

T.C
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA TERMAL YANIK MODELİNDE
STROMAL VASKÜLER FRAKSİYON (SVF) VE
TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA (PRP)'NİN YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Asef ABDULLAYEV

SAMSUN

2015

T.C
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA TERMAL YANIK MODELİNDE
STROMAL VASKÜLER FRAKSİYON (SVF) VE
TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA (PRP)'NİN YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Asef ABDULLAYEV

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Tekin ŞİMŞEK

SAMSUN

2015

TEŞEKKÜR

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi eğitimim boyunca ve tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Tekin Şimşek'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Asistanlığım boyunca tüm bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, hoşgörü ve samimiyetlerini asla eksik etmeyen değerli hocalarım; Sayın Prof. Dr. Ahmet Demir'e, Sayın Prof. Dr. Lütfi Eroğlu'na, Sayın Prof. Dr. Ethem Güneren'e Sayın Doç. Dr. Yener Demirtaş'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. M.Sinan Engin'e ve Sayın Yrd. Doç. Dr. İsmail Küçüker'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık hayatım boyunca her türlü desteğini esirgemeyen değerli abim Uzman Dr. İ. Oğuzhan Aydoğdu'ya, iyi ve kötü günde yanımda olan kardeşim Dr. İ. Alper Aksakal'a ve tüm asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca cerrahi hemşiremiz Serap Özcan'a, tüm hemşire arkadaşlarıma, Plastik Cerrahi ve Ortopedi ailesinin tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmamdaki yardımlarından dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim dalında görevli Sayın Prof. Dr. Süleyman Kaplan'a , Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin Önger'e ve çalışmada katkıları olan tüm Histoloji ekibine teşekkürlerimi sunarım.

Her koşulda gösterdiği anlayış ve destekle her zaman yanımda olan değerli eşim Milkibar Ulutürk'e, asla haklarını ödeyemeyeceğim annem Pakize Abdullayeva'ya, babam Kazak Abdullayev'e ve ablalarım; Kemale ve Gülnare Abdullayeva'ya ve kardeşlerim; Abdulla ve Elnara Abdullayeva'ya, kızım Aybuke Lale Abdullayev'e sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa Numarası

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
TABLolar DİZİNİ.....	VII
ÖZET.....	VIII
ANAHTAR KELİMELER.....	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1-Deri	3
2.1.1-Embriyolojisi	3
2.1.2-Anatomisi	3
2.1.2.1-Epidermis	5
2.1.2.2-Dermis.....	5
2.1.2.3-Subkutan tabaka.....	6
2.1.3-Fonksiyonları	6
2.2-Yanık	7
2.2.1-Tanımı	7
2.2.2-Tarihçesi	7
2.2.3-İnsidansı	8
2.2.4-Etiyolojisi	8
2.2.5-Derinliği ve genişliği.....	9
2.2.5.2-Derinliğine göre yanık şiddetini hesaplanması.....	9
2.2.5.3-Genişliğine göre yanık şiddetinin hesaplanması	11
2.2.6-Patofizyolojisi	12
2.2.6.1-Yanığın lokal etkileri.....	12
2.2.6.2-Yanığın sistemik etkileri.....	15
2.2.7-Tedavisi	15
2.2.8-Yanıklarda sıvı replasmanı.....	16
2.2.9-Yara iyileşmesi.....	17
2.2.9.1-Enflamasyon Fazı.....	18
2.2.9.2-Proliferatif Faz.....	21
2.2.9.3-Epitelizasyon	22
2.2.9.4-Anjiogenez	23
2.2.9.5-Yara Kontraksiyonu.....	25
2.2.9.6-Maturasyon Fazı.....	25
2.3-Stromal Vasküler Fraksiyon (SVF).....	26
2.3.1-Kök hücre.....	28
2.3.2-Yağ doku kökenli MKH'lerin Plastik Cerrahideki yeri.....	29

2.3.3-Yağ greftinin alınması ve SVF'un hazırlanması.....	30
2.4-PRP	31
2.4.1-Tanımı	31
2.4.2-PRP'de büyüme faktörleri.....	31
2.4.2.1-PDGF-(Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü).....	31
2.4.2.2-TGF- β (Transforme Edici Büyüme Faktörü- β).....	32
2.4.2.3-IGF-1 (İnsülin benzeri Büyüme Faktörü-1).....	33
2.4.2.4-VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü).....	33
2.4.2.5-FGF-1 ve FGF-2 (Fibroblast Büyüme Faktörü 1 ve 2).....	33
2.4.2.6-EGF (Epidermal Büyüme Faktörü).....	33
2.4.3-PRP'nin hazırlanması ve kullanımı.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1-Deneklerin hazırlanması.....	36
3.2-Yanık modeli.....	36
3.3-Çalışma grupları.....	37
3.4-SVF grubu.....	38
3.5- PRP grubu.....	39
3.6-SFV ve PRP (SPRP grubu).....	40
3.7-Histopatolojik örnek alınması ve hazırlanması.....	41
3.8-Stereolojik Analiz.....	42
3.9-İmmünohistokimya İnceleme.....	43
3.10-Çalışmanın sonlandırılması.....	43
3.11-İstatistiksel Analiz.....	43
4.BULGULAR.....	44
4.1-Histopatolojik bulgular.....	44
4.1.2-Kapiller sayım.....	44
4.1.4-Epidermis hacmi.....	44
4.1.3-Bağ doku infiltrasyonu.....	45
4.1.1-Yanık hacmi.....	46
5.TARTIŞMA	55
6.SONUÇLAR	59
7.KAYNAKLAR.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DEHAM	Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
HADYEK	Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu
HE	Hematoksilen-Eozin
SVF	Stromal Vasküler Fraksiyon
PRP	Trombositten Zengin Plazma
YG	Yağ Grefti
KH	Kök Hücre
K	Kontrol
SPRP	SVF+PRP
IGF-I	İnsülin benzeri büyüme Faktörü-1
PDAF	Trombosit Büyüme Faktörü Kaynaklı Anjiogenezis Faktör
TGF- β	Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta
FGF-1	Fibroblast Büyüme Faktörü 1
FGF-2	Fibroblast Büyüme Faktörü 2
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
PF 4	Trombosit faktör 4
SIRS	Sistemik enflamatuvar cevap sendromu
PAF	Trombositleri aktive edici faktör
IL-1	İnterlökin-1
MCP-1	Monosit kemotaktik protein-1
TNF- α	Tümör nekrozis faktör alfa
TVYA	Toplam vücut yüzeyi alanının
KGf	Keratinosit büyüme faktörü
GMCSF	Granülosit Makrofaj Koloni-Stimüle Edici Faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Derinin kesitsel görünümü	4
Şekil 2.2	Derinin histolojik kesitine göre yanıkların derinlikleri	10
Şekil 2.3	Wallace'in Dokuzlar kuralı	12
Şekil 2.4	Jackson'un '3Alan Teorisi' ve staz zonunun resüsitasyona cevabı	13
Şekil 2.5	Yara iyileşmesindeki hücreler ve fonksiyonları	18
Şekil 2.6	Yara iyileşmesinin enflamatuvar fazı	19
Şekil 2.7	Yara iyileşmesinin proliferatif fazı	21
Şekil 2.8	Yara iyileşmesinin maturasyon (remodeling) fazı.	26
Şekil 2.9	Santrifüj işlemi sonrası kanın tabakalara ayrılmış şematik görünümü	34
Şekil 3.1	Çalışmada kullanılan termostatlı elektrikli ısıtıcı	36
Şekil 3.2	Tıraş edilip salvon ile dezenfekte edilen sıçanın sırtında , termal yanık oluşturulacak bölgeler, 15 mm çapta ve aralarında 20 mm intakt deri adası kalaçak şekilde işaretlendi .	37
Şekil 3.3	Sıçanın inguinal bölgesinden yağ yastıkçığının çıkartılması, mekanik olarak parçalanmış hali ve santrifüj ile dipte çökmüş halde SVF görülmekte.	38
Şekil 3.4	Santrifüj sonrası elde edilen PRP'nin görünümü	39
Şekil 3.5	Enjeksiyona hazır haldeki PRP'nin görünümü ve uygulanışı.	40
Şekil 3.6	3.Grupta, hazırlanmış SVF ve PRP karışımının uygulanması görülmekte Yine hepsinde yanığın 4. haftasında sakrifiye edilerek spesmenler alındı.	41
Şekil 4.	1. Haftada gruplardan alınan kesitlerde epidermal hacim, kapiller yoğunluğu, bağ dokusu infiltrasyonu ve yanık hacmi görülmekte. (A) SVF grubu, (B) SPRP grubu, (C) PRP grubu, (D) kontrol. (B) Ep; epidermis, De; dermis, Ok başı; yanık yüzeyi, Dikdörtgen; (C) kapiller artışı, Ok; kapiller damarları göstermektedir (D) (x10 ve x25 büyütme, H&E boyama)	51

Şekil 4.22.	Haftada gruplardan alınan kesitlerde epidermal hacim, kapiller yoğunluğu, bağ dokusu infiltrasyonu ve yanık hacmi görülmekte. (A) SVF grubu, (B) SPRP grubu, (C) PRP grubu, (D) kontrol. (B) Ep ; epidermis, De ; dermis, Ok başı ; yanık yüzeyi göstermektedir (C) (x10 büyütme, H&E boyama)	52
Şekil 4.3	3. Haftada gruplardan alınan kesitlerde epidermal hacim, kapiller yoğunluğu, bağ dokusu infiltrasyonu ve yanık hacmi görülmekte. (A) SVF grubu, (B) SPRP grubu, (C) PRP grubu, (D) kontrol (B) Ep ; epidermis, De ; dermis, Ok başı ; yanık yüzeyi göstermektedir (C) (x10 büyütme, H&E boyama)	53
Şekil4.4	İmmün boyamada, tüm gruplarda 2. haftada bağ dokuda hâkim olan mitotik aktiviteye ait görünüm. (A) SVF grubu, (B) SPRP grubu, (D) PRP grubu, (D) Kontrol. Ep ; epidermis, De ; dermis, (E) Elips ; bağ dokusundaki artmış mitotik aktivite odaklarını göstermektedir (x10 büyütme ki-67 antikorunu kullanılarak immünolojik boyama yapılmıştır)	54
Şekil 4.5	Kapiller sayım tüm grupların karşılaştırılması	55
Şekil 4.6	Epidermis hacmi tüm grupların karşılaştırılması	55
Şekil 4.7	Dermis hacmi tüm grupların karşılaştırılması	56
Şekil 4.8	Yanık alanı tüm grupların karşılaştırılması	56

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1	Derinliğine göre sınıflandırılması ve özellikleri .	11
Tablo 2.2	Lund-Browder metoduna göre, pediatrik yaş grubundaki yanık yüzey alanı oranları	11
Tablo 4.1	Bütün grupların, kapiller, epidermis hacmi, bağ dokusu miktarı, yanık alanları ve standart sapma değerleri	49
Tablo 4.2	Bütün grupların karşılaştırılan P değeri	50

ÖZET

Yanık tedavisinde öncelikli amaç, bireyin bir an önce sosyal yaşama dönmesini sağlayacak şekilde iyileşmeyi hızlandırmak ve tedavi maliyetini düşürmektir. İyi bir yara iyileşmesi için uygun koşullarının sağlanması ve olabildiğince komplikasyonların azaltılması da tedavinin temel hareket noktasıdır. Yara bölgesinde vaskülaritenin arttırılması ve iyileşmeden sorumlu hücresel elemanların yoğunluğunun arttırılması da iyileşmeyi hızlandırarak komplikasyonların önüne geçilmesinde büyük önem arz eder.

Kemik iliği dışında vücutta bir çok dokuda bulunabilen mezenkimal kök hücreler ve PRP içerisindeki büyüme faktörleri, yara iyileşmesi açısından optimal beklentileri karşılayacak özelliklere sahiptir. Yağ dokusunun stromal vasküler fraksiyonu (SVF), mezenkimal kök hücreler açısından oldukça zengin ve elde edilmesi oldukça kolay bir yağ doku komponentidir. Yanık yaralarının tedavisinde, iyileşmeyi hızlandırması için SVF ve PRP üzerinde yürütülen deneysel ve klinik çalışmalar halen sürmekte ise de bu iki materyalin yanığın hangi döneminde nasıl etkileri olduğu ve kombine kullanımlarında ki etkinlikleri tam olarak bilinmemektedir.

Çalışmamızda; yanık yaralarının erken, erken geç ve geç döneminde uygulanan SVF ve PRP'nin, iyileşme üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, toplam 45 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deneklerin sırtlarında bir tarafı kontrol tarafı olacak şekilde sağlı sollu 15 mm çapında iki adet derin dermal yanık lezyonu oluşturuldu. 1. Grupta sıçanların inguinal yağ yastıkçıkları alınarak elde edilen 0,2 ml SVF kullanıldı. 2. Gruptaki sıçanlarda kuyruk venlerinden alınan 1,5 ml kandan 0,2 ml PRP hazırlanarak kullanıldı. 3. Grupta ikisi kombine kullanıldı. Deney sıçanın sol taraf yanık lezyonuna 1. hafta (erken dönem), 2. hafta (erken geç dönem) ve 3. hafta (geç dönem) intradermal plana toplam 0,2 ml olacak şekilde uygulandı. 3. Gruba her ikisi toplam 0,4 ml olarak SVF ve PRP kombine (SPRP) şekilde uygulandı. Her sıçanın sağ kontrol taraflarına ise aynı hacimde serum fizyolojik uygulandı. 4. Haftada alınan spesmenlerde vaskülarite, epidermis hacmi, bağ doku infiltrasyonu ve yanık hacimleri ölçüldü.

SPRP grubunda vaskülaritenin sadece SVF ve PRP'ye göre daha fazla arttığı, epitelizasyonun daha hızlı gerçekleştiği, yanık hacminin daha hızlı küçüldüğü saptandı. Bu nokradan hareketle yanık iyileşmesinde SVF ile PRP'nin kombine kullanımı ile daha iyi fonksiyonel sonuçlar alınabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Yanık, stromal vasküler fraksiyonu, trombositten zengin plazma, mezenkimal kök hücre, neoanjiogenez, epitelizasyon, yanık hacmi, bağ dokusu.

ABSTRACT

Primary objective of burn management is to accelerate healing for swift return to daily activities while reducing the costs and complications by optimizing wound conditions. Increasing vascularity and cellular components which aid wound healing is of cardinal importance for fulfilling that purpose.

Mesenchymal stem cells (MSC) and platelet rich plasma (PRP) are known to provide a medium facilitating wound healing. The stromal vascular fraction (SVF) is an adipose tissue component which is easy to harvest and contains an abundance of MSCs. While the efficiency of these two reagents in wound management are individually investigated in experimental studies, the mechanism by which they interact with the healing process and their combined effect are not.

The purpose of this study was to investigate the effectiveness of early, delayed and late applications of PRP and SVF on burn healing. Forty-five female Sprague-Dawley rats were used. On the backs of each subject, bilateral deep dermal burn wounds of 15 mm diameter were inflicted, with the right-sided ones serving as controls. On the left-sided wounds of the subjects, 0,2 ml of SVF purified from the inguinal fat pad, 0,2 ml of PRP acquired from the tail blood, and 0,4 ml of equal mixture of both (SPRP) were designated to be intradermally applied in the first, second and third groups; respectively. Each group were further divided into three within themselves and therapeutic applications were made one week (early application), two weeks (delayed application) and three weeks (late application) following injury, while the control sides were simultaneously treated with equal amounts of physiological serum. At the 4th week, lesions were harvested and histologically analyzed for vascularity, epidermal volume, connective tissue infiltration and burn volume.

It has been observed that SPRP group yielded significantly better vascularity, faster epithelization, and faster shrinkage of the burn volume in comparison with individual use of the reagents. Our findings suggest that combined use of SVF and PRP is likely to yield better functional results.

Key words: Burns, Stromal vascular fraction, Platelet rich plasma, Mesenchymal stem cells, neoangiogenesis, epithelization, burn volume, connective tissue.

1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Organizmanın yüksek ısı ile temas etmesi sonucu oluşan bölgesel doku hasarına yanık denir. Yanıklar, neden olduğu sosyal ve ekonomik problemlerden dolayı önemli bir sağlık sorunu olmayı sürdürmektedirler. Mortalite ile sonuçlanan yaralanmalar arasında trafik kazalarından sonra en sık karşılaşılan ikinci etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Keza, aynı orandaki kanser ve kalp hastalıklardan çok daha fazla mortaliteye sahiptir (Arturson ve ark., 1979).

Yanık tedavisi, hasarlı alanın kademeli olarak soğutulmasını, sıvı resüsitasyonu ile lokal ve sistemik perfüzyon desteği sağlanmasını, topikal ajanlarla nemlendirme ve epitelizasyona yardımcı olunmasını, cerrahi debridmanı ve doku defektinin onarımını içerir (Herndon ve ark., 1987; Mills, 2005). Yanık hasarında tedavinin hızlı sağlanması, hipertrofik skar ve kontraktür gelişmesi gibi komplikasyonları azaltarak, bireyin sosyal yaşama çabuk dönmesini sağlamak ve tedavi maliyetini düşürmek için son derece önemlidir (Atiyeh ve ark., 2005). Ayrıca, kararsız staz zonunun hızlı resüsitasyonu, oluşacak hasar alanını küçültmek için çok önemlidir.

Termal yanıkların birey üzerinde oluşturduğu psikososyal etkileri yanında toplum üzerine de getirdiği önemli maddi külfeti vardır. Yanık tedavisi harcamaları sağlık harcamaları içinde önemli bir grubu teşkil eder. Sorunun temelinde yanık lezyonlarının iyileşme sürecinin uzun olması ve sonrasında neden olacağı estetik ve fonksiyonel problemlerin ağırlığı yatmaktadır. Bu nedenle son yıllarda yara iyileşmesine olumlu katkıları nedeni ile stromal vasküler fraksiyon (SVF) ve trombositten zengin plazma (PRP) üzerinde yürütülen moleküler çalışmalar daha da yoğunlaşmış, yanık tedavisi üzerindeki uygulamaları ilgi odağı olmuştur (Marck ve ark., 2014).

SVF, lipoaspirasyonla alınan yağlardan elde edilen, yağ dokusu kökenli mezenkimal kök hücrelerden zengin bir dokudur. Tıpkı kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücreler gibi, çeşitli biyolojik faktörlerin etkisiyle, vücutta adiposit, osteoblast, kondrosit, miyosit ve sinir hücreleri gibi bir çok hücre tipine farklılaşabilirler (Minguell ve ark., 2001). Çalışmalar, yağ dokusu içerisindeki bu hücrelerin, anjiyogenik, antiapoptotik ve antienflamatuvar etkilerinin de olduğunu göstermiştir (Mojallal ve Foyatier, 2004). Bu noktadan yola çıkarak, periferik mezenkimal kök hücre ihtiva eden periferik yağ dokusunun uygulandığı dokularda yeni damar oluşumunu (neoanjiogenez) sağlayıp, hasara uğrayan

dokularda onarımı hızlandırabileceği fikri ortaya atılmıştır (Mojallal ve ark., 2004; Mazzola, 2009). Son çalışmalarda, SVF'un hücre proliferasyonunu ve fibroblastik aktiviteyi arttırıp enflamasyonu da azaltarak yanık iyileşmesini hızlandırdığı da gösterilmiştir (Atalay ve ark., 2014).

PRP; otolog kandan santrifügasyon ile elde edilen, trombositten zengin plazma komponentidir. İçeriğindeki yüksek konsantrasyondaki trombositlerin α granüllerinde 1500'den fazla protein, PDGF, VEGF, TGF- β 1, EGF, bFGF, IGF-1, HGF gibi büyüme faktörleri bulunurken, dens granüllerinde serotonin, histamin, dopamin, ADP/ATP, Ca^{++} ve katekolamin bulunmaktadır (Alvarez ve ark., 2006). İçerdiği bu yoğun büyüme faktörleri sayesinde yara iyileşmesinin enflamasyon ve proliferasyon fazlarını düzenleyerek yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir. Analjezik, anti-enflamatuar ve antibakteriyel etkisi de vardır (Sanchez, 2009). Otojen olması, kolay hazırlanması ve mükemmel güvenlik profili sayesinde farklı klinik kullanımlarına giderek artan bir ilgi oluşmuş (Lopez-Vidriero, 2010), termal yanıklar da benzer ilgiyi görmüştür (Marck ve ark., 2014).

Çalışmamızda, sıçan termal yanık modelinde, SVF ile PRP'nin tek başına ve kombine kullanımlarının, erken dönem (yanığın 1. haftası), erken geç dönem (yanığın 2. haftası) ve geç dönem (yanığın 3. haftası) yanık yarasının iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Deri

2.1.1 Embriyolojisi

Deri, ektodermden gelişen ve yüzeyel tabakayı oluşturan “Epidermis” ile mezenkimal kökenli olan ve derin katmanı oluşturan “Dermis” olmak üzere iki tabakadan oluşur (Sadler Langman’s Medical Embryology. Lippincott Williams, 2012; Mills. Histology for Pathologists, 2007).

Başlangıçta embriyo, tek sıralı bir ektodermal hücre tabakasıyla örtülüdür. İkinci ayın başında bu epitel ikiye bölünür ve yüzeyin üzerine periderm veya epitrikiyum adı verilen yassı hücrelerden oluşan bir tabaka dizilir. Bazal tabakadaki hücrelerin daha ileri proliferasyonu ile üçüncü bir ara bölge oluşur. Dördüncü ayın sonunda epidermis, son şeklini alır ve dört tabakası ayırt edilebilir;

- Bazal tabaka: Germinatif tabaka olarak da bilinir. Yeni hücre yapımından sorumludur. Bu tabakadan daha sonra parmak izini oluşturacak girinti ve çıkıntılar meydana gelir.
- Spinöz tabaka: İnce tonofibriller içeren polihedral hücrelerden oluşur.
- Granüler tabaka: Bu tabakadaki hücreler küçük keratohyalin granüller içerir.
- Boynuzsu tabaka: Birbirine sıkıca bağlanmış ve keratinle dolu ölü hücrelerden oluşur (Sadler Langman’s Medical Embryology. Lippincott Williams, 2012).

Peridermin hücreleri intrauterin hayatın ikinci yarısında genellikle dökülür ve amniyotik sıvı içinde görülebilir (Sadler Langman’s Medical Embryology. Lippincott Williams, 2012; Mills. Histology for Pathologists, 2007).

Dermis, mezenşimden köken alır. Üçüncü ve dördüncü aylarda korium adı verilen doku, epidermise doğru uzanan çok sayıda düzensiz ‘dermal papilla’ adı verilen papiller yapıları oluşturur. Bu papillalar genellikle küçük kapiller damarları ve sinir uçlarını içerir. Dermisin daha derin tabakası olan subkorium (subkutis) ise, önemli miktarda yağ dokusundan oluşur (Sadler Langman’s Medical Embryology. Lippincott Williams, 2012).

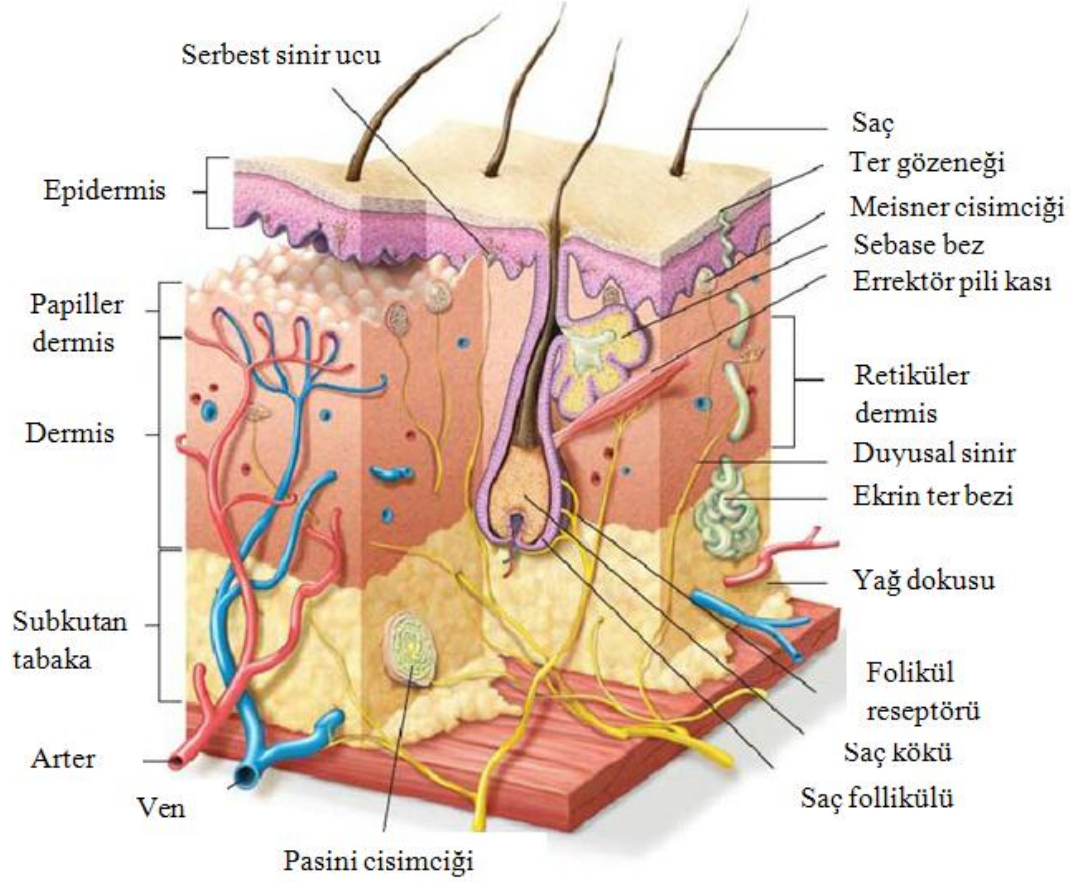
2.1.2 Anatomisi

Deri, insan ve hayvan vücudunu kaplayan dış katman olup, altında barındırdığı kas ve organları koruyan, tabakalardan oluşmuş bir örtü sistemidir. Bu tabakanın altında yağ tabakası vardır. Yağ tabakası vücudumuzu sıcak tutar ve darbelere karşı korur.

Burada bulunan ter bezleri boşaltıma yardımcı olur. Deri solunumu nemli vücut yüzeyinden gerçekleşir. Dış ortamla gaz alışverişi nemli deriden diffüzyonla gerçekleşir. Derinin nemli kalması pilosebace ünitelerinin salgıları ile oluşur. Cilt vücudumuzu dış ortama karşı koruyan bir bariyerdir. Aynı zamanda, vücut ısısını ve su dengesini korurken, zararlı maddelerin vücuttan ter yoluyla atılımını gerçekleştirir. Yaklaşık 2 m² alana sahiptir. Derinin yerine getirdiği işlevler karmaşık bir yapılanmayı gerektirir. Bu nedenle deri anatomik olarak her biri farklı bir doku yapısına sahip üç ayrı katmandan oluşur.

Yüzeyden derine doğru derinin tabakaları şu şekildedir;

- Üst Deri (Epidermis)
 - Alt Deri (Dermis)
 - Deri Altı (Subkutan tabaka) (<http://www.itf.istanbul.edu.tr/dermatoloji/derbilgi.htm>)
- (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Derinin kesitsel görünümü (Grabb and Smith's Plastik Cerrahi, 7. baskı)

2.1.2.1 Epidermis

Epidermis derinin en dışta bulunan tabakasıdır. Esas olarak "Keratinosit" adı verilen hücrelerden oluşur. Kalınlığı bulunduğu vücut bölümüne, yaşa ve cinsiyete bağlı olarak değişir. Epidermis, kendi içinde dört farklı tabakaya ayrılır. En alttaki tabaka "stratum basale epidermidis" adını alır ve tek sıra hücrelerden oluşur. Bu üst deri hücrelerinin olduğu ilk tabakadır. İkinci tabaka "stratum spinosum epidermidis" veya "stratum granulosum epidermidis" adını alır. Bu alttaki tabakada oluşan hücrelerin evrimleşmesi ve üst üste birikmesiyle oluşmuştur. En üst tabaka neredeyse tümüyle ölmüş hücrelerden oluşan "stratum corneum epidermidis" tabakasıdır.

En alt tabakada oluşan Keratinositler yaklaşık 21-25 günlük bir zaman dilimi içinde yapılarını değiştirerek üst tabakalara doğru göç ederler. Bir keratinositin tek tek bütün tabakaları geçerek cansız bir keratin tabakası haline gelmesine kadar geçen süre "derinin çevrimi (turnover)" olarak adlandırılır. Epidermiste mevcut diğer hücrelerin arasında "melanosit" denilen deriye rengini veren yani pigment üreten hücrelerle birlikte, derinin korunmasında görev alan Merkel hücreleri, Langerhans hücreleri ve lenfositler bulunur. Altındaki dermis tabakasından farklı olarak epidermiste kan damarı bulunmaz. Beslenme, altta bulunan dermis tabakasından difüzyon yoluyla olur. (<http://www.itf.istanbul.edu.tr/dermatoloji/derbilgi.htm>).

2.1.2.2 Dermis

Asıl deriyi oluşturan alt deri / dermis; damarları, sinirleri ve deriye elastikliğini veren lifleri içeren tabakadır. İki tabakadan oluşur: "Stratum papillare" ve "Stratum reticulare". Yüzeydeki ince tabaka olan stratum papillare ince elastik lifler içerir ve parmak benzeri çıkıntılar oluşturarak daha üstteki tabakanın deriye sağlam bir şekilde tutunmasını sağlar. Bu parmaklı çıkıntıların içinde yoğun kılcal damar ağı mevcuttur ve bu damar ağı sayesinde epiderminin beslenmesi sağlanır. Stratum papillare aynı zamanda çeşitli savunma hücreleri de içerir (histiositler, fibroblastlar, mast hücreleri ve bağışıklık hücreleri). Ayrıca bu tabakada ağrı, dokunma ve basınç hissini sağlayan serbest sinir uçları bulunmaktadır. Daha alttaki "Stratum reticulare" ise asıl olarak vücut yüzeyine paralel uzanan kalın kollajen lif demetleri ve elastik liflerden ibaret bir ağ yapısı oluşturmaktadır. Çeşitli tipte salgılar üreten ter ve yağ bezleriyle, bunların salgılanmasını

sağlayan kas hücreleri, kıl folikülleri yine bu tabaka içinde yer alır. Ayrıca tüm bu yapıları birleştiren ve bu yapılara destek sağlayan bağ doku hücreleri de bu tabakadadır.

Daha alttaki deri altı dokusuna bitişik olan dermis tabakası, vücut sıcaklığı ile kan basıncını düzenleyen küçük ve orta boy kan damarlarının oluşturduğu bir ağ yapısına sahiptir (<http://www.itf.istanbul.edu.tr/dermatoloji/derbilgi.htm>).

2.1.2.3 Subkutan tabaka

"Subkutan tabaka" denilen deri altı tabakası dermisin altında bulunur. Aslında bu iki tabaka arasında net bir sınır bulunmaz ve her iki bölümün kalınlıkları ve geçiş özellikleri cinsiyete, yaşa, beslenme durumu ve yaşam koşullarıyla, vücudun hangi bölgesinde olduğuna göre değişir. Deri altı dokusu, temel olarak yağ ve bağ dokusundan oluşur. Temel işlevi taşımak ve bağlamaktır. Enerji deposu ve mekanik tampon görevi de yapar ve vücudu sıcaklık dalgalanmalarına karşı korur. Bu tabaka, altında yer alan kas tabakasının etrafındaki kılıfa kadar uzanır. Subkutan doku içinde de kan damarları, sinirler ve lenf damarlarının geçtiği ve bağ doku perdelerinin birbirine bağladığı yağ dokusu lobülleri bulunur.

Dermisteki damar ağı zayıflarken elastin fibrilleri kalınlaşır, ileri yaşlarda kıl folikülleri, yağ bezleri, apokrin ve ekrin bezler atrofiye uğrar. İlerleyen yaşla birlikte, deri, yeterli yağ ve su depolayamaz, doğal elastikiyetini kaybeder ve inceler (<http://www.itf.istanbul.edu.tr/dermatoloji/derbilgi.htm>).

2.1.3 Fonksiyonları

- Koruma: İç organ ve yapıları zararlı dış etkenlere (sürtünme, hava şartları, kimyasallar, radyasyon vb.) karşı korur.
- İmmünolojik: İmmün sistemde görevli hücrelere antijen sunmakta yardımcıdır. Deri yüzeyinde bulunan uzun zincirli yağ asitleri antibakteriyel özelliktedir. Deskuamasyon invazif özellikteki bakterilerin penetrasyonuna engel olur.
- Sıvı kaybının önlenmesi: Sıvı-elektrolit ve protein kaybını önler ve sekresyon yapma özelliği ile vücut dengesine yardımcı olur.
- Nörosensoryal: Dokunma, acı, sıcak ve soğuk gibi çevresel uyaranları algılar.
- Termoregülasyon: Deri, ısı kaybını önlediği gibi sıcak havalarda ter salgılar ve evaporasyon ile soğumaya yardımcı olur.

- Metabolik: Vitamin-D metabolizmasında görevlidir.

2.2 Yanık

2.2.1 Tanımı

Yanık; ısı, elektrik, kimyasal maddeler ve radyoaktif ışınlar gibi etkenlerle oluşabilen bir yaralanma şeklidir. Termal yanıklar, dokuların tolere edebileceğinin üzerinde ısı enerjisi ile karşılaşması sonucu oluşan, en sık yanık formudur (Günay ve Yıldırım, 2007; Gürdal ve ark., 2007). Yanığın derecesi, neden olan maddenin sıcaklığına ve temas süresine bağlı olarak değişir (Singer ve ark., 2003). Isısı 51 °C'den fazla olan maddelerin teması ile deride saniyeler içinde kısmi yanık oluşurken, 70°C'den fazla olduğunda tam kat yanık oluşma riski artırmaktadır (Moritz ve ark., 1948).

Yanık sadece yanan vücut bölgesine sınırlı sonuçlar doğuran bir olay değildir. Geniş yüzey alanını tutan yanıklarda organizmanın bütününe etkileyen ve oluşacak fizyopatolojik değişiklikler (yanık şoku) de prognozu belirleyen multisistemik bir travmadır (Arıncı ve ark., 2000).

2.2.2 Tarihçesi

Termal travmaya karşı insan vücudunun gösterdiği reaksiyonları içeren yanık olgusu ateşin kullanılmaya başlaması ile ortaya çıkar (Salmanpakoğlu, 1998). Yazılı kaynaklarda yanık için uygulanan ilk tedavi, M.Ö. 15.yy'da Ebers papirüsünde, tapınak rahiplerince öküz gübresi ile siyah çamur karışımının yaraya uygulanması şeklinde tariflenmiştir. Yüzyıllar boyunca yanığın sebep olduğu yaralar ve tedavileri üzerinde çalışılmış, 19.yy 'da ünlü Fransız cerrahı Dupuytren'in yanık kontraktürlerinin de tedavi edilmesi gerektiğini bildirmesi üzerine yanık sekellerinin de tedavisine ilgi artmıştır (Xu ve Sun, 2004). 15. yy'da Fabricius Hildanus isimli Alman asıllı bir bilimadamı tarafından yanıklar 3 derecede sınıflandırılmıştır. 20. yy başlarında yanık yarasının serin tutulup tutulmaması, nemli ya da kuru takip edilmesi, bül sıvısının boşaltılması gibi konular netlik kazanmaya başlamıştır. 1905 yılında Haldor Sneve, Journal of American Medical Association (JAMA)'da ciddi yanıklı vakalarda şoktan kaçınmak için oral, rektal veya damar yoluyla tuz içerikli solüsyonların kullanılması gerektiğini bildirmiştir (Alvarado ve ark., 2009).

1960'lerden sonra yanık tedavisinde hızlı gelişmeler olmuştur. Şokun anlaşılması ile birlikte sıvı kaybını engellemeye yönelik hipertonic, izotonik, kolloid ve kristalloidlerden oluşan çeşitli tedavi protokolleri önerilmeye başlanmıştır. Yine aynı yıllarda yanık yaralanmasındaki derinlik kavramının tanımlanması yapılmış, 1967'de Yugoslav Plastik Cerrah Zora Janzekovich'in tanımladığı erken tanjansiyel eksizyon ve greftleme kısa sürede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Jakson ve Shore'nin geliştirdiği yeni yöntemler yanıkla ilişkili mortalitenin azalmasını sağlamıştır. Bu gelişmeler sonucunda 25-30 yıl önce %50 yanıklı bir hastada mortalite oranı %50'nin üzerinde iken, günümüzde bu oran %10'un altına kadar düşmüştür (Juan ve ark., 2005).

2.2.3 İnsidansı

Her yıl Dünya nüfusunun yaklaşık % 1-1,5 kadarı yanıkla karşılaşmaktadır. ABD'de yılda 2.000.000 kişi yanmaktadır (Peate, 1992). Bunlardan 50.000'i hastanede yatarak tedavi görmekte ve yaklaşık 5.000'i ölmektedir (Saffle ve ark., 1995). Dünya genelinde her yıl 6 milyon insan yanık nedeniyle acil servislere başvurmaktadır. Yanığa bağlı yaralanmaların çoğu hayatı tehdit etmeyen ve konservatif yaklaşımlarla tedavi edilebilecek derecede olsa da, yine yaklaşık her 10 kişiden biri yılda bir kez yanığa maruz kalmaktadır (Brusselaers ve ark., 2010).

2.2.4 Etiyolojisi

Yanıklar beş kategoride incelenebilir.

- Termal Yanıklar: Bu yanıkların nedeni alev, sıcak su, buhar ya da sıcak cisimlerle temas sonucu oluşur.
- Kimyasal Yanıklar: Kuvvetli asitlerin, alkalilerin veya diğer aşındırıcı maddelerin, genellikle endüstriyel kazaları sonucu temasla oluşurlar. Sistemik dolaşıma geçtiğinde ise hayati organlara zarar verirler.
- Elektrik Yanıkları: Nedeni elektrik akımının vücuttan geçmesidir. İç organlarda meydana gelen hasarlar deri yanığı ile oluşan hasarlardan daha farklıdır.
- Radyasyon Yanıkları: Bu yanıkların nedeni nükleer santral kazaları, endüstride ve tıpta kullanılan radyoaktif maddeler olabilir.
- İnhalasyon Yanıkları: Nedeni primer olarak inhale edilen toksinlerdir

Yanıkların %80 - %90'ı kaza sonucu oluşur. Bu nedenle vakaların %40 -%57 kadarını çocuklar oluşturur (Türegün ve ark., 1997; Elberg ve ark., 1987; Tejerina ve ark., 1989). 5 yaş altı yaralanan çocuklar, pediatrik popülasyonun %50-%80' ini oluşturur (Anlatıcı ve ark., 2002). İngiltere'de bir yılda başvuran 6400 pediatrik vakanın %80' inin 5 yaşın altında ve büyük oranda haşlanma sonucu meydana geldiği saptanmıştır. İkinci sıklıkta 2.ve 3. dekatdaki genç erişkinlerde görülür. Yatarak tedavi edilen yanıklarda taburculuk süresi ortalama 7 ile 33 gün arasında değişmektedir (Brusselaers ve ark., 2010).

2.2.5 Derinliği ve genişliği

Yanık, hasarının tanımlanmasını kolaylaştırmak açısından derecelendirilmiş olsa da, klinikte iç içe geçmiş farklı derinlikte yanık alanları ile sık karşılaşılır. Yanığın deride meydana getirdiği hasarın derinliği üç derece şeklinde, genişliği ise vücut yüzeyine göre yüzde cinsinden ifade edilir (Mathes ve Hansen, 2006).

2.2.5.1 Derinliğine göre yanık şiddetinin hesaplaması

- Birinci derece yanık: Yüzeysel yanıklar olup, en sık güneş ışınlarının etkisiyle ya da ani gaz parlamaları sonucu meydana gelir. Patogenezinde epidermin hasar gördüğü bu yanıklarda ortaya çıkan en önemli belirtiler kaşıntı, kuru bir deri, eritem ve ağrıdır (Priti ve ark., 2008). Damarlardan salınan histamin/kinin nedeniyle vazodilatasyon ve endotel hücre mobilizasyonu vardır. Bazal tabaka sağlamdır. Klinik olarak; cilt pembe, parlak renkli, kurud ve ağrılıdır. Nemli pansuman ile takip edilir ve 1 hafta içinde sıklıkla skar bırakmadan iyileşir.

- İkinci derece yanık: Sıcak cisimlerle temas, alev, kısa süreli kimyasal ajan ile temas sonucu gelişir. Dermal tutulum oranına göre yüzeysel ya da derin olarak 2 alt grupta incelenebilir (Priti ve ark., 2008). Patogenezinde koagülasyon nekrozuna bağlı epidermal ve kısmi dermal hasarlanma vardır. Subdermal pleksusta konjesyon nedeniyle epidermis ile dermis arasında proteinden zengin sıvı içeren bül oluşur. İkinci derece yüzeysel yanıklar daha hassastır ve cilt hiperemik görünür. İyileşme, sağlam kalan kıl kökü, yağ ve ter bezleri gibi deri eklerinden spontan epitelize olarak gerçekleştiğinden aylarca sürebilir ve derin formlarda hipertrofik skar bırakma eğilimi yüksektir. Derin dermal tabakanın

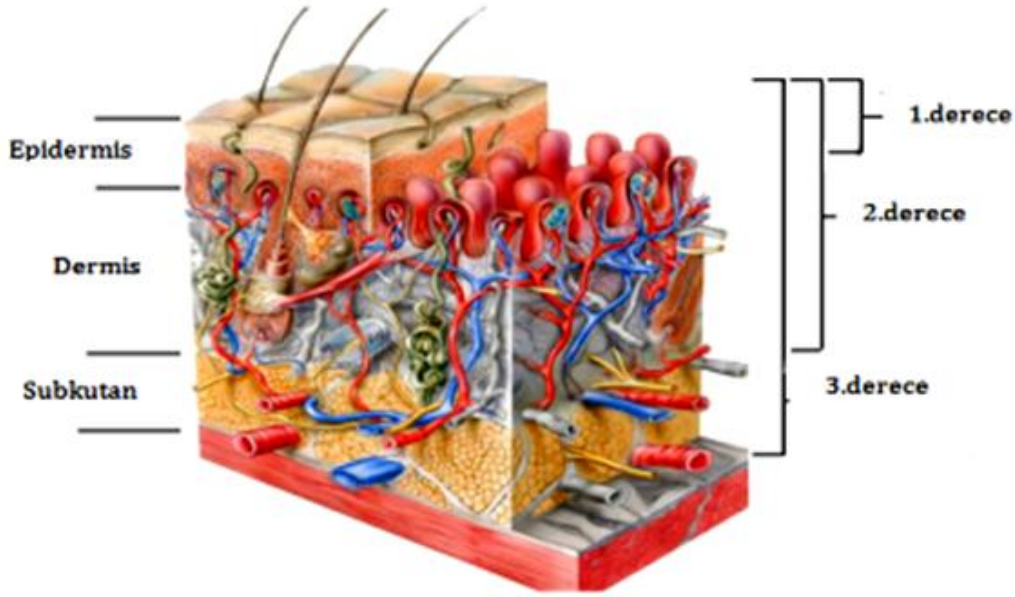
tutulduğu yanıklarda, kılcal damarlarda yoğun trombüs gelişimi ve yanık yüzeyinin nekrotik bir tabaka ve debris ile kaplı olması, yanık yüzeyinden sıvı kaybını engeller.

İkinci derece derin yanıklarda çevre dokularda kapiller geçirgenlik arttığı için ödem kaçınılmazdır. Bu tip yanıklar yakından takip edilmeli, hasta travmadan veya enfeksiyondan korunmalı, doku perfüzyonu sağlanmalıdır. Eğer uygun şekilde tedavi edilmezlerse kolaylıkla üçüncü derece yanık haline gelebilirler (Heimbach ve ark., 1992; Morgan ve ark., 2000).

- Üçüncü derece yanık: Sıcak cisimlerle uzun süreli temas, alev, elektrik yanığı veya kimyasal ajan ile yanma sonucu gelişir. Epidermisi ve deri eklerini içeren tam kat dermal hasar vardır. Staz zonları mevcuttur. Çevre dokularda yanık şiddeti ile orantılı ödem gelişir. Subdermal pleksusta koagülasyon nekrozu bulunduğundan yanık alan kurudur, deri beyazımsı kösele gibi görünür. Serbest sinir uçları da hasarlanmış olduğundan ağrısızdır. Cerrahi uygulanmadan iyileşmez.

Yanığın kas, tendon ve kemikleri de etkilediği oldukça derin formları dördüncü derece olarak kabul edilebilir. Geniş ve kapsamlı bir cerrahi girişim gerektirir. Nekrotik dokular debride edildikten sonra sıklıkla flep cerrahisi ile defektler kapatılır. Bazı olgularda amputasyon kaçınılmazdır (Monafo ve ark., 2002). (Şekil 2.2).

Yanığın derecelerine göre özellikleri Tablo 2.1’de özetlenmiştir.



Şekil 2.2 Derinin histolojik kesitine göre yanıkların derinlikleri

(www.fireshow.eu/home/Articles/36758-First-Aid) (Erişim Tarihi:12.12.2014)

Derece	1	2	3	4
Derinlik	Yüzeysel	Orta	Derin	Çok derin
Etkilenen doku	Epidermis	Epiderminin tamamı, derminin bir kısmı	Epidermis ve derminin tamamı	Kas, kemik
Klinik görünüm	Kuru deri, eritem	Ödem, vezikül, bül	Kuru deri, eskar	Eskar
Ağrı	Ağrılı (+)	Çok ağrılı (+++)	Ağrısız	Ağrısız
Epitelizasyon	Var	Var veya yok	Yok	Yok
Skar	Genelde kalmaz	Sıklıkla kalır	Kalır	Kalır

Tablo 2.1: Yanıkların derinliğine göre sınıflandırılması ve özellikleri (Koyuncuer, 2004)

2.2.5.2 Genişliğine göre yanık şiddetinin hesaplanması

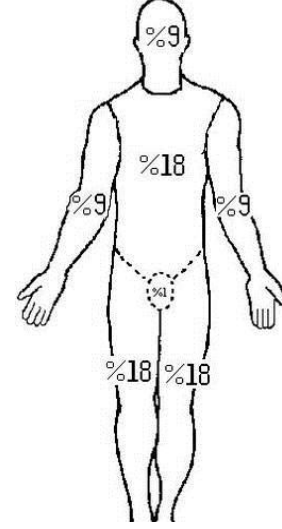
Yanık yüzdesi yaklaşık %20 civarında olanlarda genelde bu oran doğru hesaplanırken, küçük yanıklarda olduğundan fazla, geniş yanıklarda ise daha az hesaplanmaktadır. (Koch ve ark., 2005). Bu yüzdelerin doğru hesaplanması, sağkalımda en önemli müdahale olan sıvı replasmanının doğru yapılmasını sağlar. Yanık alan yüzdesinin tayini için çocuklarda başın büyük ve alt ekstremitelerin kısa olması nedeniyle Lund ve Browder'ın şeması kullanılır (Tablo 2.2).

Bölge	0-1 yaş %	1 yaş %	5 yaş %	10 yaş %	15 yaş %	Yetişkin %
Baş	19	17	13	11	9	7
Boyun	2	2	2	2	2	2
Ön gövde	13	13	13	13	13	13
Arka gövde	13	13	13	13	13	13
Kalça	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Perineum	1	1	1	1	1	1
Uyluk	5.5	6.5	8	8.5	9	9.5
Diz altı	5	5	5.5	6	6.5	7
Ayak	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Üst kol	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Ön kol	3	3	3	3	3	3

Tablo 2.2: Lund-Browder metoduna göre pediatrik yaş grubundaki yanık yüzey alanı oranları

Wallece'in Dokuzlar kuralı: Toplam vücut yüzeyi alanının (TVYA);

- Baş-boyun: (TVYA) %9'u
- Her bir kol: TVYA %9'u
- Ön gövde: TVYA %18'i
- Arka gövde: TVYA %18'i
- Her bir bacak: TVYA %18'i
- Perine-genital: TVYA %18'i oluşturur (şekil 2.3).



Şekil 2.3 Wallece'in Dokuzlar Kuralı

Genelde erişkinlerde Wallece'nin dokuzlar kuralı, çocuklarda ise Lund-Browder yöntemini kullanarak yanık yüzdesini hesaplamaktadır. Yaş grupları arasındaki farklılığı da dikkate alan Lund - Browder tablosu en doğru metottur. Dokuzlar kuralı ise daha basit fakat daha az doğru sonuç veren bir yöntemdir (Jefferey, 2004).

2.2.6 Patofizyolojisi

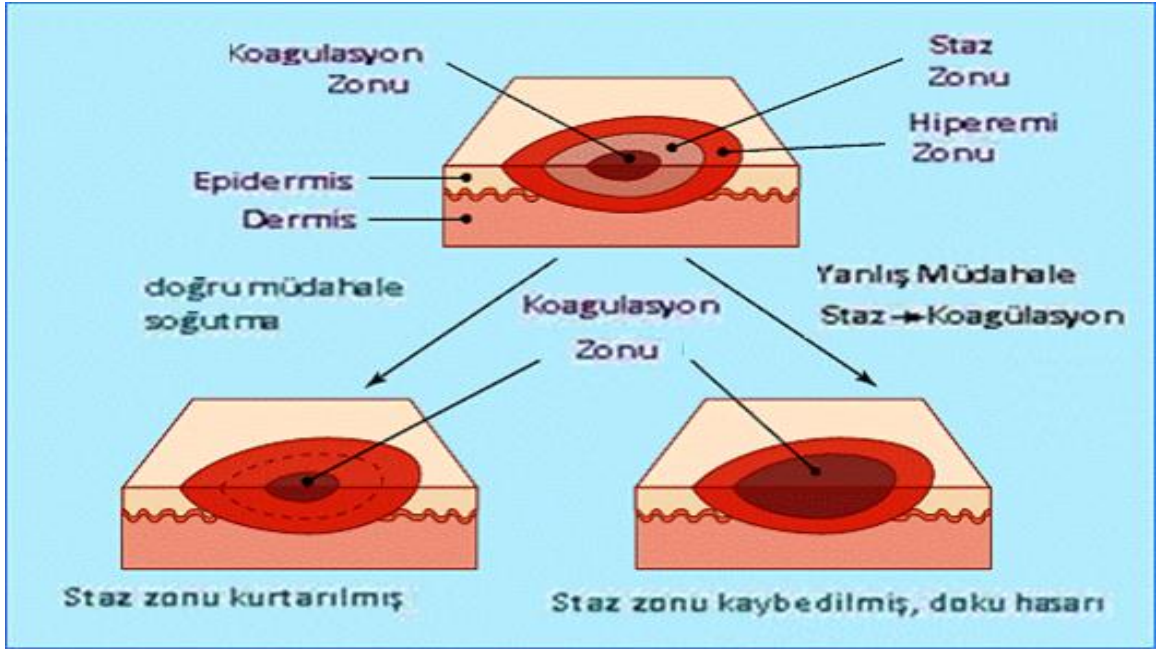
Ciddi yanıklarda kan akımındaki azalma ve damar geçirgenliğindeki artma ile oluşan hipovolemi ve ödem, lokal olarak toksinlerin uzaklaştırılmamasına, travma bölgesinin enflamasyonuna ve hasarın artmasına sebep olur. Yanık travmasına organizma yara iyileşme süreci ile yanıt verir. Protein denatürasyonu, doğrudan enerji maruziyeti, mikrosirkülasyon bozukluğu sonucu oluşan iskemi, asidoz, hipoksi ve serbest radikallerin birikmesi oluşan hasarın temel nedenleridir. Yanık, hem lokal hem de yanık alanın genişliği ile bağlantılı olarak sistemik değişikliklere neden olur.

2.2.6.1 Yanığın lokal etkileri

Yanığın lokal etkileri, yanık etkenine ve etkilenme düzeyine göre hafiften ağıra doğru; hiperemi zonu, staz zonu ve koagülasyon zonu olarak 1953 yılında Jackson tarafından tanımlanmıştır.

Yanık yarısındaki lokal fizyopatolojik değişiklikler, bir alana düşen ısının neden olduğu etkiler ve bunların üzerine eklenen belirgin bir akut iltihabi süreç ile karakterizedir. Termal yanıklarda yaralanmanın ciddiyeti sıcaklık dercesine, temas süresine bağlyken, elektirik yanıklarında dokuların iletkenlik (direnç) özellikleri belirleyici rol oynar (Moritz ve Henriquez, 1947).

Termal yaralanma ile ciltte oluşan doku hasarı Jackson tarafından '3 Alan Teorisi' ile açıklanmıştır (Jakson, 1953). Bu teori, yüzeyden derine doğru iç içe geçmiş, eşmerkezli, üç boyutlu çembersel alanlardan meydana gelir (Şekil 2.4). Yanan deride yanık hasarı belirli bir süre hem etrafa doğru genişlemekte hem de derinleşmeye devam etmektedir.



Şekil 2.4 Jackson'un '3 Alan Teorisi' ve staz zonunun resüsitasyona cevabı (Hettiaratchy ve Dziewulski. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ, 2004)

Nekrotik zon; ısı kaynağına en yakın alandır, temas ile olan koagülasyon nekrozuna bağlı direkt hücre ölümünün gerçekleştiği alandır.

Staz zonu; ısı hasarının indirek etkisi ile doku dejenerasyonu ve kimyasal hasarın bulunduğu, kurtarılma potansiyeline sahip en kritik yanık bölgesidir. Yetersiz doku resüsitasyonu sonucu nekrotik alana dâhil olabilir (Hettiaratchy ve Dziewulski, 2004).

Bu bölgede dolaşım progresif olarak bozulur, iskemi gelişir ve bu da hücrelerin ölümüne neden olur. Mikrovasküler düzeyde patolojik süreç, ortaya çıkan prostoglandin F₂ ve tromboksan A₂ gibi vazoaktif aminler ile ilerlemeyi sürdürür. Yapılan bazı çalışmalarda bu mediatörlerin inhibe edilmesi ile trombosit adezyonunun ve vazokonstriksiyonun baskılanarak dermal perfüzyonun arttığı gösterilmiştir (Robson ve ark., 1980; Del Becarro ve ark., 1980).

Hiperemi zonu; kapiller vazodilatasyonun, termal veya kimyasal hasara bağlı enflamasyonun görüldüğü, en dıştaki perfüzyonu artmış bölgedir. Ödem, hiperemi, anoksi, eksudasyon gibi geri dönüşü olan kısmi hücre hasarı vardır.

Enflamasyon, özellikle membran fosfolipidleri hasarlandığı zaman başlar. Fosfolipaz A aktive olarak fosfolipidleri araşidonik aside yıkararak araşidonik asit kaskadını aktifler. Bu kaskadın ürünü olan çeşitli prostanoidler ve lökotrienler vazodilatasyona, kapiller geçirgenlik artışına, nötrofil kemotaksisi ve diapedezine, mast hücre degranülasyonuna neden olur. Diğer yandan aktive olan kompleman kaskadı da nötrofil kemotaksisini stimüle eder. Nötrofillerden serbest oksijen radikallerinin serbestleşmesi bir taraftan hücre membran peroksidasyonu ile hasar oluştururken diğer taraftan da fosfolipaz A'yı stimüle ederek enflamasyonu şiddetlendirir. Yapılan çalışmalarda nötrofilin damar duvarına yapışmasını önleyecek antikorların, yanık sonrası verildiği vakalarda lokal ödem ve nekrozun belirgin derecede azaldığı gözlenmiştir (Bucky ve ark., 1991; Bucky ve ark., 1994). Benzer şekilde lökositlerin bloke edildiği deneysel çalışmalarda flep yaşayabilirliğinin arttığı da gösterilmiştir (Vedder ve ark., 1994).

Yanık travması, etken ortada kaldırılrsa bile hasarlanmanın devam ettiği dinamik bir olaydır. İlk anda sıcak temasının neden olduğu koagülasyon nekrozunun ardından mikrotromboz ve kimyasal etkenlere bağlı ilerleyici iskemi ile hücre ölümü gelişir. Bu yüzden derinleşme riski bulunan yara 3-5 gün boyunca yakından takip edilmelidir (Kao ve Garner, 2000). Yanık sırasındaki doku perfüzyonun bozulması bölgede ısı değiştirme mekanizmasının yetersiz kalmasına, mikrotromboz ve mediatörler aracılığı ile doku iskemisinin derinleşerek hasarın artmasına neden olur (Latha ve Babu, 2001).

Hücrel hasarın çoğunun oluştuğu bölge kapiller endotelyumdur. Yanıklarda ya doğrudan kapiller endotelial hasara bağlı ya da dolaylı yoldan kininlerin salınımına bağlı olarak kapiller geçirgenlik bozulur.

2.2.6.2 Yanığın sistemik etkileri

İnhalasyon hasarı olsun ya da olmasın ciddi yanıklar başlangıçtan itibaren sistemik hastalıktır. Vücut yüzey alanının % 20'den fazlasının tutulduğu yanıklarda sistemik yanıt gözlenir (Grunwald ve ark., 2008).

Metabolik, kardiyovasküler, renal, gastrointestinal sistemlerde ve koagülasyon kaskadında patolojik değişiklikler olur. Kompleman ve koagülasyon sistem aktivasyonu ile mikrotrombozlar görülür. Histamin ve bradikinin salınımı kapiller geçirgenliğin artmasına, bölgesel ve uzak interstisiyel ödem gelişimine neden olur. Proenflamatuar ve antiinflamatuar cevap dengesizliğinden dolayı immün disfonksiyon gelişebilir. Ödem artışı, organ disfonksiyonu ve immün yetmezlik sonucu sepsis ve çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanan bakteri translokasyonu görülebilir.

Yanıkla birlikte vücutta yoğun bir enflamatuar mediyatör salınımı olur ve bu sistemik enflamatuar cevap sendromu (SIRS) ile sonuçlanır. Başlıca mediyatörler; histamin, kininler, vazoaktif aminler, prostoglandinler, lökotrienler, aktive olmuş kompleman sistemi elemanları, trombositleri aktive edici faktör (PAF) ve katekolaminlerdir (Brunicardi ve ark., 2005; Dolay, 2007). Bu mediyatörler vazokonstriksiyona, vazodilatasyona, kapiller permeabilitede artışa ve ödem gelişimine neden olurlar. Hafif yanıklarda maksimum ödem 8-12 saatte gelişirken, geniş yanıklarda maksimum ödem 12-24 saatte gelişir. Ödemden sorumlu tutulan mediyatörlerin çoğu venül endotel bütünlüğünü etkileyerek permeabilite artışına yol açarlar. Bu uzamış enflamasyon fazında, katabolizmaya bağlı hipermetabolizma ile birlikte hastaların %10'unda mortalite ve morbiditeye neden olan kardiyak disfonksiyon, hormonal değişiklikler görülür (Williams ve ark., 2009).

2.2.7 Tedavisi

Yanık tedavisi, yaralanmanın şiddetine göre pansumanla sekonder iyileşmeden başlayıp, greft veya flep ile rekonstrüksiyona kadar değişebilir. Tedavi basamakları, yanık derinliği değerlendirilerek cerrah, infeksiyon hastalıkları uzmanı, psikiyatrist,

hemşire, yara bakım teknisyeni, fizyoterapist ve diyetisyenin de dahil olduğu bir yanık tedavi ekibi tarafından uygulanmalıdır. Birinci derece yanıklar nemli yara bakımı dışında özel tedavi gerektirmezler. İkinci derece yüzeysel yanıklarda epidermis hasarlanmıştır ancak yara reepitelizasyonunu sağlayacak deri ekleri (ter bezi, kıl folikülü, sebasöz bezler) kısmen sağlamdır. Bu derece yanıklar 2-3 hafta içinde iyileşirler. İyileşmesi 3 haftadan uzun süren yanıklarda çoğunlukla hipertrofik skar gelişir. Bu yüzden yüzeysel yanıklardaki hedef, yara iyileşme ortamını optimize ederek iyileşme sürecini mümkün olan en kısa zamanda tamamlanmasının sağlanmasıdır.

Daha ciddi yanıklarda hava yolunun açık tutulması, sistemik ve mikrodolaşımın desteklenmesi gibi travmada uygulanan ilkyardım basamakları uygulanmalıdır. Yara iyileşmesi ise, etkilenen yüzey alanının geniş olması ya da yanık hasarının derin olması nedeniyle daha güçtür. Bu tür yaralanmalarda amaç yüzeysel yanıkların hızla yara iyileşme süreçlerinin tamamlanması, derin yanıklarda ise staz zonunun resüsitasyonu ile koagülasyon alanının daraltılmasıdır.

2.2.8 Yanıklarda sıvı replasmanı

Çocuklarda total vücut yüzey alanının (TVYA) % 10'u, erişkinlerde % 20'sinin üzerindeki yanıklarda tedavide parenteral sıvı replasmanı gerekmektedir (Goldstein ve ark., 1990). Sıvı miktarı değişik metotlarla hesaplanabilirse de en yaygın kullanılan yöntem Parkland formülüdür. Bu formülde yanığın yüzdesi başına her kilogram için 4 mililitre sıvı, çocuklarda ise idame sıvısına eklenir. İlk 24 saatte verilen sıvının yarısı yanığın olduğu saat temel alınarak ilk 8 saatte, geri kalanı ise 16 saatte verilir. Sıvı replasmanına başlanılan saatten itibaren idrar çıkışı monitorizasyonu idrar sondası ile takip edilmelidir. Çocuklarda 1-1,5 ml/kg/saat, erişkinde de 0,5-1,0 ml/kg/saat idrar çıkışı olması organ perfüzyonu ve böbrek fonksiyonları için yeterli kabul edilmektedir (Yowler ve ark., 2000). Çocuklarda ağırlığa dayalı vücut yüzey alanına göre yapılan replasmanlar daha güvenilirdir. Bunlardan biri Galveston Shriner Çocuk Yanık Hastanesinde uygulanan 5000 mL/m^2 yanmış TVYA + 2000 mL/m^2 TVYA şeklinde yapılan hesaplamadır. Literatür bilgilerine göre ilk 24 saatte en iyi replasman sıvısı Ringer Laktat olarak bildirilmektedir (Rose ve ark., 1997). Ancak infantlarda yetersiz karbonhidrat depolarından dolayı % 5' lik dekstroz idame sıvısına eklenmelidir.

2.2.9 Yara iyileşmesi

Yara iyileşmesi, travma ile başlayan hücresel ve biyokimyasal olayların yeni doku oluşumuyla sonuçlanmasıdır. Yara iyileşmesi birçok değişik hücre tipinin yanısıra çözünebilen mediyatörlerin ve ekstraselüler matriksin dahil olduğu dinamik bir süreçtir. Yaralanmadan stabil bir skar veya doku rejenerasyonu oluşuncaya kadar geçen süreçte, intrinsik ve ekstrinsik pıhtılaşma faktörlerinin aktive olduğu koagülasyon ve hemostaz evresi, nötrofil enflamasyonu ile başlayıp ardından bölgeye gelen makrofaj, fibroblast, mast hücre ve diğer hücre infiltrasyonları, yeni damar oluşumu, destek doku ve epitelizasyon, skar kontraksiyonu aşamaları birbiri içine geçerek devam eder.

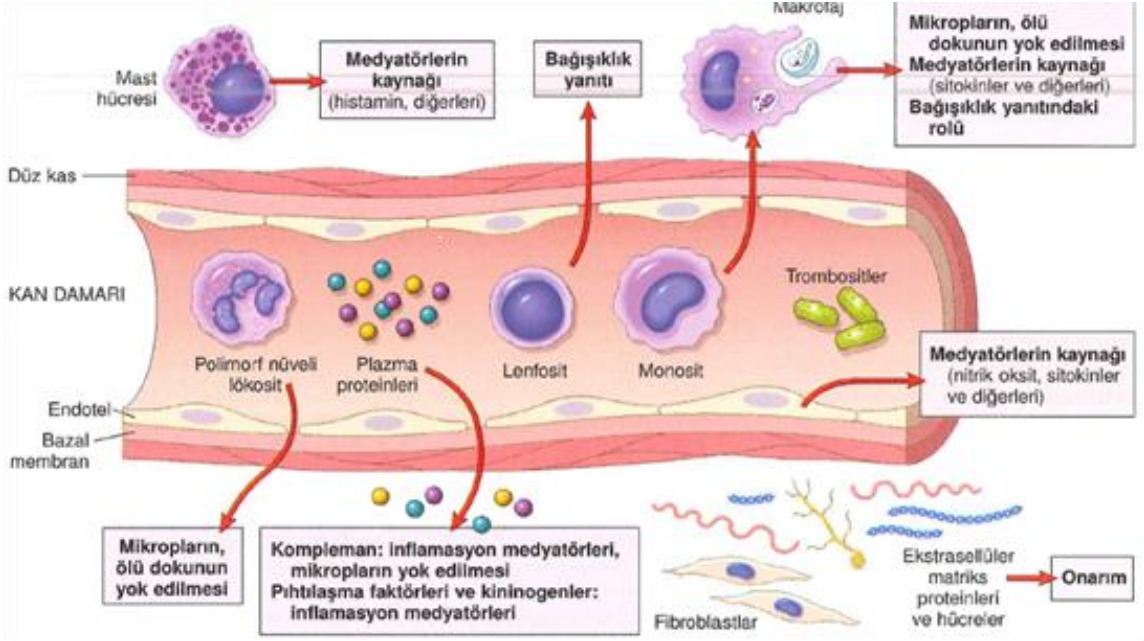
Akut enflamasyonda yarada ilk 24 saat içinde nötrofiller hakim olur (Furie ve ark., 2008). Nötrofillerin primer görevi, bakterilerin ve doku debrislerinin fagositozudur. Ayrıca, çeşitli enzim ve sitokinlerin de salınmasından sorumludur. Nötrofiller aynı zamanda serbest oksijen radikalleri ile bakterisit etkiye de sahiptirler. İnflamasyon sürecinde etkili sitokinler salgılayarak diğer hücreleri uyarıcı etki de gösterirler.

Yaralanmadan sonraki 48-72 saatde yarada hâkim olan hücreler makrofajlardır. İnflamatuvar ve proliferatif fazlarda etkilidirler. Hücre artıklarını fagosite ederler. Fagositoz yaparak bakteri ve debris yükünü azaltırlar. TGF- β , IGF-1, EGF vb. sitokinler salgılayarak hücre proliferasyonu, matriks sentezi ve anjiogenezi düzenlerler (Diegelmann, 1997).

T-lenfositler, başta IL-2 olmak üzere diğer faktörlerin de etkisiyle yara yerinde makrofajlardan daha az oranda bulunurlar. Yaralanmanın ikinci haftasında yara yerindeki esas lökosit alt grubudur. Makrofajlar gibi hem inflamatuvar hemde proliferatif fazda bulunurlar. Belli bir antijen tarafından harekete geçiriliren T hücresi, antijeni antikor üreten hücrelere tanıtır. Aynı zamanda lenfokinler salgılayarak lenfosit ve fibroblastar üzerine de etkilidir. Lenfositlerin yara iyileşme sürecini nasıl etkilediği tam olarak netlik kazanmamıştır (Gillitzer ve Goebeler, 2001).

Mast hücreleri enflamasyon fazında etkin rol oynayan kemik iliği orijinli bir bağışıklık sistemi hücresidir. Yerleştiği doku tipine göre şekillenip içerdiği granüllerinde histamin, sitokin (TNF-a), prostaglandin ve proteaz içerirler. Degranüle olduklarında kapiller geçirgenlik artar, hücresel aktivite ve kollajen depozisyonu ve yeniden şekillenme gerçekleşir.

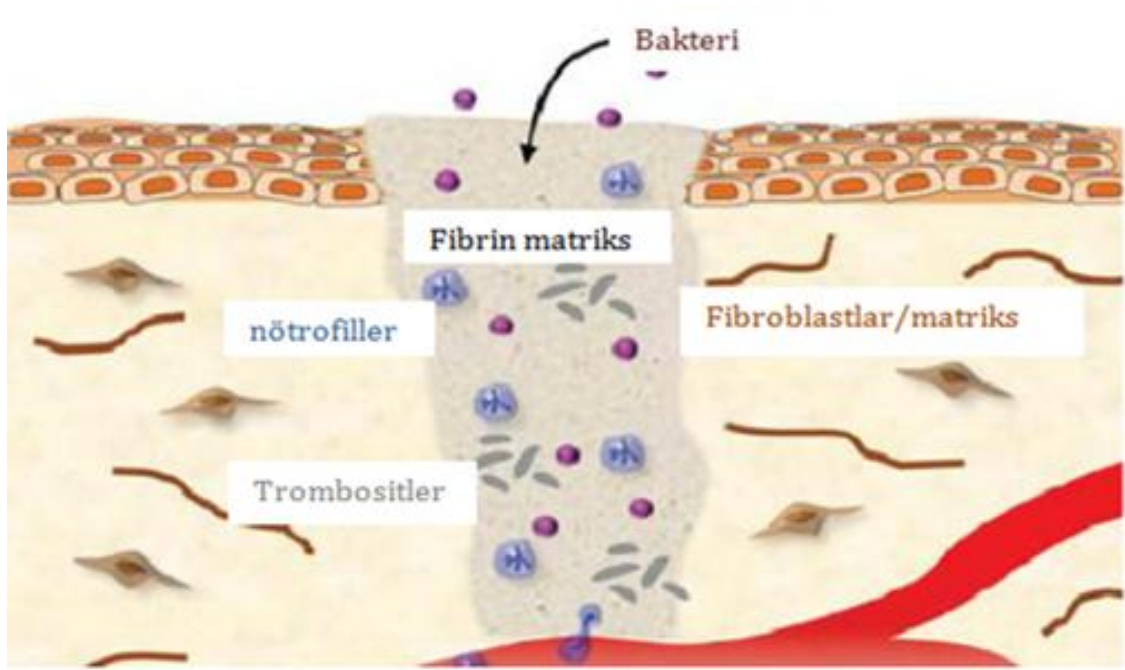
Yara iyileşmesi birbiri içine geçmiş 3 aşamadan oluşur: Hemostaz ve enflamasyon, Proliferasyon, Maturasyon ve Remodelling (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Yara iyileşmesindeki hücreler ve fonksiyonları (Robbins Temel Patoloji, 9. Baskı)

2.2.9.1 Enflamasyon Fazı

Doku hasarlanmasını müteakiben yara iyileşmesinin ilk fazı başlar. Yara bölgesindeki damarlarda geçici vazokonstriksiyon oluşur ve yaralanan damarlarda trombositlerin subendotel kollajen ile teması sonucu trombosit agregasyonu ve degranülasyonu oluşur. Ekstravasküler hücre yüzeyinde bulunan doku faktörlerinin etkisiyle intrinsik ve ekstrinsik koagülasyon zincirleri aktive olur. Trombin, fibrinojeni fibrine dönüştürür. Oluşan pıhtı ve geçici vazokonstriksiyon ile hemostaz sağlanır. Salgılanan mediatörlerin etkisi ile kapillerlerde vazodilatasyon ve permeabilite artışıdır. Nötrofillerin, makrofajların ve diğer enflamatuar hücrelerin migrasyonu uyarılır. Nötrofil, makrofaj, mast hücresi, vasküler endotel hücresi, kompleman ve antikordan zengin interstisyel ödem meydana gelir. Bu olaylar klinik olarak yarada kızarıklık ve şişme olarak kendini gösterir. Yara yerine ilk gelen enflamatuar hücreler nötrofillerdir ve yaralanmadan sonraki birkaç gün içinde bölgedeki baskın hücrelerdir (şekil 2.6).



Şekil 2.6 Yara iyileşmesinin enflamatuar fazı (Grabb and Smith's Plastik Cerrahi, 7. baskı)

Yaralanmanın erken döneminde, hasarlanmış keratinositlerden ve endotel hücrelerinden salgılanan monosit kemotaktik protein 1 (MCP-1), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1) gibi sitokinler ve fibroblast growth faktör (FGF), platelet derive edici büyüme faktörü (PDGF) gibi bağ dokusu büyüme hormonları, nötrofil ve monositlerin kemotaksisini sağlarlar (Gillitzer ve Goebeler, 2001).

Nötrofiller oksijen radikalleri ve hidrolitik enzimlerle yaradaki yabancı cisim, ölü doku ve bakteri fagositozunu yaparak hücrel debridman yaparlar. Nötrofiller çeşitli tipte proteazlara sahiptirler. Serin proteazlar geniş etki spektrumuna sahipken, metalloproteinazlar (çinko iyonu içeren) özellikle kollajen yıkımı yaparak matrikste makrofaj, fibroblast ve keratinositlerin yerleşmesini kolaylaştırır (Toriseva ve Kahari, 2009). Ayrıca nötrofiller prostoglandin E salgılayarak nekrotik dokunun daha kolay yıkılmasını sağlarlar. Nötrofiller, vasküler endotel büyüme hormonu (VEGF), TNF- α , IL-1 gibi yeni damar oluşumun sağlayan faktörler de salgırlar. Steril yaralanmalarda nötrofillerin yaradaki sayısı üçüncü günden itibaren hızla azalır. Nötrofiller bilinmeyen bir uyarıcıyla ölürler ve yerlerini makrofajlara bırakırlar.

Yaralanmadan 48-72 saat sonra yaralanma bölgesindeki baskın hücre tipini makrofajlar oluşturur. Monositlerin kemotaksisini sağlayan başlıca faktörler; transforming growth faktör beta (TGF- β), MCP-1, IL-1 ve TNF- α 'dır (Wolpe ve ark., 1988).

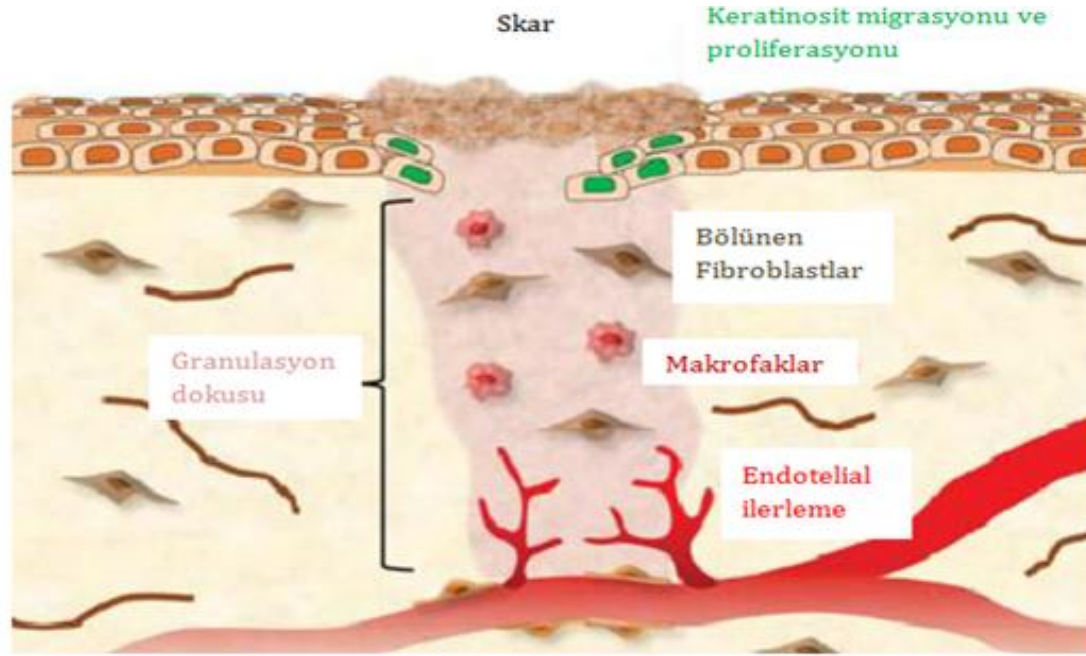
Monositler IL-2, TNF- α , interferon gama (IFN- γ) ve PDGF yardımıyla dokuda aktif makrofajlara dönüşürler. Aktifleşmiş makrofaj çok çeşitli madde salgılayarak fagositoz, matriks sentezi ve anjiogenezde rol alıp, yara iyileşmesinin esas düzenleyicisi olurlar (Singer ve Clark, 1999). Makrofaj yokluğunda yara iyileşmesi gerçekleşmez. Makrofajların salgıladıkları sitokinler (IL-1, TNF- α) aracılığıyla hem kendi üzerinde hem de nötrofiller üzerinde aktive edici etkisi vardır (Luster ve ark., 1997; Murphy, 1994).

Aktive makrofajlar; IL-6, IL-8, granülosit monosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF), MCP-1, IL-1, nitrik oksit (NO) salınımı yaparak anjiogenezde etkili olurlar. NO'nun aynı zamanda anti mikrobiyal etkisi de vardır. Endotel hücreleri, trombositler, fibroblastlar ve monositlerde nitrik oksit salgılayarak yarada sürekli NO bulunmasını sağlarlar. Yapılan deneysel çalışmalarda düşük konsantrasyondaki NO değerlerinin hücre proliferasyonunu arttırdığı, yüksek konsantrasyonlarda ise hücre farklılaşmasına neden olduğu bildirilmiştir. Enflamasyonun geç hücre tipi lenfositler ve mast hücreleridir ve 7. günün sonuna doğru pik yapmaya başlarlar. Lenfositlerin salgıladıkları IL-1 ve IFN- γ ile enflamasyon arttırıcı etkileri vardır. Yara mediyatörlerin tümü stimulan özellikte değildir. IL-4 ve IL-10 gibi sitokinler diğer sitokinlerin salınımını inhibe ederler. Enflamasyon, koruyucu ve tamir mekanizmaları ile ortadan kaldırılamazsa doku hasarına neden olur. Sonuçta fibrozis ve doku harabiyeti gelişir. Enflamasyona katılan değişik hücreler (makrofajlar, başta CD8 olmak üzere T lenfositler, nötrofiller) ve bunlardan salınan değişik mediyatörler (proteazlar, oksidanlar, ve toksik peptitler) bir taraftan doku hasarına neden olurken diğer taraftan makrofajları uyarmaktadır. Aktive makrofajlardan ve CD8 T lenfositlerinden nötrofil kemotaktik faktörler salınır. TNF- α , IL-8 ve lökotrien B₄ (LTB₄) gibi çeşitli enfilamatuvar mediyatörler ve reaktif oksijen radikalleri serbestleşmektedir. Makrofaj ve T lenfosit sayısı, parankim hasarının boyutları ile yakından ilişkilidir. Makrofajların, gerek nötrofil kemotaktik faktörler, gerekse proteolitik enzimler (matriks metalloproteinazlar)

üretmek, enflamatuar süreci yönlendirdiği düşünülmektedir. T lenfositlerin enflamatuar sürece katkıları ise çok iyi bilinmemektedir.

2.2.9.2 Proliferatif Faz

Proliferatif fazda ekstraselüler matriks (ECM) sentezi, epitelizasyon, anjiogenez ve yara kontraksiyonu görülür. Yarada pıhtı, nekrotik debris, yabancı cisim veya enfeksiyon gibi yara iyileşmesi için bariyer oluşturup enflamasyon sürecini uzatan etkenler ortadan kaldırıldıktan sonra, makrofajlarla birlikte fibroblastlar ve endotelial hücreler granülasyon dokusunu sentezlemeye başlarlar (şekil 2.5).



Şekil 2.7 Yara iyileşmesinin proliferatif fazı (Grabb and Smith's Plastik Cerrahi,7.baskı.)

Yara iyileşmesinde en belirgin gösterge, düzenli biçimde granülasyon dokusu oluşmasıdır (Kirsner ve Eaglsterin, 1993). Granülasyon dokusu; ECM, yeni kapiller tomurcuklanma ile fibroblast ve enflamasyon hücrelerinin birleşiminden oluşan yeni stroma oluşumunu tanımlar (Mutsaers ve ark., 1997; Regan ve Barbul, 1994; Calvin, 1998). Granülasyon ifadesi yara yüzeyindeki dokunun parlak kırmızı granüler görünümünden ileri gelmektedir. Her bir granül yeni bir kapiller tomurcuğu temsil eder.

Makrofaj kaynaklı sitokinler özellikle PDGF, TGF- β , 48-72 saatten itibaren ECM proteinleri ile etkileşerek yara çevresindeki dokudaki fibroblastlarda integrin

ekspresyonuna, proliferasyonuna ve migrasyonuna neden olur. Yaraya göç etmiş olan fibroblastlar özellikle TGF- β etkisiyle ECM için kollajenöz matriks üretirler (Clark ve ark., 1995; Welch ve ark., 1990).

İntegrinler fibroblast ve epidermal hücre yüzeyinde bulunan transmembran reseptörleridir. Yara iyileşmesi esnasında hücre fonksiyonunu düzenlerler. IL-1, TNF- α , PDGF, TGF- β ve EGF fibroblastlar için en önemli uyaranlardır. Otokrin ve parakrin etkiyle fibroblastlar Tip III kollajen, glikozaminoglikan (GAG) ve fibronektinden oluşan matriks sentezlerler. Fibroblastlar bağ dokuyu çevreleyen farklılaşmamış mezenkimal hücrelerden ve perivasküler adventisyadan köken alarak, önceden şekillenen fibrin pıhtısı içindeki lifler ve yeni gelişen kapillerler boyunca sitoplazmik uzantılar oluşturarak yaranın içine doğru hareket ederler. Yaradaki fibroblastlar makrofajlardan salınan TGF- β etkisiyle miyofibroblastlara dönüşürler. Enflamatuvar fazda oluşan geçici fibrin matriks, makrofajlar ve fibroblastlardan salınan metalloproteinazlar ile yıkılarak kollajen (önce tip III daha sonra tip I kollajen), glikoprotein (fibronektin, laminin) ve proteoglikandan (hyaluronik asit) zengin gevşek ekstraselüler matriks yapılarına dönüşürler. Üç sarmallı, sağlam polipeptid yapısında oluşan kollajen dermisin ve granülasyon dokusunun ana proteiniidir.

Kollajen matriks ile dolan yarada, fibroblastların kontakt inhibisyonu ile kollajen üretimi durur ve sonrasında hücreler bilinmeyen bir mekanizma ile apoptoza giderek aselüler skar formasyonu oluşur.

2.2.9.3 Epitelizasyon

Epitelizasyon, yaralanmadan sonra derinin koruyucu özelliğinin yeniden kazandırılması amacıyla epitel hücrelerin ayrılmasını, göç etmesini, çoğalmasını, organize ve keratinize olmasını sağlayan bir süreçtir. Bu süreç yaralanmayı takiben hemen başlar. Normal şartlarda keratinositler hemidesmozomları aracılığıyla bazal tabakaya, desmozomlar aracılığıyla da birbirlerine bağlıdır. Yaralanmada ise bu bağlarda etkili olan integrinler ($\alpha6$ - $\beta4$) değişime uğrarlar. Yeni integrinler ($\alpha5$ - $\beta1$) keratinosit içindeki aktinomyozin filamanlarında kontraksiyona, hemidesmozom yapılarında ise zayıflamaya neden olurlar. Ayrıca monofilamanların kısalması ve psöüpod benzeri çıkıntılarının şekillenmesiyle beraber hücrelerde belirgin bir fenotipik değişikliğe uğrarlar (Martin, 1997; Efron ve ark., 2005).

Epidermal hücrelerinin integrin reseptör ekspresyonu aynı zamanda ECM proteinleri (vitronektin / fibronektin) ile epidermal hücrelerin etkileşimine sebep olur. Yara kenarlarındaki keratinositler merkeze doğru göç etmeye başlarlar. Fakat hemostaz sırasında meydana gelen pıhtı epitelizasyon için engel oluşturur. Hasarlı dokuda bulunan plasmin ana fibrinolitik enzimdir.

Göç eden keratinositlerde, plasminojeni plasmine çevirecek olan doku tipi plasminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinaz plasminojen aktivatörü (uPA) ezimleri ve enzim reseptörlerinde artış vardır. t-PA, u-PA ek olarak kollajenazları da (matriks metalloproteinaz) aktifleştirerek kollajen ve ECM protein yıkımına yardımcı olur. Bu etki epidermal hücrelerin fibrin tıkaç içerisinde ilerlemelerini kolaylaştırır. Bu hücrelerin migrasyon ve proliferasyonunu başlatan uyarı henüz tanımlanmamış olmakla birlikte, *serbest kenar etkisi*'ne bağlı olabileceği bildirilmiştir. Yara kenarına komşu olmayan epidermal hücreler, lokal büyüme faktörü salınımı ve reseptörlerinin ekspresyonu ile hem kendi üzerindeki proliferasyonu hem de migrasyonu aktive edebilirler.

2.2.9.4 Anjiogenez

Yeni damar oluşumunda anjiyogenik sitokinler, proteolitik enzimler, migratuar faktörler gibi farklı proteinlerin etkin rol aldığı düşünülmektedir. Bu maddeler enflamatuvar hücreler, endotel hücreleri, fibroblastlar ve tümör komşuluğundaki makrofajlar tarafından üretilmektedir. (Leek ve ark., 2000).

Anjiogenez; epitelizasyon ve bağ doku oluşumu için gerekli oksijen, enerji ve ham maddelerin bölgeye taşınım, metabolit ve artık ürünlerin ortamdan uzaklaştırılması için gerekli olan yeni kan damarı oluşumunu tanımlar. Yeni damar oluşumu 24-48 saat içinde başlar ve yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra makroskobik olarak saptanabilir düzeye gelir. Yaralanma bölgesine yakın intakt venüllerden yara kenarına göç eden endotelyal hücreler proliferasyon olarak yeni kapiller tübüller meydana getirirler.

Hücre hasarlanması sonucu makrofajlardan FGF ve hipoksi sonucu keratinositlerden VEGF salgılanır. Yarayı çevreleyen ekstraselüler matriks proteinlerinin proteolitik enzimlerce yıkılması, yeni kapiller tübüllerinin oluşumunu ve granülasyon dokusuna doğru uzanımlarını kolaylaştırır (Pintucci ve ark., 1996).

Proteolitik enzimlerce yıkılmış proteinlerin artık parçacıkları periferik dolaşıma geçerek monositleri hasarlı bölgeye çeker. Bu hücreler hasarlanmış dokuya geçerek

aktive makrofaj olurlar ve anjiogenik faktörler (başta FGF olmak üzere TNF- α , VEGF, hipoksiye bağımlı faktör (HIF) ve IL-8 vb.) salgırlar (Shimura ve ark., 2000; Hashimoto ve ark., 2000; Khorana ve ark., 2003). Bu faktörler, prokollajenaz ve PA salgılaması için endotel hücreleri uyarır. PA, plasminojeni aktive plazmine, prokollajenazı da aktive kollagenaza çevirir. Bu iki proteaz bazal membranı yıkar. Hasarlanmış basal membran endotel hücrelerin anjizonom faktör salgılamalarına neden olur. Ayrıca endotel hücrelerinin ürettiği fibronektin reseptörleri damar çevresinde bulunan fibronektin ile etkileşerek yeni damar oluşumunun yaraya doğru ilerlemesi için kanal fonksiyonu görür (Clark ve ark., 1982; Brooks ve ark., 1994). Hem neovaskülarizasyonun başlatılmasında hem de yeni damar tomurcuklarının yaraya doğru yönelmesinde protezların çok önemli bir yeri vardır. Kapalı takip edilen yaralarda karşıt alanlardan birbirlerine doğru ilerleyen kapiller tübüller yarayı vaskülerize etmek için hızlıca birleşirler. Açık takip edilen yaralarda ise yeni oluşan tübüller birbirlerine komşu olarak aynı yöne doğru büyüme gösterirler ki bu granülasyon dokusunun oluşmasını sağlar (Hunt, 2006).

Neoanjiogeneizde rol alan büyüme hormonlarından bazıları; TNF- α , TGF- β , VEGF, FGF, PDGF, anjiogenin, anjiotropin, anjiopoetin-1, trombospondin, ürokinaz şeklinde olup, trombositlerden, makrofajlardan ve hasarlanmış endotel hücrelerinden salgılanırlar (Iruela-Arispe ve Dvorak, 1997).

VEGF en fazla yara kenarındaki keratinositlerden salgılanır. TNF- α , KGF (keratinosit büyüme hormonu), TGF- β , IL-1 keratinositlerden VEGF salınımına neden olur. Hipoksi endotel hücrelerinden NO salınımına neden olur ve VEGF salınımını arttırarak anjiogeneizde stimüle edicidir. NO ayrıca yeni oluşan dokuyu iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucudur. Büyüme hormonları gibi mediatörlerin yanında metabolik faaliyetler sonucu oluşmuş yara ortamı da anjiogeneiz sürecini etkiler. Laktik asidin artması pH'nın düşmesi ve nikotinamid dehidrogenaz (NAD, ATP) düşüşüne bağı oksijen miktarının azalması neovaskülarizasyonu inhibe eder.

2.2.9.5 Yara Kontraksiyonu

Yara kontraksiyonu yaralanmadan birkaç gün sonra başlar ve defektin kapatılması için yarayı çevreleyen yara dudaklarının merkeze doğru hareketi sonucu yara boyutunun azalmasıdır.

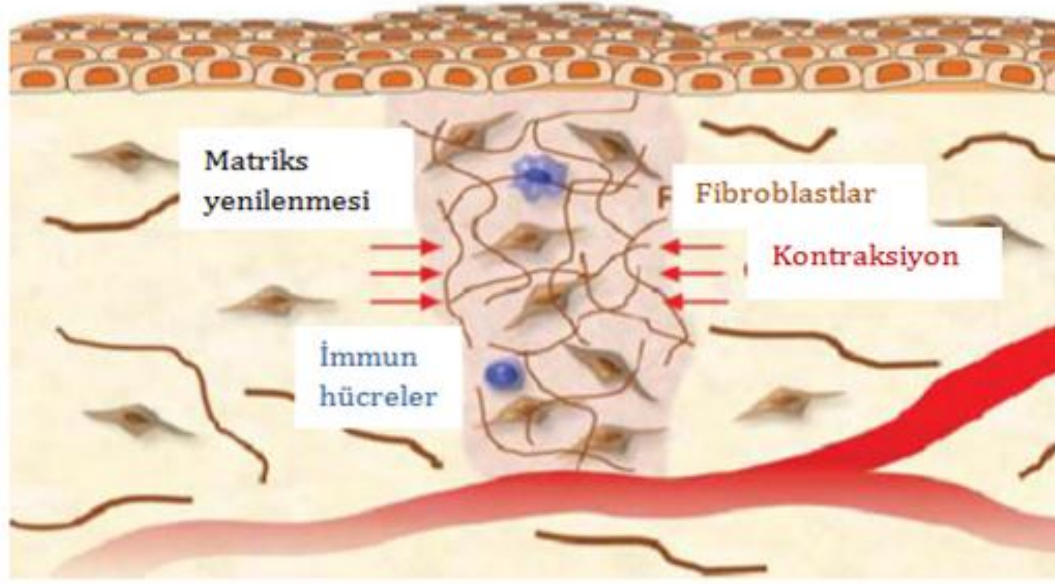
Deri bütünüğünün bozulmasıyla deride erken dönemde elastin liflerin refleks yanıtına bağlı yara kenarlarının uzaklaşması defektin büyümesi ile sonuçlanır. Ancak uzun dönemde granülasyon dokusu yara kenarlarını içeri çekerek epitelizasyon ile kapatılacak alanı daraltır. Bu olaylar zinciri hücreler arası, hücre-ECM ve sitokinlerin etkileşimiyle gelişir. İyileşmenin 2. haftasında fibroblastlar aktin filamanı içeren miyofibroblastlara dönüşür. Myofibroblastlar sadece yaralanan dokularda bulunur. Bu hücrelerin başlıca kaynağı hasarlı doku fibroblastları iken vasküler düz kas hücreleri de miyofibroblastlara dönüşebilir (Gabbiani ve ark.,1971). Kontraksiyonu başlatan esas uyarı EGF, TGF-1 veya TGF-2, PDGF olabilir (Montesano ve Orci, 1971). Düz kas hücrelerinden farklı olarak kontraksiyon geriye dönüşümsüzdür. Yara dudakları birbirleri ile temas sağladıklarında, miyofibroblastların gerim gücü yarayı çevreleyen derinin gerilimine eşit olduğunda veya miyofibroblastlarda yapısal bir bozukluk olduğunda kontraksiyon durur. Kontraksiyon tamamlandığında miyofibroblastlar ortadan kalkar (Bogatkevich ve ark., 2003).

2.2.9.6 Maturasyon Fazı

Yara iyileşme sürecinin son evresi olan maturasyon fazında yara bölgesindeki fibroblastların miktarı azalır, kollajen üretimi stabil hale gelir, epitelizasyonun tamamlanmasıyla yara makroskobik olarak soluk yara renginde görülür. Bu süreç, granülasyon dokusunun skar dokusuna dönüşmesini, ekstraselüler matriksin olgunlaşmasını kapsayan yara iyileşmesinin en uzun evresidir. Proliferasyon evresinin son aşamasında kollajen sentezinin başladığı (yaralanma sonrası ~1 hafta) safhadan skar formasyonunun tamamlandığı (12-18 ay) zamana kadar devam eder (şekil 2.6).

Maturasyon fazında yaranın yeniden şekillenmesi ve güçlenmesi için kollajen matriks depolanması ve çözünmesi devam eder. Yaralanmamış doku kollajen matriksi % 80 - % 90 Tip I kollajen, % 10 - % 20 Tip III kollajen içerirken, yaralanmış doku matriksinde erken dönemde % 30 Tip III kollajen depolanır. Tip III kollajenin baskın

olması, iç içe geçmek yerine paralel şekilde dizilimi ve kollajen içeriğinin büyük oranda glikolize halde bulunması nedeniyle erken dönemde güçsüz destek doku vardır ve yara direnci çok düşüktür. Yaralanmanın 1. haftasında matriks dayanıklılığı yaralanmamış dokunun %3'ü oranındadır. Kollajenazlar ve proteazlar bu erken kollajeni parçalayarak yeni kollajen depolanmasını sağlarlar. Yeni biriken kollajen ile matriks kalınlığının artması, lizil oksidaz ile bu kollajen fibriller arasındaki çapraz bağlanmanın sağlanması yara dayanıklılığını artırır.



Şekil 2.8 Yara iyileşmesinin maturasyon (remodeling) fazı (Grabb and Smith's Plastik Cerrahi, 7. baskı)

Zamanla tip I ve tip III kollajen miktarları hasarsız dokudaki miktarlarına yaklaşır. 3. haftada doku dayanıklılığı % 30'a ve iyileşmenin 3. ayında maksimum oran olan orjinal dayanıklılığın % 80'ine ulaşılmış olur.

2.3 Stromal Vasküler Fraksiyon (SVF)

Stromal vasküler fraksiyon (SVF), yağ greftlerinin santrifüj edilmesi sonucu elde edilen ve yağ dokusu kökenli mezenkimal kök hücrelerden (MKH) zengin bir yağ doku komponentidir.

Adipoz dokuya ait mononükleer fraksiyon *mitojenik aktivitesi süren adipozit prekürsörleri* olarak tanımlanmıştır (Hollenberg ve Vost, 1969). Daha sonra literatürde

stromal vasküler fraksiyon olarak bahsedilmiştir. (Riordan ve ark., 2009; Gimble, 2007; Gimble ve Nuttall, 2011).

Bilindiği üzere yağ dokusu insan vücudunun en büyük statik enerji deposudur. Bununla birlikte yağ dokusu; steroid üretiminde, termoregülasyon, sıvı ve elektrolit dengesinde metabolik olarak etkin rol alırken, yapısal destek ve hayati organların korunmasında da önemli rol oynar. Son yıllarda yağ dokusu kökenli periferik MKH kavramının ortaya çıkması ile yağ dokusu yeni bir bilimsel araştırma odağı haline gelmiştir (Rehman ve ark., 2004). Yağ dokusu heterojen stromal hücre popülasyonuna sahip bir dokudur. Bu özelliği ile yağ dokusu, kök hücreden zengin olduğunu bilinen kemik iliği ile benzeşmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, yağ dokusunun adipositler dışında, preadiposit, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, fibroblastlar ve multipotent yağ kaynaklı kök hücre (ADSCs, Adipose Derived Stem Cells) gibi hücreleri ihtiva ettiğini ortaya çıkarmıştır. Kök hücreler, bilindiği üzere diğer hücrelerden farklı olarak, kendi ve farklı türdeki hücrelere dönüşebilme kapasitesine sahip hücrelerdir. ADSCs, lipoaspirat materyalinin stromal - vasküler fraksiyonunda bulunmaktadır. Bu MKH'lerin kemik, kas, kıkırdak, sinir, kan damarları gibi birçok mezodermal kaynaklı dokuya dönüşebildiği in-vivo ve in-vitro deneylerle gösterilmiştir. Yanı sıra, yağ dokusundaki MKH miktarının sayısal olarak kemik iliğindeki kök hücre miktarının yaklaşık 500 katı olduğu ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalar yağ dokusu içerisindeki bu hücrelerin, anjiyogenik ve antiapoptotik salgılarında olduğunu göstermiştir (Rehman ve ark., 2004). Tüm bu bilgiler ışığında, kök hücre içeriği yüksek yağ greftinden elde edilen SVF'nun, verildiği dokularda yeni damar oluşumunu sağlayıp, vaskülariteyi arttırabileceği, hasara uğramış dokuları onararak eksiklikleri giderilebileceği fikri ortaya atılmıştır (Mojallal ve ark., 2004; Mazzola ve ark., 2009).

Stromal vasküler fraksiyon içerisindeki kök hücreler uygun ortamlarda çoğalabilmekte ve farklılaşabilmektedir. Bu hücreler tedavi amaçlı doku yenilenmesinde büyük bir potansiyel oluşturmaktadır. Yağ dokudan elde edilen kök hücreler, kemik iliğinden elde edilen kök hücrelerle aynı işleve sahiptir. Yağ dokunun avantajı daha kolay bir yöntemle elde edilebilmesidir (De Francesco ve ark., 2009). Stromal vasküler fraksiyonun, granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), damar endoteli büyüme faktörü (VEGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), bazik fibroblast büyüme

faktörü (b-FGF), ve transforming growth faktör - β (TGF- β) gibi anjiogenik ve antiapoptotik sitokinleri üretme potansiyeli vardır. Hipoksik ortamda stromal vasküler fraksiyondan VEGF salınımı belirgin derecede artmaktadır (Rehman J ve ark., 2004).

2.3.1 Kök hücre

Kök hücre, farklı hücre tiplerine dönüşme potansiyeline sahip embriyonik hücredir. Kök hücrelerin farklılaşma kapasitelerine göre; totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent olarak sınıflandırılabilirler. Bu hücreler embriyo, embriyo-sonrası tüm doku ve organlar ile embriyo-dışı membranların ve organların kaynağını oluştururlar.

Vücuttaki tüm hücelere dönüşebilme ve bir canlıyı oluşturabilme potansiyeline sahip olan ilk embriyonel hücreye totipotent hücre denmektedir. Zigot ve morula evresindeki hücreler totipotent hücredir.

Fertilizasyonun yaklaşık beşinci gününde, yaklaşık 150 hücreden oluşan ve içi sıvı ile dolmaya başlayan blastokist olarak adlandırılan yapı oluşur. Blastokisti oluşturan bu hücreler mezoderm, endoderm ve ektodermden köken alan çok farklı hücre tiplerine dönüşebilme potansiyelindedirler ve bu hücelere pluripotent hücreler denir. Vücuttaki bütün dokuları ve trofoblastları oluşturabilir ancak bir bireyi meydana getiremezler.

Hayatın ilerleyen dönemlerinde yerleştikleri dokunun hücre tipini üreten daha özelleşmiş olan kök hücelere multipotent yetişkin tip kök hücreler denir. Kemik iliği, kas gibi bir doku da yerleşik olarak bulunan kök hücreleri ise unipotent yetişkin kök hücreleri olarak adlandırılır. Embriyonik kök hücelere göre gelişmenin daha sonraki basamaklarında görülen multipotent kök hücreler elde edildikleri döneme göre daha kararlıdır, giderek daha sınırlı bir bölünme ve farklılaşma yeteneği gösterirler.

İlk başarılı kök hücre nakli 1955 yılında Dr. Donald Thomas tarafından uygulanmıştır. Ülkemizde İlk kök hücre tedavi uygulanması Dr. Süreyya Tahsin Aygün (1973) yapmıştır.

Yetişkin kök hücreler, vücutta birçok doku ve organda bulunurlar. Organizmadaki temel görevleri buldukları bölgedeki hücrelerin hasar görmesi durumunda çoğalarak hasarlı dokuyu tamir etmek ve dokunun devamlılığını sağlamaktır. Bunlar, farklılaşmasını tamamlamış dokularda uygun mikroçevre (yuva; kök hücre nişi) içerisinde uykuda bulunan henüz farklılaşmamış hücrelerdir. Bu hücreler her yaştaki

insanda bulunur. Vücudun gereksinimi olduğunda bu hücreler dokuya özgül hücre türlerine dönüşürler. Yetişkin kök hücreler kas, göz, karaciğer, deri, adipoz doku, kemik iliği ve sinir dokularında bulunurlar. Tipik olarak yetişkin kök hücreler buldukları dokunun hücre tiplerine farklılaşmaktadır. Son yıllarda gerçekleşen birçok deneyde belirli dokudaki kök hücrelerin tamamen farklı doku hücre tiplerini oluşturabileceği gösterilmiştir.

2.3.2 Yağ doku kökenli MKH'lerin Plastik Cerrahideki yeri

SVF'da bulunan MKH'ler, yeni damar oluşumu, doku veya doku onarımları için kemik, kırıldak, kas ve yağ dokusuna farklılaşma özelliğine sahip multipotent erişkin kök hücrelerdir (Semenza ve ark., 2007).

Yağ doku kökenli MKH'ler, liposakşın ile elde edilen yağdan izole edilebilirler. Şayet yağ dokusu abdominoplasti ya da bir başka vücut şekillendirme ameliyatı ile elde edilmişse çalışmaya başlamadan önce yağ dokusuna mikrodisseksiyon gerekir. Bundan sonra eritrosit sayısını azaltmak için yıkama, arkasından filtrasyon ve santrifüj yapılır. Santrifüj sonrası elde edilen süspansiyonda, SVF'da MKH'ler bulunur. Bu yağ dokusu kökenli kök hücreler direkt olarak kullanılabilir gibi kültür ortamına koyularak çoğaltılabilir (Semenza ve ark., 2007). SVF ile “zenginleştirilmiş” yağ dokusu transferlerinin, yüz atrofisi, kozmetik meme büyütme gibi alanlarda başarılı sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Asahara ve ark., 1997; Lu ve ark., 2008).

Hasarlı dokuda yeni damar oluşumunu uyaran sitokinler yerine temel yapı olarak kök hücre verilmesi, yeni damar gelişiminin ortamdaki belirli sayıda endotelial hücrelerle sınırlanmasını sağlar. Sitokin dokuya uygulanmasından ziyade birçok farklı hücreye farklılaşabilme potansiyeline ve karmaşık vaskülogenez basamaklarını düzenleyici etkiye sahip kök hücrelerin terapötik vaskülogenez için kullanılmaları savunulmuştur (Uysal ve ark., 2009).

Sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin yarı ömrünün kısa olması, anjiogenez için farklı sitokinlerin ve faktörlerin, farklı zamanlarda etkisinin gerekmesi tek başlarına başarılarının sınırlı olduğu düşüncesini doğurmuştur (Uysal ve ark., 2010; Simman ve ark., 2005).

Yağ dokusundaki stromal MKH'lerin vaskülogenez potansiyelleri, endotelial hücrelere dönüşebilme yeteneklerinin yanı sıra salgıladıkları büyüme faktörlerinden de

kaynaklanmaktadır. Kök hücrelerin invitro ortamda VEGF salgıladıkları gösterilmiştir (Nakagami ve ark., 2005; Yaşar ve ark., 2010).

Random cilt fleplerinde damarlanmayı artırmak için, yağ dokusu kökenli MKH uygulaması sonrası fleplerde canlılığın artırılabilirdiği ve damarlanma artışı sağlanabileceği gösterilmiştir (Mizuno ve ark., 2006). Yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin yeni damar yapısında endotel olarak yer aldıkları gözlenmiştir. Bu kök hücrelerin ayrıca sıçanlarda iskemik arka uzvu kurtardığı, myokard enfarktüsü sonrası kalp ventrikül fonksiyonlarını düzelttiği gösterilmiştir (Jacenko ve ark., 1995; Grimson ve ark., 1997).

Yağ dokusu kökenli MKH'ler, SVF olarak adlandırılan lipoaspirattan elde edilebilen MKH olmalarına rağmen kemik iliği kökenli MKH'lere çok benzerler. Daha kolay ve çabul üretilebilir olmalarına karşın kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerle eşdeğer etkinliğe sahip oldukları gösterilmiştir. Günümüzde yağ grefti uygulamalarının artması, yağ grefti elde edilmesinde daha az travmatik yöntemlerin geliştirilmesine ve bunun sonucu olarak % 50'ye varan uzun dönem sağ kalım oranlarının yakalanmasına yol açmıştır (Coleman ve ark., 2006).

2.3.3 Yağ greftinin alınması ve SVF'un hazırlanması

Yağ greftinin alınmasında iki temel yöntem vardır; yağın vücuttan diseksiyonla çıkartılması ve günümüzde en sık uyguladığı şekli ile vakum yardımı ile yağın alınması.

Yağ greftlerinin santrifüj edilmesi ile sıvı haldeki yağ, kan ve diğer sıvı bileşenlerinden ayrılarak hem greft sağ kalım oranı artırılmış hem de öngörülebilir sonuçlar elde edilebildiği gösterilmiştir (Pu ve ark., 2009).

Yağ dokusu transferi ile ilgili makro ve mikro düzeyde birçok teknik geliştirilmeye devam etmektedir. Bu konu ile ilgili deneysel bazdaki çalışmalar incelendiğinde yağ dokusunun aktarımı sırasındaki hazırlık aşamasında santrifüj oranıyla ilgili farklı görüş ve uygulamalar vardır (Yamamoto ve ark., 2007).

SVF, yağ dokudan özel teknikle elde edilen bir üründür. Sıçanlarda SVF hazırlanırken, önce inguinal bölgelerinden yağ yastıkçıkları diseksiyonla çıkartılır. Kontamine olmuş hematopoetik hücreleri uzaklaştırmak için doku yıkanır. Yağ dokusu ince uçlu bir doku makası ile küçük parçalara bölündükten sonra kollajenzla muamele edilip santrifüj yapılır. Sonrasında matür adipositler üstte, pelet halindeki SVF altta kalacak şekilde ayrımları yapılmış olur (Bunnel ve ark., 2008)

2.4 PRP

2.4.1 Tanımı

Trombositten zengin plazma (platelet rich plasma – PRP), tam kanın sentrifüj edilmesi ile elde edilen ve tam kandan daha yüksek yoğunlukta trombosit içeren plazma komponentidir (Paoloni ve ark. 2011). Otolog PRP toksik değildir, immünreaktif değildir ve yara iyileşmesi süreçlerini hızlandırır.

2.4.2 PRP’de büyüme faktörleri

Trombositlerin alfa granüllerinde çok sayıda büyüme faktörü bulunmaktadır. Bunlardan bazıları; PDEGF (Platelet-Derived Epidermal Growth Factor, Trombosit Kaynaklı Epidermal Büyüme Faktörü), PDAF (Platelet-Derived Angiogenesis Factor, Trombosit Büyüme Faktörü Kaynaklı Anjiogenezis Faktör), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1, İnsülin benzeri büyüme Faktörü-1), TGF- β (Transforming Growth Factor- β , Transforme Edici Büyüme Faktörü- β), VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü), FGF-1 ve FGF-2 (Fibroblast Büyüme Faktörü 1 ve 2), EGF (Epidermal Büyüme Faktörü), PF-4 (Platelet Factor 4, Trombosit Faktör 4)’dür. PRP içeriğindeki büyüme faktörleri birbirleri ve çevrelerindeki moleküller ile etkileşime geçerek tek bir büyüme faktörü kullanımına göre daha avantajlı olmaktadır (Hupp 2008, Özkaynak 2007).

PRP, bir büyüme faktörünün fonksiyonunu ikinci ve üçüncü büyüme faktörlerinin varlığında hızlandırır ve düzenler. Bu özelliği PRP’deki büyüme faktörlerinin rekombinant büyüme faktörlerinden ayrıldığı yerdur. Tek büyüme faktörü sadece tek bir rejenerasyon süreci üzerine odaklanır. Yara bölgesinde rekombinant büyüme faktörleri fonksiyon gösteremez çünkü bölgedeki büyüme faktörlerini regüle etme özellikleri sınırlıdır (Lynch, 1999).

2.4.2.1 PDGF (Platelet Derived Growth Factor, Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü)

PDGF, trombositlerin etkili olduğu neredeyse tüm yara iyileşmelerinde izlenir. Trombositlerin rolü, büyüme faktörü rezervuarı olmak ve bir hemostaz faktörü işlevi görmektir. Yaralanma bölgesinde hızlıca oluşan kan pıhtısı içerisindeki büyüme faktörleri, daha hızlı doku tamiri oluşumunu ve dolayısıyla daha başarılı bir iyileşmenin gerçekleşmesini sağlarlar. Yara iyileşmesi üzerinde PDGF’nin pek çok pozitif etkisi

bulunmaktadır. Mitogenezi, anjiogenezi düzenler. Ayrıca PDGF diğer büyüme faktörlerinin ve iyileşme üzerinde etkili hücrelerin işlevlerinin düzenlenmesinden sorumludur.

PDGF bir glikoproteindir. Trombositlerdeki primer büyüme faktörü olmasına rağmen makrofajlar ve endotel hücreler gibi hücreler tarafından da sentez edilir ve salgılanır. PDGF trombositlerin degranülasyonu sonucu yara bölgesine dağılır. Her bir trombositte yaklaşık 1200 PDGF molekülü vardır. Bu miktar PDGF'nin potansiyelinin vurgulanması açısından önemlidir. PDGF, moleküllerin membran reseptörlerine bağlandıklarında etkisi başlar. Hücrelerin popülasyonlarının artması, anjiogenezin ve makrofaj aktivasyonunun başlaması bu bağlanmanın gerçekleşmesine bağlıdır (Lynch 1999, Hupp 2008).

2.4.2.2 TGF- β (Transforming Growth Factor- β , Transforme Edici Büyüme Faktörü- β)

TGF- β 1 ve TGF- β 2, TGF- β ailesinin üyeleri olup bağ doku iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda büyüme faktörü olarak ve hücre farklılaşmasına neden olan faktör olarak görev yaparlar. Hem TGF- β 1 hem de TGF- β 2, PDGF gibi trombositlerden sentezlenirler ve dolayısıyla PRP'de bulunurlar. Ayrıca makrofajlarda ve osteoblastlarda sentez edilmektedirler. Trombositlerin degranülasyonu ile salındıklarında ya da makrofajlardan salındıklarında büyüme faktörü olarak işlev görürler. Fibroblastlar, kemik iliği kök hücreleri ve preosteoblastlar etkiledikleri hücrelerden bazılarıdır. Buna rağmen bu hedef hücrelerden her biri kendine ait TGF- β sentez ve sekresyonunu yapabilir. TGF- β 1 ve TGF- β 2'nin en önemli fonksiyonu bağ doku yara iyileşmesini ve kemik oluşmasını sağlamasıdır.

Yara iyileşmesinin remodeling fazında da etkileri vardır. Özellikle yara iyileşmesinde esas görevi olan hücrelerin proliferasyonu, diferansiyasyonu ve gen ekspresyonunu etkileyerek, bazı fibrotik hastalıkların da patogeneziinde rol alırlar. Ekstrasellüler matrikse mitojenik, kemotaktik ve anabolik etkileri olup, enflamatuvar ve immün cevabın hem hücresel hem de humoral basamaklarında, ayrıca anjiogeneziinde rol alırlar (Pierce, Mustoe ve ark., 1989; Grazul-Bilska ve ark., 2003).

2.4.2.3 IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1, İnsülin benzeri Büyüme Faktörü-1)

Büyüme faktörleri tüm yara iyileşmelerini başlatmaktadırlar. Doğal yenilenme ve tamir süreçlerinde çeşitli avantajları vardır. Trombositler içerisindeki büyüme faktörleri bu süreçleri desteklemektedir.

2.4.2.4 VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)

Tümör anjiogenezisi üzerindeki etkisi nedeniyle tanımlanmış bir faktördür (Storkebaum ve ark., 2004). Tümör hücrelerince salgılan VEGF vasküler endotel hücre geçirgenliğini arttırarak, ödeme neden olmaktadır ve bu nedenle '*vasküler permeabilite faktörü*' olarak nitelendirilmiştir. Endotel hücreleri için güçlü anjiogenik etki göstererek anjiogenezisi arttırır.

2.4.2.5 FGF-1 ve FGF-2 (Fibroblast Growth Factor-1 and 2, Fibroblast Büyüme Faktörü 1 ve 2)

Endotel hücreleri, nöral hücreler, vasküler düz kas hücreleri ve keratinositler tarafından üretilebilirler ve her iki faktör de mezoderm ve nöroektoderm kökenli hücreler üzerine kuvvetli mitojenik etki gösterir (Grazul-Bilska ve ark., 2003). Hasar sonrası enflamasyon bölgesinde kemotaksis, hücre proliferasyonu ve diferansiasyonunu desteklerler, anjiogenezisi uyarırlar (Nurden ve ark., 2008).

2.4.2.6 EGF (Epithelial Growth Factor, Epidermal Büyüme Faktörü)

1962 yılında Stanley Cohen tarafından erkek fare submandibuler bezinden izole edilmiştir (Özbayoğlu, 2008). Endotel hücreleri, fibroblastlar ve sinir sistemi destek doku hücreleri için mitojeniktir. Ayrıca, vasküler düz kas hücrelerine de mitojenik olup, anjiogenezde de rol alır.

2.4.3 PRP'nin hazırlanması ve kullanımı

PRP mutlaka otolog hazırlanmalıdır (Tsay ve ark., 2005). Dohan ve ark. trombosit ürünleri hazırlanış tekniklerini dört gruba ayırmışlardır;

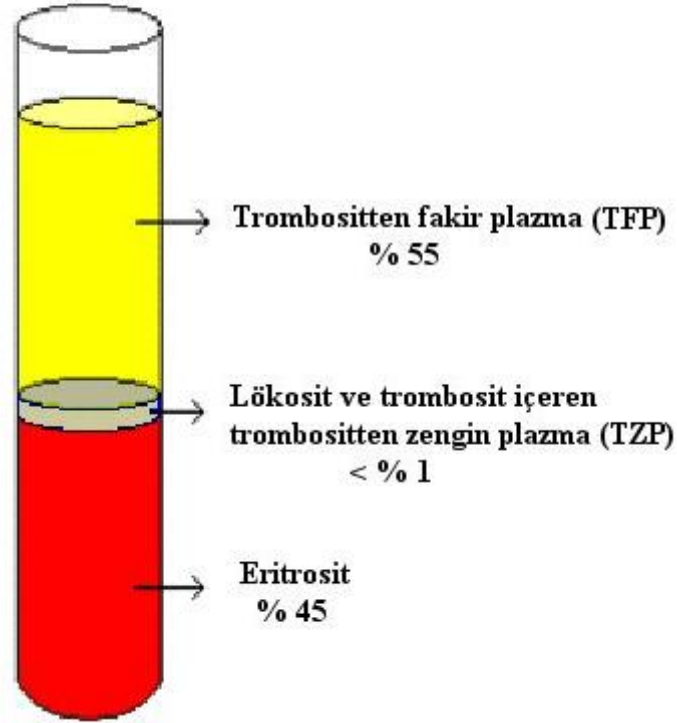
- Saf-PRP (P-PRP, Pure-Platelet Rich Plasma, Saf-Trombosit Zengin Plazma): Anuita'nın PRGF'si (Plasma Rich in Growth Factors), Vivostat PRF (Platelet Rich Fibrin), hücre ayırıcı PRP olarak sunulan tekniklerdir.

- L-PRP (Leukocyte and Platelet Rich Plasma, Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma): Curasan, Regen, Plateltex, SmartPREP, PCCS, Magellan ya da GPS PRP olarak ticari kullanıma sunulan tekniklerdir.

- Saf-PRF (P-PRF, Pure Platelet Rich Fibrin, Saf-Trombositten Zengin Fibrin): Fibrinet tekniğidir.

- L-PRF (Leukocyte and Platelet Rich Fibrin, Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin): Choukroun'un PRF tekniğini kapsayan bir sınıflamadır.

PRP elde etmenin birçok değişik yolu vardır. Fakat en çok iki yol kullanılmaktadır. Birincisi hematolojik hücre ayırıştırıcıları ile yapılan kompleks teknikler, diğeri ise kullanılmaya hazır kitlerle yapılan basitleştirilmiş tekniklerdir. Bu basitleştirilmiş teknikte iki basamaklı santrifüj ile trombosit konsantrasyonu elde edilmektedir. Anuita'nın tariflediği teknikte, %3,8 lik sodyum sitrat ile yıkanmış enjektöre 2 ml kan alınır. Santrifüj tüpüne konulan kan 1800 devirde 8 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası tüpün alt kısmında eritrositlerin ağırlıkta olduğu kanın şekilli elemanları, üst kısmında trombositten fakir plazma toplanır (şekil 2.7).



Şekil 2.9 Santrifüj işlemi sonrası kanın tabakalara ayrılmış şematik görünümü (Recep ve ark., 2011'den değiştirilerek alınmıştır)

Ortada kalan trombositten zengin plazma, altta şekilli elemanlar ile birleştiği hattın hemen üzerinden bir enjektör yardımıyla alınır. Sıçanlardan, alınan 1.5 ml kandan bu teknikle 0.2 ml PRP elde edilmekte, bunu aktifleştirmek için 0.01 ml kalsiyum klorid eklenip oda ısısında 10 dakika bekletilmektedir (Pietrzak ve ark., 2005; Anitua ve ark. 1999; Whitman ve ark., 1997).

Ortada kalan trombositten zengin plazma, altta şekilli elemanlar ile birleştiği hattın hemen üzerinden bir enjektör yardımıyla alınır. Sıçanlardan, alınan 1.5 ml kandan bu teknikle 0.2 ml PRP elde edilmekte, bunu aktifleştirmek için 0.01 ml kalsiyum klorid eklenip oda ısısında 10 dakika bekletilmektedir (Pietrzak ve ark., 2005; Anitua ve ark. 1999; Whitman ve ark., 1997).

PRP, bir kez üretildiğinde antikoagüle durumda, stabil ve steril olarak 8 saat kalır. Bu durumda, plazma ve şekilli elemanlar birbirinden ayrılarak saklanmalıdır çünkü konsantre PRP yavaşça aşağı dağılırarak eritrositle karışır ve RPP içeriğindeki trombosit miktarı düşer.

PRP, çeşitli şekillerde uygulanabilir. Örneğin; kemik grefti ile muamele edilebilir, bir tabaka olarak tek başına greft gibi yerleştirilebilir, yumuşak doku yüzeyine sprey gibi sıkılabilir, greftin en üstüne uygulanabilir ya da biyolojik bir membran gibi kullanılabilir (Garg, 2004).

Pıhtılaşma ile trombositler aktive olur, hızlı bir şekilde büyüme faktörlerini salgılamaya başlarlar. 10 dakika içerisinde sahip oldukları büyüme faktörlerinin %70'ini salgırlar ve yaklaşık %100'ünü ilk saatte salgılamış olurlar. Sonrasında ilave miktarda büyüme faktörlerini 8 gün boyunca tükenip canlılıklarını yitirinceye kadar sentez ederler.

Pek çok cihaz PRP hazırlamada kullanılmaktadır. Kullanıcı, PRP cihazının hazırladığı konsantrasyonun hasar görmemiş en az 1,000,000 trombosit/ μ L içermesi, steril olması ve enfeksiyon riski içermemesi gerektiğini akılda tutmalıdır. Otolog kandan trombositlerin doğru olarak konsantre edilmesi için cihazın çift santrifüj tekniğini kullanması gerekir. İlk santrifüjde plazmadan az sayıda kırmızı kan hücresi ile birlikte trombositler ve beyaz kan hücreleri uygun şekilde ayrılır. İkinci santrifüjde ise yüksek sayıdaki kırmızı kan hücreleri trombositten fakir plazmadan ayrılır. Eğer tek santrifüj tekniği kullanılırsa; kırmızı kan hücreleri trombositlerin arasına girerek, uygun şekilde trombosit ayrıştırılmasına engel olacaktırlar (Marx, 2001).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada deney hayvanlarına uygulanan tüm cerrahi işlemler ve hayvanların bakımı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu (HADYEK, 2013/27) onayı ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi bünyesindeki Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Çalışmada denek olarak 300-350 gram arasında ağırlığa sahip toplam 45 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deney süresince, hayvanlar farklı kafeslerde, aynı laboratuvar koşullarında (standart oda sıcaklığı ve normal gün ışığı), sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendiler.

3.1 Deneklerin hazırlanması

Deneklere cerrahi işlemler genel anestezi altında yapıldı. Anestezi, kas içine 50 mg/kg ketamine hidrokloride (Ketalar® 50 mg/ml flakon, Pfizer) ve 0,65 mg/ kg xylazine hidrokloride (Rompun® flakon, Bayer) enjeksiyonu ile sağlandı. Anesteziyi takiben deneklerin sırtı önce elektrikli tıraş makinesi ile, ardından tıraş bıçağı ile tıraşlanıp savlon (%10) solüsyon ile dezenfekte edildi.

3.2 Yanık modeli

Çalışmada yanık modeli olarak, Aslan (2011)'nın literatürdeki benzer yanık modellerini geliştirerek tezinde kullandığı yanık modeli baz alındı. Yanık oluşturmak için, ucunda 15 mm çapında bakır levha bulunan, otomatik termostatlı, elektrikli ısıtıcı kullanıldı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan termostatlı elektrikli ısıtıcı.

Yanık oluşturulacak bölgeler, sıçanların skapula posterioruna uyan sırt derilerinde, orta hattın sağında ve solunda, aralarında yaklaşık 20 mm intakt deri kalacak şekilde, 15 mm çaplı olarak işaretlendi (şekil 3.2).



Şekil 3.2 Tıraş edilip savlon ile dezenfekte edilen sıçanın sırtında, termal yanık oluşturulacak bölgeler, 15 mm çapta ve aralarında 20 mm intakt deri adası kalacak şekilde işaretlendi.

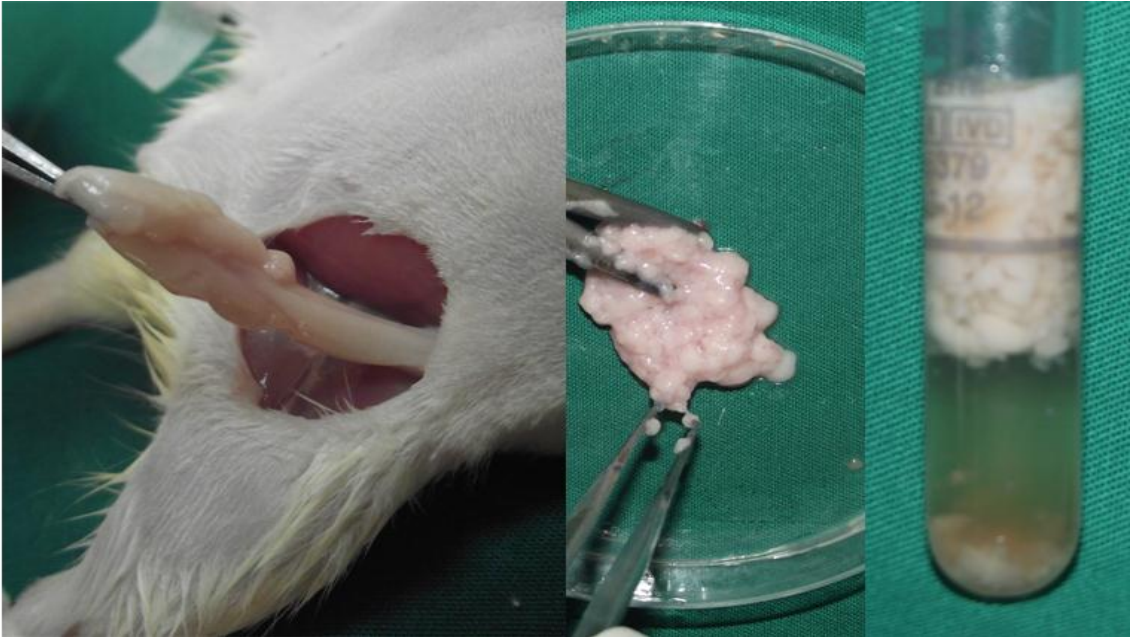
İşaretlenen bölgelere 120°C sıcaklığa sahip ısı probu16 sn. boyunca uygulanarak derin dermal yanık oluşturuldu. Oluşturulan dermal yanık ile yanık derinliğinin, yara iyileşmesi için kaynak oluşturulabilecek deri tabakalarını tutması, böylelikle bazal tabaka, dermal sitokinler ve kök hücreleri içerebilecek deri eklerinin devre dışı kalması sağlandı.

3.3 Çalışma Grupları

Her birinde 15 adet hayvan olacak şekilde; Stromal vasküler fraksiyon (SVF) grubu (1. Deney grubu), Trombositten zengin plazma (PRP) grubu (2. Deney grubu) ve SVF ile kombinasyonlu PRP grubu (3. Deney grubu) oluşturuldu. Her hayvanın sırtında oluşturulan iki yanık lezyonundan birisi deney, diğer tarafı kontrol kabul edildi.

3.4 Grup 1: SVF grubu (n:15)

Bu gruptaki sıçanların hepsinin sırtında aynı anda yanık oluşturduktan sonra kendi aralarında 3 alt gruba bölündüler. Yanığın erken, orta ve geç dönem safhasındaki etkisini ortaya koymak için sırasıyla yanığın 1. haftasında 5'ine, 2. haftasında diğer 5'ine ve 3. hafta sonunda kalan 5'ine, her bir sıçanın inguinal yağ yastıkçığından otolog hazırlanan SVF uygulandı. Bunun için önce diseksiyonla her bir sıçanın inguinal bölgelerinden yağ yastıkçıkları çıkartıldı. Suyla yıkanarak hematopoetik hücreler uzaklaştırıldı. Yıkanan yağ dokusu ince uçlu bir doku makası ile mekanik olarak küçük parçalara ayrıldıktan sonra içerisine %0,1'lik kollojenaz tip I (C0130, Sigma Aldrich™, St. Louis, MO) ve tip II (C6885, Sigma Aldrich™, St. Louis, MO) konulup 37 °C'de 30 dk bekletildi. Üzerinde biriken triglisertiten zengin yağ tabakası uzaklaştırıldı. Ardından 3000 devir/dk'da 5 dk süreyle santrifüj edilerek dipte çökmüş halde SVF matür adipositlerden ayrılmış oldu (Şekil 3.3)

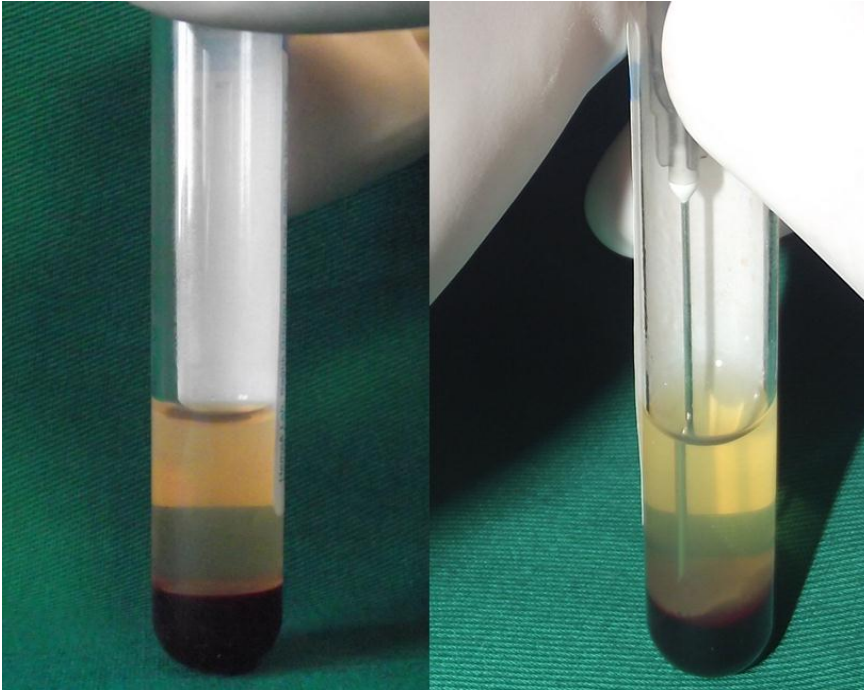


Şekil 3.3 Sıçanın inguinal bölgesinden yağ yastıkçığının çıkartılması, mekanik olarak parçalanmış hali ve santrifüj ile dipte çökmüş halde SVF görülmekte.

SVF, 0,2 ml dozunda, sol taraftaki yanık lezyonunun 4 kutbundan girilerek subdermal enjekte edildi. Sağ taraf yanık lezyonu kontrol kabul edildi. Bu gruptaki sıçanların hepsinde yanığın 4. haftasının sonunda spesmenler alındı.

3.5 Grup 2: PRP (Platelet Rich Plasma, Trombositten zengin plazma) grubu (n:15)

Bu gruptaki sıçanlarda kendi aralarında 3 alt gruba bölündüler. Sırasıyla 1. hafta sonunda 5'ine, 2. haftanın sonunda diğer 5'ine ve 3. haftanın sonunda kalan 5'ine PRP uygulandı. Otolog PRP hazırlamak için, hemen uygulama öncesi 21G enjektör ucu ile sıçanın dorsal kuyruk veninden girilerek, % 3,8'lik sodyum sitrat ile yıkanmış tüpe 1,5 ml kan alındı. Bu miktar ortalama büyüklükteki bir sıçanda hayvanı şoka sokmadan tek seferde alınabilecek maksimum kan miktarı olarak bilinmektedir (Abdurrahman A ve ark.,2010). Anuita'nın tarif ettiği saf PRP tekniğine uygun olarak, alınan kan santrifüj tüpüne konuldu ve 1800 devirde 8 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün alt kısmında kırmızı renkte kanın şekilli elemanları, en üst kısmında ise açık sarı renkte trombositten fakir plazma toplandı (şekil 3.4). Bir enjektör yardımıyla ortadaki trombositten zengin 0,2 ml'lik plazma kısmı alındı. Alınan plazmayı aktifleştirmek için içerisine 0,01 ml kalsiyum klorid eklenip karıştırılarak uygulama yapıldı (şekil 3.5).



Şeki 3.4 Santrifüj sonrası elde edilen PRP'nin görünümü



Şekil 3.5 Enjeksiyona hazır haldeki PRP'nin görünümü ve uygulaması

Elde edilen PRP, sıçanın sol taraf yanık lezyonuna tıpkı 1. grupta olduğu gibi 4 kadrandan girilerek subdermal uygulandı. Aynı şekilde sağ taraf yanık lezyonu kontrol kabul edildi. Bu gruptaki sıçanlarda da yanığın 4. haftasının sonunda spesmenler alındı.

3.6 Grup 3: SVF ve PRP grubu (n:15)

Bu gruptaki sıçanlarda, kendi aralarında 5'erli 3 alt gruba bölündüler. İlk 5'ine 1. hafta, diğer 5'ine 2. hafta ve son 5'ine 3. hafta sonunda SVF ve PRP karışımı kombine tatbik edildi. Her sıçanda tıpkı 1. grupta olduğu gibi önce inguinal bölgelerinden yağ yastıkçıkları çıkartılıp benzer işlem uygulanarak SVF elde edildi. Sonra tıpkı 2. grupta olduğu gibi kuyruk veninden alınan 1.5 ml kandan PRP hazırlandı. Yine sol taraf yanık lezyonuna hem SVF, hem de PRP kombine olarak yine 4 kutbundan 0,4 ml subdermal mesafeye uygulandı, sağ tarafları kontrol kabul edildi (şekil 3.7).



Şekil 3.7 3.Grupta, hazırlanmış SVF ve PRP karışımının uygulanması görülmekte
Yine hepsinde yanığın 4. haftasında sakrifiye edilerek spesmenler alındı.

Her üç grupta da sıçanların sol taraf yanık lezyonları deney uygulanan taraf, sağ taraf yanık lezyonları da kontrol tarafı kabul edildi. Böylelikle aynı sıçan üzerinde hem deney hem de kontrol grubu birlikte çalışılmış oldu. Sol taraf yanık lezyonuna ilgili gruptaki deney işlemi uygulanırken, sağ kontrol taraflarına Grup 1 ve Grup 2’de 0,2 ml, Grup 3’de 0,4 ml % 0,9 NaCl solüsyonu aynı seansta subdermal verildi.

3.7 Histopatolojik örnek alınması ve hazırlanması

Her 3 grupta da yanığın 4. haftasının sonunda, deney ve kontrol taraflarını içerecek şekilde sıçanın tüm sırt derisi spesmen olarak alındı. Düz mukavva üzerine iğneler ile tutturularak kontrakte olmaları engellendi. Örnekler %10’luk nötr tamponlanmış formolin solüsyonunda 1 hafta tespit edilerek fiksasyon işlemi tamamlandı. Ardından doku örnekleri bir gün boyunca akarsu altında yıkayıp Thermo Sandon marka doku takip cihazı kullanılarak alkol ve ksilen serilerinden geçirilerek üç ayrı parafin infiltrasyonunun ardından bloklandı. Doku takip süreci Tablo 3.1’de özetlenmiştir.

Mikrotom (Leica RM2125RT, Germany) ile parafin bloklardan sistematik rastgele 1/40 örnekleme ile cam lamalar üzerine 10 µm kalınlığında transvers kesitler alındı. Alınan kesitler 60°C sıcaklıktaki etüvde 1 gece boyunca bekletilerek kesitlerden parafin uzaklaştırıldı. Ardından kesitler deparafinizasyon işlemini tamamlamak için ksilen solüsyonlarından geçirildi. Bu işlemlerden sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi tamamlanan kesitler hematoksilin-eozin boyama tekniği ile boyandı

Boyanan tüm kesitler rutin histopatolojik inceleme ve stereolojik analiz için entellan ile kapatıldı.

3.8 Stereolojik Analiz

Sistematik Rastgele Örnekleme kuralına göre, ilgilenilen alanı ve hacmi örnekleme amacıyla transvers alınan eşit uzaklıktaki (1/40) kesitler kullanıldı. Sistematik rasgele kesit örnekleme aralığı, hata katsayısı (*Coefficient Error*) göz önünde bulundurularak pilot çalışmaya göre belirlendi. Tüm seri kesit görüntüleri ışık mikroskopunda (Zeiss Primo Star, P.O.B. 4041, 37030 Göttingen, Germany) x10'luk ve x40'luk büyütmede incelendi ve Cavalieri hacim hesaplama yöntemi ile Fujitsu marka bilgisayar monitörü kullanılarak iki nokta arasında 0,5 mm'lik uzaklığın bulunduğu noktalı alan cetveli yardımıyla yanık alanı, dermis, epidermis ve kapiller hacimleri hesaplandı.

Cavalieri prensibi kısaca, eşit aralıklı ve paralel dilimlere ayrılmış bir yapının hacmini hesaplama yöntemidir. Kesitlerin aynı yöne bakan yüzeylerinde ilgilenilen yapıya ait izdüşüm yüzey alanları hesaplanarak, elde edilen “toplam yüzey alanı”, ortalama kesit kalınlığı ile çarpılır ve böylece incelenen kesit görüntülerindeki yapının toplam hacminin tarafsız bir hesaplaması elde edilmiş olur.

Alan hesaplaması için ise en basit ve tarafsız yöntem bir noktalı alan ölçüm cetveli kullanmaktır. Noktalı alan ölçüm cetveli, birbirlerinden eşit aralıklarla ayrılmış noktaları temsil eden sistematik (+) işaretlerinden oluşur. İşaretler arasında sabit bir aralık (d) bulunduğundan her bir nokta bir birim kareyi (d^2) temsil eder. Bu birim kare ya da dörtgen, ‘nokta ile ilişkili alan’ [a(p)] olarak bilinir. Bir görüntü üzerine rastgele yerleştirilen böyle bir cetvelin noktalarından kaç tanesinin ilgilenilen görüntü üzerine isabet edeceği, kesit alanının büyüklüğüne ve noktalar arası mesafeye bağlıdır.

Bu artıların her birinde tespit edilen sabit bir nokta, sayım için kullanılır. Kesit görüntüsü üzerine rastgele biçimde konuşlandırılan bu cetveldeki noktalardan ilgilenilen alanın görüntüleri üzerine düşenler sayılır. Kesit görüntüsünün alanı (A), düşen toplam nokta sayısı (Σp) ile bir noktanın temsil ettiği alanın $[a(p)]$ çarpımı ile hesaplanabilir; $A = \Sigma p \cdot [a(p)]$

Bahsi geçen yöntemle yapılan hesaplamaların, gelişmiş görüntü analiz sistemleri ile yapılan hesaplamalarla kesinlik ve doğruluk açısından bir fark göstermediği ortaya konmuştur.

Stereolojik çalışmaların en önemli avantajlarından biri, çalışmanın hata miktarının çalışma yapılmadan önce hesaplanabilmesidir. Kullanılan ölçüm cetvelleri ve yapı arasındaki ilişki, yapılan örnekleme ve hesaplamanın doğruluğu ve kesinliği açısından çok önemlidir. Örnekleme ve nokta sayımlarının iş yükünü artırmadan en uygun şekilde yapılabilmesi, esas çalışmaya başlanmadan önce yapılacak bir ön çalışma sonucunda elde edilen verilerden, hata katsayısı (HK) hesaplamasının yapılmasıyla sağlanabilir. CE değeri, yaptığımız alan ve kesit örneklemelemlerinin hata miktarını belirtir ve yüzde 5'den daha küçük değerler, yeterli bir kesinlik olarak kabul edilir (Kiki ve ark., 2007).

3.9 İmmünohistokimya İnceleme

Çalışmamızda, elde edeceğimiz histolojik doku bloklarında Ki-67 parametresi ile immunohistokimyasal olarak mitotik aktiviteye bakıldı.

3.10 Çalışmanın sonlandırılması:

Çalışma ile ilgili kısım alındıktan sonra sıçanlara yüksek doz anestezi madde ile ötenazi uygulandı.

3.11 İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 21.0 for MAC (IBM Corporation) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında OneWay ANOVA ve Tukey Post-Hoc Testi kullanıldı ve 0.05 anlamlılık derecesi (p) baz alındı. Çalışma 4 farklı parametre üzerinde incelendi; Kapiller sayımı, Epidermis hacmi, Dermis/Bağ doku infiltrasyonu ve Yanık hacmi.

4. BULGULAR

Toplam 5 hayvan, anestezi ve işlem esnasında öldü. Çalışma dışı kalan hayvanlar yenisi ile takviye edildi. Tüm gruplarda deney eksiksiz tamamlandı.

4.1 Histopatolojik Bulgular

Alınan spesmenler üzerinde yapılan histopatolojik ve immünohistokimya incelemelerde; her üç grubun deney ve kontrol taraflarında, 1., 2., ve 3. haftalardaki uygulamalara ait kapiller sayısı, epidermis hacmi, bağ doku infiltrasyonu ve yanıklı dokunun hacmi ölçüldü.

4.1.1 Kapiller sayısı

Stereolojik yöntemler kullanılarak spesmenlerde kapiller sayımları yapıldı. Kapiller sayısının artmış olması yara iyileşmesi açısından olumlu bir durum olarak kabul edildi.

Deney grupları kontrol tarafları ile karşılaştırıldığında SVF ve SPRP gruplarında tüm haftalardaki uygulamalar sonrası kapiller sayıları artmıştı. PRP grubunda 1. ve 2. hafta uygulama yapılan alt gruplarda kapiller sayıları anlamlı derecede artmamış, 3. haftada artış anlamlı bulunmuştur.

1. Hafta SVF uygulanan grupta kapiller sayıları 2. ve 3. haftada uygulanan alt gruplardan daha yüksek ölçüldü.

SPRP grubunda anjiyogenezin 1. hafta, 2. hafta ve 3. hafta da SVF ve PRP gruplarından daha fazla oranda arttığı, yalnızca 1.hafta da SVF ile aralarında anlamlı fark olmadığı bulundu. (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4,5).

4.1.2 Epidermis hacmi

Epidermal hacmin artmış olarak saptanması yaranın kötü yara iyileşmesi potansiyeli taşıdığı lehine yorumlandı.

SVF, kontrol tarafı ile karşılaştırıldığında 1. ve 2. haftalarda epidermal hacmin kontrol tarafında anlamlı derecede artmış olduğu, 3. haftada ise anlamlı fark olmadığı saptandı.

PRP, kontrol tarafı ile karşılaştırıldığında epidermal hacim açısından anlamlı bir fark gözlenmedi.

SPRP'nin kontrol tarafı ile karşılaştırılmasında, kontrol tarafında 1. ve 2. haftalarda anlamlı artış varken, 3. haftada anlamlı bir artış gözlenmedi.

SVF ile PRP karşılaştırıldığında, sadece 2. haftada SVF grubunda epidermal hacmin PRP'den daha anlamlı derecede az olduğu görüldü.

SVF ile SPRP karşılaştırıldığında, yalnızca 2. ve 3. haftalarda hacim SVF grubunda anlamlı derecede daha azdı.

PRP ile SPRP karşılaştırıldığında ise, 1. haftada PRP'de epidermal hacim anlamlı derecede düşük saptandı. Oysa 3. haftada SPRP'de epidermal hacim anlamlı derecede düşük bulundu (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.6).

4.1.3 Bağ doku infiltrasyonu

Alınan histolojik kesitlerde, stereolojik yöntemler kullanılarak yanıklı dokularda bağ doku infiltrasyonu hesaplandı. Bağ dokuda, başta kollojen lifler olmak üzere enflamatuvar infiltrasyonunun fazla olması yaranın kötü yara iyileşmesi potansiyeli taşıdığı lehine yorumlandı.

SVF, kontrol tarafı ile karşılaştırıldığında 1. ve 2. haftalarda bağ doku infiltrasyonunun kontrol tarafında anlamlı derecede fazla olduğu, 3. haftada ise anlamlı fark olmadığı saptandı.

PRP, kontrol tarafı ile karşılaştırıldığında bağ doku infiltrasyonunun yalnızca 2. haftada kontrol tarafında arttığı, 1. ve 3. haftalarda aralarında anlamlı fark olmadığı görüldü.

SPRP'nin kontrol tarafı ile karşılaştırılmasında, kontrol tarafında 1. ve 2. haftalarda anlamlı artış varken, 3. haftada anlamlı bir artış gözlenmedi.

SVF ile PRP karşılaştırıldığında, 2. ve 3. haftada SVF grubunda bağ doku infiltrasyonunun PRP'den daha anlamlı derecede az olduğu görüldü.

SVF ile SPRP karşılaştırıldığında, yalnızca 2. haftada bağ doku infiltrasyonu SPRP grubunda anlamlı derecede daha azdı.

PRP ile SPRP karşılaştırıldığında ise, sadece 2. haftada SPRP'de bağ doku infiltrasyonu anlamlı derecede düşük saptandı. (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.7).

Tüm gruplarda yanığın erken geç (2. hafta) döneminde daha aktif olan, bağ dokudaki mitotik aktiviteyi göstermek için ki-67 antikoru kullanılarak immünohistokimyasal

boyama yapıldı. (Şekil 4.4). Her grupta kontrol tarafına göre mitotik aktivite yüksek gözlemlendi.

4.1.4 Yanık hacmi

Hazırlanan preparatlarda gereç ve yöntem bölümünde detaylı tariflenen stereolojik teknikler kullanılarak yanıklı dokunun hacmi hesaplandı. Hacim azalması iyileşme açısından olumlu bir bulgu olarak kabul edildi.

Gruplar kendi kontrol tarafları ile karşılaştırıldığında, SVF'un uygulandığı tüm haftalarda anlamlı olarak yanık hacmi kontrol tarafından daha az ölçüldü. PRP'nin 2. hafta uygulandığı grupta ve SPRP'ninde 1. ve 2. hafta uygulandığı gruplarda kontrol taraflarına göre anlamlı hacim azlığı vardı.

SVF ile PRP karşılaştırıldığında, 1. haftada SVF grubunda, 3. haftada da PRP grubunda yanık hacmi anlamlı derecede az bulundu.

SVF ile SPRP karşılaştırıldığında, yalnızca 2. haftada SVF grubunda yanık hacmi SPRP grubunda anlamlı derecede daha azdı.

PRP ile SPRP karşılaştırıldığında ise, 1. ve 3. haftalarda SPRP'de yanık hacmi anlamlı derecede düşük saptandı. (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2) (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.8).

SVF grubu

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	137.000 ± 51.134	81.600 ± 20.561	2300.000 ±149.215	300,000 ± 46.998
2.Hafta	128.000 ± 60.319	88.000± 21.364	1350.000 ± 87.714	980.000 ±37.335
3.Hafta	145.400 ± 56.224	245.400 ± 40.327	1780.000 ±105.228	1540.00 ± 86.734

PRP

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	36.000 ±10.787	172.600 ± 36.948	2190.000 ±130.369	500,000 ± 20.701
2.Hafta	66.400 ±17.316	228.800 ± 43.740	1164.000 ±76.274	1100.00 ± 51.238
3.Hafta	98.000 ±17.191	234.200 ± 39.948	1940.000±129.319	730.000 ± 32.218

SPRP

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	139.000±29.327	89.000±20.117	2250.000±117.436	788,000 ± 58.718
2.Hafta	178.000±37.566	213.600±58.636	2330.000±110.368	730.000 ± 54.116
3.Hafta	182.200±39.432	408.800± 67.694	2210.000±146. 324	810.000 ± 60.341

Kontrol

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	46.800 ± 7.492	204.800 ± 54.662	2050.000 ± 192.412	1020.00 ± 46.816
2.Hafta	55.200 ± 8.497	219.000 ± 52.118	1560.000 ± 123.581	1600.00 ± 98.571
3.Hafta	58.600 ± 0.193	179.400 ± 47.356	1770.000 ± 140.136	700.000 ± 61.591

Tablo 4.1 Bütün gruplarda 1., 2. ve 3. hafta yapılan uygulamalara ait kapiller sayıları, epidermal hacimleri, bağ doku infiltrasyonu ve yanık hacmi değerlerinin karşılaştırılması (± SD, standart sapma).

SVF ile PRP karşılaştırması (p)

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	0.001	0.005	0.05	0.0001
2.Hafta	0.001	0.0001	0.0001	0.05
3.Hafta	0.002	0.05	0.02	0.0001

SVF ile SPRP karşılaştırması (p)

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	0.05	0.05	0.05	0.05
2.Hafta	0.03	0.000	0.001	0.002
3.Hafta	0.04	0.001	0.05	0.05

PRP ile SPRP karşılaştırması (p)

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	0.0001	0.000	0.05	0.002
2.Hafta	0.0001	0.05	0.001	0.05
3.Hafta	0.0001	0.000	0.05	0.001

SVF ile kontrol tarafı karşılaştırması (p)

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	0.0004	0,003	0,001	0,001
2.Hafta	0.000	0,001	0,001	0,001
3.Hafta	0.0001	0,05	0,05	0,001

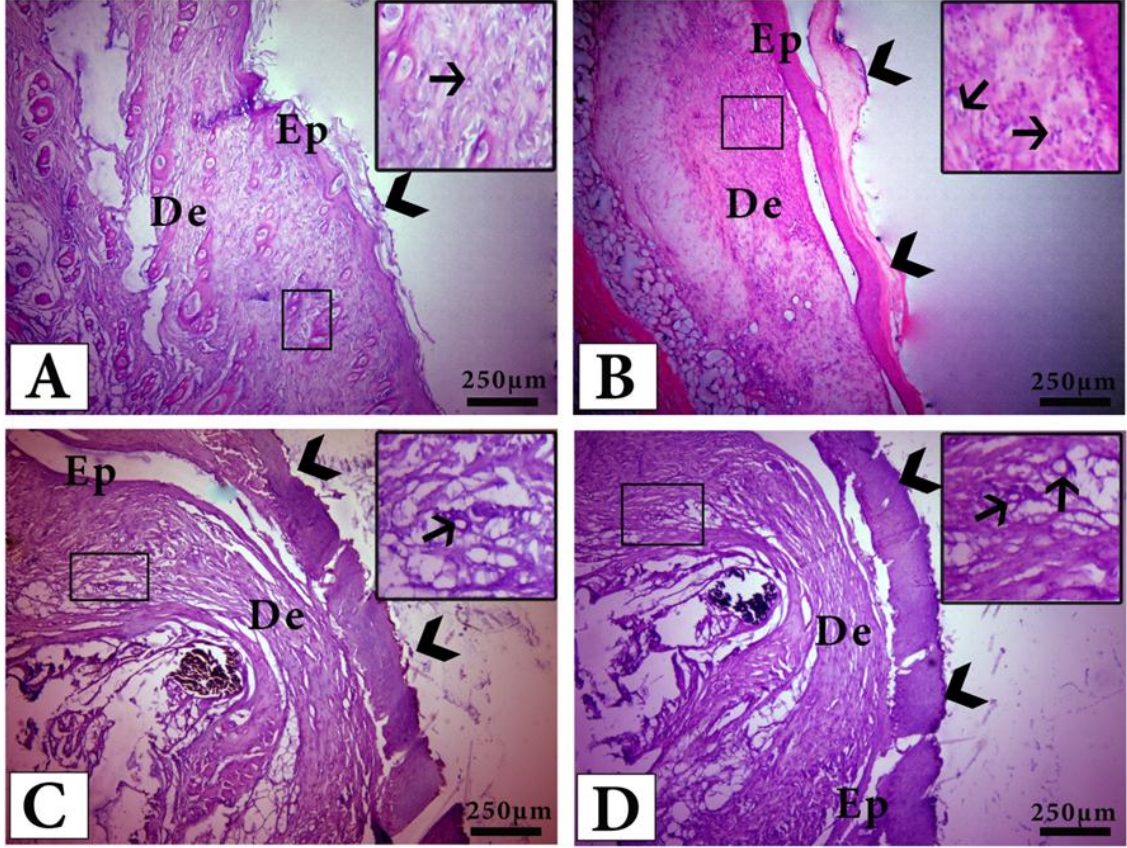
PRP ile kontrol tarafı karşılaştırması (p)

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	0.05	0,05	0,05	0,05
2.Hafta	0.05	0,05	0,001	0,001
3.Hafta	0.04	0.05	0,05	0,05

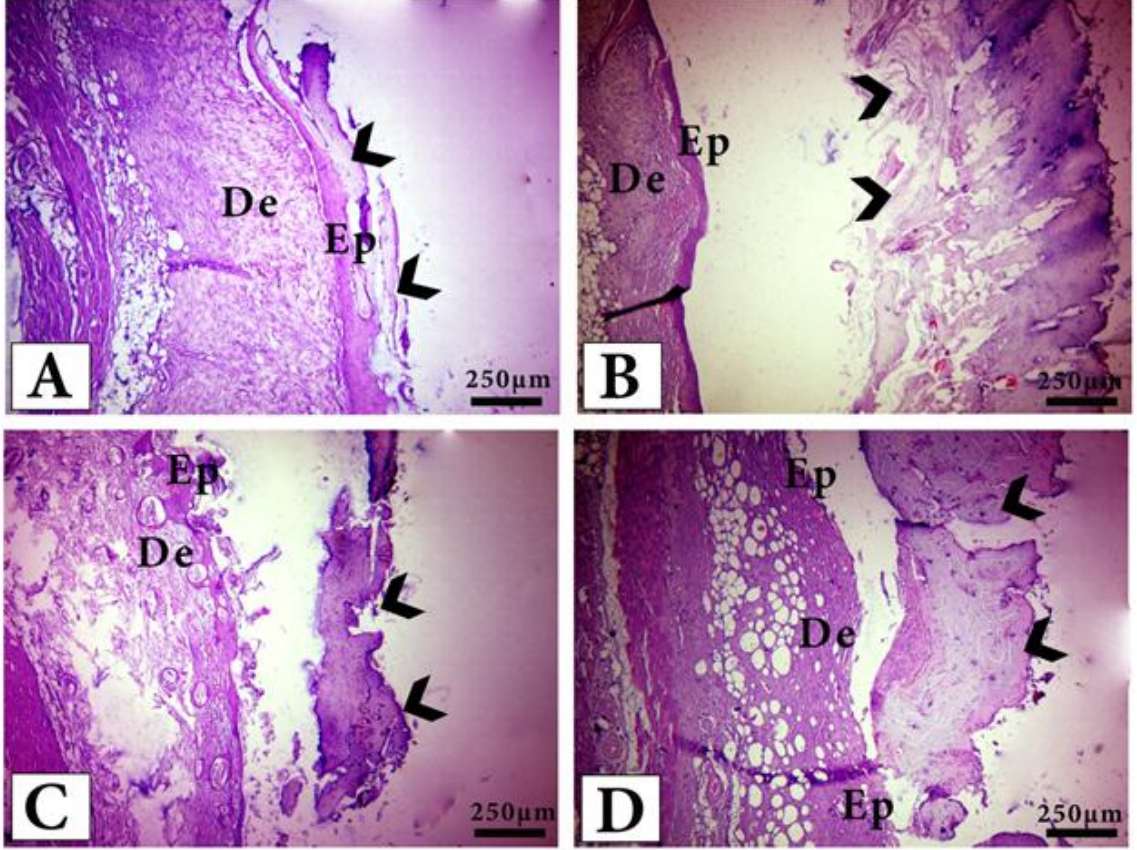
SPRP ile kontrol tarafı karşılaştırması (p)

	Kapiller sayısı	Epidermal hacim	Bağ doku infiltrasyonu	Yanık hacmi
1.Hafta	0.0002	0.001	0,004	0,004
2.Hafta	0.000	0,001	0,001	0,001
3.Hafta	0.0001	0,05	0,05	0,05

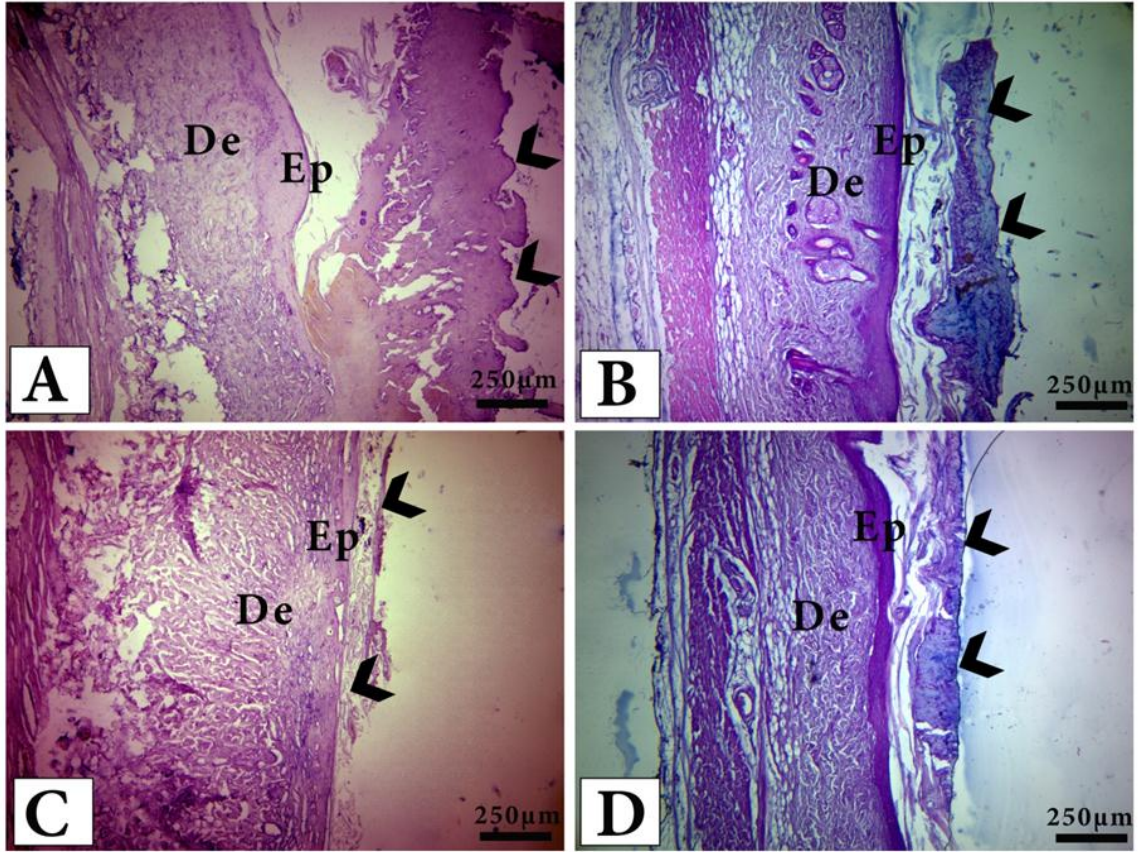
Tablo 4.2 Bütün grupların 1., 2. ve 3. hafta yapılan uygulamalara ait kapiller sayıları, epidermal hacimleri, bağ doku infiltrasyonu ve yanık hacmi karşılaştırmalarına ait P değerleri sunulmuştur.



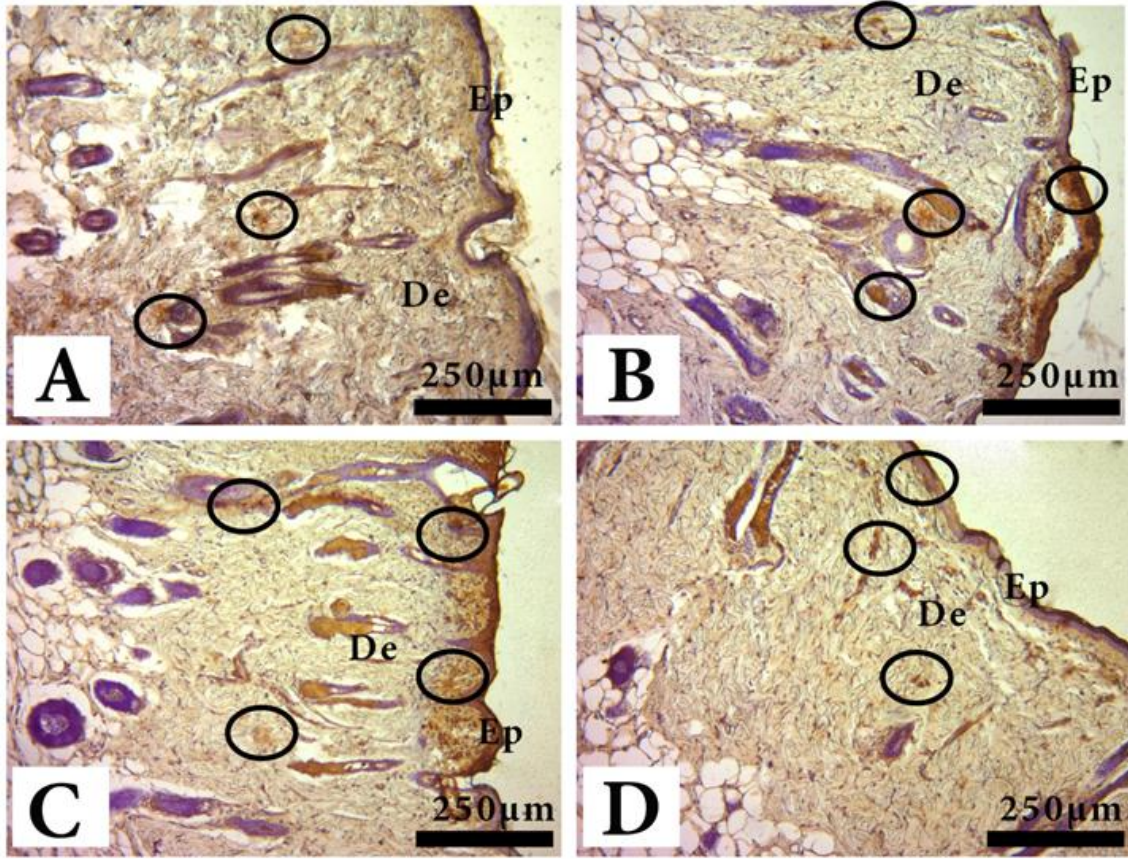
Şekil 4.1 1. Haftada gruplardan alınan kesitlerde epidermal hacim, kapiller yoğunluğu, bağ dokusu infiltrasyonu ve yanık hacmi görülmekte. **(A)** SVF grubu, **(B)** SPRP grubu, **(C)** PRP grubu, **(D)** kontrol. **Ep**; epidermis, **De**; dermis, **Ok başı**; yanık yüzeyi, **Dikdörtgen**; kapiller artışı, **Ok**; kapiller damarları göstermektedir (x10 ve x25 büyütme, H&E boyama).



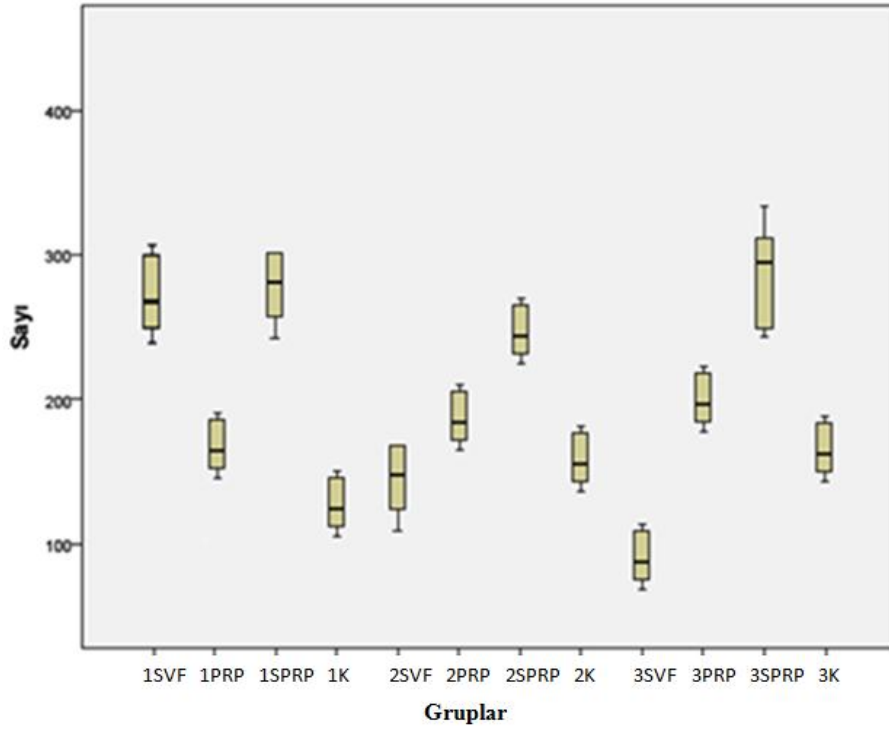
Şekil 4.2 2. Haftada gruplardan alınan kesitlerde epidermal hacim, kapiller yoğunluğu, bağ dokusu infiltrasyonu ve yanık hacmi görülmekte. (A) SVF grubu, (B) SPRP grubu, (C) PRP grubu, (D) kontrol. **Ep**; epidermis, **De**; dermis, **Ok başı**; yanık yüzeyi göstermektedir (x10 büyütme, H&E boyama).



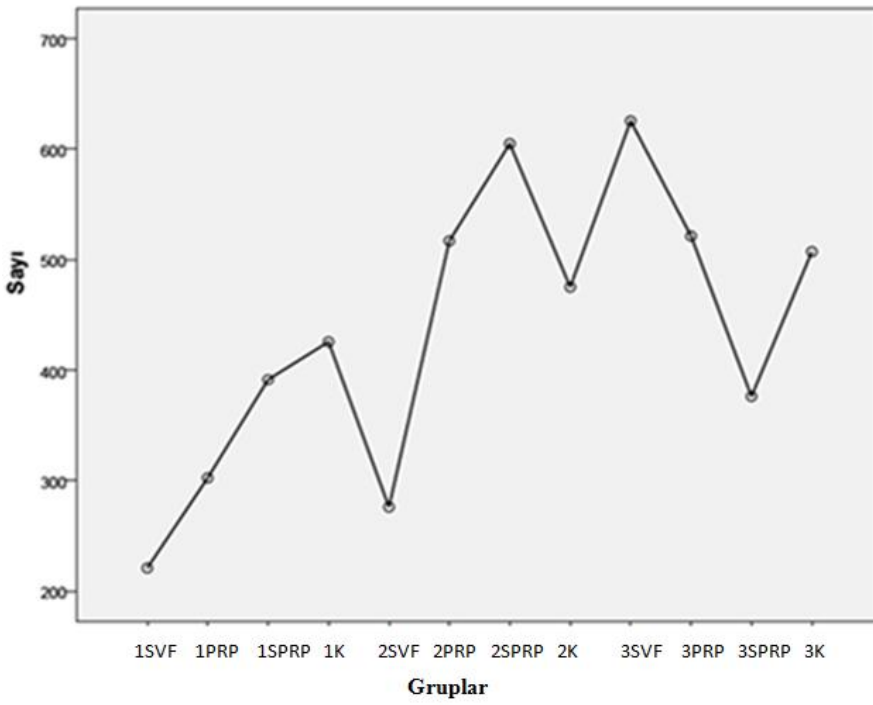
Şekil 4.3 3. Haftada gruplardan alınan kesitlerde epidermal hacim, kapiller yoğunluğu, bağ dokusu infiltrasyonu ve yanık hacmi görülmekte. (A) SVF grubu, (B) SPRP grubu, (C) PRP grubu, (D) kontrol. **Ep**; epidermis, **De**; dermis, **Ok başı**; yanık yüzeyi göstermektedir (x10 büyütme, H&E boyama).



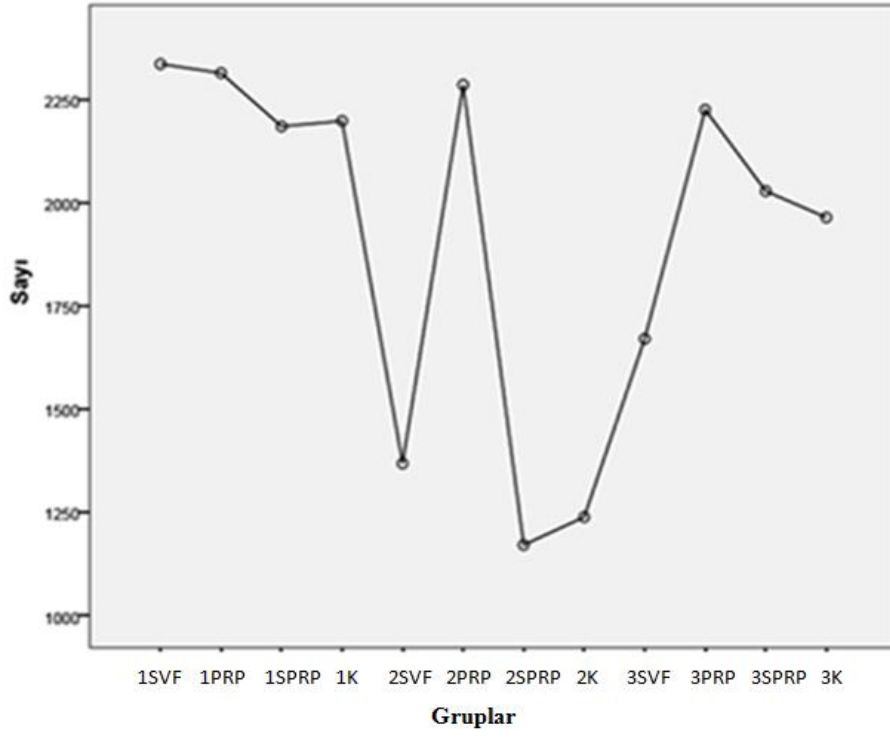
Şekil 4.4 İmmün boyamada, tüm gruplarda 2. haftada bağ dokuda hâkim olan mitotik aktiviteye ait görünüm. (A) SVF grubu, (B) SPRP grubu, (C) PRP grubu, (D) Kontrol. **Ep**; epidermis, **De**; dermis, **Elips**; bağ dokusundaki artmış mitotik aktivite odaklarını göstermektedir (x10 büyütme ki-67 antikorunu kullanılarak immünohistokimyasal boyama yapılmıştır).



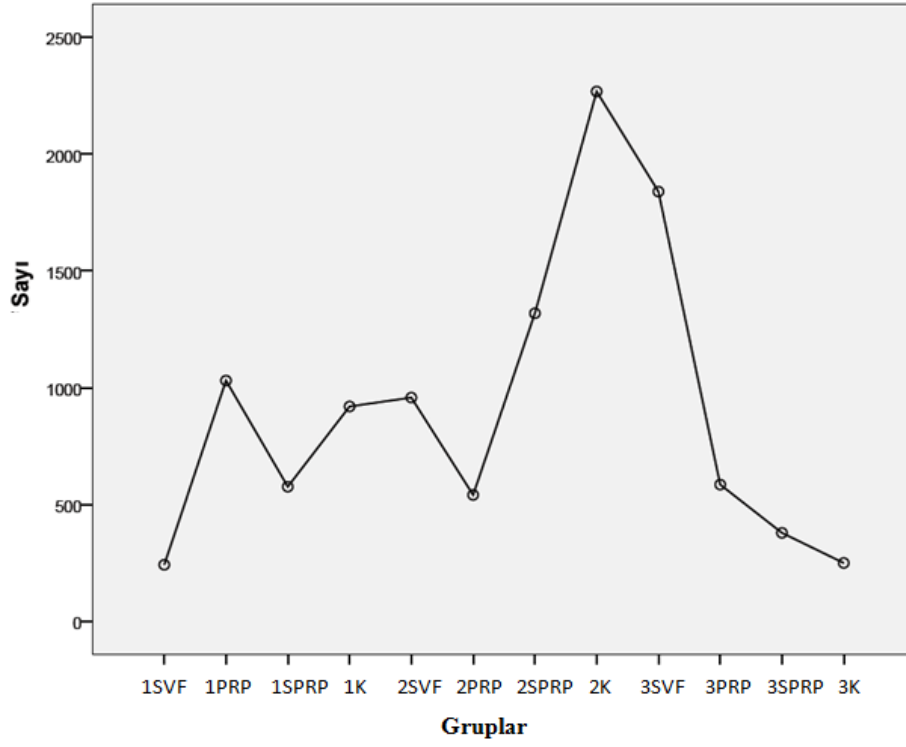
Şekil 4.5 Kapiller sayılarının tüm gruplarda karşılaştırılması



Şekil 4.6 Epidermis hacminin tüm gruplarda karşılaştırılması



Şekil 4.7 Bağ doku infiltrasyonunun tüm gruplarda karşılaştırılması



Şekil 4.8 Yanık hacimlerinin tüm gruplarda karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Günümüzde, yanık tedavisinde farklı medikal ajanların geliştirilmesine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (Rashaan, 2014). Hücresel tedavi yöntemleri bunların başında gelmektedir. Kök hücre ve büyüme faktörlerini içeren ileri laboratuvar teknikleri halen denenme aşamasında olmalarına rağmen üzerlerindeki ilgi artarak devam etmektedir (Lu, 2013).

Anjiogenez, yara iyileşmesinin en önemli basamaklarından biridir. Dokuların fonksiyonlarının devamı için yeterli bir vasküler yatağa sahip olmaları gerekir. Neoanjiyogenez, yara bölgesinde perfüzyonu artırarak metabolik ihtiyacı karşılanmasında, epitelizasyon ve kollojen sentezinde artışa neden olur. Ayrıca, vaskülarite artışı, yanıklı bölgede hücreler arası ödemin çözülmesinde, bu bölgenin soğutulmasında, metabolik ürünlerin uzaklaştırılmasında, asidozun düzeltilmesinde, yara iyileşmesinde görevli hücre ve sitokinlerin bölgeye ulaşmasında büyük rol oynar. Vaskülarite arttıkça yara iyileşmesi de hızlanmaktadır. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), endotel hücre proliferasyonu ve dolayısıyla neoanjiogenez açısından güçlü bir uyarandır (Karaöz E ve ark., 2004). Yağ dokusu başta VEGF olmak üzere, birçok büyüme faktöründen zengin dokudur (Pallua, 2014).

Yağ dokusu elde edilmesi kolay ve MKH açısından zengin olması nedeni ile hücresel tedavi yöntemleri içerisinde ilgi odağı olmuştur (Kim ve ark. 2007). Yağ dokusundan elde edilen mezenkimal kök hücreler, kemik iliği kökenli kök hücreler ile aynı fonksiyona sahiptirler (Claffey ve ark; 1992., Lorenz PH ve ark; 2006). Yağ dokusu kökenli kök hücrelerin, GMCSF, VEGF, b-FGF, ve TGF- β gibi anjiogenik ve antiapoptotik sitokinleri üretme potansiyeli vardır. Hipoksik ortamda yağ dokusu orijinli MKH'ler VEGF salınımını arttırmaktadır (Zuk ve ark., 2002). Yanı sıra, yağ dokusundaki adiposidlerden salınan spesifik büyüme faktörlerinin anjiogenezisi arttırması önemli bir avantajıdır (Boquest ve ark; 2005). Yağ dokusunda bulunan preadipositler, yağ hücresi öncüleri olmalarının yanında endotelial hücrelerle parakrin etkileşime de sahiptirler. Preadipositlerden salınan 'monobutyrim' de anjiogenik etkili bir protein olup endotelial hücre proliferasyonuna neden olmaktadır (De Francesco ve ark., 2009). Bu nedenle yağ dokusu, başta yanık yaraları olmak üzere yara iyileşmesini kolaylaştırıcı potansiyele sahiptir. Bunun için de yağ dokusu SVF denilen, MKH ve

büyüme faktörlerinden zengin fraksiyona ayrılarak kullanılmıştır (Gentile, 2014). SVF, santrifüj yardımı ile yağ dokusunun en alt katmanında toplanan, preadipositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, perisitler ve kök hücrelerden zengin bir yağ doku komponentidir (Boquest ve ark; 2005). SVF içerisindeki kök hücreler, uygun ortamda çoğalabilme ve farklılaşabilme yeteneğine sahiptirler. Bu hücreler doku rejenerasyonunda tedavi edici olarak bir potansiyele sahiptirler. Rehman, iskemik yara modelinde ve Ebrahimian da radyasyon uygulanan ve uygulanmayan farelerde oluşturdukları yara modelinde yağ dokusu orijinli kök hücrelerin yara iyileşmesini hızlandırdığını ve yaraların daha erken sürede kapandığını göstermişlerdir.

Çalışmamızda, yanığın erken döneminde (1. Hafta) SVF uygulanmasının kapiller sayılarını 2. ve 3. haftada uygulanan alt gruplardan daha fazla arttırdığı görüldü. Bu noktadan yola çıkılarak, SVF'un içeriğinde bulunan MKH ve başta VEGF olmak üzere beraberindeki büyüme faktörlerinin yara iyileşmesinin erken döneminde (1. hafta) neoanjiogenezi daha çok arttırdığı bunu da erken dönemde yüksek olan enflamatuvar hücreler üzerinden yapmış olabileceği söylenebilir. Erken geç dönem (2. hafta) ve geç dönemde (3. hafta) ise yarada azalan enflamatuvar hücre yoğunluğu nedeni ile SVF'un neoanjiogenezi erken döneme göre daha az oranda arttırdığını söyleyebiliriz.

SVF içerisinde bulunan bir diğer hücre grubu fibroblastlardır. Fibroblastların ana metabolik fonksiyonları, kollajen, proteoglikan ve elastin sentezidir. Fibroblastlardan salınan keratinosit büyüme faktörü (KGF) epidermal hücre büyümesini aktive eder, TGF- β ise fibrozisi ve gerilim kuvvetini artırır, platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) nötrofil, makrofaj, endotel hücrelerin çoğalmasını ve kemotaksisini uyarır (Kern S ve ark 2006). Yapılan çalışmalarda yağ greft uygulamasının erken dönemde revaskülarizasyonu artırdığı iskemi şiddetini azaltıp TGF- β üretimini azalttığı gösterilmiştir. TGF- β seviyelerinin azalması kontrolsüz kollajen üretimini de azaltır (Sultan ve ark., 2011). Çalışmamızda SVF ve SPRP gruplarda yanık hacminin anlamlı derecede azalmış olarak ölçülmesi bu literatür bilgisini destekler niteliktedir.

PRP, başta PDGF, TGF- β , VEGF, IGF-1, PF-4 (Platelet factor – 4) ve trombospondin gibi lokal etkili faktörler yanı sıra tanımlanmamış daha bir çok aktive edilebilir proteinden zengin bir plazma komponentidir. Eitrosit ve lökosit gibi kanın şekilli elemanlarından arındırılmış, yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunu arttıracak

büyüme faktörlerini içeren trombositten zengin plazmadır (Anitua ve ark., 2004). Bu materyalin hastanın kendi kanından hazırlanması önemli bir avantajdır. Santrifüj işlemi sonrası elde edilen trombositten zengin plazmanın aktive edilmesiyle, içerdiği sitokin ve büyüme faktörlerinin konsantrasyonu artırılmış olmaktadır (Drobni ve ark., 2006).

De Aracena ve ark., kornea yanığı olan 10 hastaya PRP uyguladıklarında, epitelizasyonun daha hızlı gerçekleştiğini, otolog PRP'nin subkonjunktival enjeksiyonunun, evre III kornea yanıklarında sikatrast oluşumunda önemli bir azalma oluşturduğunu göstermişlerdir. Kazakos ve ark. da, sürtünmeye bağlı dermal yanıklarda PRP'nin jel formunu başarı ile kullanmışlardır. Domuzlarda yapılan bir çalışmada, Henderson ve ark., otolog trombosit jelin enflamatuvar yanıtı uyarıp, fibroblastik proliferasyon ve kollajen üretiminde, kapiller sayısında, hücre dışı matriks ve granülasyon dokusu oluşumunda artışa neden olduğunu, buna karşın epitelizasyonu etkilemediğini bildirmişlerdir. Vermeulen ve ark. ise, yine domuzlar üzerinde PRP'nin bir biyomatriks olarak hizmet ettiğini, ekstraselüler matriks gelişimini düzenlediğini, anjiyogenezi artırdığını, yanı sıra epitelizasyonu da hızlandırdığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda, yanığın erken döneminde (1. hafta) yanık alanına PRP uygulaması, kapiller sayısını artırmış olmakla birlikte, bu artış SVF uygulaması kadar olmamıştır. Ancak PRP'nin bu etkisi erken geç (2. hafta) ve geç dönemde (3. hafta) de devam etmiştir. Oysa SVF kapiller sayısını artırıcı etkisini sadece erken dönemde (1. hafta) göstermiş, erken geç (2. hafta) ve geç dönemde (3. hafta) bu etkisi azalmıştır. SVF'nin yapısındaki MKH'ler erken dönemde görevlerini yapmış sonraki dönemlerde ihtiyaç duydukları büyüme faktörlerinden yoksun olmalarından dolayı fonksiyonlarını kaybettikleri düşünülebilir. Oysa, SVF ile PRP'nin kombine edildiği (SPRP) uygulamalarda, iyileşmenin her aşamasında yanık alanındaki kapiller hacmi yüksek bulunmuştur. Bunun olası nedeni olarak, SPRP'de; hem PRP'den gelen hem de SVF'den gelen büyüme faktörlerinin neoanjiogenez üzerinde potansiyelize edici etkileri rol oynamış olabilir. Knighton ve ark., ile Gano ve ark., kronik alt ekstremite ülserlerinde PRP'nin topikal uygulandığında re-epitelizasyonu arttırdığını göstermişlerdir. Domuzlar üzerinde yapılan bir çalışmada, PRP ve yağ dokusu orjinli MKH kombinasyonu ile iyileşen yaralarda mikrovasküler yoğunluğun arttığı, fakat re-epitelizasyonun artmadığı bildirilmiştir (Blanton ve ark., 2009). Çalışmamızda ise, PRP'nin intradermal

uygulandığında sadece erken geç dönemde (2. hafta) yanık hacmini kontrol tarafına göre daha anlamlı oranda azalttığı bulundu. Erken dönemde (1.hafta) ve geç dönemde (3.hafta) kontrol tarafı ile anlamlı fark yoktu. Bu noktadan hareketle, PRP'nin erken ve geç dönem yanık hacminin azaltılması üzerine etkisinin olmadığını söyleyebiliriz.

Blanton ve ark.ları, domuzlarda oluşturdukları açık yarada reepitelizasyon açısından PRP ve SVF arasında bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Ancak 21. gündeki makroskopik incelemede, PRP ve SVF'un kombine verildiği grupta yara elastisitesi ve yaptıkları skorlamanın diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha anlamlı olduğunu ifade etmişlerdir. PRP ile SVF'u birlikte verdiklerinde VEGF'nin daha fazla arttığını göstermişlerdir. Kronik alt ekstremitte yaraları olan 30 hastada PRP ve yağ enjeksiyonu kombinasyonunun yara iyileşmesi üzerinde olumlu etki gösterdiği bildirilmiştir (Cervelli ve ark., 2009). PRP'nin doku iyileşmesini hızlandırıcı etkisinin gösterilmesi üzerine, diyabetik ayak ülseri bulunan 24 hasta üzerinde uygulama yapılmış ve PRP'nin iyileşmeyi önemli derecede hızlandırdığı bildirilmiştir (Liu ve ark; 2011). Çalışmamızda, SPRP'nin erken (1.hafta) ve erken geç dönem (2. hafta) uygulandığı yanık yaralarında epitelizasyonu diğer gruplardan anlamlı oranda daha fazla arttırdığını bulduk. Ancak yanığın geç döneminde (3. hafta) SPRP verilmesinin yalnız başına SVF ve PRP verilmesinden farkı görülmemiştir. Bu durumun, yaranın geç dönemde epitelizasyonun stabil faza kavuştuğunun göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

PRP'nin, yanık hastalarında yara iyileşmesi, cilt rejenerasyonu ve immün yanıt üzerindeki etkileri yara iyileşmesinin fazına göre farklılık gösterebilir. PRP'nin uygulandığı faza göre enflamasyonu artırma yada re-epitelizasyonu kolaylaştırma fonksiyonu hipertrofik skarlaşmanın da derecesini tayin edecektir. Bu nedenle PRP uygulamasının zamanlamasının daha fazla araştırılmaya ihtiyacı vardır. Yanı sıra, PRP ile kombine yağ enjeksiyonunun nihai skarın daha iyi olmasına katkı sağlayacağı ileri sürülmüştür (Pallua N ve ark., 2010).

Sonuç olarak, SVF'un PRP ile kombine (SPRP) kullanımında yanık iyileşmesi üzerine tüm fazlarda olumlu etkisi olmuştur. Bu nedenle yanık yaralarının iyileşmesi üzerine SVF ile PRP'nin kombine kullanımının daha iyi fonksiyonel sonuçlar verecektir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda şu sonuçlara ulaşılmıştır;

- 1- Yanığın her aşamasında (erken (1. hafta), erken geç (2. hafta) ve geç dönem (3. hafta)) SPRP uygulaması neoanjiogenezi arttırmıştır.
- 2- Epidermal hacmin az olması anormal yara iyileşmesi reaksiyonu açısından olumlu olarak değerlendirildiğinde özellikle SVF grubunda ve sonra SPRP grubunda epidermal hacmin daha az olduğu saptandı.
- 3- Bağ doku infiltrasyonunun az olmasının da normal yara iyileşmesi açısından olumlu bir etki olduğu göz önünde bulundurulduğunda sırası ile SVF ve SPRP gruplarında iyileşmenin daha iyi olduğu görüldü.
- 4- Yanık hacminde azalmanın da yara iyileşmesi açısından olumlu bir bulgu olduğu düşünüldüğünde, sırası ile SVF ve SPRP gruplarında iyileşmenin daha iyi olduğu görüldü.

7.KAYNAKLAR

Arıncı A, Aydın H, Çizmeci O, Erer M, Ermiş İ, Görgün B, Hayırlıoğlu T, Kesim SN, Özkan T. (2000). Plastik Cerrahi, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, s.101-120.

Ailhaud G, Grimaldi P, Negrel R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu Rev Nutr.* 1992;12:207-33.

Anlatici R, Ozerdem OR, Dalay C, Kesiktaş E, Acartürk S, Seydaoğlu G. A retrospective analysis of 1083 Turkish patients with serious burns. Part 2: burn care, survival and mortality. *Burns.* 2002; 28(3): 239-43.

Alsousou J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *J Bone Joint Surg Br.* 2009 Aug;91(8):987-96.

Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997; 275(5302): 964-7.

Alvarez RH, Kantarjian HM, Cortes JE. Biology of platelet-derived growth factor and its involvement in disease. *Mayo Clin Proc.* 2006 Sep;81(9):1241-57.

Atiyeh BS, Gunn SW, Hayek SN, State of the art in burn treatment. *World J Surg.* 2005; 29(2); 131-48.

Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997;275(5302):964-7.

Arturson G, Johnson CE. Trans-capillary transport after thermal injury. *Scan J Plast Reconstr Surg* 13:29-38, 1979.

Anitua E, Andı́a I, Ardanza B, Nurden P, Nudern AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2004;91:4–15.

Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Jul-Aug;14(4):529-35.

A-K. Olsson, A. Dimberg, J. Kreuger and L. Claesson- Welsh: VEGF receptor signalling – in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7, 359-371 (2006).

Alvarado R, Chung KK, Cancio LC, Wolf SE. Burn Resuscitation. *Burns*.2009; 35(1): 4-14.

Atalay S, Coruh A, Deniz K. Stromal vascular fraction improves deep partial thickness burn wound healing. *Burns*. 2014 Nov;40(7):1375-83. doi: 10.1016/j.burns.2014.01.023. Epub 2014 Feb 23.

Boquest AC, Shahdadfar A, Frønsdal K et al. Isolation and transcription profiling of purified uncultured human stromal stem cells: alteration of gene expression after in vitro cell culture. *Mol Biol Cell*. 2005;16(3):1131-41.

Bunnell BA, Flaat M, Gagliardi C, Patel B, Ripoll C. Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation. *Methods*. 2008 Jun;45(2):115-20. doi: 10.1016/j.ymeth.2008.03.006. Epub 2008 May 29.

Brunnicardi FC, Anderssen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE, (Eds). Holmes JH, Heimbach DM. (2005). Burns. In: Schwartz's Principles of Surgery. Eds: 8th ed, McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York, p.189-221.

Brusselaers N, Monstrey S, Vogelaers D, Hoste E, Blot S. Severe burn injury in Europe: a systematic review of the incidence, etiology, morbidity, and mortality. *Crit Care*. 2010; 14(5):188.

Bucky LP, Vedder NB, Hong CHZ, May JW, Ehrlich HP. A monoclonal antibody which blocks neutrophil adhesion prevents second degree burn becoming third degree burns. *Proc Am Burn Assn*. 1991; 23: 133.

Brooks PC, Clark RAF, Cheresch DA. Requirement of vascular integrin avb3 for angiogenesis. *Science*. 1994; 264: 569-71.

Bogatkevich GS, Tourkina E, Abrams CS, Harley RA, Silver RM, Ludwicka-Bradley A. Contractile activity and smooth muscle alpha-actin organization in thrombin-induced human lung myofibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003; 285(2): L334-43.

Bucky LP, Vedder NB, Hong HZ, Ehrlich HP, Winn RK, Harlan JM, May JW Jr. Reduction of burn injury by inhibiting CD18-mediated leukocyte adherence in rabbits. *Plast Reconstr Surg*. 1994; 93(7): 1473-80.

Blanton MW, Hadad I, Johnstone BH, Mund JA, Rogers PI, Eppley BL, March KL. Adipose stromal cells and platelet-rich plasma therapies synergistically increase revascularization during wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2009 Feb;123(2 Suppl):56S-64S. doi: 10.1097/PRS.0b013e318191be2d.

Clark RAF, Quinn JH, Winn HJ, Lanigan JM, Dellepelle P, Colvin RB. Fibronectin is produced by blood vessels in response to injury. *J Exp Med*. 1982; 156: 646-51.

Coleman SR. Structural fat grafting. In: Thorne CH (ed). *Grabb & Smith Plastic Surgery*. 6th edition. LWW; 2007. 480-5.

Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. *Aesth Plast Surg* 1995;19:421-425.

Coleman SR. Facial Augmentation with structural fat grafting. *Clin Plastic Surg* 2006;33: 567-77.

Cervelli V, Gentile P, Grimaldi M. Regenerative surgery: use of fat grafting combined with platelet-rich plasma for chronic lower-extremity ulcers. *Aesthetic Plast Surg*. 2009 May;33(3):340-5. doi: 10.1007/s00266-008-9302-z. Epub 2009 Jan 21.

Claffey KP, Wilkison WO, Spiegelman BM. Vascular endothelial growth factor. Regulation by cell differentiation and activated second Messenger pathways. *J Biol Chem*. 1992;267(23):16317-22.

Clark DE, Dainiak CN, Reeder S. Decreasing incidence of burn injury in a rural state. *Inj Prev.* 2000 Dec;6(4):259-62.

Demir A. Yanıklar. Sabiston Texbook of Surgery Modern Cerrahi Pratiğin Biolojik Temeli. (Editör: A. N. Ulusoy), Nobel Matbaacılık, 17. Baskı, 2010: 569-595s, İstanbul

Diegelmann RF. Cellular and biochemical aspects of normal and abnormal wound healing: an overview. *J Urol.* 1997 Jan;157(1):298-302.

Dolay K. (2007). Yanık Patofizyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, 3(1):4-9. *Surg.* 2008;121(1):50-8.

De Francesco F, Tirino V, Desiderio V, Ferraro G, D'Andrea F, Giuliano M, et al. Human CD34/CD90 ASCs are capable of growing as sphere clusters, producing high levels of VEGF and forming capillaries. *PLoS One.* 2009;4(8):e6537.

Drobni M, Olsson IM, Eriksson C, Almqvist F, Strömberg N. Multivariate design and evaluation of a set of RGRPQ-derived innate immunity peptides. *J Biol Chem.* 2006 Jun 2;281(22):15164-71. Epub 2006 Apr 4.

Ebrahimian TG, Pouzoulet F, Squiban C, et al. Cell therapy based on adipose tissue-derived stromal cells promotes physiological and pathological wound healing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(4):503-10.

Ersek RA. Transplantation of purified autologous fat: a 3-years follow-up is disappointing. *Plast Reconstr Surg* 1991;87:219-21.

Foyatier JL, Mojallal A, Voulliaume D, Comparin JP. [Clinical evaluation of structural fat tissue graft (Lipostructure) in volumetric facial restoration with face-lift. About 100 cases]. *Ann Chir Plast Esthet.* 2004 Oct;49(5):437-55.

Furie B, Furie C. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* 2008; 359: 938–49.

Grazul-Bilska AT, Johnson ML, Bilski JJ, Redmer DA, Reynolds LP, Abdullah A et al. Wound healing: the role of growth factors. *Drugs Today (Barc)*. 2003, 39(10), s. 787–800.

Grimson, K. S. Healing of fractures of the mandible and zygoma. *J. Am. Dent. Assoc.* 24: 1458, 1997.

Gürdal-Özkan S, Yücel T. (2007). Yanık Giriş, Epidemiyoloji ve Etiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, 3(1):1-3.

Ganio C, Tenewitz FE, Wilson RC, Moyles BG. The treatment of chronic nonhealing wounds using autologous platelet-derived growth factors. *J Foot Ankle Surg.* 1993 May-Jun;32(3):263-8.

Gürdal-Özkan S, Yücel T. (2007). Yanık Giriş, Epidemiyoloji ve Etiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, 3(1):1-3.

Günay N, Yıldırım C. (2007). Hastane Öncesi Bakım. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, 3(1):19-22.

Goldstein B, Doody D, Briggs S. Emergency intraosseous infusion in severely burned children. *Pediatr Emerg Care* 6(3):195-197,1990.

Gabbiani G, Ryan GB, Majne G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia.* 1971; 27(5): 549-50.

Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *CircRes.* 2007; 100(9): 1249-60.

Gentile P, De Angelis B, Pasin M, Cervelli G, Curcio CB, Floris M, Di Pasquali C, Adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical evaluation for cell-based therapies in patients with scars on the face. *J Craniofac Surg.* 2014 Jan;25(1):267-72. doi: 10.1097/01.scs.0000436746.21031.ba.

Grazul-Bilska AT, Johnson ML, Bilski JJ, Redmer DA, Reynolds LP, Abdullah A, Abdullah KM. Wound healing: the role of growth factors. *Drugs Today (Barc)*. 2003 Oct;39(10):787-800.

Grunwald TB, Garner WL. Acute burns. *Plast Reconstr Surg*. 2008; 121(5): 311-319.

Garg AK, Luboshitz J, Mazor Z, Peleg M, Platelet-rich plasma for bone graft enhancement in sinus floor augmentation with simultaneous implant placement: patient series study. *Implant Dent*. 2004 Mar;13(1):65-72.

Gillitzer R, Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing. *J Leukoc Biol*. 2001; 69(4): 513-21.

Hunt TK. Wound healing. (Editörler: Doherty GM, Way LW). *Current surgical diagnosis and treatment*, 12th edition: McGraw-Hill, New York: 2006.

Hupp JR, Ellis E, Tucker MR. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery* 5th ed. Hong kong: Mosby Elsevier, 2008.

Haynesworth SE, Mackay DL¹, Tesar PJ, Liang LN, Characterizing medullary and human mesenchymal stem cell-derived adipocytes. *J Cell Physiol*. 2006 Jun;207(3):722-8.

Heredon DN, Curreri PW, Abston S, Rutan TC, Barrow RE. Treatment of burns. *Curr Probl Surg* 1987; 24 (6) : 341-97.

Herndon DN, Rutan RL, Rutan TC. Management of the pediatric patient with burns. *J Burn Care Rehab* 14(1):3-8,1993.

Heimbach D, Engrav L, Grube B, Marvin J. Burn depth: a review. *World J Surg*. 1992 Jan-Feb;16(1):10-5.

<http://www.itf.istanbul.edu.tr/dermatoloji/derbilgi.htm> İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Dermatoloji Ana Bilim Dalı . Ulaşım tarihi 10 aralık 2014.

Heimbach D, Engrav L, Grube B, Marvin J. Burn Depth: A review. *World J Surg* 1992;16:10-15.

Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. *BMJ*. 2004; 328 *BMJ*. 2004 Jun 12;328(7453):1427-9.

Hashimoto I, Kodama J, Seki N, Hongo A, Miyagi Y, Yoshinouchi M et al. Macrophage infiltration and angiogenesis in endometrial cancer. *Anticancer Res*. 2000; 20: 4853-4856.

Iruela-Arispe ML, Dvorak HF. Angiogenesis: a dynamic balance of stimulators and inhibitors. *Thromb Haemost*. 1997; 78: 672-7.

Jacksonun Alan Teorisi ve staz zonunun resüsitasyonu cevabı. Hettiaratchy S, Dziewulski Jakson DM. The diagnosis of the depth of burning. *Br J Surg*. 1953; 40(164): 588-96.

Jacenko, O., San Antonio, T. D., Tuan, R. S. Chondrogenic potential of chick embryonic calvaria: II. Matrix calcium may repress cartilage differentiation. *Dev. Dyn*. 202: 27, 1995.

Yamamoto S, Tsuda H, Takano M, Kita T, Kudoh K, Furuya K, Tamai S, Matsubara O. Expression of platelet-derived growth factors and their receptors in ovarian clear-cell carcinoma and its putative precursors. *Mod Pathol*. 2008 Feb;21(2):115-24. Epub 2007 Dec 14.

Koch C. Antivirale Effekte ausgewählter ätherischer Öle auf behüllte Viren unter besonderer Berücksichtigung des Herpes simplex Virus Type 1 und 2. Thesis, University of Heidelberg 2005.

Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*. 2006;24(5):1294-301.

Kim WS, Park BS, Sung JH, et al. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 2007;48(1):15-24.

Kirsner RS, Eaglsterin WH. The wound healing process. *Dermatol Clin.* 1993; 11(4): 629-640.

Karaöz E. , Ovalı E. Kök Hücreler (1 ed), Derya Kitapevi, 2004, sf.64.

Knighton DR, Fiegel VD. Growth factors and comprehensive surgical care of diabetic wounds. Knighton ve ark., ile Ganio ve Curr Opin Gen Surg. 1993:32-9.

Khorana AA, Ryan CK, Cox C, Eberly S, Sahasrabudhe DM. Vascular endothelial growth factor, CD68 and epidermal growth factor receptor expression and survival in patients with stage 2 and stage 3 colon carcinoma. *Cancer.* 2003; 97: 960-967.

Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. *Tissue Engineering. Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics* 1st ed. Hong Kong: Quintessence Publishing, 1999.

Lopez-Vidriero E¹, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, Johnson DH. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: optimizing the healing environment. *Arthroscopy.* 2010 Feb;26(2):269-78.

Lorenz PH, Longaker MT. Wound healing: Repair biology and wound and scar treatment. In: Mathes SJ(edt). *Plastic Surgery* (2nd ed). Saunders Elsevier, California, 2006, Vol.1, p. 212.

Lu G, Huang S, Chen Y, Ma K. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation ameliorates burn-induced acute kidney injury in rats. *Int J Low Extrem Wounds.* 2013 Sep;12(3):205-11. doi: 10.1177/1534734613502041. Epub 2013 Sep 16.

Lu F, Mizuno H, Uysal CA, Cai X, Ogawa R, Hyakusoku H. Improved viability of random pattern skin flaps through the use of adiposederived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121(1):50-8.

Leitner GC, Gruber R, Neumu"ller J, Wagner A, Kloimstein P, Ho"cker P, et al. Platelet content and growth factor release in platelet rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox Sanguinis* 2006;91: 135–9.

Liu J, Yuan T, Zhang C. Effect of platelet-rich plasma on synovitis of rabbit knee. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2011 Mar.

Liu P, Deng Z, Han S, Liu T, Wen N, Lu W, Geng X, Huang S, Jin Y. Tissue-engineered skin containing mesenchymal stem cells improves burn wounds. *Artif Organs*. 2008; 32(12): 925-31.

Latha B, Babu M. The involvement of free radicals in burn injury: a review. *Burns*. 2001; 27(4): 309-17.

Luster AD, Rothenberg ME. Role of the monocyte chemoattractant protein and eotaxin subfamily of chemokines in allergic inflammation. *J Leukoc Biol*. 1997; 62(5): 620-33.

Leek RD, Hunt NC, Landers RJ, Lewis CE, Royds JA, Haris AL. Macrophage infiltration is associated with VEGF and EGFR expression in breast cancer. *J Pathol* 2000; 190: 430-436.

Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Marx*, 2001 *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8.

Martin P. Wound healing: aiming for perfect skin regeneration. *Science*. 1997; 276(5309): 75-81
Martin P. Wound healing: aiming for perfect skin regeneration. *Science*. 1997; 276(5309): 75-81.

Mutsaers SE, Bishop JE, Mcgrouther G, Laurent GJ. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol*. 1997; 29(1): 5-17.

Marck RE¹, Middelkoop E, Breederveld RS. Considerations on the use of platelet-rich plasma, specifically for burn treatment. *J Burn Care Res*. 2014 May-Jun;35(3):219-27.

Marzia Salgarello, Breast Reconstruction-Current Techniques,Hard cover, 276 pagesPublisher InTech, Published online 03, February, 2012, Published in print edition February, 2012, s.217.

Minguell JJ, Erices A, Conget P, Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med* (Maywood) 2001; 226(6); 507-20.

Mills SM. Burns down under: Lessons lost, lessons learned. *J Burn Care Rehabil* .2005; 26 (1);42,43.

Moritz AR, Henriques FC Jr. Studies of thermal injury. II. The relative importance of time and surface temperature in the causation of cutaneous burns. *Am J Pathol* 23:695-720,1948.

Mazzola RF. The Evolution of Fat Grafting: From Soft Tissue Augmentation to Regenerative Medicine. Ed: Sydney C, Mazzola RF. Fat injection from filling to regeneration. St. Louis: Quality medical publishing, 2009, pp. XIX- XXXVIII.

Mojallal A, Foyatier JL. Historical review of use of adipose tissue transfer in plastic and reconstructive surgery. *Ann Chir Plast. Esthet* 2004; 49: 419–425.

Marra KG, Rubin JP. Adipose-derived stem cells, preadipocytes, and tissue engineering to Regenerative Medicine. Ed: Sydney C, Mazzola RF. Fat injection from filling to regeneration. St. Louis: Quality medical publishing, 2009, pp. 3–14.

Morgan ED, Bledsoe SC, Barker J. Ambulatory management of burns. *Am. Fam Physician* 2000;62: 2015-2026.

Montesano R, Orci L. Transforming growth factor- β stimulates collagen-matrix contraction by fibroblasts: implications for wound healing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988; 85: 4894-7.

Mizuno H, Hyakusoku H. Mesengenic potential and future clinical perspective of human processed lipoaspirate cells. *J Nippon Med Sch*. 2003; 70(4): 300-6.

Mizuno H. Adipose-derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review. *J Nippon Med Sch.* 2009; 76(2): 56-66.

Nakagami H, Maeda K, Morishita R, Iguchi S, Nishikawa T, Takami Y, Kikuchi Y, Saito Y, Tamai K, Ogihara T, Kaneda Y. A. Novel autologous 122 cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion by cultured adipose tissue-derived stromal cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(12):2542-7.

Nurden AT, Nurden P , Sanchez M, Andia S, Anitua E. Platelets and wound healing. *Frontiers in Bioscience.* 2008, 13, s. 3525-3548 .

Ozan A, Yanıkta stromal vasküler fraksiyonun yara iyileşmesi üzerine etkisinin mezenkimal kök hücre ile karşılaştırılması. (Deneysel çalışma) Uzmanlık Tezi, 2011.

Özkaynak C. Deneysel olarak diabet oluşturulmuş tavsanlarda trombosit zengin plazmanın (TZP) uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik olarak incelenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, (Prof. Dr. Dhsan Levent Aral), 2007.

Özbayoğlu AC. *Deneysel sıçan siyatik sinir ezilme tarzı yaralanma modelinde sinir rejenerasyonunda trombosit zengin plazmanın etkileri.* Eskişehir : Uzmanlık Tezi, 2008.

Pallua N, Serin M, Wolter TP. Characterisation of angiogenic growth factor production in adipose tissue-derived mesenchymal cells. *J Plast Surg Hand Surg.* 2014 Dec;48(6):412-6. doi: 10.3109/2000656X.2014.903196. Epub 2014 Apr 4.

Pallua N, Wolter T, Markowicz M. Platelet-rich plasma in burns. *Burns.* 2010 Feb;36(1):4-8. doi: 10.1016/j.burns.2009.05.002. Epub 2009 Jun 21.

Peate WF. Outpatient management of burns. Peate, 1992 *Am Fam Physician.* 1992 Mar;45(3):1321-30.

Paoloni J, De Vos RJ, Hamilton B, Murrell GA, Orchard J. Platelet-rich plasma treatment for ligament and tendon injuries. *Clin J Sport Med.* 2011 Jan;21(1):37-45. doi: 10.1097/JSM.0b013e31820758c7.

Priti P, Sylvia A, Vasquez BS, et al. Topical antimicrobials in pediatric burn wound management. *J Craniofac Surg* 2008;19: 913-922.

Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson REH, Vasconez HC. Autologous fat grafts harvested and refined by the coleman technique: a comparative study. *Plast Reconstr Surg* 2008;122:932-7.

Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Griffin GL, Senior RM et al. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta enhance tissue repair activities by unique mechanisms. *J Cell Biol.* 1989, 109(1), s. 429–40.

Pietrzak WS, Grant WP, Jerlin EA, Tam HS. The utilization of autologous growth factors for the facilitation of fusion in complex neuropathic fractures in the diabetic population. *Pietrzak ve ark., 2005 Clin Podiatr Med Surg.* 2005 Oct;22(4):561-84, vi.

Pintucci G, Bikfalvi A, Klein S, Rifkin DB. Angiogenesis and the fibrinolytic system. *Semin Thromb Hemost.* 1996; 22: 517-24.

Rasulov MF, Vasilchenkov AV, Onishchenko NA, et all. First experience of the use bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of a patient with deep skin burns. *Bull Exp Biol Med.* 2005;139(1):141-4.

Recep G.G.Uzmanlık Tezi. Siyatik sinir kesisi modelinde eritropoetin ile PRP'nin relenrasyon üzerine etkisinin karşılaştırılması 20011 s. 25.

Riordan NH, Ichim TE, Min WP, Wang H, Solano F, Lara F, Alfaro M, Rodriguez JP, Harman RJ, Patel AN, Murphy MP, Lee RR, Minev B. Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. *J Transl Med.* 2009; 7: 29.

Rose JK, Barrow RE, Desai MH, et al. Advances in burn care. *Adv Surg* 30:71-95,1997.

Rigotti G, Marchi A, Galiè M et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adiposederived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(5):1409-22.

Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation.* 2004 Mar 16;109(10):1292-8.

Rashaan ZM, Krijnen P, Klamer RR, Schipper IB, Dekkers OM, Breederveld RS. Nonsilver treatment vs. silver sulfadiazine in treatment of partial-thickness burn wounds in children: a systematic review and meta-analysis. *Wound Repair Regen.* 2014 Jul-Aug;22(4):473-82. doi: 10.1111/wrr.12196.

Robson MC, Del Becarro EJ, Heggors JP, Loy GL. Increasing dermal perfusion after burning by decreasing thromboxane production. *J Trauma* 1980; 20: 722-5.

Sanchez M, Anitua E, Orive G, Mujika I, Andia I. Platelet-rich therapies in the treatment of orthopaedic sport injuries. *Sports Med.* 2009;39(5):345-54.

Salmanpakoğlu N. Yanıklar ve Tedavileri. *GATA Basımevi Ankara* 1998; 11. Juan P. Barret- Nerin, David N. Herndon, Principles and practice of Burn surgery. 2005.

Sadler, Langman's Medical Embryology, Lippincott Williams ve ark 2012: Mills SE. *Histology for Pathologists.*, 2007.

Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999; 341(10): 738-46.

Semenza, GL. Vasculogenesis, angiogenesis, and arteriogenesis: mechanisms of blood vessel formation and remodeling. *J Cell Biochem.* 2007;102(4):840-7.

Simman R, Craft C, McKinney B. Improved survival of ischemic random skin flaps through the use of bone marrow nonhematopoietic stem cells and angiogenic growth factors. *Ann Plast Surg.* 2005;54(5):546-52.

Storkebaum E, Carmeliet P. VEGF: A critical player in neurodegeneration. *J Clin Invest.* 2004, 113(1), s. 14–8.

Shimura S, Yang G, Ebara S, Wheeler TM, Frolov A, Thompson TC. Reduced infiltration of tumor-associated macrophages in human prostate cancer: association with cancer progression. *Cancer Res.* 2000; 60: 5857-5861.

Selmanpakoğlu N, Işık S, Sahin U, Ilgan S, Güler M, Günalp B, . Saving the zone of stasis in burns with recombinant tissue-type plasminogen activator (r-tPA): an experimental study in rats. *Burns.* 1998 May;24(3):217-23.

Shumakov VI, Onishchenko NA, Rasulov MF, Krashennnikov ME, Zaidenov VA. Mesenchymal bone marrow stem cells more effectively stimulate regeneration of deep burn wounds than embryonic fibroblasts. *Bull Exp Biol Med.* 2003; 136(2): 192-5.

Saffle JR, Davis B, Williams P Recent outcomes in the treatment of burn injury in the United States: a report from the American Burn Association Patient Registry. *J Burn Care Rehabil.* 1995 May-Jun;16(3 Pt 1):219-32; discussion 288-9.

Sultan SM, Barr JS, Butala P, Davidson EH, Weinstein AL, Knobel D, Saadeh PB, Warren SM, Coleman SR, Hazen A. Fat grafting accelerates revascularisation and decreases fibrosis following thermal injury. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2012 Feb;65(2):219-27. doi: 10.1016/j.bjps.2011.08.046. Epub 2011 Oct 1.

Türegün M, Sengezer M, Selmanpakoglu N, Celiköz B, Nişancı M. The last 10 years in a burn centre in Ankara, Turkey: an analysis of 5264 cases. *Burns.* 1997; 23(7-8): 584-90.

Toriseva M, Kahari VM. Proteinases in cutaneous wound healing. *Cell Mol Life Sci.* 2009; 66(2): 203-24.

Tsay RC, Vo J, Burke A, Eisig SB, Lu HH, Landesberg R. Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005 Apr;63(4):521-8.

Uysal CA, Ogawa R, Lu F, Hyakusoku H, Mizuno H. Effect of mesenchymal stem cells on skin graft to flap prefabrication: an experimental study. *Ann Plast Surg.* 2010;65(2):237-44.

Uysal AC, Mizuno H, Tobita M, Ogawa R, Hyakusoku H. The effect of adiposederived stem cells on ischemia-reperfusion injury: immunohistochemical and ultrastructural evaluation. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(3):804-15.

Vedder NB, Bucky LP, Richey NL, Winn RK, May JW Jr. Improved survival rates of random flaps in rabbits with a monoclonal antibody that blocks leukocyte adherence. *Plast Reconstr Surg.* 1994; 93(5): 1035-40.

Wolpe SD, Davatelis G, Sherry B, Beutler B, Hesse DG, Nguyen HT, Moldawer LL, Nathan CF, Lowry SF, Cerami A. Macrophages secrete a novel heparin-binding protein with inflammatory and neutrophil chemokinetic properties. *J Exp Med.* 1988; 167(2): 570-81.

Williams FN, Herndon DN, Jeschke MG. The hypermetabolic response to burn injury and interventions to modify this response. *Clin Plast Surg.* 2009; 36(4): 583-96.

Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997 Nov;55(11):1294-9.

Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis..*Stem Cells.* 2007; 25(10): 2648-59.

Yowler CJ, Fratianne RB. Current status of burn resuscitation. *Clin Plast Surg* 27(1):1-11,2000.

Yaşar Z., Bozkurt M., Kapı E., Fırat U., Sıçan modelinde otojen yağ grefti canlılığına, santrifüj işleminin etkilerinin araştırılması, *Turk Plast Surg* 2010;18(3) 12.

Xu RX, Sun X. *Burns Regenerative Medicine and Therapy, Brief Introduction to the History of Burns in Medical Sciences*, Karger, ISBN: 978-3-8055-7661-1, e-ISBN: 978-3-318-01037-4, 2004; 152 s. İsviçre.

Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(12):4279-95.