

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**MESANE VE POSTERİOR ÜRETRA YARALANMASI OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA MEZENKİMAL KÖK HÜCRENİN İYİLEŞMEYE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Berat Dilek DEMİREL

SAMSUN-2013

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**MESANE VE POSTERİOR ÜRETRA YARALANMASI OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA MEZENKİMAL KÖK HÜCRENİN İYİLEŞMEYE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Berat Dilek DEMİREL

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Rıza RIZALAR
Doç. Dr. Ünal BIÇAKCI

SAMSUN-2013

TEŞEKKÜR

Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakóltesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı' nda çalıştığım süre içinde uzmanlık eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile katkıları bulunan, başta tez danışmanlarım Prof. Dr. Rıza RIZALAR ve Doç. Dr. Ünal BIÇAKCI olmak üzere tüm değerli hocalarıma,

Tez çalışmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Oğuz AYDIN ve Dr. Ferda PINARLI' ya,

En zor ama en güzel günleri birlikte geçirdiğim, kıdemlilerim Tuğçe BOZKURTER ve Öğünç APAYDIN' a, gelmelerini uzun zaman beklediğim çömezlerim Bahar, Ezgi ve Sertaç' a,

Servis, ameliyathane ve poliklinikte adını tek tek saymak istediğim tüm hemşire ve personel arkadaşlara,

Bu günlere gelmemde emeği olan annem ve babama,

Tüm zorlukları beraber göğüslediğimiz eşim Cem DEMİREL ve hayatımızın anlamı biricik kızımız Duru' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez projesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından PYO.1904.12.015 nolu proje numarası ile maddi olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR	vii
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mesane ve Üretra	3
2.1.1. Mesane ve Üretra Embriyolojisi	3
2.1.2. Mesane ve Üretra Anatomisi	3
2.1.3. Mesane ve Üretra Histolojisi	5
2.1.3.1. Tunika Mukoza	5
2.1.3.2. Tunika Muskularis	5
2.1.3.3. Tunika Adventisya	5
2.2. Mesane ve Posterior Üretra Yaralanmaları	6
2.2.1. Mesane Travmaları	6
2.2.1.1. Mesane Kontüzyonu	6
2.2.1.2. İnterstisyel Rüptür	6
2.2.1.3. İntraperitoneal Rüptür	6
2.2.1.4. Ekstraperitoneal Rüptür	7
2.2.1.5. Kombine Rüptür	7
2.2.2. Posterior Üretra Travmaları	7

2.2.2.1. Posterior Üretra Travmalarının Sınıflaması	7
2.2.3. Mesane ve Üretra Yaralanmalarında Klinik ve Tanı	8
2.2.4. Mesane ve Posterior Üretra Yaralanmalarında Tedavi	9
2.2.4.1. Primer Düzene Koyma	9
2.2.4.2. Acil Üretroplasti	10
2.2.4.3. Gecikmiş Primer Üretroplasti	10
2.2.4.4. Gecikmiş Üretroplasti	10
2.2.4.5. Gecikmiş Endoskopik Optik İnsizyon	11
2.3. Kök Hücre	11
2.3.1. Kök Hücre Tanımı ve Özellikleri	11
2.3.2. Kök Hücre Tarihçesi	11
2.3.3. Kök Hücre Sınıflandırılması	12
2.3.3.1. Totipotent Kök Hücre	12
2.3.3.2. Puliripotent Kök Hücre	12
2.3.3.3. Multipotent Kök Hücre	12
2.3.4. Kök Hücre Tipleri ve Kaynakları	13
2.3.5. Mezankimal Kök Hücre	14
2.3.6. Mezankimal Kök Hücre ve Klinik Çalışmalar	15
2.3.7. CD 105 (Endoglin)	16
2.3.8. Vasküler Endotelyal Grown Faktör (VGEF)	17
2.4. Yara İyileşmesi	17
2.4.1. Yara İyileşmesi Faz-1: Hemostaz ve İnflamasyon	18
2.4.2. Yara İyileşmesi Faz-2: Proliferasyon ve Epitelizasyon	18
2.4.3. Yara İyileşmesi Faz-3: Matriks Sentezi	18
2.4.4. Yara İyileşmesi Faz-4: Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma	19

3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi	20
3.2. Mesane ve Posterior Üretra Yaralanması Modeli Oluşturulması	23
3.3. Deney Grupları	27
3.4. Doku Örneklerinin Alınması	28
3.5. Histopatolojik İnceleme	28
3.6. İstatistiksel Çalışma	30
4. BULGULAR	31
4.1. Histopatolojik Olarak Fibrozis ve İnflamasyonun Değerlendirilmesi	31
4.2. Vasküler Endotelyal Growth Faktör (VEGF) Boyanması Bulguları	39
4.3. CD105 (Endoglin) Boyanması Bulguları	41
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇLAR	47
7. KAYNAKLAR	48

KISALTMALAR

MKH	:	Mezenkimal Kök Hücre.
HKH	:	Hematopoetik Kök Hücre.
İVMKH	:	İntravenöz Mezenkimal Kök Hücre.
İLMKH	:	İntralezyoner Mezenkimal Kök Hücre.
VEGF	:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü.
BT	:	Bilgisayarlı Tomografi.
IVP	:	İntravenöz Pyelografi.
USG	:	Ultrasonografi.
EKH	:	Embriyonik Kök Hücre.
TGF β	:	Transforming Growth Faktör Beta.
VPF	:	Vasküler Permeabilite Faktörü.
EGF	:	Epidermal Büyüme Faktörü.
H&E	:	Hematoksilen Eozin.
M&T	:	Masson Trikrom.
DMEM-LG	:	Dulbecco's Modified Eagle's Medium-Low Glucose.
CFU-F	:	Colony Forming Unit- Fibroblast

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1 : Deney gruplarını gösteren tablo.	27
Tablo 2 : Fibrozis ve inflamasyon değerlendirme skoru.	29
Tablo 3 : VEGF ve CD105 boyanma skoru.	30
Tablo 4 : Grupların fibrozis ve inflamasyon değerlendirmesi.	34
Tablo 5 : Fibrozis değerlendirmesi istatistik karşılaştırma sonuçları.	35
Tablo 6 : İnflamasyon değerlendirme istatistik sonuçları.	37
Tablo 7 : VEGF boyanma bulguları.	40
Tablo 8 : CD105 boyanma bulguları.	42

ŞEKİL LİSTESİ

		Sayfa No
Şekil 1	: Mesane anatomisi.	4
Şekil 2	: Kök hücre kaynakları.	13
Şekil 3	: Kültürde 14. günde CFU-F'ların gimza boyaması ile görünümü.	21
Şekil 4	: Kök hücre belirteçleri.	22
Şekil 5	: Adiposit farklılaşmada Oil-Red ile kırmızı yağ damlalarının görünümü.	22
Şekil 6	: Kondrosit farklılaşmasında Alsan-Blue ile hyaluronik asitin mavi-lila boyanması.	23
Şekil 7	: Osteosit farklılaşmasında Von Kossa ile kalsiyum depositlerinin siyah olarak görünmesi.	23
Şekil 8	: Batın dışına alınan mesane.	24
Şekil 9	: Sütürlerle askıya alınan mesane.	24
Şekil 10	: Vertikal olarak açılan mesane.	25
Şekil 11	: Mesane ve posterior üretra yaralanması oluşturulması.	25
Şekil 12	: İntravenöz mezenkimal kök hücre uygulanması.	26
Şekil 13	: İntralezyoner mezenkimal kök hücre uygulanması.	26
Şekil 14	: Sütüre edilmiş mesane.	27
Şekil 15	: Solda HE, sağda MT boyama ile x100 büyütmede fibrozis ve inflamasyon görülmeyen mesane dokusu.	32
Şekil 16	: Solda HE, sağda MT boyama ile x100 büyütmede hafif derecede fibrozis ve inflamasyon görülen (%25' ten az) mesane dokusu.	32

Şekil 17	: Solda HE, sağda MT boyama ile x100 büyütmede orta derecede fibrozis ve inflamasyon görülen (%25-50 arası) mesane dokusu.	33
Şekil 18	: Solda HE, sağda MT boyama ile x100 büyütmede yoğun derecede fibrozis ve inflamasyon görülen (%50 üzeri) mesane dokusu.	33
Şekil 19	: Fibrozis derecelendirmesi-denek sayısı ilişkisi.	36
Şekil 20	: Fibrozisin gruplara göre dağılımı.	36
Şekil 21	: İnflamasyon derecelendirmesi-denek sayısı ilişkisi.	38
Şekil 22	: İnflamasyonun gruplara göre dağılımı.	38

ÖZET

AMAÇ: Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan mesane ve posterior üretra yaralanmalarında intravenöz veya intralezyoner mezenkimal kök hücre (MKH) tedavisinin yara iyileşmesi ve fibrozis gelişimi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM: Çalışmada 40 adet, erkek, Wistar albino türü sıçan randomize olarak 4 eşit gruba ayrıldı. Grup 1 (kontrol)' de laparotomi yapıldı. Mesane açıldı ve herhangi bir işlem uygulanmadan kapatıldı. Grup 2 (sham)'de mesane ve posterior üretrada yaralanma oluşturuldu. Grup 3 (iVMKH)' te yaralanmaya ek olarak intravenöz MKH tedavisi uygulandı. Grup 4 (İLMKH)' te yaralanmaya ek olarak intralezyoner MKH tedavisi uygulandı. 21 gün sonra sakrifiye edilen sıçanlardan mesane çıkarıldı. Histopatolojik olarak fibrozis ve inflamasyon gelişimi, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) ve CD105 boyanması değerlendirildi. Fibrozis ve inflamasyon skorlaması, VGEF ve CD105 boyanma yoğunluğu ve şiddeti skorlaması yapıldı. İstatistiksel değerlendirme için SPSS 13.0 programı, Ki-kare yada Fisher testi kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR: Çalışma sonunda fibrozis ve inflamasyon değerlendirildiğinde, kontrol grubu ile İLMKH grubunun arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Kontrol grubu 9/10 fibrozis ve inflamasyon yok, İLMKH grubu 5/10 fibrozis ve inflamasyon yok, fibrozis için $p=0.070$, inflamasyon için $p=0.48$). Sham grubu ile iVMKH grubu ve İLMKH grubu fibrozis açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı (Sham grubunda 8/9 orta yada yoğun fibrozis ve inflamasyon, iVMKH ve İLMKH grubunda orta yada yoğun derecede fibrozis veya inflamasyon yok, iVMKH için $p=0.034$, İLMKH için $p=0.011$). iVMKH ve İLMKH grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (iVMKH grubunda 2/9, İLMKH grubunda 5/10 fibrozis ve inflamasyon yok, fibrozis için $p=0.198$, inflamasyon için $p=0.248$). VEGF boyanma yoğunluğu ve şiddeti değerlendirildiğinde sham grubu ile İLMKH grubu arasında anlamlı fark saptandı (Sham grubunda 1/9, İLMKH grubunda 5/10 boyanma yok, $p=0.017$). CD105 boyanma yoğunluğu ve şiddeti değerlendirildiğinde hiçbir grup arasında anlamlı fark görülmedi (kontrol grubunda 6/9, sham grubunda 7/9, iVMKH grubunda 7/9, İLMKH grubunda 6/9 % 50' den az boyanma, $p > 0.05$).

SONUÇ: Bu çalışmada, üroepitel yaralanmalarında MKH uygulamasının fibrozis gelişimini anlamlı derecede engellediği yada azalttığı görüldü. Çalışmamız, mesane ve posterior üretra yaralanmalarında MKH uygulamasının başarılı olduğunu ve ileride bu hasta grubunun tedavisi için alternatif yöntemler geliştirilebileceği umudunu verdi.

ANAHTAR KELİMELER: mesane yaralanması, posterior üretra yaralanması, intravenöz mezenkimal kök hücre, intralezyoner mezenkimal kök hücre.

ABSTRACT

Aim: In this experimentally induced bladder and posterior urethral injury study on rats, we tried to determine the effects of intravenously or intralesional applied mesenchymal stem cell (MSC) treatment on wound healing and fibrosis development.

Material And Method: Forty male albino Wistar rats are randomly assigned to 4 different study groups. Rats in group 1 (control) undergone laparotomy. Bladder is opened and closed surgically without any intervention. Rats in group 2 (sham) undergone surgically induced bladder and urethral injury. Rats in group 3 (IVMSC) received intravenous MSC treatment after the injury. Rats in group 4 received intralesional MSC (ILMSC) treatment after the injury. After 21 days rats are sacrificed and bladders are removed for investigations. Histologically, development of inflammation and fibrosis, vascular endothelial growth factor (VEGF), and CD105 staining are examined. Score for fibrosis and inflammation and score for density and intensity of VEGF and CD105 staining are calculated. For the statistical analysis, SPSS 13.0 software and Chi-square and Fisher's test are utilized. A $p < 0.05$ value is set for statistical significance.

Results: There is no statistically significant difference between the control group and ILMSC group for the development of fibrosis and inflammation (9/10 fibrosis and no inflammation in control group versus, 5/10 fibrosis and no inflammation in ILMSC group; $p = 0.070$ for fibrosis, $p = 0.48$ for inflammation). When the sham group is compared with IVMSC and ILMSC groups for fibrosis, difference was found to be statistically significant (8/9 moderate to intense fibrosis and inflammation, IVMSC and ILMSC group has no moderate to dense fibrosis and inflammation; $p = 0.034$ for IVMSC, $p = 0.011$ for ILMSC). No significant difference is observed between IVMSC and ILMSC groups (no fibrosis and inflammation in 2/9 of IVMSC group and 5/10 of ILMSC group; $p = 0.198$ for fibrosis, $p = 0.248$ for inflammation). When VEGF staining density and intensity is investigated significant difference is observed between sham and ILMSC groups (no staining in 1/9 of sham group and in 5/10 of ILMSC group, $p = 0.017$). No significant difference is observed among groups for CD105 staining density and intensity (less than 50% staining is observed in 6/9 of control group, 7/9 of sham group, 7/9 of IVMSC group, 6/9 of ILMSC; $p > 0.05$).

Conclusion: Our results suggest that MSC treatment significantly prevents or reduces the development of fibrosis in uroepithelial injury. Our results supports the conclusion that MSC has promising success on bladder and posterior urethral injury and give hope for development of future alternative treatment modalities is possible for these patients.

Key Words: Bladder injury, posterior urethral injury, intravenous mesenchymal stem cell, intralesional mesenchymal stem cell.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mesane çocuklarda tam olarak pelvis içinde yerleşimli olmadığından, özellikle dolu olduğunda künt travma sonucu kolayca yaralanır. Mesane rüptürlerinin % 75-95' inde pelvis kırığı varken, pelvis kırıklarının % 4-20' sinde mesane rüptürü vardır. Ekstraperitoneal mesane rüptürlerinin % 19' unda çoğunluğu erkek olmak üzere, üretra yaralanması da görülür. Üretra yaralanması çocuklarda daha çok künt travma sonucu simpizis pubis kırıkları ile birlikte dir. Pelvis kırığı olan erkek çocukların % 5' inde posterior üretra yaralanması da vardır (8,14).

Çocuklarda mesane ve posterior üretra travmaları, yaşamı tehdit etmeseler de, sonuçları bakımından uzun dönemde yaşam kalitesini ciddi düzeyde etkileyen yaralanmalardır. Mesane ve üretra yaralanması sonrası, tekrarlayan bir seri operasyon, idrar kaçırma, üretral darlık ve yaşam boyu aralıklı olarak sonda yardımıyla idrarını boşaltma gibi yaşam kalitesini ciddi düzeyde azaltan durumlarla karşılaşılması muhtemeldir. Bu hasta gruplarında oluşan morbidite hastanın hayat kalitesini oldukça etkilemektedir. Hatta bazı vakalarda üretranın kullanılamaması durumu oluşabilir. Bu hastalara mitrofanoff prosedürü gibi idrarın başka şekilde boşaltılması gereken cerrahiler yapılabilir. Hastanın uzun süreli olarak kataterizasyonunu gerektiren müdahaleler ile üriner sistem enfeksiyonu riski artar.

Kök hücre araştırmaları, günümüzün bilim ve teknoloji gündeminin en önemli konularından birini oluşturmaktadır. Mezenkimal kök hücreler (MKH), kendi kendini yenileyebilme ve çeşitli hücre ve dokulara farklılaşabilme yeteneğine sahip hücrelerdir. Kolay izolasyon nedeni ile cazip bir tedavi aracı olabilir. MKH, hasar görmüş dokuya ulaşarak o dokunun hücre tipine uygun fonksiyonu yerine getirebilme kabiliyetine sahiptir (59). Yetişkin kök hücrelerin, yeni tedavi modellerinde umut verici olduğu bir çok çalışma ile gösterilmiştir. İntestinal mukozada oluşturulan iskemi reperfüzyonda intestinal mukozaya enjekte edilen MKH ile villus hasarının azaldığı gösterilmiştir (38). Yine benzer bir çalışmada iskemik kolon anastomozuna lokal olarak uygulanan MKH ile anjiogenez ve histolojik parametreler değerlendirilerek iyileşme olduğu gösterilmiştir (1). Nöronal hücre dönüşümünün MKH uygulaması ile sağlanabildiği ve nöronal hasarlarda etkili olduğu gösterilmiştir (70). Doğum yaralanmasına bağlı stres inkontinansında da uygulanmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (58).

Üroepitelyal doku bütünlüğünün sağlanmasında, yapılan bir çok çalışmada cerrahi tekniklerin birbirlerine üstünlükleri değerlendirilmiştir. Literatürde, sekelleriyle hasta yaşam kalitesini etkileyen üroepitel defekti onarımını konu alan, mezenkimal kök hücre desteği ile fibrozis oluşumunun engellenmesi yada sınırlandırılması ile ilgili benzer bir çalışmaya rastlamadık.

Bu bilgiler ışığında, çocuk ürolojisinin temel sorunlarından biri olan ve hastayı anatomik yolla, doğal şekilde idrar yapamama ile karşı karşıya bırakan mevcut durumlara bilim ışığında alternatif bir tedavi yöntemi öne sürülmesi amaçlandı ve mevcut konuyla ilgili yeterli literatür ve klinik çalışma olmaması nedeniyle, konunun araştırılmasının önem kazandığı görüldü.

Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan mesane ve posterior üretra yaralanmalarında üriner traktta oluşturulan defekt üzerine intralezyoner ve intravenöz MKH uygulayarak yara iyileşmesi, fibrozis ve skar gelişimi değerlendirilmeye çalışıldı.

Tezin 'Genel Kısımlar' bölümünde, mesane ve üretranın embriyolojisi, anatomisi ve histolojisi hakkında bilgiler verildi. Kök hücre ve mezenkimal kök hücre kavramı, klinikte kullanımı ve mezenkimal kök hücre uygulaması ile iyileşmenin değerlendirilmesinde yardımcı olacak CD105 ve VEGF ile ilgili bilgiler sunuldu. Yara iyileşmesinden kısaca bahsedildi.

'Gereç ve Yöntem' bölümünde, çalışmada kullanılan hayvan sayısı, özellikleri ve oluşturulan gruplar ile laboratuvar ortamında yapılan işlemler ayrıntılı bir biçimde anlatıldı. Yapılan bu işlemler sonucu elde edilen preparatlardan, histolojik ve immünohistokimyasal düzeyde veriler toplandı ve bu veriler tezin 'Bulgular' kısmında ayrıntılı olarak anlatıldı.

'Tartışma ve Sonuç' bölümünde ise çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildi ve bu veriler şimdiye kadar konumuzla ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılıp yorumlandı ve bir sonuca varıldı.

Hipotezlerimiz ;

H₀ hipotezi: Mezenkimal kök hücre uygulaması, mesane ve posterior üretra yaralanması oluşturulan sıçanlarda, histopatolojik olarak fibrozis ve inflamasyonun azaltılması üzerine olumlu değişiklik yapmamaktadır.

H₁ hipotezi: Mezenkimal kök hücre uygulaması, mesane ve posterior üretra yaralanması oluşturulan sıçanlarda, histopatolojik olarak fibrozis ve inflamasyonun azaltılması üzerine olumlu değişiklik yapmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Mesane ve Üretra

2.1.1. Mesane ve Üretra Embriyolojisi

Embriyonel gelişimin üçüncü haftasında mezenkimal hücreler kloakal membranın her iki yanında kloakal katlantıları oluştururlar. Bu katlantıların proliferasyonu, migrasyonu ve füzyonu sonucu ürorektal septum oluşur (50).

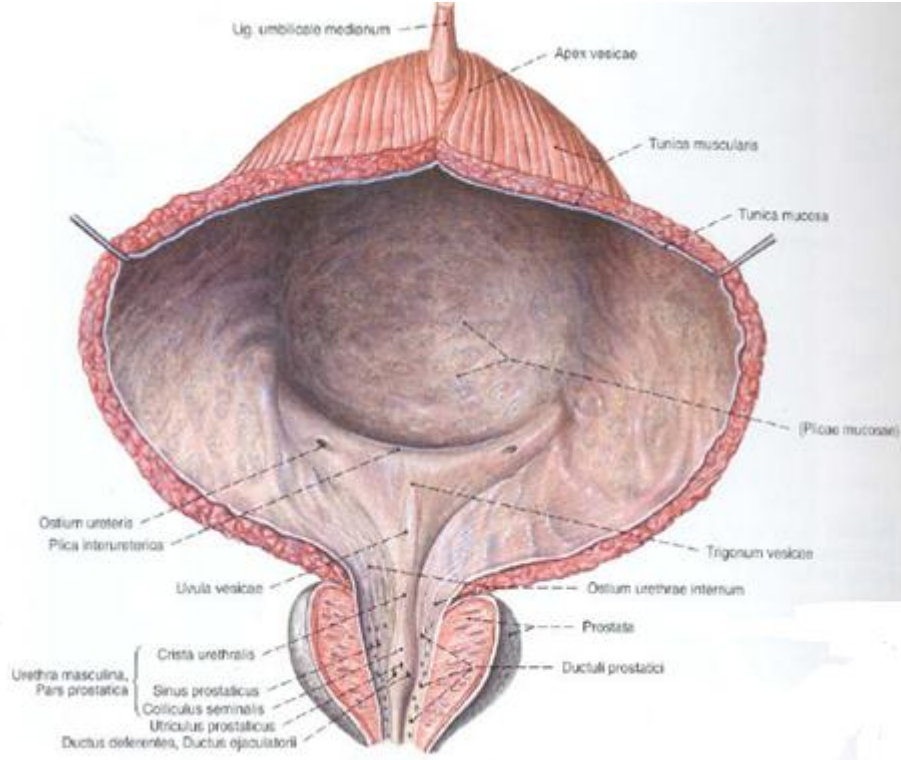
Mezonefrik kanalın kraniyal kısmından vezikoüretal kanal, kaudal kısmından ise ürogenital sinüs gelişir. Ürogenital sinüs mesane ve posterior üretranın öncüsüdür. Vezikoüretal kanalın kraniyal kısmının genişlemesi ile mesane oluşur. Mezonefrik kanaldan gelişen üreteral bud vezikoüretal kanal ile birleşerek mesane trigonunu ve üretra boynunu meydana getirir. Vezikoüretal kanalın kaudal kısmı dar olarak kalır ve üretrayı oluşturur. Proksimal üretranın posterior kısmının, mesane trigonu gibi, mezonefrik kanaldan kaynaklandığı görüşü hakimdir. Bu da mesane trigonunun kas yapısının adeta üretranın bir devamı olduğunu ve detrusör kasından farklılığını açıklamaktadır (74). Histolojik olarakta üroepitel aynı hücre şekline sahiptir. Bu sebeple bizim çalışmamızda mesane ve posterior üretra birlikte değerlendirildi.

Ürogenital sinüsün uzaması ile erkekte posterior üretra, kadında ise tüm üretra ortaya çıkar (68).

2.1.2. Mesane ve Üretra Anatomisi

Mesane, idrarın depolanması ve kontrollü boşaltımı görevini üstlenen, içi boş müsküler bir organdır. Büyüklüğü ve şekli yaşa, cinsiyete, boş ve dolu olmasına bağlı olarak değişir. Tabanına fundus vesicae, boyun bölümüne cervix (collum) vesicae, uç kısmına apex vesicae denir. Fundus ile apex arasındaki geniş bölüm ise corpus vesicae adını alır. Cervix vesicae aşağıda üretra ile devam eder. Apex vesicae ile ilişkili olan urakus, mesaneyi ön karın duvarına asar. Boşken pelvis minor içinde yer alan mesane oldukça ön-orta hatta yukarıya doğru uzanır. Tam dolu mesanenin üst sınırı umbilicusa kadar yükselebilir (2), (Şekil1).

Mesaneyi dış ortama bağlayan boşaltım yolu üretradır. Erkek üretrası ile dişi üretrası arasında farklılıklar vardır. Erkek üretrasında, ürogenital diyafragma ile üretra, iki majör kısma ayrılır. Ürogenital diyafragma da dahil olan proksimal kısma posterior üretra, distalde kalan kısma ise anterior üretra denir (72).



Şekil 1. Mesane Anatomisi (Sobotta Atlası).

Posterior Üretra ve Anterior Üretranın Bölümleri:

*** Posterior Üretra:**

- Prostatik üretra.
- Membranöz üretra.

*** Anterior Üretra:**

- Bulboz üretra.
- Ponduloz üretra.
- Fossa navicularis.

Posterior üretra, prostatik üretra olarak mesane boynundan prostata uzanır. İnternal sfinkter (mesane boynu sfinkteri), internal meatustan verumontanum seviyesine kadar prostatik üretra boyunca uzanır. İnternal sfinkter pasif kontinansı sağlayan sirküler düz kas liflerinden oluşmuştur. Verumontanum üretranın ventral duvarında yerleşik bir çıkıntıdır. Prostatik üretra verumontanum distalinde sona erer. Verumontanum ortasında yan yana üç delik vardır. Ortadaki delik kör bir borucuk şeklindedir ve utrikulus prostatikus adını alır. Embriyolojik olarak müller kanalının artığıdır. Yanlardaki iki delik ise duktus ejakulatoryusların prostatik üretraya açıldığı yerlerdir (72).

Membranöz üretra prostat apeksi ile korpus spongiozum arasında uzanır. Bu bölge prostat stroması yada spongiöz doku ile desteklenmediğinden travmaya en hassas bölgedir(54).

Kadın üretrası, üretrovezikal bileşkeden başlayıp vajinal vestibüle kadar devam edip, klitorisin altında vajina ön duvarına açılır. Miksiyon dışında lümeni kapalı ve yıldız şeklindedir. Mukoza longitudinal katlantılar yapar, çok sayıda müköz glandlar içerir. Distale doğru gland sayısı artar ve bazıları birleşerek tek kanalla üretranın iki yanında vagina ön duvarına açılırlar (Paraüretral glandlar, Bartholin), (72).

2.1.3. Mesane ve Üretra Histolojisi

Mesane trigonu ve üretra boynu transizyonel epitel ile döşeli iken üretra distali çok katlı yassı epitel ile kaplıdır. Glansın içerisinde geçen üretral mukoza skuamöz epitelle döşelidir. Bunun proksimali transizyonel epitelle döşelidir (82).

Kadın üretrasının iç epiteli distal bölümde skuamöz, geri kalan kısımda transizyonel tiptedir. Aslında kadın üretrası erkekteki prostatik üretranın (posterior üretra) homologudur. Erkek üretrasına göre çok daha fazla genişleyebilir.

Mesane histolojik olarak içten dışa doğru 3 tabakadan oluşur (63, 66).

2.1.3.1. Tunika Mukoza

Ürotelyum, mesanenin depolama ve bariyer işlevlerini görmesinde önemli roller üstlenmektedir. Mesane boş durumdayken 5-6 sıra hücreden oluşur. Mesane idrarla dolu olduğu zaman ürotelyum gerildiğinde, yüzeydeki hücreler yassılaşır. Epitel kalınlığı 3-4 hücre sırasından oluşur (44).

Lamina propriada bağ dokusu lifleri, bağ dokusu hücreleri ve yoğun kan damarları ile sinir sonlanmaları bulunur. Lamina propria bağ dokusu fibrillerinden, elastik ve çok miktarda kollajen fibrilleri içerir (63).

2.1.3.2. Tunika Muskularis

Detrüsör olarak bilinen, kalın düz kas dokusundan oluşan tabakadır. Birbirlerinden kesin sınırlarla ayrılmayan 3 alt tabakası vardır. Dış ve iç katmanlarda hücreler boyuna, orta tabakada ise dairesel olarak konumlanmıştır (2).

2.1.3.3. Tunika Adventisya

Mesanenin en dış tabakasında bulunan gevşek bağ dokusudur. Bu tabakada sinir lifleri, kan damarları ve yağ dokusu hücreleri bulunur (65).

Erkek  retrasında, prostatik üretrada epitel mesanedeki gibi transizyonel tiptir. Üretranın geri kalan kısımlarında stratifiye veya pseudostratifiye prizmatik epitel görülür, aralarında yer yer stratifiye yassı epitel yamalarına rastlanmaktadır. Epitelin altında gevşek, fibroelastik bağ dokusundan meydana gelmiŐ lamina propria yer alır. Lamina propriada birkaç ince, uzun, düz kas demeti bulunur. Üretral müköz membran düzensizdir, dallanma gösteren tübüler bezler (Littre bezleri) Őeklinde derinlere doğru uzanır. Bu bezler penil üretranın dorsal yüzeyinde daha fazladır. Bu bezler de üretral epitele benzer bir epitel ile döşelidir, müküs salgırlarlar.

Dişi  retrasında muskuler tabakayı, iki düz kas tabakası oluşturur. Orifisinde bir çizgili kas sfinkteri ile kuvvetlendirilmiŐtir. Epiteli genellikle stratifiye yassı tip olup, pseudostratifiye veya stratifiye prizmatik epitel yamalarına sahip olabilir. Erkeklerdeki Littre bezlerine benzeyen glandular ŐiŐkinlikler mevcuttur. Lamina propria gevşek bağ dokusundan oluşmuştur ve erkek kaverno  dokusuna benzer Şekilde pek çok venöz sinüslerin bulunması ile karakterizedir.

2.2. Mesane ve Posterior  retra Yaralanmaları

2.2.1. Mesane Travmaları

Mesane travmaları beŐ grupta sınıflandırılır.

2.2.1.1. Mesane Kontüzyonu

Mesane duvarı kısmen zedelenmiŐtir, müsküler tabakada yırtık mevcuttur, mukoza sağlamdır. İdrar ekstravazasyonu görülmez. Olguların %75-95' inde mesane ekstraperitoneal olarak yırtılmıŐtır. Çoğu pelvis kırıkları ile birlikte dir. Klinik olarak mikroskopik veya makroskopik hematüri vardır. Tedavi gerektirmez (65).

2.2.1.2. İnterstisyel Rüptür

Mesanede tüm katları içine almayan yırtık mevcuttur. Künt travma sonucunda görülür. Mesane kont zyonundan ayırt edilmesi gerekir. Çünkü tedavisi için hasta kataterize edilerek drenaj sağlanmalıdır (65).

2.2.1.3. İnteraperitoneal Rüptür

Künt veya açık travmalar sonucunda görülür. Kemik pelvise veya suprapubik bölgeye gelen bir darbe, mesane içinde ani ve Şiddetli basınç artmasına neden olur. Çoğunlukla intraperitoneal r pt rl r mesanenin en mobil olan kubbesinde görülür. İnteraperitoneal r pt rl r, çocuklarda mesane lokalizasyonu karın içi yerleşimli olduğundan daha fazla görülür. Bir seride, intraperitoneal rüptür olan hastalarda ölüm oranı, beraberinde bulunan  roloji dışı nedenlere bağlı olarak % 20.3 olarak bildirilmiştir (65).

2.2.1.4. Ekstraperitoneal Rüptür

Açık veya künt, pelvik veya karın travmalarında görülür. Mesanenin n yüzü peritonsuz olduğu için ekstraperitoneal yaralanma mesane n yüzde lokalizedir. intraperitoneal mesane rüptürleri kubbeye, ekstraperitoneal rüptürler ise mesane boynu civarında n yüzdedir.

2.2.1.5. Kombine Rüptür

Mesane rüptürü olan hastaların yaklaşık % 10-12' sinde kombine ekstraperitoneal ve intraperitoneal perforasyon beraber bulunur. Patogenez ve etyolojik faktörler benzerdir (17).

2.2.2. Posterior retra Travmaları

retradaki en yaygın travmatik hasarlar, künt perineal yaralanma, ateşli silah veya kesici delici aletle penetran travmalar, üretral enstrümentasyon sonucu iyatrojenik yaralanmalar ve pelvik kırıkları takiben oluşan yaralanmaları kapsar. Travmatik yaralanmalarda en fazla etkilenen bölüm posterior retradır (73). Pelvis kırığı olan çocukların % 5' inde posterior üretra yaralanması da vardır.

Posterior üretra yaralanmaları en sık kemik pelvis kırıklarına neden olan travmalar sonrasında görülür. Posterior üretra yaralanması olan hastaların % 90' indan fazlasında pelvis kırığı görülürken, pelvik kırığı olan hastaların % 3-25' inde posterior üretrada hasar bulunur (60). Pelvik kemik kırığıyla birlikte görülen travmalarda, kırık sonucu puboprostatik ligamana bağlı olan prostat bir yöne deplase olurken, ürogenital diyafragmaya bağlı olan membranöz üretra diğer tarafa deplase olur. Posterior üretra travması bu karşıt deplasmanlar sonucu oluşur. Enstrümental girişimler sırasında üretra travmaya uğrayabilir. Sistoskop veya rezektoskop mesaneye geçirilirken üretra yırtılabilir. Pelvik travmaya bağlı mesane rüptürü ile başvuran hastaların yaklaşık % 10-20' sinde beraberinde üretra yaralanması da vardır (60, 16).

2.2.2.1. Posterior retra Travmalarının Sınıflandırılması

Bu sınıflama Colapinto ve McCallum (16) tarafından yapılmıştır ve Goldman tarafından modifiye edilmiştir.

Tip I Posterior retra Yaralanması: Travmaya bağlı olarak prostat ve ürogenital diyafragma evre dokulardan ayrılır. Bunun sonucunda membranöz ve proksimal bulböz üretra uzar ve gerilir. retrada yırtık veya kopma yoktur. Üretral kontüzyon mevcuttur. Perivezikal alanda hematom olabilir. Ekstravazasyon yoktur. Posterior üretra yaralanmalarının yaklaşık % 17'si bu şekildedir.

Tip II Posterior Üretra Yaralanması: Travmaya bağlı olarak prostatomembranöz üretra komplet veya inkomplet yaranır. Ürogenital diyafragmanın alt parçası sağlamdır. Opak madde pelvis içine ekstravaze olur. Posterior üretra travmalarının % 15'i bu şekildedir.

Tip III Posterior Üretra Yaralanması: En sık görülen posterior üretra yaralanmasıdır. Bu tip travmaların % 68'i bu şekilde görülür. Prostatomembranöz üretra komplet veya inkomplet travmaya uğrar. Ürogenital diyafragma ve bulböz üretra da travmatize olmuştur. Opak madde ekstravazasyonu pelvise olduğu gibi perineye ve bulböz üretranın spongiyoz dokusu içine doğru da olur.

Tip IV Posterior Üretra Yaralanması: Üretral yaralanmayla birlikte mesane boynu yaralanması da mevcuttur.

2.2.3. Mesane ve Posterior Üretra Yaralanmalarında Klinik ve Tanı

Mesane rüptürünün en belirgin işareti makroskopik hematüridir. Erken dönemde mesane rüptürünün belirti ve bulguları yönlendirici değildir. Bu nedenle, genellikle tanı gecikir. Çocuk suprapubik bölgenin ağrıdığı söyleniyor veya idrarını zor yapıyor olabilir. Pelvis kemiğinde kırık varsa suprapubik hassasiyet kırığa yorumlanabilir. Mesane kubbesinden olan yırtılmalarda idrar batın içine dolar ve peritoneal iritasyon bulgusuna neden olabilir. İntraperitoneal rüptürün üzerinden 24 saat geçmişse BUN, kreatinin ve potasyum seviyelerinde yükselme, laboratuvar profilinde tıpkı akut böbrek yetmezliğine benzer durum gelişebilir (41).

Mesane yeterince dolu değilse, standart bilgisayarlı tomografi (BT), intravenöz piyelografi (İVP) veya ultrasonografi (USG) ile mesanedeki yırtık tanımlanamayabilir. Mesane yeterince dolu değilse standart BT ile mesane rüptürlerinin % 33'ü görüntülenememektedir. Bu nedenle özellikle pelvis kırığıyla birlikte olan hematürilerde sistogram çekilmesi şarttır. Pelvis kemiği kırığı ile birlikte ister mikroskopik, ister makroskopik olsun hematürinin varlığı sistogram çekilmesini gerektiren bir endikasyondur. Mesane rüptürlerinin % 95' inde makroskopik, % 5'inde mikroskopik hematüri vardır (37).

Mesane içine önce az miktarda kontrast madde verilir. Kaçak saptanmışsa tetkike son verilir. Mesaneye konmuş olan katater yerinde bırakılır. İlk anda kaçak saptanmamışsa, mesane geri kalan kontrast madde ile doldurulur ve ön arka , yan ve oblik grafiler alınır. Mesaneden dışarı çıkan kontrast madde miktarıyla mesane rüptürünün ciddiyeti arasında ilişki yoktur. Kontrast maddenin kendisi kaçığı gizleyebileceğinden mesane boşaldıktan sonra mutlaka bir poz daha alınmalıdır. Ekstraperitoneal yırtıkların % 15' i mesane boşaldıktan sonra çekilen grafi ile anlaşılır (37).

Üretral meada taze kan görülmesi, üretral yaralanmayı destekleyen bir bulgudur. Makroskopik hematüriyle birlikte, peritoneal hassasiyet ve pelvis kırığı da tesbit edildiği takdirde, bu çocuklara idrar katateri takılmadan önce mutlaka bir üretrogram çekilmelidir. Aksi halde inkomplet bir yaralanma katater takılırken komplet hale gelebilir. Üretral meadan kan gelmesi dışında çocuğun idrar yapamaması da üretral yaralanmanın bir başka işaretidir (37).

Tanı üretra içine ilerletilen ince bir kataterin yardımıyla çekilecek retrograd üretrografi ile koyulur. Geçirmiş olduğu travma nedeni ile başka organ yaralanmalarında olan ve genel durumu iyi olmayan çocuklarda retrograd üretrografi suprapubik mesane drenajı sağlanıp hastanın genel durumu düzeldikten sonra yapılmak üzere geciktirilebilir (75).

2.2.4. Mesane ve Posterior Üretra Yaralanmalarında Tedavi

Mesane yaralanmalarında tedavi şekli ve zamanı, hem mekanizmaya (künt veya penetran) hem de yaralanma boyutu ve yerine (ekstraperitoneal veya intraperitoneal) bağlıdır.

Ekstraperitoneal mesane rüptürü olan hastaların çoğunda ekstretravazasyon olsa bile tedavi katater drenajı ile taktır (60). Otuz hastalık bir seride bu yaklaşımla % 93' lerde başarı oranı bildirilmiştir (18). Rüptürlerin büyük kısmının 10 gün içinde ve tamamının 21 günde iyileştiği görülmüştür.

Intraperitoneal rüptürler cerrahi eksplorasyon ile tedavi edilmelidir. Bu olgular eğer tedavi edilmezse peritonit riski mevcuttur (60).

Penetran travmaya bağlı tüm mesane travmaları acil cerrahi onarım ile tedavi edilmelidir. Cerrahi onarım tekniği cerrahın tercih ve tecrübesine bağlıdır.

Üretra yaralanmalarının etkin tedavisi halen tartışmalıdır. Posterior üretrada parsiyel yırtılma tesbit edildiğinde suprapubik veya üretral katater ile tedaviye başlanabilir. Tekrarlanan retrograd üretrografiler ile iyileşme sağlanana kadar beklenir. Geride kalan veya daha sonra oluşan striktürler eğer kısa ve darsa üretral dilatasyon veya optik üretrotomi ile gerekirse üretroplasti ile tedavi edilebilir (87).

Tam üretral kopma vakalarında primer düzene koyma, acil üretroplasti, gecikmiş primer üretroplasti, gecikmiş üretroplasti ve gecikmiş endoskopik insizyon tedavi seçenekleri arasında yer alır.

2.2.4.1. Primer Düzene Koyma

Üretral uç uca primer anastomoz transpubik olarak açık anastomoz yöntemi ile yada endoskopik teknikler ile gerçekleştirilebilir. Posterior üretra yaralanmalarında, mesane boynu veya rektal yaralanmaların birlikte olduğu durumlarda acil müdahale

önerilir. Mesane boynu yaralanmalarında, idrar kaçırma ve pelvik fraktürlerin enfeksiyonu riskleri vardır. Rektal yaralanmalar ise sepsis ve fistül risklerini taşır. Bu vakalarda üretra anastomoz uygulamasının stent kateteri ile yapılması uygundur (48, 3, 12, 47).

Hastanın genel durumu ve birlikte görülen yaralanmaların durumu primer anastomoz kararının alınmasında çok önemli rol oynar. Primer anastomoz ile tedavinin avantajları, suprapubik katater ile tedaviye göre daha az striktür oluşumu görülmesi, geç dönemde endoskopik yöntemler veya dilatasyon yapılabilmesi, ileri dönemde üretroplasti gerekirse teknik kolaylığı sağlaması sayılabilir. Ancak bu yöntemin dezavantajı, erektil disfonksiyon ve idrar kaçırma insidansının geç rekonstrüksiyon yapılan hastalara oranla fazla olmasıdır (76, 23).

Balon kateterin sürekli traksiyon ile mesane boynunda kalması, sfinkter mekanizmasını, basınç nekrozu ile zedelediği saptanmıştır (12). Erken yeniden düzene koymada; sonuçların daha başarılı olması için serilere dahil edilen hastalarda hemen yapılan uç uca getirme olgularında minimal traksiyon uygulanmalı ve dikiş ile onarım uygulamaları olmamalıdır.

2.2.4.2. Acil Üretroplasti

Posterior üretra yaralanmalarında erken açık üretroplasti endike değildir. Yaygın şişlik ve ekimoz olması nedeni ile akut fazda üretral parçalanma derecesinin tam olarak değerlendirilememesi bunda rol oynar (19).

2.2.4.3. Gecikmiş Primer Üretroplasti

Erken cerrahi için endikasyon olmaması halinde, posterior üretra yaralanmalarının tedavisi gecikmiş primer yöntem ile yapılabilir. Gecikmiş primer yaklaşım, suprapubik kataterin başlangıç yaralanmasında yerleştirilmesini gerektirir ve onarım hasta stabil hale gelince yapılır. Bu da 10 ila 14 gün içinde gerçekleşir. Gecikmiş primer onarımda amaç striktür oluşumunu engellemekten çok, şiddetli parçalanma yaralanmalarını düzeltmektir (78). Endoskopik olarak onarım yapılabilir, aynı zamanda abdominal ve perineal yaklaşımlar da olabilir. Tek basamaklı perineal anastomotik üretroplasti yapılan üretral onarımlarda % 80 oranında striktür oluşmama durumu görülür (62). Kadın üretra yaralanmalarında gecikmiş primer üretroplasti en iyi yaklaşımdır, ancak bu konuda geniş bir deneyim bulunmamaktadır (39). Gecikmiş primer onarım ile üretra uzunluğu korunmaya çalışılır; burada amaç üretranın fazla miktarda yara dokusu içinde kalmasını engellemektir. Buna bağlı idrar kaçırma gelişimi de önlenir.

2.2.4.4. Gecikmiş Üretroplasti

Görece daha kısa prostatobulbar üretral aralık, subprostatik üretral yaralanmanın gecikmiş onarım ile tedavi edilmesine yol açar. Bu şekilde basit ve kısa

bir aralık defekti, görece basit bir perineal yaklaşımla anastomotik onarım ile çözümlenebilir. Bu tekniğin avantajı, pelvik hematoma ek olarak hasar görmüş dokuların, tekniğin uygulanmasına kadar düzelmiş olmasıdır. Bu yaklaşımdaki tek sorun hastaya kesin tedavi öncesi suprapubik kateter uygulanması gereken sürenin uzunluğu olabilir. Travmadan en az 3 ay sonra yapılan gecikmiş üretral onarımın tek basamaklı perineal yaklaşım ile yapılması gerekmektedir.

Gecikmiş üretral onarımdan sonra, 6 ay içinde anastomoz normal çapa ulaşırsa; hastada daha fazla striktür oluşması beklenmez (62). Mesane tabanına, abdominal duvara veya rektuma, periüretral epitalize kavitelere fistülož yolların olması ve litotomi pozisyonuna hastanın alınabilmesi, birleşik abdominoperineal cerrahi yaklaşım için temel endikasyonlardır (55).

2.2.4.5. Gecikmiş Endoskopik Optik İnsizyon

Suprapubik sistostomi içinden bir kıvrık metal ses üretici, körlemesine sonlanan proksimal üretraya doğru yönlendirilir, üretraya doğrudan görüntüleyen üretrotom sokulur ve sesin geldiği yöne doğru kesimler yapılır. 1 ila 3 hafta arasında bir süre üretral kateter yerinde bırakılır. Suprapubik drenaja 2 hafta daha devam edilir. İşemenin olması ile başarı sağlanmış kabul edilir (51). Üretral defekt kısa ise girişim endikasyonu vardır, mesane boynu yerinde ve çalışır durumda ve aynı zamanda prostat ve proksimal bulbus üretrada minimal yer değişme vardır (27). Bir yıl içinde üretrotomilerin çoğunun tekrarlanması gerekir, ancak bu tekralayan üretrotomiler sadece geçici bir düzelme sağladığından alternatif tedavi yöntemleri bulunmalıdır (67).

2.3. Kök Hücre

2.3.1. Kök Hücre Tanımı ve Özellikleri

Organizmayı oluşturan hücreler çoğalma, bölünme ve büyüme özellikleri açısından birbirlerinden farklılıklar göstermektedirler (45). Canlı vücudunda uzun süre bölünebilen, kendini yenileyen ve aynı zamanda vücudun ihtiyacına göre farklılaşarak diğer doku hücrelerine dönüşebilen hücreler kök hücreler olarak bilinmektedir (81).

Kök hücreler ayrışmamışlardır, özelleşmiş hücrelere kaynaklık edebilirler. Hasar gören alıcıya nakil sonrasında, kaynak dokuyu işlevsel olarak yenileyebilirler. Farklılaşmamış kök hücrelerin, diğer hücrelerden farklı olarak başlangıçtaki hücrenin karakteristik özelliklerini taşıyan en az bir benzer hücre oluşturabilme yeteneği (selfrenewal), tek bir hücreden birden fazla hücre serisine farklılaşabilme yeteneği (multi-lineage differentiation) ve bir dokunun işlevsel olarak yeniden yapılandırılması özellikleri vardır (81).

2.3.2. Kök Hücrenin Tarihçesi

Kök hücrenin tarihçesi, tıp bilimindeki gelişmeler göz önüne alındığında oldukça yeni sayılabilir. 1981 yılında Evans ve Kaufman'ın fare embriyonik kök hücrelerini elde etmeleri ile çalışmalar hız kazanmıştır (33). İnsan embriyonik kök hücre çalışmalarına pre-implantasyon tanı amacı ile başlanmıştır. 1998 yılında Thomson ve arkadaşları, araştırma amaçlı olarak bağışlanmış embriyolardan, in vitro uygun koşullarda ektoderm, mezoderm ve endoderm kökenli hücreleri farklılaştırarak, insan embriyonik kök hücre serileri elde etmişlerdir (83). Ülkemizde bu konuda ilk sayılabilecek hücre kültürü çalışmaları sığır vebası ve şarbona karşı yeni aşı geliştirmiş olan Ord. Prof. Dr. Süreyya Tahsin Aygün'e aittir (24). Yapılan çalışmalar sonunda, bir dokudan elde edilen kök hücrelerin, belirli ortam şartlarında, belirli uyarılarla farklı doku hücrelerine dönüşebilme yetenekleri gösterilmiştir (88).

2.3.3. Kök Hücrenin Sınıflandırılması

Kök hücreler totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere 3 grup altında tanımlanmaktadır (80).

2.3.3.1. Totipotent Kök Hücre

Vücuttaki tüm hücreleri oluşturabilme yeteneğine sahip kök hücreye totipotent kök hücre denir, tek örneği zigottur. Tam ve işlev gören bir canlıyı oluşturabilecek tüm hücre tiplerine farklılaşabilir. Plasenta ve amniyon kesesi gibi embriyo dışı dokulara da farklılaşma yeteneğine sahiptirler. Totipotent hücreler gelişmenin ileri evrelerinde pluripotent hücrelere dönüşebilirler (26).

2.3.3.2. Pluripotent Kök Hücre

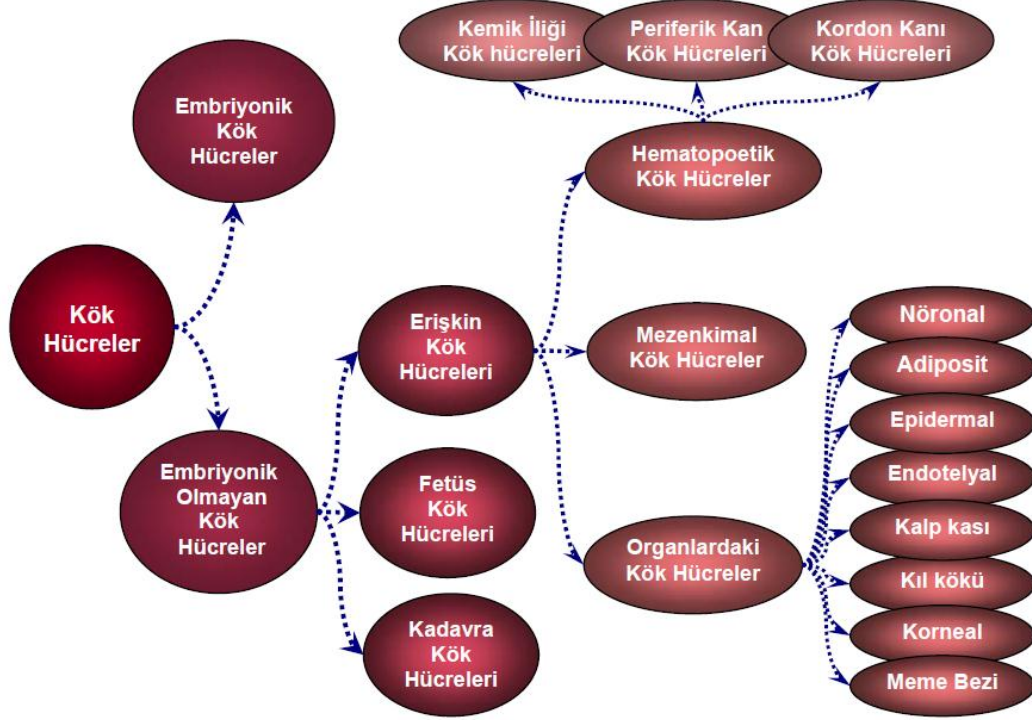
Fertilizasyondan sonra, pre-implantasyon döneminde 5. günde oluşan blastokist evresindeki embriyoda bulunan hücrelerdir. Pluripotent kök hücreler yaklaşık 200 hücre tipine dönüşebilecek potansiyele sahipler; ancak işlev gören bir organizmayı oluşturamazlar (83).

2.3.3.3. Multipotent Kök Hücre

Embriyonik gelişmenin daha ileri evresinde, özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilen hücrelerdir. Erişkin kök hücrelerine dönüşebilirler. Örneğin, multipotent bir kan hücresi, özelleşmiş kan hücrelerine dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Multipotent hücreler doğumla birlikte kordon kanında ve erişkin vücudunda özellikle kemik iliği ve yağ dokusunda bulunurlar (26).

2.3.4. Kök Hücre Tipleri ve Kaynakları

Kök hücreler elde edildikleri kaynaklara göre farklı özelliklere sahiptirler (şekil2).



Şekil 2 : Kök hücre kaynakları (Sağlıkta Birikim Dergisi).

1. Embriyonik Kök Hücre

Embriyonik kök hücre (EKH), blastokist evresindeki embriyonun iç hücre kitlesinden ayrıştırılan pluripotent hücrelerdir. Bunlar plasenta dışında, ektoderm, mezoderm ve endoderm tabakalarından köken alan çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilir (86). EKH'lerin tedavide kullanımında en önemli faktör farklılaşmanın istenilen yönde kontrol edilmesidir, ancak etik sorunlar nedeniyle EKH kullanımı yasaklanmıştır.

2. Embriyonik Olmayan Hücreler

Erişkin kök hücreler, embriyonik kök hücrelere göre gelişmenin daha sonraki basamaklarında görülen hücrelerdir. Organizmanın yaşamı boyunca, daha sınırlı olmakla birlikte kendilerini yenileyebilme özelliğini korurlar. Bu hücreler dokunun devamlılığını sağlamak ve gerektiğinde dokuyu tamir etmekle görevlidir. Daha çok elde edildikleri dokuya dönüşme potansiyelleri vardır. Multipotent kök hücrelerdir. Kişinin immün sistemine uyum gösterirler, ancak tüm hücre tiplerine dönüşemedikleri için kullanımları sınırlıdır (71).

2.3.5. Mezenkimal Kök Hücre (MKH)

Mezenkimal kök hücreler erişkin kök hücre tiplerinden biridir. Kemik iliği ve diğer stromal dokulardan köken alan hücrelerdir. Mezenkimal kök hücre ilk olarak Friedenstein ve Petrakova tarafından tanımlanmışlardır (36). MKH henüz diferansiye olmamış multipotent hücrelerdir. Kemik iliğinin stroması içinde yer alan, uzantılı fibroblast benzeri multipotent hücrelerdir. MKH 'ler kolay elde edilebildiği, çalışmalarda daha az etik sorun oluşturduğu ve düşük immünojenitesi nedeniyle çalışmalarda önem kazanmıştır.

Kemik iliği mikroçevresinin bileşenlerinden olan MKH hematopoezin gerçekleştirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Mezenkimal kök hücreler tarafından salgılanan anjiogenik, antiapoptotik ve mitojenik faktörler hasara uğramış dokuların rejenerasyonunu ve çoğu dokuda gösterilmiş olan endojen kök hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasını arttırır. Uygun koşullarda, osteojenik, kondrojenik, adipojenik yönde farklılaşabilmektedirler (21). Aynı zamanda fibroblast, iskelet kası hücreleri gibi mezodermal hücreler ile, mezodermal kökenli olmayan endotel, nöroektoderm gibi çok çeşitli hücrelere farklılaştıkları gösterilmiştir.

MKH kord kanı, plasenta, adipoz doku, Wharton's jeli, kas, sinovyal membran, sinovyal sıvı, trabeküler kemik, artiküler kartilajdan elde edilebilir. Elde edilen hücrelerin MKH olduklarını gösterecek bir belirteç henüz ortaya konulamamıştır.

Klinik çalışmalarda MKH tercih edilmesinin nedenlerini:

1. Elde edilmesinin kolaylığı,
2. Hematopoetik kök hücreler ile yakın ilişkisi ve hematopoezde önemli fonksiyonlarının olması,
3. Yüksek farklılaşma potansiyelleri (mezodermal dokuların dışında diğer germ tabakalarına da farklılaşabilirler),
4. Stromal kaynaklı olduğu için tüm doku hücrelerine destek olarak, fonksiyon ve gelişimlerinde katkıda bulunmaları,
5. Hasarlı dokuya ulaşmada migrasyon yeteneklerini kullanmaları,
6. Gen tedavisine uygun olmaları (transfer kolaylığı, hızlı çoğalma ve dayanıklılık),
7. Enzim defekti olan hastalıklarda enzim üreten hücre olmaları,
8. İmmünsupresif ve immünojenitesinin düşük olması nedeniyle doku uygunluğunun aranmaması,

9. Kemokinler, büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımı ile hücre ve dokuda destek hücre olarak onarımda yer almaları, olarak sıralayabiliriz.

Klinikte mezenkimal kök hücrelerin kullanılma amaçları:

1. Organ ve doku tamiri: MKH' nin hayvan çalışmalarında kullanıldıkları çok çeşitli organ hasarı ve hastalık modeli vardır (43, 49).
2. Organ ve doku nakli: İmmünsupresif etkisi ve özellikle hematopoetik kök hücre nakillerinde stromal destek sağlaması nedeniyle organ ve doku nakillerinde sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Allojenik transplantasyonlarda Graft versus host hastalığında iyi sonuçlar alınmıştır (22).
3. Otoimmun hastalıkların tedavisi: İmmünsupresif etkisi nedeniyle kullanılabilceği düşünülmektedir.
4. Organ-doku nakilleri ve tamirinde birlikte kullanım : Çeşitli metabolik hastalıklarda, kemik iliği nakli ile birlikte MKH nakilleri denenmiştir. Sistemik lupus eritematozusta başarılı olmuştur. Diyabet tedavisinde de başarı sağlanmıştır (85).
5. Çeşitli tümörlerin, kalıtsal hastalıkların tedavisinde (özellikle enzim bozukluklarında) ve gen terapide hedef hücre olarak kullanımı, deneysel Lökodistrofi tedavisinde başarı sağlanmıştır (29).

2.3.6. Mezenkimal Kök Hücre ve Klinik Çalışmalar

Nöron, kalp kası, kondrosit gibi farklılaşmış hücreler yaşlanma, travma ve dejeneratif hastalıklar sonucunda hasara uğradıklarında doğal biçimde yenilenemezler. Değişik hücre türlerine farklılaşabilme potansiyeli olan mezenkimal kök hücrelerin, çoğalmalarının kontrol edilebilmeleri halinde, in vitro laboratuvar ortamlarında gerekli olan hücre tiplerine dönüştürülmeleri mümkündür.

Yeni ilaçların geliştirilmesinde, etkinlik ve sitotoksitelerinin değerlendirilmesinde, hasarlı hücre onarımı veya ölümü durumunda kök hücrelerin kullanılabilceği öngörülmektedir.

Günümüzde embriyonik ya da erişkin dokulardan elde edilen kök hücrelerin, uygun ortam ve koşullar oluşturularak bir çok hücre tipine in vitro koşullarda farklılaştırılmaları sağlanmıştır. Bu konunun aydınlatılması için daha birçok çalışmaya gereksinim olduğu görülmektedir.

İskemik inmenin deneysel modellerinde MKH, başarı ile denenmiş ve iskeminin oluşturduğu hasarın azaltılmasında etkinliği gösterilmiştir (28, 20).

Hematopoetik kök hücre transplantasyonunda gelişen graft versus host hastalığının önlenmesi ve tedavisinde MKH'lerin katkıları son yıllarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Avrupada yaklaşık 50 hastanın tedavisinde kullanılmış ve % 70' lerde başarı oranı görülmüştür (25).

Multipl Skleroz, Amyotrofik Lateral Skleroz gibi hastalıklarda denenmiş ve semptomların gelişiminde yavaşlama görülmüştür (25).

Hasarlı miyokarda kardiyomyosit sağlayacak kök hücre aktarılması, günümüzde kalp nakli dışında tedavi seçeneği olmayan hastalar için umut verici görülmektedir (69, 31).

İnsan embriyonik kök hücreleri ve insan mezenkimal kök hücrelerinden kıkırdak dokusu üretilmiştir. Kıkırdak ve kemik onarımı gerekecek hasarlarda, travma ve yaşlılık sonucu ortaya çıkan oosteroartritte tedavide kemik iliği stromal hücre topluluğu olan mezenkimal kök hücreler kullanılması daha uygun görülmektedir (24).

Fareler üzerinde diyabet, parkinson, medulla spinalis hasarlarında kök hücre çalışmaları devam etmektedir.

Kök hücrelerin zaman içinde mutasyonlardan etkilenip etkilenmeyeceği, gelişebilecek tümör oluşumları, nakledilen hücrelerin reddinin engellenmesine yönelik deneyimlerin geliştirilmesi kök hücre çalışmalarında devam eden sorunlardır.

2.3.7. CD105 (Endoglin)

CD105, hızlı çoğalabilen endotel hücrelerinde, fazla miktarda bulunan hücre membran glikoproteinidir. İlk olarak Haruta ve Seon tarafından 1986' da tanımlanmıştır (7).

Çoğalma, migrasyon, ekstrasellüler matriks üretimi ve hematopoez benzeri fonksiyonları düzenleyen, yara iyileşmesi ve anjiogenezde rol alan Transforming Growth Faktör β (TGF β) grubundandır.

Endoglin, anjiogenezin güçlü bir göstergesidir. En yüksek CD105 düzeyi, insan umbilikal ven endotel hücrelerinde gösterilmiştir. Hemopoetik malignitelerden kök hücre orijinli olanlarda CD105'in eksprese edildiği görülmüştür (7, 35).

İlk olarak kemik iliği stromasından elde edilen mezankimal kök hücrelerin daha sonra term kordon kanı ve kordon stroma dokusundan da elde edilebileceği gösterilmiştir. İzleyen araştırmalarda pek çok insan dokusunda varlığı gösterilen bu hücrelerde, hematopoetik kök hücrelerden farklı olarak CD34, CD45 ve HLA-DR için

negatif, CD44, CD73, CD105, CD90, CD166, ve CD29 için pozitif oldukları görülmüştür. MKH'leri tanımlamak için belirlenen ölçütler arasında akım sitometrisi ile % 95' ten fazla hücrede CD105 pozitif olması gerekmektedir.

Normal dokulardaki vasküler endotel ile karşılaştırıldığında inflamasyon, rejenerasyon ve tümör gibi aktif anjiogenezdeki dokularda bulunan endotel hücrelerinin CD105 ile daha yoğun boyandığı görülmüştür.

CD105 diğer belirteçlerden farklı olarak, anjiogenik dokuda öncelikle aktive endotel hücrelerine bağlanmakla birlikte, normal dokularda boyanmaz veya zayıf boyanır. Bu da mezenkimal kök hücre uygulanan ve doku iyileşmesi anjiogenik potansiyel ile değerlendirilecek olan durumlarda CD105'in değerlendirilmesini üstün kılar (7, 79). Bu bilgiler ışığında CD105 yeni damar oluşumunun güçlü bir belirteci olup, yara iyileşmesindeki neovaskülarizasyonun değerlendirilmesinde diğer belirteçlere göre daha üstündür.

2.3.8. Vasküler Endotelial Growth Faktör(VEGF)

Anjiyogenik moleküller içinde anjiyogenezin en potent uyarıcısı ve üzerinde en çok durulanı VEGF' dir. VEGF homodimerik, heparin-binding glikoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. VEGF A, B, C, D, E, ya da aminoasit sayılarına göre 121, 165, 189, 206 ve 145 gibi izoformları bulunmaktadır (89, 34).

İncelenen birçok proanjiogenik faktörler arasında en etkilisi Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF)' dür(76). Vascular Permeability Factor (VPF) olarak da bilinir. VEGF temel anjiogenik faktör olma özelliği yanında, VEGF' e maruz kalan damarlarda, endotel hücreleri arasında fenestrasyon, veziküler organeller ve transselüler gap oluşumuna olanak sağlayarak vasküler permeabiliteyi artırır (9).

Mezenkimal kök hücreler tarafından sentezlenen VEGF, terapotik anjiogeneziste rol oynar. VEGF özellikle damar oluşumunda rol oynarken, endotel hücrelerinin yaptığı bir çok fonksiyonda rolü olduğu görülmüştür. Bunların en önemlilerinden biri yara iyileşmesidir (4).

2.4. Yara İyileşmesi

Dokuyu oluşturan yapıların travma, cerrahi girişim yada hastalıklar gibi farklı nedenlerle bütünlüğünün bozulması yada kaybı ile var olan fizyolojik özelliklerinin geçici veya tamamen kaybolmasına yara denir (64). Yara iyileşmesi hasara uğrayan organizmanın bu hasara karşı verdiği yanıttır. Yara iyileşmesi basitçe önce hasar

bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, daha sonra hücre proliferasyonu ve matriks depolanması ve sonra da skar oluşumu olarak özetlenebilir.

2.4.1. Yara iyileşmesi Faz-1 : Hemostaz ve İnflamasyon

Hemostaz ve inflamasyon doku hasarına karşı verilen ilk cevaptır. İlk olarak hasarlı dokuda vasküler spazm, sonra vazodilatasyon olur. Kapiller geçirgenlik artar. Damarlardan sızan plazma ve protein yara alanını doldurur. Lökosit ve eritrositler açığa çıkar. Kan, subendotelyal kollajenle temas edince Hageman faktör(FXII) aktive olur. Trombositler granül depolarını boşaltır, serotonin gibi maddeleri açığa çıkarır. Trombositler tarafından oluşturulan geçici pıhtı intrinsek ve ekstrinsek yollarla protrombini trombine ve fibrinojeni fibrine çevirerek hemostazı sağlar. Hemostaz inflamasyonu başlatır (84, 42).

İnflamasyon fazı, damar geçirgenliği, kan hücrelerinin yara ortamına göçü, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin lokal salınımı ile karakterizedir. Fibroblastlar perivasküler bağ dokusundan kaynaklanır, fibrin lifleri boyunca ilerleyerek yara bölgesine ulaşır. Prolifere olan fibroblastlar 4–6. günlerden itibaren kollajen üretmeye başlar. Makrofajlar fagositik hücreler olup, yara temizliği yanında proliferatif fazda granülasyon dokusunun oluşumu ve yayılması için çok sayıda sitokin de salgırlar. Monosit ve makrofajların azlığı veya kaybı fibroblast fonksiyonunda gecikme ve yetersiz anjiyogenez nedeniyle yara iyileşmesinde şiddetli değişikliğe yol açar. Çünkü makrofajlar yara tamiri için gerekli olan tek inflamatuvar hücre tipidir (84, 11).

2.4.2. Yara İyileşmesi Faz-2 : Proliferasyon ve Epitelizasyon

Fibroplazi, granülasyon, yara kontraksiyonu ve epitelizasyon fazıdır. Büyüme faktörleri ve kollajen birikimine bağlı olarak fibroblast, epitelium ve endotel hücrelerinde artış gösterir. Fibroblastların fonksiyonu yaralanmanın ikinci gününde başlayan ve 5–7. günlerde en fazla aktivite gösteren kollajen sentezidir. Birçok çalışmada granülasyon dokusunu ve özellikle fibroplaziyi modifiye etmek için growth faktörler kullanılmıştır. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) ve Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) topikal uygulamalar ve subkutan enjeksiyon yollarıyla, granülasyon doku proliferasyonu arttırmak amacıyla kullanılmıştır (84, 52).

Anjiogenez, yeni kan damarı oluşumudur, yara iyileşmesinin sonuna kadar devam eder. Anjiyogenez olmazsa oksijen ve besin olmayacağından dolayı yara yatağına makrofaj ve fibroblastların invazyonu olmayacaktır. Epitelizasyon derinin alt katmanlarında bölünerek çoğalması ve granülasyon dokusunun üzerini örtmesidir. Epitelizasyon yaralanmadan 24 saat sonra başlar (84, 42).

2.2.3.Yara İyileşmesi Faz-3 : Matriks Sentezi

İkinci ve üçüncü günlerde başlayıp, 15-20. güne kadar devam eder. Bu fazın en önemli ögesi kollajendir. Yarada en çok tip-1 ve tip-3 kollajen bulunur. Kollajen, fibroblastlar tarafından üretilen üç uzun aminoasit zincirinden ibaret bir moleküldür (84, 42).

2.2.4. Yara İyileşmesi Faz-4 : Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma

Yeni sentezlenen kollajen lifler düzensiz çöküntüler şeklindedir. Bu liflerin düzenli bir şekilde yan yana dizilmesi sürecine yeniden yapılanma denir (84, 42).

Nitekim; bir barsak anastomozu sonrası lümen içi basıncı artarsa kaçak oluşumu, ilk 5 gün içinde anastomoz hattında, daha sonra ise dikişlerin barsak duvarından geçtiği hatta gerçekleşir. Yara iyileşmesinde elastin liflerinin sayısı ve organizasyonu hiçbir zaman yeterli olmaz. Bu nedenle, hiçbir yaralanma bölgesinde doku elastisitesi tam olarak geri dönmez.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

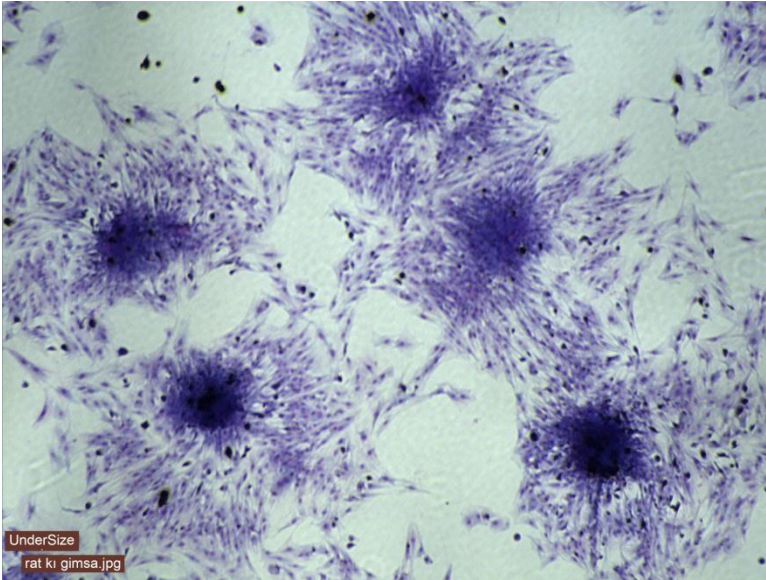
Bu çalışmaya, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Etik kurulundan 25.11.2011 tarih ve 2011/54 sayılı onay alınarak başlanmıştır. Proje Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.12.015 proje numarası ile desteklenmiştir. Proje kapsamında çalışmada kullanılan denekler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Cerrahi işlemler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, kök hücre elde edilme işlemi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kök Hücre Genetik Tanı Merkezi'nde, histopatolojik incelemeler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tamamlanmıştır.

3.1. Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi

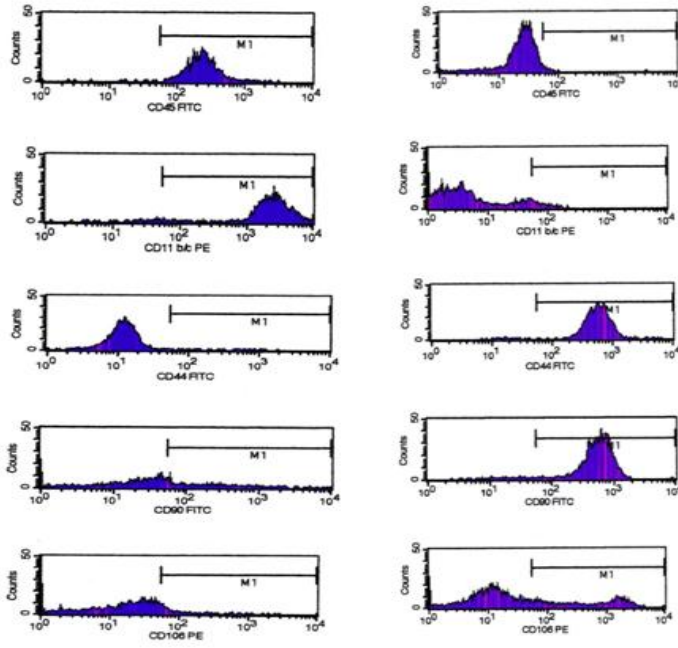
Mezenkimal kök hücre elde edilmesi için donör olarak erkek rat kullanıldı. Ketamin HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı) ve Ksilazin (Ronpun®, Bayer) anestezisi altında sakrifiye edilen ratların femur, tibia ve humeruslarının medüller kavitelelerinden yıkama yöntemi kullanılarak kemik iliği alındı. Bu işlem için, dulbecco's modified eagle's medium-low glucose (DMEM-LG) çekilmiş insülin enjektörleri kullanıldı. Her kemik için 1 cc, toplamda ise hayvan başına 8-12 cc DMEM-LG kullanıldı. Hücreler eşit hacimdeki Ficoll solüsyonu üzerine tüp içerisinde yayıldı. Elde edilen solüsyondan mononükleer hücreleri ayırmak amacıyla dansite gradiyent yöntemi kullanılarak 900 devirde 30 dakika süre ile santrifüj edildi. İnterfazdan toplanan mononükleer hücrelerden 3 ml'lik akım sitometri çalışmasına ayrıldı. 3 ml'lik örneğin kullanımında her hücre dizini için 6 tüp kullanıldı. Tüplerin üzerleri sırasıyla yüzey belirteçlerinin adları ve Kontrol Grubu olarak yazıldı. Sonra her tüpe hücre konsantrasyonu 1×10^6 olacak şekilde getirilen hücre süspansiyonundan 100' er μ l konuldu. Birden beşe kadar olan tüplere yüzey belirteçleri sırası ile 10' ar μ l eklendi. Altıncı tüpe belirteç konulmadı. Tüpler vortekslendi. 4 °C'de karanlık ortamda 15 dakika inkübe edildikten sonra üzerine daha önceden hazırlanmış olan yıkama solüsyonundan 1 ml eklendi ve 1400 devir/dakikada 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra kalan hücre çökeltisine tekrar 0.5 ml yıkama solüsyonu eklenerek akım sitometri cihazında tanımlandı. Bu işlemde HKH (hematopoetik kök hücre) ve MKH hücre belirteçleri (CD11b/c, CD44, CD45, CD90, CD106)'nin kullanımı sonucunda CD11b/c [%97 (+)], CD44 [%1 (-)], CD45 [%99 (+)], CD90 [%34 (+)] ve CD106 [%11 (-)] olduğu gösterildi.

Aynı işlemler, pasajlanan kültür kabından tripsin-EDTA-C ile kaldırılarak toplanan hücrelerden oluşan örnekle de tekrarlandı. Aynı belirteçlerin kullanımı sonucunda CD11b/c [%5 (-)], CD44 [%97 (+)], CD45 [%1 (-)], CD90 [%97 (+)] ve CD106 [%30 (+)] olarak tanımlandı. Geride kalan kısım 3 ml'lik daha önceden 200 mL/L Fetal Bovine Serum, 100 U/mL penisilin, 100 U/mL streptomisin ve 20 mL/L L-glutamin

eklenerek hazırlanmış olan DMEM-LG besiyeri içinde 25 cm² lik hücre kültür kaplarına 10⁶/mL konsantrasyonunda yayılarak ekildi. Hücreler 37 ° C ve 50 mL/L CO₂ içeren % 95 nem oranına sahip CO₂ inkübatöründe inkübe edildi. İlk üç gün besiyerleri, hergün sonrasında ise miktarı 5 ml' ye çıkarılarak 3 günde bir değiştirildi. İnvert mikroskopta hücrelerin kültür kabınının %75' ini kapladığının görüldüğü 14. günde hücreler pasajlandı. Pasaj işlemi için kültür kaplarına içerisindeki besiyerini aldıktan sonra 1,5 ml Tripsin-EDTA-C konuldu. 2-3 dakikalık elle perküsyon sonrasında 37 °C' lik inkübatörde 3-5 dakika arası tutuldu ve tekrar elle 2 dakika kadar perküte edilen hücrelerin mikroskopta yapıştıkları plastik yüzeyden kalktıkları görüldü. Hücreler bu şekilde toplam 5 kez pasajlandı. Pasajlanan hücrelerden Adiposit, Kondrosit ve Osteosit farklılaşma besi yerleri kullanılarak 18. günde her üç dokunun tanımlanma boyaları kullanılarak (oil-Red, Alcian Blue ve Von-Kossa) her üç dokuya dönüşümleri gösterildi (şekil 5,6,7). Pasajlanan 12 kültür kabından tripsin-EDTA-C ile kaldırılan hücreler süspansiyon haline getirilip akım sitometri için ayrıldı. Pasajlanarak çoğaltılan diğer hücre kültürleri yine aynı yöntem kullanılarak tripsin-EDTA-C ile kaldırıldı. % 10 Dimetil sulfoksit ve % 20 Fetal Bovine Serum içeren DMEM-LG'den 1,5 ml eklenerek 2 ml' lik kriyotüplerde daha sonra deneyde kullanılmak üzere -80 ° C' ye kaldırıldı. Kullanılacağı zaman süspansiyon edilen hücreler cerrahi işlem öncesi kullanılmak üzere insülin enjektörlerine her biri bir denekte kullanılmak üzere ve her birinde 2x10⁶ /ml konsantrasyonda 1 ml olacak şekilde hazırlandı.



Şekil 3 : Kültürde 14. günde CFU-F' ların gimza boyaması ile görünümü.

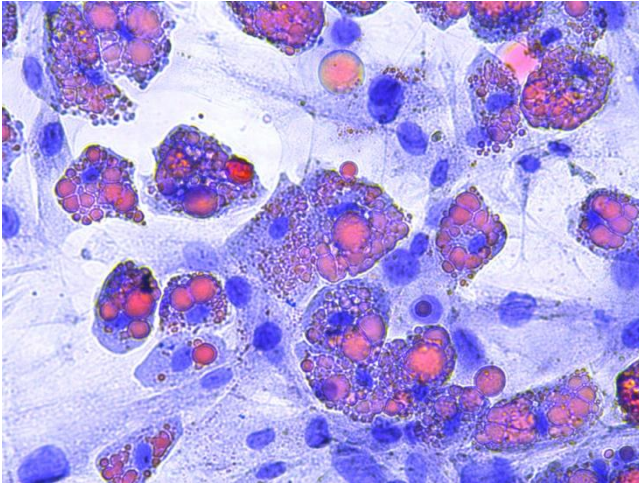


A

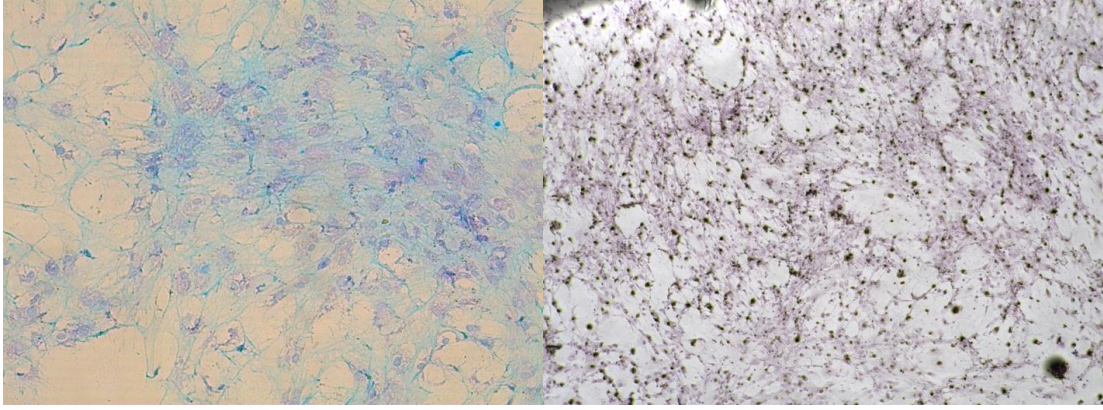
B

Şekil 4 : A: HKH CD11b/c [%97 (+)], CD44 [%1 (-)], CD45 [%99 (+)], CD90 [%34 (+)], CD106 [%11 (-)],

B: MKH hücre belirteçleri CD11b/c [%5 (-)], CD44 [%97 (+)], CD45 [%1 (-)], CD90 [%97 (+)] ve CD106 [%30 (+)].



Şekil 5 : Adiposit farklılaşmada Oil-Red ile kırmızı yağ damlalarının görünümü.



Şekil 6 : Kondrosit farklılaşmasında Alsian-Blue ile hyaluronik asitin mavi-lila boyanması.

Şekil 7: Osteosit farklılaşmasında Von Kossa ile kalsiyum depositlerinin siyah olarak görünmesi.

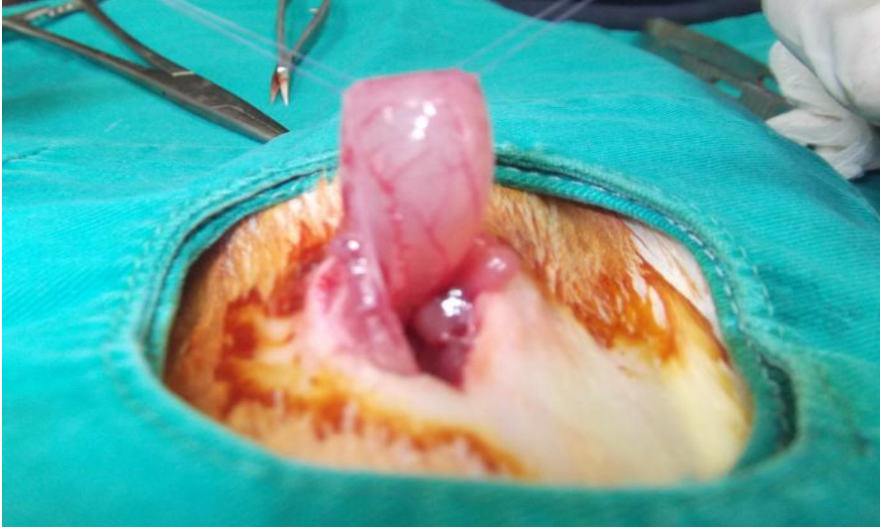
3.2. Mesane ve Posterior Üretra Yaralanması Modeli Oluşturulması

Ratlara 8 saat açlık sonrası 50 mg/kg ketamin HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı) ve 10 mg/kg Ksilazin (Ronpun®, Bayer) karışımı intraperitoneal olarak enjekte edilerek genel anestezi sağlandı. Anestezi ratlar ağrıya yanıtız ancak işlem sırasında spontan solunumunu sağlayacak şekilde ayarlandı, gerektiğinde ek doz yapıldı. İşlem sırasında ısı probu ile ölçüm yapılarak rat vücut ısı takip edildi. 1.5 lt/dk nazal maske ile O2 verildi.

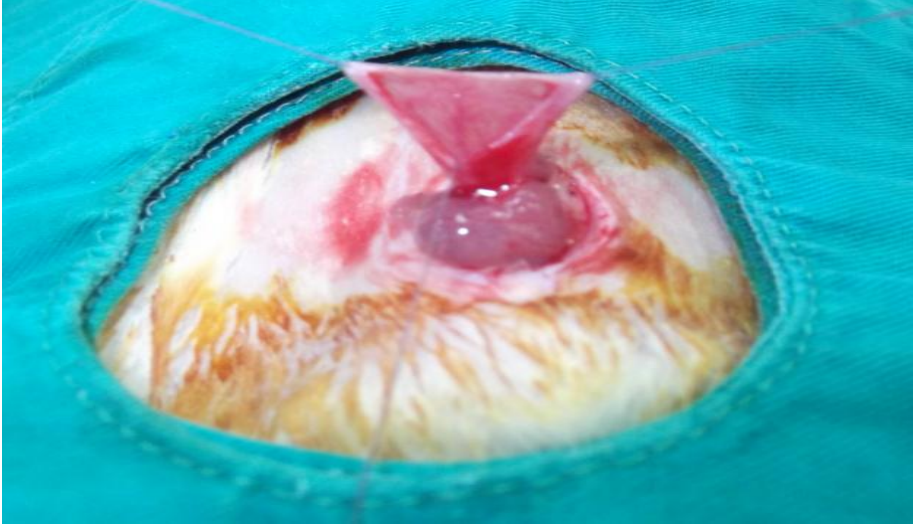
Ratlar anestezi sonrası supin pozisyona alındı. Cerrahi saha temizliği için karın bölgesi tüyleri tıraş edildi. Preoperatif intramusküler 50 mg /kg seftriakson profleksisi uygulandı. Cilt ksifoidden inferiora peniside içine alacak şekilde %10 povidin iyodür (Poviodeks®, Kimpa) ile temizlenerek cerrahiye hazırlandı. Steril saha arıtım örtüm işleminden sonra batına, alt abdominal suprapubik orta hat vertikal insizyon ile laparotomi yapıldı. Mesane batın dışına alındı (Şekil 8). Mesane önyüzüne 6/0 vicryl ile askı sütürleri konuldu (Şekil 9). Askı sütürlerinin arasından mesane vertikal olarak yaklaşık 1 cm kesi ile açıldı (Şekil 10). Mesane posterior duvarından, trigondan posterior üretraya doğru, tabanı yaklaşık 0.5 cm' lik ters üçgen şeklindeki flep, madson makas yardımıyla mukoza ve parsiyel kas dokusu ile birlikte çıkarıldı (Şekil 11). Her bir gruba kendi kök hücre uygulaması yapıldı (Şekil 12, 13). Uygulama sonrası mesane 6/0 vicryl ile kapatıldı (Şekil 14). Kaslar 5/0 vicryl sütür ile yaklaştırıldı. Cilt 4/0 ipek ile sütüre edildi.



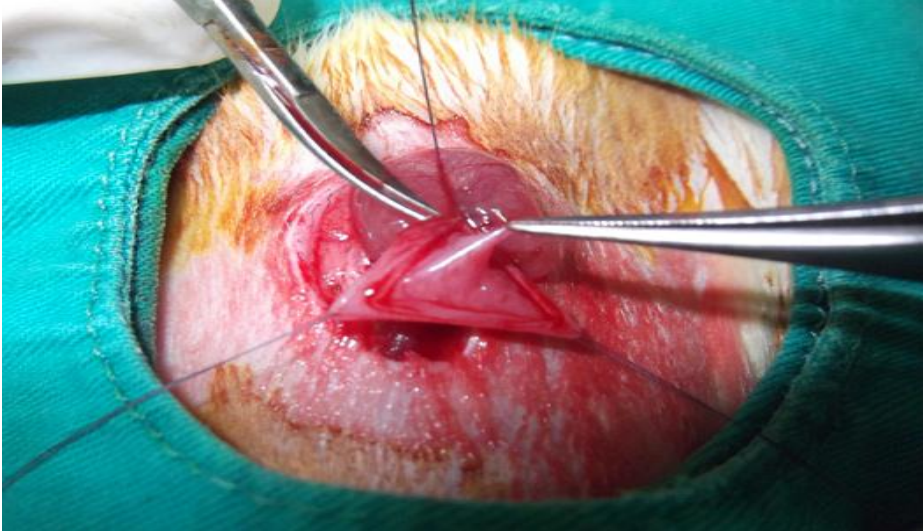
Şekil 8 : Batın dışına alınan mesane (Orijinal).



Şekil 9 : Sütürlerle askıya alınan mesane (Orijinal).



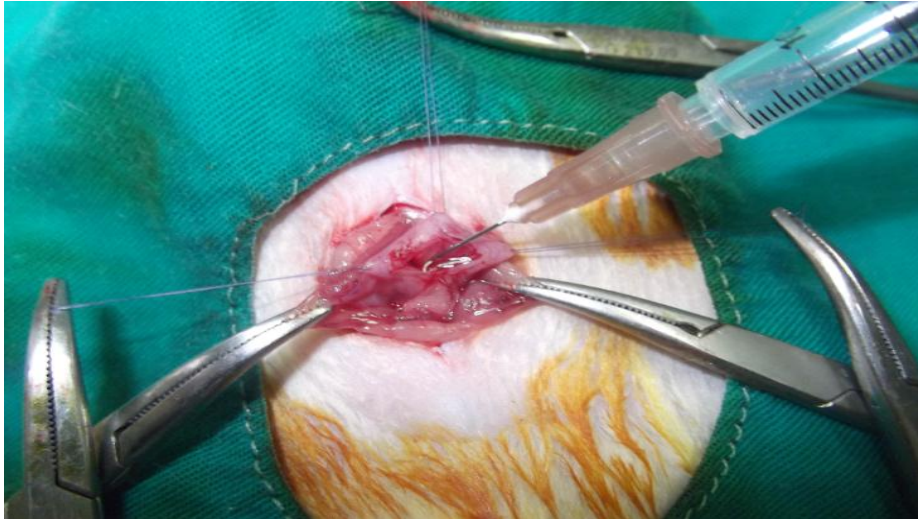
Şekil 10 : Vertikal insizyon ile açılan mesane (Orijinal).



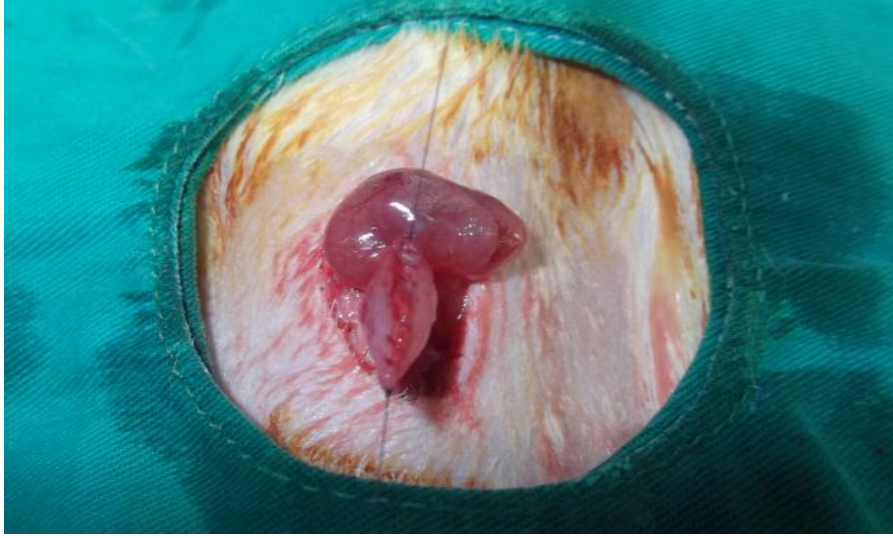
Şekil 11 : Mesane ve posterior üretra yaralanması oluşturulması (Orijinal).



Şekil 12 : İntravenöz mezenkimal kök hücre uygulanması (Orijinal).



Şekil 13 : İntralezyoner mezenkimal kök hücre uygulanması (Orijinal).



Şekil 14 : Sütüre edilmiş mesane (Orijinal).

3.3. Deney Grupları

Çalışmamızda 280-300 gr, Wistar albino türü, erkek sıçan kullanıldı. Çalışmada kullanılan tüm sıçanlar $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında ve % 50-60 nem ortamında saklandı. Hayvanlar standart yem ve su ile beslendi. Deney planında dört grup belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1: Deney gruplarını gösteren tablo.

Grup	Sayı	Yaralanma	MKH tedavisi	Veriliş yolu
Grup 1 (kontrol)	10	-	-	-
Grup 2 (sham)	10	+	-	-
Grup 3 (İVMKH)	10	+	+	intravenöz
Grup 4 (İLMKH)	10	+	+	intralezyoner

Grup 1 (kontrol): Sham grubunda 10 adet sıçan mevcuttu. Laparotomi yapıldı. Mesane batın dışına alındı. Mesane vertikal olarak açıldı. Herhangi bir işlem veya tedavi uygulanmadan mesane ve batın katları kapatıldı.

Grup 2 (sham): Kontrol grubunda 10 adet sıçan mevcuttu. Mesane ve posterior üretra yaralanması modeli oluşturuldu, herhangi bir tedavi verilmedi.

Grup 3 (İVMKH): Bu grupta 10 adet sıçan mevcuttu. Mesane ve posterior üretra yaralanması modeli oluşturuldu. İntravenöz olarak MKH uygulandı.

Grup 4 (İLMKH): Bu grupta 10 adet sıçan mevcuttu. Mesane ve posterior üretra yaralanması modeli oluşturuldu. Yaralanma bölgesine intralezyoner olarak MKH uygulandı.

3.4. Doku Örneklerinin Alınması

Yara iyileşmesi süreci dikkate alınarak 21. günde genel anestezi altında denekler sakrifiye edilip, batinları açılarak mesaneleri çıkartıldı. Tüm örnekler daha önceden numaralanarak hazırlanmış % 10' luk tamponlanmış nötral formalin bulunan kaplara konuldu.

3.5. Histopatolojik İnceleme

Mikroskopik değerlendirme Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı' nda aynı patolog tarafından tek kör olarak yapıldı.

Histopatolojik inceleme yapılacak segmentler % 10' luk tamponlanmış nötral formalin içerisinde 24 saat bekletilerek tespit edildiler. Daha sonra patoloji laboratuvarına getirilen örneklerden daha önce yaralanma oluşturulan segment dikey biçimde uygun takip işlemi yapılarak parafine gömüldü. Parafin blokları hazırlanan dokuların her birinden mikrotom ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen Eozin (HE) ile otomatik boyama cihazında (Leica ST 4040-Germany) boyandı. Masson trikrom ile histokimyasal çalışma yapıldı. Kesitlere VEGF monoklonal antikoruna, (Thermo scientific, USA) ve CD105 (Thermo scientific, USA) ile (Ventana Benchmark LT cihazında) immünohistokimyasal çalışma yapıldı. İmmünohistokimyasal çalışma öncesi çeşitli denemelerle en iyi dilüsyon oranları saptandı. VEGF 1/50 oranında, CD105 ise 1/100 oranında dilüe edilerek kullanıldı. VEGF için kapiller hemanjiom kesiti, CD105 için plasenta pozitif kontrol olarak kullanıldı. Negatif kontrol için kesitlere non immun serum damlatıldı. Sonuçlar (Olympus BX 51, Japan) ışık mikroskobu ile değerlendirildi. İmmünohistokimyasal incelemede sitoplazmik boyanma dikkate alındı.

Hematoksilen Eozin (HE), Masson-Trikrom (MT) boya ile boyanan preparatlar inflamasyon (lenfositik infiltrasyon) ve fibrozis açısından değerlendirildi.

Fibrozis yoksa (-) değer verildi. Hafif fibroze (<% 25) (+) değer verildi. Orta derecede fibroze (% 25-50 arası) (++) değer verilirken, yoğun fibrozis (> % 50) görülenlere (+++) değer verildi. (+++)'den (-)'e doğru progresyon önemli kabul edildi. Histopatolojik bulguların gruplara göre ortalama skorları: “(-): bulgu yok= 0 puan”, “(+):

hafif= 1 puan”, “(++): orta= 2 puan” ve “(+++): şiddetli= 3 puan” olarak derecelendirilip hesaplandı (6).

Fibrozis değerlendirmesine benzer şekilde inflamasyon değerlendirmesi içinde inflamasyon yoksa (-) değer verildi. Hafif inflamasyon (% 25-50) (++) değer verilirken yoğun inflamasyon (>% 50) görülenlere (+++) değer verildi. (+++)’den (-)’e doğru progresyon önemli kabul edildi. Histopatolojik bulguların gruplara göre ortalama skorları: “(-): bulgu yok= 0 puan”, “(+): hafif= 1 puan”, “(++): orta= 2 puan” ve “(+++): şiddetli= 3 puan” olarak derecelendirilip hesaplandı (6), (Tablo2).

Tablo 2 : Fibrozis ve inflamasyon değerlendirme skoru.

Fibrozis-İnflamasyon Yok	yok	0
Hafif Derecede Fibrozis-İnflamasyon	%25’ten az	1
Orta Derecede Fibrozis-İnflamasyon	%25-50 arası	2
Yoğun Derecede Fibrozis-İnflamasyon	%50 üzeri	3

HE ile boyanan preparatlarla eşleştirilerek yaralanma olan bölge VEGF boyalı preparatlarda işaretlendi . Tüm yaralanma bölgesi göz önüne alınarak fibroblastlardaki VEGF boyanması değerlendirildi. VEGF değerlendirmesi için skora hazırlandı.

VEGF ve CD105 boyamaları için fibroblastların boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti değerlendirildi. % 10’ dan az boyanma ‘0’, % 10-50 arası boyanma ‘1’ , % 50 üzeri boyanma ‘2’ olarak skorlandı. Boyanma şiddeti için ise boyanma olmaması ‘0’, sarı renk boyanma ‘1’, kahverengi boyanma ‘2’, koyu kahverengi boyanma ‘3’ olarak skorlandı (5), (Tablo 3).

Tablo 3 : VEGF ve CD105 boyanma skoru.

Yaralanma bölgesinde subepitelyal bağ dokuda boyanma yaygınlığı	%10'dan az	0
	%10-50 arası	1
	%50 üzeri	2
Boyanma şiddeti	Boyanma yok	0
	Sarı renkli boyanma	1
	Kahverengi boyanma	2
	Koyu kahve rengi boyanma	3

3.6. İstatistiksel Çalışma

İstatistiksel değerlendirme için SPSS 13.0 paket programı kullanıldı. Gruplar Ki-kare yada Fisher testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Olarak Fibrozis ve İnflamasyonun Değerlendirilmesi

Gruplar arasında fibrozis skoru değerlendirildiğinde; (Tablo 4).

Kontrol grubunda 1 sıçanda, hafif düzeyde fibrozis saptandı. Diğer sıçanlar normal olarak değerlendirildi.

Sham grubunda her sıçanda fibrozis mevcuttu. 2 sıçanda yoğun fibrozis görüldü (şekil 18). 1 sıçanda hafif fibrozis ve diğer 6 sıçanda orta derecede fibrozis görüldü (şekil 17) .

İVMKH grubunda 2 sıçanda fibrozise rastlanmadı. 2 sıçanda orta derecede ve 5 sıçanda hafif derecede fibrozis görüldü. Hiçbir sıçanda yoğun fibrozis yoktu.

İLMKH grubunda 5 sıçanda fibrozis görülmedi (şekil 15) . 5 sıçanda ise hafif derecede fibrozis mevcuttu (şekil 16) . Hiçbir sıçanda orta yada yoğun derecede fibrozise rastlanmadı.

Sham grubunun 3/4' ünden fazlasında orta yada yoğun derecede fibrozis görülürken, İLMKH grubunda hiç orta yada yoğun derecede fibrozis görülmedi.

Sham grubunun tamamında fibrozis izlenirken, İLMKH grubunun % 50' sinde ve İVKM grubunun % 22' sinde hiç fibrozis görülmedi.

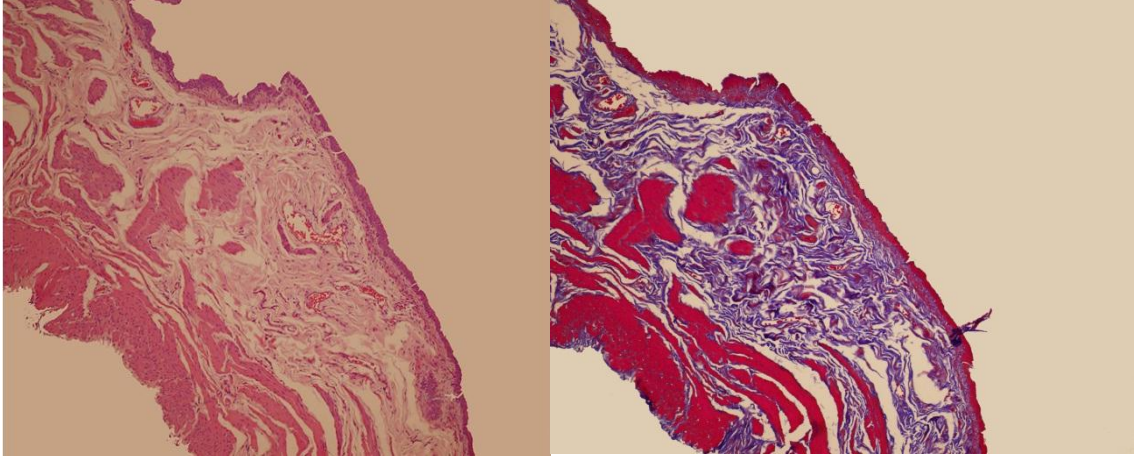
Gruplar arasında inflamasyon skoru değerlendirildiğinde; (Tablo 4).

Kontrol grubunda 2 sıçanda hafif derecede inflamasyon görüldü. Diğer 8 sıçanda inflamasyona rastlanmadı.

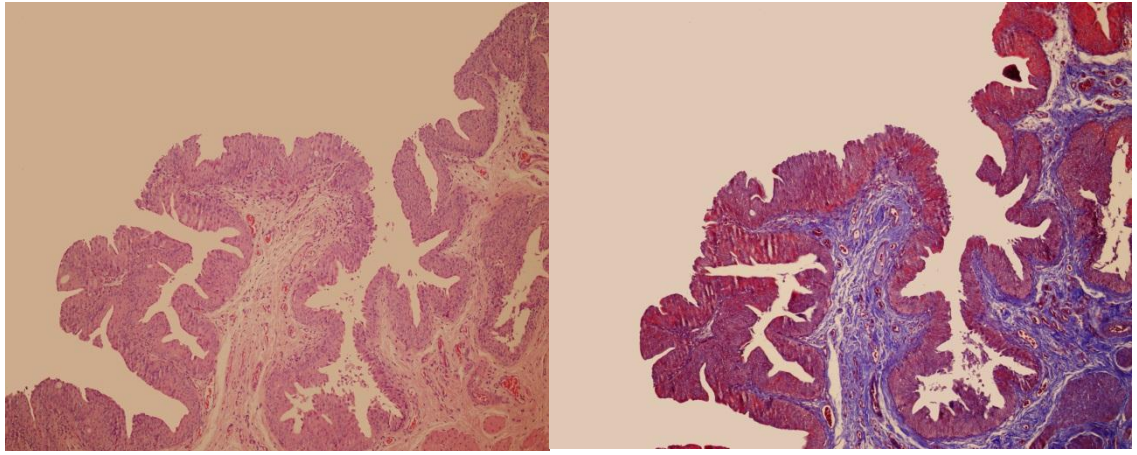
Sham grubunda 2 sıçanda yoğun derecede, 5 sıçanda orta derecede ve 2 sıçanda hafif derecede inflamasyon görüldü.

İVMKH grubunda, 2 sıçanda inflamasyon görülmedi. 2 sıçanda orta derecede ve 5 sıçanda hafif derecede inflamasyon görüldü. Hiçbir sıçanda yoğun derecede inflamasyon görünümü yoktu.

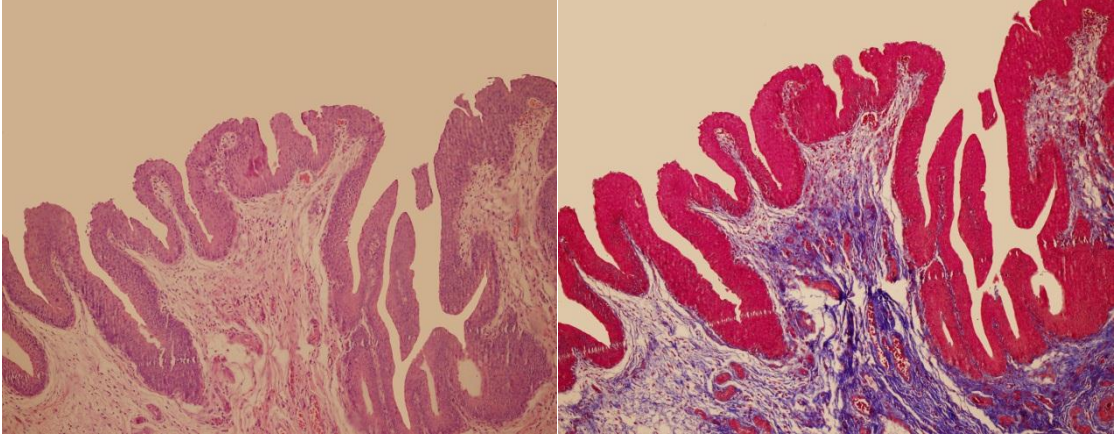
İLMKH grubunda, 6 sıçanda inflamasyon görülmedi. 1 sıçanda orta derecede ve 3 sıçanda hafif derecede inflamasyon görüldü. Hiçbir sıçanda yoğun inflamasyon görünümü yoktu.



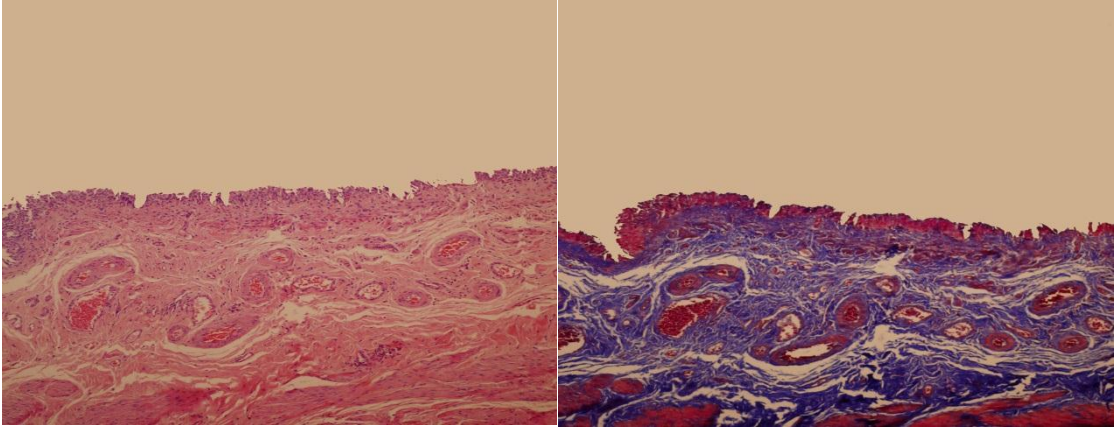
Şekil 15: Solda HE, sağda MT boyama ile x100 büyütmede fibrozis ve inflamasyon görülmeyen mesane dokusu (Orijinal).



Şekil 16: Solda HE, sağda MT boyama ile x100 büyütmede hafif derecede fibrozis ve inflamasyon görülen (% 25' ten az) mesane dokusu (Orijinal).



Şekil 17 : Solda HE, sağda MT boyama ile x100 büyütmede orta derecede fibrozis ve inflamasyon görülen (% 25-50 arası) mesane dokusu (Orijinal).



Şekil 18: Solda HE, sağda MT boyama ile x100 büyütmede yoğun derecede fibrozis ve inflamasyon görülen (% 50 üzeri) mesane dokusu (Orijinal).

Tablo 4: Grupların fibrozis ve inflamasyon değerlendirmesi.

GRUPLAR	RAT NO	FİBROZİS	İNFLAMASYON
Grup 1 KONTROL	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	1
	6	0	0
	7	1	0
	8	0	0
	9	0	0
	10	0	1
Grup 2 SHAM	1	3	2
	2	2	1
	3	2	3
	4	2	2
	5	3	3
	6	2	2
	7	2	2
	8	2	2
	9	1	1
Grup 3 İVMKH	1	0	0
	2	2	2
	3	1	1
	4	1	1
	5	0	0
	6	1	1
	7	2	2
	8	1	1
	9	1	1
Grup 4 İLMKH	1	1	1
	2	1	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	1	1
	6	1	2
	7	1	1
	8	0	0
	9	0	0
	10	0	0

İstatistiksel çalışma yapıldığında fibrozis değerlendirilmesinde; (Tablo 5).

Gruplar arasında Ki-kare testi ile p değeri 0.000056 olarak bulundu, anlamlı fark saptandı.

Kontrol grubu ile İLMKH grubu arasında Fisher testi ile p değeri 0.070 olarak hesaplandı, anlamlı fark görülmedi.

Sham grubu ile İLMKH grubu arasında Ki-kare testi ile p değeri 0.001 olarak bulundu, anlamlı fark saptandı.

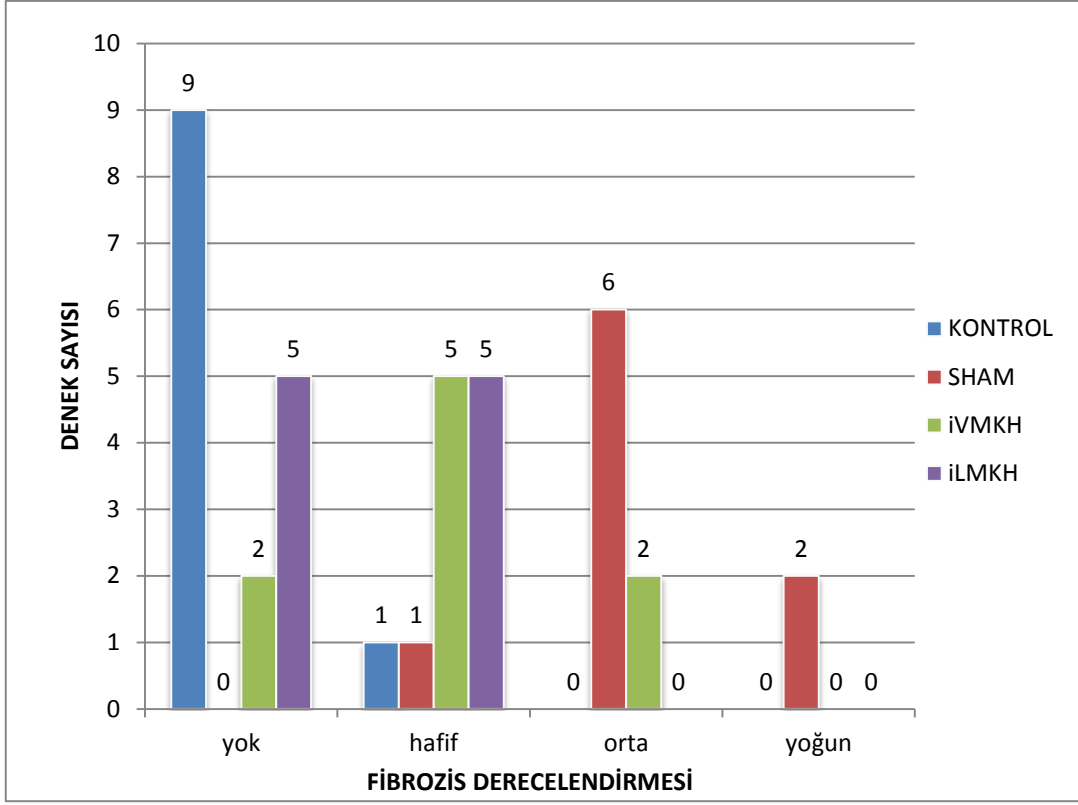
Sham grubu ile grup İVMKH grubu karşılaştırıldığında Ki-kare testi ile p değeri 0.034 olarak hesaplandı ve anlamlı fark saptandı.

Kontrol grubu ile İVMKH grubu karşılaştırıldığında Ki-kare testi ile p değeri 0.011 olarak hesaplandı, anlamlı kabul edildi.

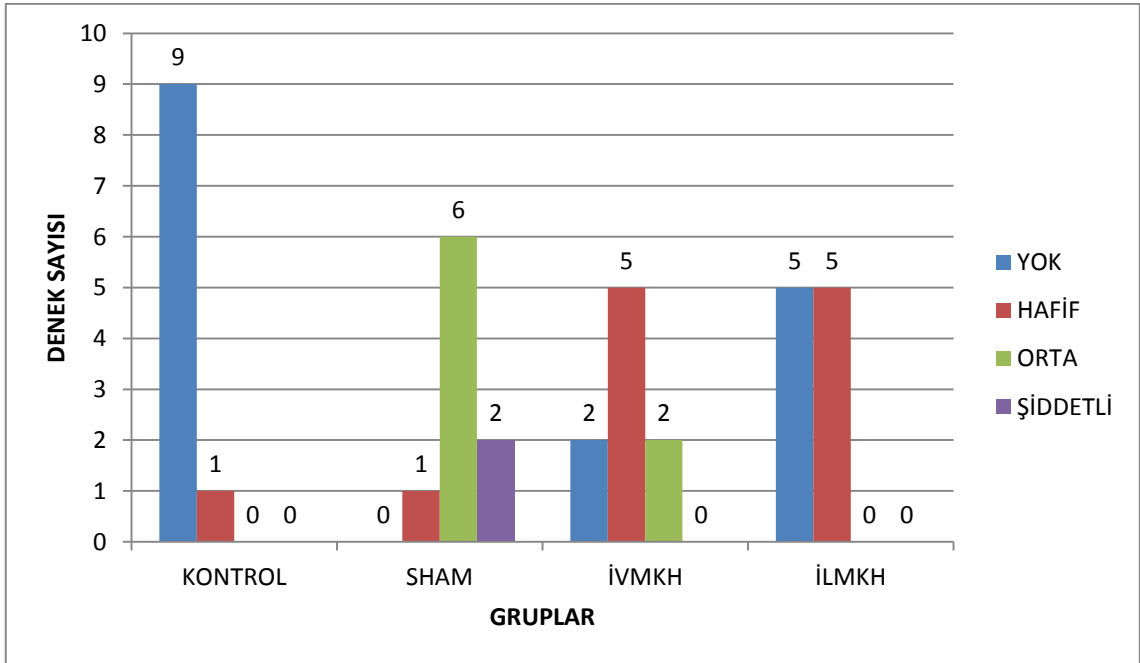
İVMKH grubu ve İLMKH grubu karşılaştırıldığında Ki-kare testi p değeri 0.198 olarak hesaplandı, anlamlı farklılık görülmedi.

Tablo 5 : Fibrozis değerlendirmesi istatistiksel karşılaştırma sonuçları.

GRUPLAR		P DEĞERİ
KONTROL	SHAM	-
	İVMKH	0.011
	İLMKH	0.070
SHAM	KONTROL	-
	İVMKH	0.034
	İLMKH	0.001
İVMKH	KONTROL	0.011
	SHAM	0.034
	İLMKH	0.198
İLMKH	KONTROL	0.070
	SHAM	0.001
	İVMKH	0.198



Şekil 19 : Fibrozis derecelendirmesi-denek sayısı ilişkisi.



Şekil 20: Fibrozisin gruplara göre dağılımı.

İstatistiksel çalışma yapıldığında inflamasyon değerlendirilmesinde; (Tablo 6).

Gruplar arasında Ki-kare testi ile p değeri 0.003 olarak bulundu, anlamlı fark saptandı.

Kontrol grubu ile İLMKH grubu arasında Ki-kare testi ile p değeri 0.48 olarak hesaplandı, anlamlı fark görülmedi.

Sham grubu ile İLMKH grubu arasında Ki-kare testi ile p değeri 0.013 olarak bulundu, anlamlı fark saptandı.

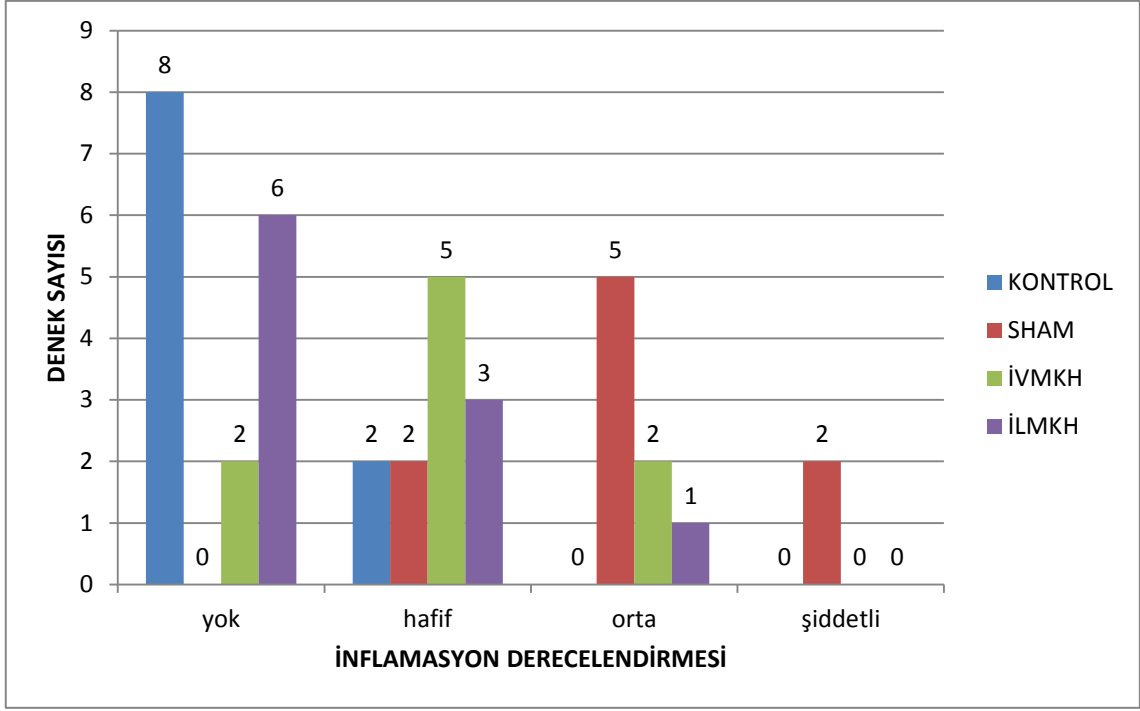
Sham grubu ile İVMKH grubu karşılaştırıldığında Ki-kare testi ile p değeri 0.08 olarak hesaplandı ve anlamlı fark görülmedi.

Kontrol grubu ile İVMKH grubu karşılaştırıldığında Ki-kare testi ile p değeri 0.033 olarak hesaplandı, anlamlı kabul edildi.

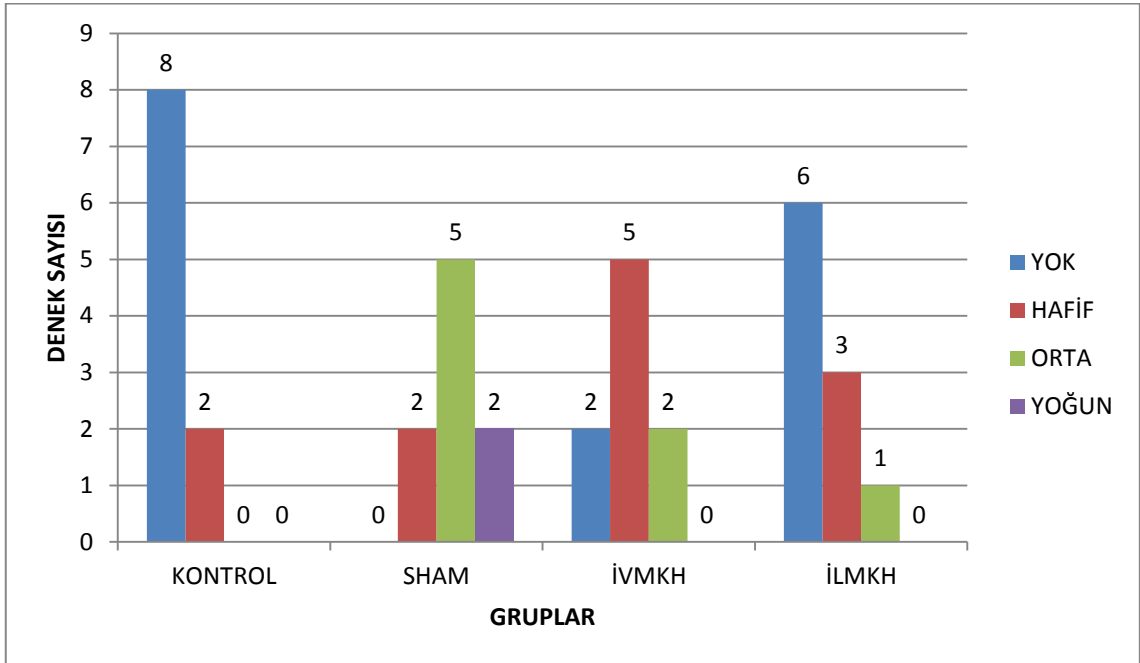
İVMKH grubu ve İLMKH grubu karşılaştırıldığında Ki-kare testi p değeri 0.248 olarak hesaplandı, anlamlı farklılık görülmedi.

Tablo 6 : İnflamasyon değerlendirmesi istatistiksel sonuçları.

GRUPLAR		P DEĞERİ
KONTROL	SHAM	-
	İVMKH	0.033
	İLMKH	0.48
SHAM	KONTROL	-
	İVMKH	0.080
	İLMKH	0.013
İVMKH	KONTROL	0.033
	SHAM	0.080
	İLMKH	0.248
İLMKH	KONTROL	0.48
	SHAM	0.013
	İVMKH	0.248



Şekil 21 : İnflamasyon derecelendirmesi-denek sayısı ilişkisi.



Şekil 22 : İnflamasyonun gruplara göre dağılımı.

4.2. Vasküler Endotelyal Growth Faktör (VEGF) Boyanması Bulguları

Kontrol grubunda, VEGF boyanma yoğunluğu 2 sıçanda % 50 üzeri, 3 sıçanda % 10-50 arası olarak değerlendirildi. 4 sıçanda boyanma yoktu. Boyanma görülen tüm sıçanlarda boyanma şiddeti kahverengi olarak değerlendirildi (Tablo7).

Sham grubunda, VEGF boyanma yoğunluğu 5 sıçanda % 50 üzeri, 3 sıçanda % 10-50 arası olarak değerlendirildi. 1 sıçanda boyanma yoktu. Boyanma şiddeti ise, 1 sıçanda koyu kahverengi, 4 sıçanda kahverengi ve 3 sıçanda sarı renkte değerlendirildi (Tablo 7).

İVMKH grubunda, VEGF boyanma yoğunluğu 1 sıçanda % 50 üzeri, 4 sıçanda % 10-50 arası olarak değerlendirildi. 1 sıçanda boyanma görülmedi. Boyanma görülen tüm sıçanlarda boyanma şiddeti kahverengi olarak değerlendirildi (Tablo 7).

İLMKH grubunda, VEGF boyanma yoğunluğu 5 sıçanda % 10-50 arası görüldü. 5 sıçanda boyanma yoktu. Hiçbir denekte % 50 üzeri boyanma görülmedi. Boyanma görülen tüm deneklerde boyanma şiddeti kahverengi olarak değerlendirildi (Tablo 7).

Sham ile İLMKH grubu arasında Ki-kare testi ile p değeri 0.017 olarak hesaplandı. Anlamlı fark saptandı. Ancak bunun dışında hiçbir grup eşleşmesinde anlamlı farklılık görülmedi. Boyanma yoğunluğu ve şiddeti kombine olarak skorlandı. Analiz tekrarlandı, hiçbir grupta anlamlı farklılık görülmedi ($p>0.05$).

Tablo 7: VEGF boyanma bulguları.

GRUPLAR	RAT NO	BOYANMA YOĞUNLUĞU	BOYANMA ŞİDDETİ
Grup 1 KONTROL	1	0	0
	2	0	0
	3	2	2
	4	2	2
	5	1	2
	6	1	2
	7	Değerlendirilemedi	Değerlendirilemedi
	8	0	0
	9	0	0
	10	1	2
Grup 2 SHAM	1	1	1
	2	2	2
	3	2	2
	4	1	1
	5	1	1
	6	0	0
	7	2	3
	8	2	2
	9	2	2
Grup 3 İVMKH	1	1	2
	2	1	2
	3	Değerlendirilemedi	Değerlendirilemedi
	4	Değerlendirilemedi	Değerlendirilemedi
	5	Değerlendirilemedi	Değerlendirilemedi
	6	1	2
	7	1	2
	8	2	2
	9	0	0
Grup 4 İLMKH	1	1	2
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	1	2
	6	1	2
	7	1	2
	8	0	0
	9	1	2
	10	0	0

4.3. CD105 (Endoglin) Boyanma Bulguları:

Kontrol grubunda, CD105 boyanma yoğunluğu 6 sıçanda % 10-50 arası olarak değerlendirildi. 3 sıçanda boyanma yoktu. Hiçbir sıçanda % 50 üzeri boyanma görülmedi. Boyanma görülen tüm deneklerde boyanma şiddeti kahverengi olarak değerlendirildi (Tablo 8).

Sham grubunda, CD105 boyanma yoğunluğu 1 sıçanda % 50 üzeri, 7 sıçanda % 10-50 arası olarak değerlendirildi. 1 sıçanda boyanma yoktu. Boyanma şiddeti ise, 1 sıçanda sarı, diğer sıçanlarda kahverengi olarak değerlendirildi (Tablo 8).

IVMKH grubunda, CD105 boyanma yoğunluğu 1 sıçanda % 50 üzeri, 7 sıçanda % 10-50 arası olarak değerlendirildi. 1 sıçanda boyanma görülmedi. Boyanma görülen tüm sıçanlarda boyanma şiddeti kahverengi olarak değerlendirildi (Tablo 8).

İLMKH grubunda, CD105 boyanma yoğunluğu 6 sıçanda % 10-50 arası görüldü. 3 sıçanda boyanma yoktu. Hiçbir sıçanda % 50 üzeri boyanma görülmedi. Boyanma görülen tüm sıçanlarda boyanma şiddeti kahverengi olarak değerlendirildi (Tablo 8).

CD105 boyanması için boyanma yoğunluğu ve şiddetine ait bulgular istatistiksel olarak analiz edildi. Hiçbir grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Boyanma yoğunluğu ve şiddeti kombine olarak skorlandı. Analiz tekrarlandı, hiçbir grupta anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.05$).

Tablo 8 : CD105 boyanma bulguları.

GRUPLAR	RAT NO	BOYANMA YOĞUNLUĞU	BOYANMA ŞİDDETİ
Grup 1 KONTROL	1	1	2
	2	1	2
	3	1	2
	4	1	2
	5	1	2
	6	0	0
	7	Değerlendirilemedi	Değerlendirilemedi
	8	0	0
	9	0	0
	10	1	2
Grup 2 SHAM	1	2	2
	2	1	2
	3	1	1
	4	1	2
	5	1	2
	6	1	2
	7	0	0
	8	1	2
	9	1	2
Grup 3 İVMKH	1	1	2
	2	2	2
	3	1	2
	4	1	2
	5	1	2
	6	1	2
	7	1	2
	8	1	2
	9	0	0
Grup 4 İLMKH	1	1	2
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	1	2
	6	1	2
	7	1	2
	8	1	2
	9	1	2
	10	Değerlendirilemedi	Değerlendirilemedi

5. TARTIŞMA

Çocuklarda mesane ve üretra yaralanması morbiditesi yüksek olan önemli bir travmadır. Çocuklarda üretra travmalarının % 90' ında travma nedeni trafik kazalarıdır (5). Ülkemiz, başta trafik kazaları olmak üzere travma sıklığının yüksek olduğu bir ülkedir. Haliyle bu durum çocuklarda da travma görülme olasılığını arttırmaktadır. Bu travmalarda bir çok organ hasar görür. Mesane ve posterior üretra özellikle erkek çocuklarında majör veya minör hasarlanabilir. Cerrahi müdahale gerektiren karın yaralanmalarının % 2' sinde mesane de etkilenir (57). Bu oran küçük olsada oluşabilecek komplikasyonlar çok ciddidir. Tekrarlayan bir seri operasyon, üretral darlık, idrar kaçırma ve yaşam boyu katater yardımıyla idrarını boşaltma gibi hayat kalitesini ciddi düzeyde azaltan durumlar bu komplikasyonlar arasında sayılabilir. Uzun süreli takip ve tedavi ekonomik olarak da hem bireyi hem toplumu olumsuz yönde etkiler.

Oluşan üretral darlığın sebebi travmatize olmuş üretradaki fibrozistir. Tedavi seçeneğini tartışmalı hale getiren de fibrozisin oluşum mekanizmalarıdır. Çünkü kimi yazarlar erken müdahale ile fibrozisi azaltmayı amaçlarken kimisi de geç müdahale ile bunun daha iyi sonuçlar vereceğini düşünür. Fibrozis gelişiminin önlenmesi, fibrozis gelişimi sonrası uygulanan bir çok tedaviden daha akılcı görünmektedir. Bu nedenle biz çalışmamızda, üroepitel iyileşmesinde fibrozis gelişimini önleyerek, mevcut tedavilere alternatif oluşturabiliriz.

Ciddi bir komplikasyon olan inkontinansta, travmanın kendi doğasından kaynaklanabileceği gibi; oluşan bu üretral darlık tedavisi sürecinde cerrahiye bağlı olarak gelişebilir. Bu yüzden fibrozis ve onun oluşturduğu striktürü başlangıçta uygulayabileceğimiz başka bir tedavi yöntemi ile azaltabilirsek ileride oluşabilecek bir çok komplikasyonun önüne geçebiliriz.

Tedavinin amacı en az morbidite ve mortaliteyle hastayı tedavi etmek ve normal aktivitesine en kısa zamanda geri döndürmektir. Bunun için birçok yöntem değişik başarı oranlarıyla uygulanmaktadır. Üroepitelyal doku bütünlüğünün sağlanmasında, yapılan bir çok çalışmada, cerrahi tekniklerin birbirlerine üstünlükleri değerlendirilmiştir.

Mesane ve posterior üretra yaralanmalarında, yaralanmanın tipine göre konservatif tedavi, primer erken dönem tedavi veya geç dönem tedaviler uygulanabilir. Ancak literatürde özellikle tam üretral kopmalarda tedavi seçeneği için tam bir görüş birliği yoktur (15). Cerrahi tedavi sonrası gelişen fibrotik dokuya bağlı olan üretral darlıklar uzun dönemde ciddi sıkıntılar yaratabilir.

Eliot ve Barret, 57 hastayı içeren bir seride, erken dönem primer endoskopik anastomoz uygulamasından sonra 11 yıllık izlemde, 21 hastada erektil disfonksiyon olduğu, idrar kaçırmanın ise %3.7 olduğu ve anastomozdan sonra striktürlerin ise %68

oranında görüldüğünü bildirdi (30). Ancak Webster, klinik serisinde geç dönem tedaviden sonra üretral striktür oranlarının % 10 olduğunu söylemektedir (77). Yinede geç dönem tedavide striktür oranlarını daha yüksek bulan yazarlarda mevcuttur (56).

Mouraviev ve ark. tarafından yayımlanan bir seride ise, erken anastomoz yapılan hastalar, gecikmiş açık rekonstrüksiyon yapılan hastalar ile karşılaştırıldığında, daha düşük bir insidanda ereksiyon kaybı ve idrar kaçırmadan söz etmektedir (61).

Cerrahi tedavi oldukça zordur ve her merkezde yapılamamaktadır. Üroepitel travması sonrası gelişen üretra darlığında, açık cerrahi sonuçları daha iyi olsada, morbidite ve mortalitesi az olduğu için üretral dilatasyon ve optik internal üretrotomi tercih edilebilir (40, 32).

Görüldüğü gibi mesane ve posterior üretra tedavisi zorlu bir süreç olup, sonuçları oldukça değişkendir. Ancak klinik serilere bakıldığında striktüre sebep olan fibrozisin şiddeti ne kadar az ise komplikasyon oranı o kadar azdır. Bu yüzden striktürü azaltabilirsek alternatif medikal tedavi sonuçları daha yüz güldürücü hale gelebilir.

Mezenkimal kök hücreler, nonhematopoetik multipotent hücreler olup hem mezenkimal hücrelere hem de nonmezenkimal hücrelere farklılaşma yeteneklerine sahiptirler. Bu hücrelerin kemik iliğinden az miktarda aspirasyon sonucunda çoğaltılabilmesi, immunogenetik özelliklerinin az olması nedeniyle immünsüpresyona gerek duyulmaması deneysel çalışmalarda kullanımını artırmaktadır (10). Günümüz teknolojisi ve bilimin ışığında mezenkimal kök hücre uygulamaları ile bir çok dokuda hasarın iyileşmesi gösterilebilmiştir.

Değişik hücre türlerine farklılaşabilme potansiyeli olan mezenkimal kök hücrelerin, çoğalmalarının kontrol edilebilmeleri halinde, in-vitro laboratuvar ortamlarında gerekli olan hücre tiplerine dönüştürülmeleri mümkün olmuştur. Kalp kası yenilenmesi, dejeneratif kıkırdak ve kemik hastalıkları, diyabet, ateroskleroza bağlı işlevini yitiren kan damarlarının yenilenmesi, Alzheimer ve Parkinson gibi merkezi sinir sistemi hastalıkları, omurilik yaralanmalarında MKH tedavisi ilgili çalışmalar ilerlemiş durumdadır (85, 69, 31).

Köpeklerde yapılan deneysel bir çalışmada, ciltteki yara bölgesine intradermal olarak uygulanan MKH' nin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkinliği gösterilmiştir (46).

İskemik inmenin deneysel modellerinde MKH, başarı ile denenmiş ve iskeminin oluşturduğu hasarın azaltılmasında etkinliği gösterilmiştir (28, 20).

Görüldüğü gibi literatürde mesane ve posterior üretra yaralanmasında mezenkimal kök hücre kullanımı ile ilgili herhangi bir çalışma görülmektedir. Ancak diğer hasarlı dokularda gösterdiği iyileşme kapasitesi gözönüne alındığında üroepitelde de kullanılması akılcı gözükmektedir. Bizim sonuçlarımız da gerçekten bunu

desteklemektedir. Özellikle fibrozisin azaltılması yönünde MKH' nin etkin olabileceği sonucuna ulaşıldı.

Gruplarımıza bakıldığında, sham grubunda spontan iyileşmenin olduğu ancak deneklerin yarısından fazlasında orta derecede fibrozis, ¼' ünde ise yoğun derecede fibrozis ve inflamasyonla iyileşme görüldü. Tedavi gruplarına bakıldığında, grupların her ikisinde de yoğun fibrozis yada inflamasyon hiç görülmedi. İntralezyoner tedavi uygulanan grupta deneklerin yarısında fibrozis yada inflamasyon hiç görülmedi.

Kontrol grubu ile İLMKH grubu arasında fibrozis açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Bu durum mezenkimal kök hücre tedavisinin intralezyoner olarak uygulandığı grubun, normal dokuya yaklaştığını gösterdi. İLMKH grubu ile Sham grubu arasında anlamlı farklılık saptandı.

Jiang ve ark. yaptığı çalışmada sıçanlarda oluşturulan intestinal iskemi reperfüzyon modelinde submukozal olarak mezenkimal kök hücre uygulamış ve tedavi verilmeyen gruba göre anlamlı olarak villuslarda daha az hasar görmüştür (38). Benzer şekilde Adaş' ın çalışmasında, iskemik sol kolon anastomozunda intralezyoner olarak uygulanan MKH' nin histopatolojik sonuçları etkilediği, iyileşme üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (1). Bizim çalışmamızda bu sonuçlar ile uyum göstermektedir.

Karaciğer hasarında mezenkimal kök hücre tedavisi üzerine yapılan birçok çalışmada karaciğer hasarında intravenöz uygulanan MKH' nin etkinliği gösterilmiştir (25). Bizim çalışmamıza intralezyoner ve intravenöz uygulama olan iki farklı grup olması MKH tedavisi uygulanış yollarının karşılaştırılmasına olanak sağlamıştır. Kontrol grubu ile İVMKH grubu arasında anlamlı fark saptandı, ancak İVMKH grubu ile İLMKH grubu arasında istatistiksel anlamlılık görülmedi. Yani hem intravenöz uygulama, hem de intralezyoner uygulama tedavi sürecine eşit katkı sağlamaktadır.

İnflamasyon sonuçları da fibrozis sonuçlarıyla paralellik göstermekte ve MKH' nin bu yönde de iyileşmeyi arttırdığını desteklemektedir.

Genel bilgiler kısmında bahsettiğimiz gibi MKH, VEGF salınımı yapar ve üzerinde CD105 taşır. CD105 mezenkimal kök hücrede %95 pozitif olması gereken ve MKH elde ederken varlığını doğruladığımız bir belirteçdir. VEGF ve CD105 yara iyileşmesinde anjiogenez göstergesi olarak kabul edilir. Biz tüm gruplarda VEGF ve CD105 boyamaları yaptık, ancak hiçbirinde bu iki boyama arasında istatistiksel anlamlı farklılık görülmedi.

MKH verilen gruplarda fibrozisin ve inflamasyonun çok daha az olmasına rağmen, MKH belirteci olan CD105 ve yine ortamda MKH' nin varlığa işaret eden VEGF proteininin boyamalarının az olmasının nedeni bizi MKH' nin çok iyi bilinen sitokin aracılı iyileşme potansiyeline götürmektedir. Literatürde bir çok vakada özellikle kalp, nöron ve pankreatik hücre gibi spontan proliferasyon oranı yüksek olmayan dokularda

sitokin aracılı etkinliğini göstererek yerel kök hücre kaynaklarını harekete geçirdiği gösterilmiştir (13).

Çalışmamızda, işaretli mezenkimal kök hücre kullanarak veya SRY geni bakılarak, mezenkimal kök hücrenin hasarlı bölgeye ulaştığı gösterilebilirdi. Yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde mezenkimal kök hücrenin etkinliğini gösterebilecek farklı belirteçler kullanılabilirdi. Sonuçlarımız başka bulgularla da desteklenmiş olurdu. Bunlar bizim çalışmamızın eksiklikleri olarak görülebilir.

Sonuç olarak bizim çalışmamızda, cerrahi tedavisi yıllardır tartışma konusu olan mesane ve posterior üretra yaralanmalarında, mezenkimal kök hücre tedavisi ile fibrozis ve inflamasyonun azaltılabileceği hatta engellenebileceği görüldü.

İleride bu yönde yapılacak deneysel çalışmalar ile ciddi sorunlara yol açan mesane ve posterior üretra yaralanmalarının tedavisinde MKH kullanımının etkinliği gösterilebilir ve klinikte uygulanabilir hale getirilebilir.

6. SONUÇLAR

1. MKH uygulaması ile, travmatik üroepitel dokusunda yara iyileşmesi sonucu oluşan fibrotik striktür ve bunun sonuçları azaltılabilir veya engellenebilir.
2. MKH' nın intralezyoner uygulanmasının, sistemik uygulamaya oranla beklenenden farklı sonuçlar oluşturabilir.
3. Bu çalışma, aynı zamanda üretranın konjenital defektlerinin tedavisine (Hipospadiyas, Ambiguous genitale ve intersex anomalileri, üretral darlıklar vs) alternatif tedaviler oluşturmak için yapılacak çalışmalar için bir başlangıç olabilir.
4. VEGF ve CD105 inflamasyon gelişimi nedeniyle MKH uygulanan hasarlı doku iyileşmesinin değerlendirmesinde uygun parametreler değildir.

7. KAYNAKLAR

1. Adaş G., Arıkan S., Karatepe O., Kemik Ö., Ayhan S., Karaöz E., Kamalı G., Eryasar B., Ustek D. .Mesechymal stem cells improve the healing of ischemic colonic anatomoses. *Langenbecks Arch Surg*(2011) 396:115-126.
2. Andersson KE, Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*. 2004; 84: 935-986.
3. Antoci JP, Schiff MJ Jr. Bladder and urethral injuries in patients with pelvic fractures. *J Urol* 1982;128(1):25-26.
4. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964-67.
5. Aydin O, Yildiz L, Kefeli M, Kandemir B. :CD117 expression in normal, neoplastic, inflammatory, and reactive lesions of the thyroid. *Pathol Res Pract*. 2008;204(6):359-65.
6. Ayyıldız A, Nuhoglu B, Gülerkaya B. : Effect of intraurethral mitomycin-C on healing and fibrosis in rats with experimentally induced urethral stricture. *International Journal of Urology* 2004; 11: 1122-1126.
7. Balza E, Castellani P, Zijlstra A ve ark. Lack of specificity of endoglin expression for tumor blood vessels. *Int J Cancer*, 94: 579-85, 2001.
8. Başaklar C, Bebek ve çocukların cerrahi ve ürolojik hastalıkları cilt 2, 1787-1810.
9. Bates DO, Hillman NJ, Williams B ve ark. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 2002; 200: 587-597.
10. Beggs KJ, Lyubimov A, Borneman JN, Bartholomew A, Moseley A, Dodds R, Archambault MP, Smith AK, McIntosh KR. Immunologic consequences of multiple, high-dose administration of allogeneic mesenchymal stem cells to baboons. *Cell Transplant* 2006; 15: 711-721.
11. Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing, part II: role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg*. 1993;166:74-81.
12. Berman AT, Tom L. Traumatic separation of the pubic symphysis with associated fatal rectal tear: a case report and analysis of mechanism of injury. *J Trauma* 1974;14(12):1060-1067.

13. Bilen Ş, Pınarlı F, Ak Fikri, Fadilloğlu E, Albayrak A, Boyuk G, Güler OG, Erden G: Treatment Efficacy with Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells and Minocycline in Rats After Cerebral Ischemic Injury Stem Cell Rev and Rep DOI 10.1007/s12015-012-9422-3, 2012.
14. Bond SJ, Gotschall CS, Eichelberger MR: Predictors of abdominal injury in children with pelvic fracture J. Trauma 31:1169, 1991.
15. Brayn B, Benjamin N, Jack W: Blunt pediatric anterior and posterior urethral trauma: 32-year experience and outcomes . J Pediatr Urol. 2012 June ; 8(3): 258–263.
16. Carlin BI, Resnick MI : Indications and techniques for urologic evaluation of the trauma patient with suspected urologic injury. Semin. Urol . 1995: 13:9-24.
17. Cass AS, Geleich P, Smith C: Simultaneous bladder and prostatic membranous urethral rupture from external trauma.J.Urol. 1984 :132 ,907-908.
18. Cass AS, Luxenberg M. Features of 164 bladder ruptures. J Urol 1987;138(4):743-745.
19. Chapple CR, Png D. Contemporary management of urethral trauma and the post-traumatic stricture. Curr Opin Urol 1999;9(3):253-260.
20. Chen J, Chopp M. Neurorestorative treatment of stroke: cell and pharmacological approaches. NeuroRx 2006;3:466-473.
21. Chen Z., Chang M, Peng YL, Zhao L, Zhan YR, Wang LJ, Wang R. Osteogenic growth peptide C-terminal pentapeptide [OGP(10-14)] acts on rat bone marrow mesenchymal stem cells to promote differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes: Regul Pept. 2007; 142(1-2):16-23.
22. Childs R., Chernoff, A., Contentin, N., Bahceci, E., Schrupp, D., Leitman, S., Read, E.J., Tisdale, J., Dunbar, C., Linehan, W.M. Young, N.S. Barrett. A.J. Regression of metastatic renal cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. N. Engl. J. Med 2000; 343: 750–758.
23. Coffield KS, Weems WL. Experience with management of posterior urethral injury associated with pelvic fracture. J Urol 1977;117(6):722-724.
24. Çetiner M: Hücresel Tedaviler Tarihi ve Süreyya Tahsin Aygün. 2. Ulusal Kök Hücre Kongresi Program ve Özet Kitabı, Trabzon, 2006, s:29-34.

25. Çetinkaya D.U. Mezenkimal Kök Hücrelerin Klinikte Kullanımı. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar, TÜBA (Türkiye Bilimler Akademisi); 2009: 99-103.
26. Çifci M. Kültüre Kemik İliği Kök Hücresinin Uç-İçe Onarılmış Periferik Sinir Rejenerasyonundaki Etkisi. Uzmanlık Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun, 2008, 40-43.
27. Devries CR, Anderson RU. Endoscopic urethroplasty: an improved technique. J Urol 1990;143(6): 1225-1226.
28. Dharmasaroja p. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of ischemic stroke. J Clin Neurosci 2009;16:12-20
29. Dufayet de la Tour, D., Halvorsen, T., Derneterca, C., Tyrberg, B., Itkin-Ansari, P., Loy, M., Yoo, S.J., Hao, S., Bassie, S., Levine, F.: b-cell differentiation from a human pancreatic cell line in vitro and in vivo. Mol. Endocrinol 2001; 15: 476-483.
30. Elliott DS, Barrett DM. Long-term follow-up and evaluation of primary realignment of posterior urethral disruptions. J Urol 1997;157(3):814-816.
31. Ellis P, Fagan BM, Magness ST, Hutton S, Taranova O, Hayashi S, McMahon A, Rao M, Pevny L. SOX2, A persistent marker for multipotential neural stem cells derived from embryonic stem cells, the embryo or the adult. Dev Neurosci. 2004; 26(2-4): 148-165.
32. Eltahawy EA, Virasoro R, Schlossberg SM et. al. : Long-term followup for excision and primary anastomosis for anterior urethral strictures. J Urol 2007; 177(5): 1803-6.
33. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from Mouse embryos. Nature. 1981; 292: 154-156.
34. Ferrara N. VEGF: An update on biological and therapeutic aspects. Curr Opin Biotechnol 2000; 11: 517-24.
35. Fonsatti E, Vecchio LD, Altomonte M ve ark. Endoglin; An accessory component of the TGF β binding receptor complex with diagnostic, prognostic potential in human malignancies. J Cell Phys, 188: 1-7, 2001.
36. Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. J Embryol Exp Morphol.; 16(3):381-90,1966.

37. Garcia VF, Sheldon CA: Genitourinary tract trauma . In O'Neil JA, Rowe MI, Grosfeld JL, et al(eds): Pediatric Surgery, St Louis, CV Mosby, 1988, pp.285-302.
38. Haitao J., Linlin Q., Yun L, Lili G., Yichao S., Jian Z., Weiming Z., Jieshou L.: Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Reduce Intestinal Ischemia /Reperfusion injuries in Rats . Journal of Surgical Research 1-8(2009) 2009.07.035.
39. Hemal AK, Dorairajan LN, Gupta NP. Posttraumatic complete and partial loss of urethra with pelvic fracture in girls: an appraisal of management. J Urol 2000;163(1):282-287.
40. Heyns CF: Urethrotomy and other minimal invasive of urethral stricture in Urethral Reconstructive Surgery (Ed Brandes BS). Humana Pres, New Jersey, 2008: 64-80.
41. Heyns CF, Rimington PD: Intraperitoneal rupture of bladder causing the biochemical features of renal failure. Br JUrol 60:217, 1987.
42. Hunt T, Wound Healing. Current Surgical Diagnosis & Treatment'de. Ed: Way LW, Doherty GM. United States of America : McGraw Hill, 2004:75-88.
43. Joshi, S.S., Tarantolo, S.R., Kuszynski, C.A., Kessinger, A.: Antitumor therapeutic potent of activated human umbilical cord blood cells against leukemia and breast cancer. Clin. Cancer. Res 2000; 6: 4351-4358.
44. Junquera L.C., Carnerio J., 2006, Üriner sistem, Temel histoloji, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 399-401.
45. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş. Palme Yayıncılık, Çev. Ed: Prof. Dr. Ramazan Demir, 2006; 87.
46. Kim JV, Lee JH, Lyoo YS, Jung DI, Park HM: The effects of topical mesenchymal stem cell transplantation in canine experimental cutaneous wounds. Vet Dermatol. 2013 Apr;24(2):242-e53.
47. Koraitim MM. Pelvic fracture urethral injuries: evaluation of various methods of management. J Urol 1996;156(4):1288-1291.
48. Koraitim MM. Pelvic fracture urethral injuries: the unresolved controversy. J Urol 1999;161(5):1433-1441.
49. Lagasse, E. Connors, H., Al Dhalimy, M., Reitsma, M, Osborne, L., Wang, X., Finegold, M., Weissman, I.L., Grompe, M.: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo Nat.Med 2000; 6: 1229-1234.

50. Levine L, Han B, Little P : Congenital anomalies of the male urethra. *Pediatr Radiol* 2007; 37(9): 851-862.
51. Lieberman SF, Barry JM. Retreat from transpubic urethroplasty for obliterated membranous urethral strictures. *J Urol* 1982;128(2):379-381.
52. Lineaweaver WC, Lei MP, Mustain W, Oswald TM, ve ark. Vascular Endothelium Growth Factor, Surgical Delay, and Skin Flap Survival. *Ann Surg.* 2004 June; 239(6): 866–875.
53. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ ve ark. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet* 1992; 340: 145–146.
54. MacDiormid SA, Chapple CR: Surgical management of injuries to the bladderneck, in *Traumatic and Reconstructive Urology* (Eds McAninch JW, Jordan GH, Caroll PR). Philadelphia, W.B. Saunders, 1996: 533-546.
55. MacDiarmid S, Rosario D, Chapple CR. The importance of accurate assessment and conservative management of the open bladder neck in patients with post-pelvic fracture membranous urethral distraction defects. *Br J Urol* 1995;75(1):65-67.
56. Martinez M, Tascon NM.: Surgical approach of traumatic urethral injury in children. Experience at San Vicente of Paul Universitary Hospital. Medellín 1987-2007. *Actas Urol Esp.* 2009 Apr;33(4):416-21.
57. McAninch,J,W., Santucci,R,A.,: *Genitourinary Trauma: in-Walsh,P,C., Retik,A,B., Vaughan,E,D., Wein,A,J.,EDS., "Campbell'sUrology"Vol:4, Chapter:105, eighth edition ,Philadelphia,New York, London, St.Louis, Sidney, Toranto, Saunders 2002,3707-3744*
58. Michelle C.Charuspong Dhindawi . Pelvic organ distribution of mesenchymal stem cells injected intravenously after simulated childbirth injury in female rats. Publishing corporation obstetrics and gynecology international volume 2012 article id 612946.
59. Minguell JJ, Ericas A, Conget P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med*; 2001; 226: 507-520.
60. Morey AF, Hernandez J, McAninch JW : Reconstructive surgery for trauma of the lower urinary tract. *Urol Clin North Am.* 1999.26: 49-60.

61. Mouraviev VB, Coburn M, Santucci RA. The treatment of posterior urethral disruption associated with pelvic fractures: comparative experience of early realignment versus delayed urethroplasty. *J Urol*. 2005;173(3):873-876.
62. Mundy AR. Urethroplasty for posterior urethral strictures. *Br J Urol* 1996;78(2):243-247.
63. Murathanođlu O, İnceli M., *Histoloji Laboratuvar Klavuzu, İstanbul Üniversitesi Fen Fakóltesi Yayınları, 150.2003.*
64. Orhun H .Yara tarifi, yaralanma tipleri ve travmatik yaraların tedavisi. Ed: Kurt N. Akut ve kronik yara bakımı, istanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2003:34-46.
65. Özgök Y., Seçkin B.,:Mesane travmaları. Editörler: Harmankaya, Ç.,Erduran, D. Özgök, Y.Kilciler Ürogenital Travmalar kitabı, Ankara, GATA basımevi; 2002,72 – 84.
66. Özkorkmaz E., 2008, Streptozotosin diyabetik ve benfluoreks-C vitamini tedavili sıçanların mesane dokusunda histolojik incelemeler, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi.
67. Pansadoro V, Emiliozzi P. Internal urethrotomy in the management of anterior urethral strictures: long-term follow-up. *J Urol* 1996;156(1):73-75.
68. Park JM , Eds Walsh PC, Retik AB, Vaughan DE, Wein AJ: Ürogenital sistemin normal ve anormal gelişimi, in Campbell Üroloji, 8. baskı .Güneş Kitabevi, Ankara. 2005: 1757.
69. Parker MA, Anderson JK, Corliss DA, Abraria VE, Sidman RL, Park KI, Teng YD, Cotanche DA, Snyder EY. Expression profile of an operationally-defined neural stem cell clone. *Exp Neurol*. 2005; 194(2): 320-332.
70. Perasso L, Cogo CE, Giunti D, Gandolfo C, Ruggeri P, Uccelli A, Systemic administration of mesenchymal stem cells increases neuron survival after global cerebral ischemia in vivo. *Balestrino MNeural Plast*. 2010;2010:534925. 2010.
71. Ross J, Li L. Recent advances in understanding extrinsic control of hematopoietic stem cell fate. *Curr Opin Hematol*. 2006; 13(4): 237-242.
72. Rosenstein DI, Alsikafi NF : Diagnosis and classification of urethral injuries *Urol Clin North Am*. 2006; 33(1): 73-85.
73. Salam MA: Principles and Practice of Urology: A comprehensive text, Volume 2. Brown Walker Press, Parkland, Florida 2003: 517-527.

74. Walters MD, Karan MM. Clinical urogynecology. Mosby. St. Louis, Missouri 1993; s. 3-16.
75. Webster GD, Guralnick ML: Reconstruction of posterior urethral disruption. Urol Clin North Am 29:429-441.2002.
76. Webster GD, Mathes GL, Selli C. Prostatomembranous urethral injuries: A review of the literature and a rational approach to their management. J Urol 1983;130(5):898-902.
77. Webster GD. Perineal repair of membranous urethral stricture. Urol Clin North Am 1989;16(2):303-312.
78. Weems WL. Management of genitourinary injuries in patients with pelvic fractures. Ann Surg 1979;189(6):717-723.
79. Weidner N: The importance of tumor angiogenesis, The evidence continues to grow. Am J Clin Pathol, 122: 675-677, 2004.
80. Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. Cell 2000; 100: 157-168.
81. Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic barriers and opportunities. Science 2000; 287: 1442-1446.
82. Tanagho EA: Anatomy of the genitourinary tract, in Smith General Urology,17th Edition (Eds Tanagho EA, McAninch JW). McGrawhill Companies, New York 2008: 14.
83. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science. 1998 Nov 6; 282 (5391):1145-1147.
84. Townsend CM, Beauchamp DR, Evers MB, Mattox KL. Sabiston textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice. 17th ed[CD-ROM]. Philadelphia: Elsevier Saunders;2004.
85. Traynor, A.E., Schroeder, J., Rosa, R.M., Cheng, D., Stefka, J., Mujais, S., Baker, S., Burt, R.K. Treatment of severe systemic lupus erythematosus with high dose chemotherapy and haematopoietic stemcell transplantation: a phase I study. Lancet 2000; 356: 707.

86. Trounson A. The production and directed differentiation of human embryonic stem cells. *Endocr Rev.* 2006; 27(2): 208-219.
87. Venn SN, Mundy AR. Immediate management of major trauma to the urinary tract. *Eur Urol* 1998;33(Curric Urol 3.1):1-8.
88. Vescovi A, Gritti A, Cossu G, Galli R. Neural stem cells: plasticity and their transdifferentiation potential. *Cells Tissues Organs.* 2002; 171(1): 64-76.
89. Yazır Y. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF): reseptörleri ve fonksiyonları. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 29 (3): 128-136.