



T.C.

SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA KOLON ANASTOMOZU
İYİLEŞMESİNDE TROMBOSİT YÖNÜNDEN
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ PLAZMA UYGULAMASI
VE BEYİN OMURİLİK SIVISININ LOKAL
UYGULAMADA ETKİLERİ**

Dr. Mehmet İlker ÖZEL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2019



T.C.

SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA KOLON ANASTOMOZU
İYİLEŞMESİNDE TROMBOSİT YÖNÜNDEN
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ PLAZMA UYGULAMASI
VE BEYİN OMURİLİK SIVISININ LOKAL
UYGULAMADA ETKİLERİ**

Dr. Mehmet İlker ÖZEL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Ali Cihan YILDIRIR

SIVAS

2019



Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010/ 1-2 sayılı kararı ile kabul edilerek yürürlüğe girmiştir.

ONAY SAYFASI

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye: Prof. Dr. Ali Cihan YILDIRIR (Genel Cerrahi ABD)

Üye: Prof. Dr. Metin ŞEN (Genel Cerrahi ABD)

Üye: Prof. Dr. Erdoğan SÖZÜER (Kayseri Erciyes Üniversitesi Genel Cerrahi ABD)

Bu tez .../.../2019 tarih ve 2019/ ... sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İlhan ÇETİN

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yapılmasındaki desteklerinden dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Ali Cihan YILDIRIR'a ve ayrıca değerli hocalarım Prof. Dr. Metin ŞEN, Prof. Dr. Ömer TOPÇU ve Prof. Dr. Kürşat KARADAYI'ya teşekkür ederim.

Tüm öğrettikleri ve ağabeyliği için değerli hocam, ağabeyim Op. Dr. Mustafa ATABEY'e teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında emeklerini esirgemeyen başta Samsun Vezirköprü Devlet Hastanesi beyin ve sinir cerrahisi bölümünden Op. Dr. Çağrı CANBOLAT olmak üzere tüm arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

Asistan arkadaşım, kardeşim Dr. Eren Cemal MUTLU'ya tüm yardımları ve dostluğu için teşekkür ederim.

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD'nden değerli hocam Prof. Dr. Yavuz SİLİĞ ve ayrıca Öğr. Gör. Dr. Ayça TAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanmasındaki yardımlarından dolayı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD'nden kıymetli hocam Doç. Dr. Ersin TUNCER ve ayrıca Serkan ÇELİKGÜN'e teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasındaki yardımlarından dolayı Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD'nden kıymetli hocam, ağabeyim Öğr. Gör. Dr. Kaan GÖKÇEN'e teşekkür ederim.

En zor ve yorucu zamanlarımda her daim yanımda olan aileme, sevgili eşim Selenay Berksu ELDEN ÖZEL'e ve varlığıyla hayatımda yeni bir sayfa açan biricik kıymetli oğlum Kurt Yaman ÖZEL'e minnetlerimi sunarım.

Dr. Mehmet İlker ÖZEL

ÖZET

RATLARDA KOLON ANASTOMOZU İYİLEŞMESİNDE TROMBOSİT YÖNÜNDEN ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ PLAZMA UYGULAMASI VE BEYİN OMURİLİK SIVISININ LOKAL UYGULAMADA ETKİLERİ

Dr. Mehmet İlker ÖZEL, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, SİVAS, 2019

Gastrointestinal cerrahide, anastomoz kaçağı çok önemli bir komplikasyondur ve yüksek morbidite ve mortalite ile seyrederek. Cerrahi teknikler, hastalar için daha verimli olmak ve post operatif iyileşme süresini azaltmak adına sürekli olarak gelişmekte olup cerrahlar güvenli anastomoz yapmayı ve anastomozun güvenilirliği hakkında asgari şüphe ile daha rahat bir post operatif dönem sunmayı amaçlamaktadır. Barsak anastomozları tamamen optimal şartlarda yapılsa dahi post operatif dönemde yara mukavemeti düşüktür, dolayısıyla bu zaman diliminde anastomoz kaçağı riskini azaltacak methodların denenmesi önemlidir. Bu çalışmanın amacı trombosit zengin plazma ve beyin omurilik sıvısının anastomoz iyileşmesi ve ayrıca batın içi yapışıklık üzerine etkilerini araştırmaktır.

Bu çalışmada 24 adet wistar albino tipi erkek rat kullanıldı. Her biri 8 denekten oluşan 3 eşit gruba ayrıldı. Grup I'de anastomoz sonrası her deneğin fasyası ve cilt insizyonu Prolene® (4/0) ile kapatıldı. Grup II'de anastomoz bölgesine her ratın kendi otolog PRP'si uygulandıktan sonra deneğin fasyası ve cilt insizyonu Prolene® (4/0) ile kapatıldı. Grup III'de anastomoz etrafına otolog BOS örnekleri sürüntü şeklinde uygulandıktan sonra deneğin fasyası ve cilt insizyonu Prolene® (4/0) ile kapatıldı. Denekler post operatif 7. günlerinde sakrifiye edildi. Yara yeri enfeksiyonunun varlığı, karın duvarının bütünlüğü, batın içi yapışıklık, batın içi apse, anastomozun makroskopik bütünlüğünün korunup

korunmadığı değerlendirildi. Anastomoz patlama basınçları (APB) biyomekanik olarak ölçüldü. Anastomoz hattının hidroksiprolin değerlerinin biyokimyasal değerlendirilmesi ve ayrıca yine anastomoz bölgesinin histopatolojik değerlendirmesi için doku örnekleri alındı.

Verilerin değerlendirilmesinde (Kolmogorov-Smirnov) varyans analizi, Tukey testi, Kruskal Wallis testi ve Man-Whitney U testi kullanıldı. Yanılma düzeyi 0,05 olarak alındı.

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre anastomoz patlama basıncında en yüksek değer PRP grubunda görülmüştür. Anastomoz patlama basıncında PRP grubu ile BOS grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ancak PRP grubu ile kontrol grubu arasındaki fark ve BOS grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı değildir. Hidroksiprolin düzeylerinde en yüksek değer PRP grubunda, en düşük değer ise BOS grubunda izlenmiştir. Hidroksiprolin değerlerinde PRP grubu ile BOS grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuş, kontrol grubu ile PRP grubu arasındaki fark ile yine kontrol grubu ile BOS grubu arasındaki fark ise anlamlı bulunmamıştır. Histopatolojik değerlendirmenin istatistiksel sonuçlarında kollajen değerleri karşılaştırıldığında farklılık önemli olarak bulunmuş olup kollajen yoğunluğu en yüksek kontrol grubunda en düşük PRP grubunda olduğu görülmüştür. Kontrol grubu ile PRP grubu ve BOS grubu ile PRP grubu arasındaki farklılık önemli bulunurken kontrol grubu ve BOS grubu arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Ayrıca neovaskülarizasyon, inflamasyon ve ödem açısından gruplar arası fark önemsiz olarak bulunmuştur. Nair sınıflaması baz alınarak yapılan batın içi yapışıklık değerlendirmesinde ise gruplar arasındaki farkın yine anlamlı olmadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Trombositten zengin plazma, PRP, BOS, Ventriküloperitoneal şant, kolon anastomozu, abdominal yapışıklıklar

ABSTRACT

EFFECTS OF LOCALLY APPLIED PLATELET RICH PLAZMA AND CEREBROSPINAL FLUID ON HEALING OF COLONIC ANASTOMOSIS IN RATS

Mehmet İlker ÖZEL, MD, Department of General Surgery, SİVAS, 2019

In gastrointestinal surgery, anastomotic leakage is an important complication and is associated with high morbidity and mortality. Surgical techniques are continuously developing in order to be more efficient for patients and to reduce postoperative recovery time. The surgeons aim to provide a safe post-operative period with minimum suspicion about safe anastomosis and the reliability of anastomosis. Even if intestinal anastomoses are performed under optimal conditions, the wound strength is low in the postoperative period, so it is important to try various methods to reduce the risk of anastomotic leakage during this time period. The aim of this study is to investigate the effects of platelet-rich plasma and cerebrospinal fluid on anastomotic healing and also on abdominal adhesions.

In this study, 24 wistar albino male rats were used. Each group was divided into 3 equal groups of 8 subjects. Laparotomy was performed with midline incision. A 1 cm colon segment was resected by finding the left descending colon over 2-4 cm of pelvic reflection. Anastomosis was performed with single sutures and as a single layer with Vicryl® (4/0). Incisions were closed with Prolene® (4/0). In Group II, after each rat's autologous PRP was applied to the anastomosis area, the subject's fascia and skin incision were closed with Prolene® (4/0). In Group III, autologous CSF specimens were applied to the anastomosis area and the subject's fascia and skin incision were closed with Prolene® (4/0). Subjects were sacrificed on the postoperative 7th day.

The presence of wound site infection, integrity of abdominal wall, intraabdominal adhesion, intraabdominal abscess formation, and macroscopic integrity of the anastomosis

were evaluated. Anastomosis bursting pressures (APB) were measured biomechanically. Tissue samples were taken from the tissue anastomosis line for measurement of biochemical hydroxyproline level and also for histopathological evaluation.

In the evaluation of the data (Kolmogorov-Smirnov) variance analysis and Tukey test, Kruskal Wallis test and Man-Whitney U test were used and $p < 0.05$ was accepted as the level of significance.

According to the results of this experimental study, the highest value of anastomosis bursting pressure were seen in the PRP group. The difference between the PRP and the CSF group at the anastomotic bursting pressure was statistically significant, but the differences between the PRP group and the control group and also between in BOS group and the control group were not significant. The highest value in the hydroxyproline levels was found in the PRP group, while the lowest value was seen in the CSF group. The difference between the PRP group and CSF group was significant in the hydroxyproline values. However the difference between the control group and the PRP group and the difference between the control group and the CSF group were not significant. As a result of histopathological studies, when the collagen values were compared the difference was found to be significant and it is seen that the highest concentration of collagen was in the PRP group and lowest in the control group. The difference between the control group and the PRP group and also between the CSF group and PRP group were significant, while the difference between the control group and the CSF group was not significant. Neovascularization, inflammation and edema did not differ between the groups. The intra abdominal adhesion assessment based on the Nair classification was not significant.

Key Words: Platelet rich plasma, PRP, CSF, Ventriculoperitoneal shunt, colonic anastomosis, abdominal adhesions.

SİMGELER VE KISALTMALAR

APB: Anastomoz Patlama Basıncı

BF: Büyüme faktörü

bFGF : Basic Fibroblast Büyüme Faktörü

BOS: Beyin omurilik sıvısı

CaCl₂: Kalsiyum klorid

Cm: Santimetre

EGF: Epitelyal büyüme faktörü

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

GH: Büyüme hormonu

GİS: Gastrointestinal Sistem

GM-CSF: Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör

HCL: Hidroklorik asit

HGF: Hepatosit büyüme faktörü

IgG: İmmun globulin G

IGF: İnsulin benzeri büyüme faktörü

IFN- γ : İnterferon gama

IL: İnterlökin

L-PGDS: Lipocalin-type prostaglandin-D-synthetase (beta-trace protein).

M: Molar

ml: Mililitre

mmHg: Milimetre civa

MNH: Mononükleer Hücre

PDGF : Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü

PMNL: Polimorfonükleer Lökosit

PRP: Trombositten zengin plazma

PRGF: Büyüme faktörlerince zengin plazma

PPP: Plateletten fakir plazma

SF : Serum fizyolojik

TGF- β 1 ve β 2 : Transforme edici büyüme faktörleri

TNF- α : Tümör nekrozis faktör

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

μ l: Mikrolitre

μ g: Mikrogram



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Yara İyileşmesi	4
2.2. Anastomoz	9
2.3. Anastomoz İyileştirilmesinin Değerlendirilmesi	10
2.3.1. Mekanik Patlama Basıncı	10
2.3.2. Biyokimyasal Hidroksiprolin Ölçümü	11
2.3.3. Histopatolojik Değerlendirme	11
2.4. Karın İçi Yapışıklık	11
3. GEREÇ ve YÖNTEM	12
3.1. PRP hazırlanım tekniği ve uygulanması:	15
3.2. Ratlarda BOS Alımı:	18
3.3. Biyomekanik Çalışma (Anastomoz Patlama Basıncı Ölçümü)	19
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	21

3.5. Histopatolojik Değerlendirme.....	22
3.6. İstatistiksel Analiz.....	24
4. BULGULAR	25
4.1. Anastomoz Patlama Basıncı.....	25
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	25
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	26
4.4. Karın İçi Yapışıklığa Ait Bulgular.....	31
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	54
7. KAYNAKÇA	55

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: GİS ve ciltteki yara iyileşmesindeki farklar	5
Tablo 2: Anastomoz iyileşmesini etkileyen faktörler	10
Tablo 3: Nair Sınıflaması	12
Tablo 4: Modifiye Ehrlich ve Hunt skalası	22
Tablo 5: Gruplara ait patlama basıncı (mmHg) ölçüm değerlerinin karşılaştırılması.....	25
Tablo 6: Gruplara ait hidrokspirolin düzeylerinin karşılaştırılması	25
Tablo 7: Gruplara ilişkin kollajen yoğunluğu değerlerinin dağılımı	27
Tablo 8: Gruplara ilişkin neovaskülarizasyon değerlerinin dağılımı	28
Tablo 9: Gruplara ilişkin inflamasyon değerlerinin dağılımı.....	29
Tablo 10: Gruplara ilişkin ödem değerlerinin dağılımı.....	30
Tablo 11: Gruplara ilişkin kollajen yoğunluğu, neovaskülarizasyon, inflamasyon ve ödem değerlerinin karşılaştırılması	31
Tablo 12: Gruplara ilişkin Nair sınıflaması dağılımı	32
Tablo 13: Gruplara ilişkin Nair sınıflaması karşılaştırması	32
Tablo 14: BOS içeriğinde en çok bulunan proteinlerin konsantrasyonları	50
Tablo 15: BOS içeriğindeki biyoaktif moleküllerin konsantrasyonları	51
Tablo 16: BOS içeriğindeki bazı sitokin ve büyüme faktörlerinin konsantrasyonları.....	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Gastrointestinal sistemin histolojik tabakaları	7
Şekil 2: Değişen kollajen miktarına bağlı doku mukavemeti eğrisi	8
Şekil 3: İyileşme fazlarına bağlı değişen kırılma eğrisi.....	8
Şekil 4: Farklı dokularda yara kuvveti değişimi.....	9
Şekil 5: Laparatömi yapılan ratın görüntüsü	14
Şekil 6: Anastomozun yapılışı	14
Şekil 7: Anastomozun anastomoz basıncı ölçümü öncesi görüntüsü.	15
Şekil 8: Ratlarda intrakardiyak kan alma işlemi.....	17
Şekil 9: PRP'nin hazırlanması.....	17
Şekil 10: Ratlarda BOS alma işlemi	19
Şekil 11: Ratlarda BOS alma işlemi illüstrasyonu	19
Şekil 12: Anastomoz patlama basıncı ölçüm monitörü	20
Şekil 13: APB ölçümü düzeneği	20
Şekil 14: Dokuların HCI içerisindeki hidroliz aşaması	21
Şekil 15: 100X büyütmede PRP uygulanmış deneğin anastomoz hattında neovaskülarizasyon ve inflamasyonun görüntüsü.....	23
Şekil 16: 40X büyütmede anastomozun genel görüntüsü	23
Şekil 17: 100X büyütmede PRP uygulanmış deneğin anastomoz hattının Masson Trikróm boyamadaki görüntüsü.....	24
Şekil 18: Aktive olmuş trombositlerden salgılanan biyoaktif moleküller	35

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Barsak anastomozları tamamen optimal şartlarda yapılsa dahi post operatif dönemde yara mukavemeti düşüktür (1) dolayısıyla bu zaman diliminde anastomoz kaçağı riskini azaltacak methodların denenmesi önemlidir.

Cerrahi teknikler, hastalar için daha verimli olmak ve post operatif iyileşme süresini azaltmak adına sürekli olarak gelişmekte olup cerrahlar, güvenli anastomoz yapmayı ve anastomozun güvenilirliği hakkında asgari şüphe ile daha rahat bir post operatif dönem sunmayı amaçlamaktadır. Gastrointestinal cerrahide anastomoz kaçağı çok önemli bir komplikasyondur ve yüksek morbidite ve mortalite ile seyrederek (2). Literatürde; elektif kolon cerrahisi sonrası klinik olarak tespit edilen anastomoz kaçak oranı %3-4 arasında iken (3,4), rektal anastomozlarda ise bu oran %11-12 olarak bildirilmektedir (5,6). Kolorektal cerrahide ortalama anastomoz kaçağı oranı ise %6,4'dür (7). Bir diğer çalışmada ise ABD'de 2003 yılında yapılan 5 milyon gastrointestinal sistem cerrahisinde görülen kolorektal anastomoz kaçağı oranı %10-20 olarak bildirilmiştir (8,9,10).

Anastomoz kaçağı nedenleri lokal ve sistemik faktörler olarak iki grupta incelenir. Hipoalbuminemi, hipovolemi, ağır anemi, asidoz, sepsis, immünsüpresyon, diabetes mellitus, malignite, malnutrisyona bağlı kaşeksi, sistemik faktörlerdir; cerrahi teknik ve sütür materyalleri, anastomozda gerginlik ve yetersiz kan varlığı, bakteriyel barsak içeriğinin abdomen içerisine açılması, distal obstrüksiyon, hipertermi, hasar üzerine radyasyon, mekanik travma ve antibiyotik kullanımı ise lokal faktörlerdir (11,12,13,14).

Son zamanlarda, bazı çalışmalar, bu mortal seyredabilen komplikasyonu azaltmak için bir stratejinin belirlenmesine odaklanmıştır (15). Bu araştırmalardan bazıları, yara iyileşme sürecini hızlandırabilen maddeleri kullanmayı önermiştir. Rejeneratif tıp bu alanda önemli bir rehberlik sağlamaktadır (16).

Yara iyileşme sürecinde trombositler bağırsaklarda yara iyileşmesinin erken dönemlerinde, yaralanma sonrası ilk 72 saatte önemli rol oynarlar (14). Yara bölgesine

hızla ulaşırlar ve koagülasyona başladıktan sonra yara bölgesinde plak yapısı oluşturarak trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörleri (TGF- β 1 ve β 2), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı endotel hücre büyüme faktörü (PDGF), interlökin-1 (IL-1), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve trombosit aktive edici faktör-4 gibi sitokin ve büyüme faktörleri salgırlar (16,17,18).

Geleneksel olarak, trombositler terapötik olarak trombositopeni veya trombosit disfonksiyonunu düzeltmek için kullanılır (19). Son yirmi yılda ise, trombositlerin yara iyileşmesinde ve doku hasarından sonra fizyolojik rollerinin daha iyi anlaşılması, trombositlerin farklı terapötik araçlar olarak kullanılması fikrini doğurmuştur. Örneğin fibrin yapıştırıcı, 1990'ların başında hemostatik ve yapıştırıcı özellikleri olan bir biyomateryal olarak piyasaya sürüldükten sonra, fibrinin trombositleri içerecek şekilde stratejik modifikasyonunu da bildirilmiştir (20). Gastrointestinal anastomoz üzerine uygulanan PRP uygulaması, cerrahi alan boyunca konsantre miktarlarda büyüme faktörleri sağlamak için en yararlı yöntemlerden biridir (18,21). Trombositlerden zengin plazma (PRP) seruma göre yüksek konsantrasyonlarda trombosit ihtiva eden preparatlar olup trombositler tarafından çeşitli büyüme faktörleri salgılanarak anastomoz iyileşmesinde rol oynayabilir (16,17).

PRP sadece yüksek bir trombosit seviyesi değil, aynı zamanda pıhtılaşma faktörlerinin tam bir komplementini de içerir. Aktif trombositler tarafından salgılanan birçok protein, yara iyileşmesinin birçok basamağını etkiler. Trombositler, pıhtılaşmadan 10 dakika sonra bu proteinleri aktif olarak salmaya başlarlar, 1 saat içinde salgılanan önceden sentezlenmiş büyüme faktörlerinin% 95'inden fazlası salgılanır. Hazırlandıktan sonra, PRP, antikoagülasyon içeren şartlarda 8 saatten daha uzun bir süre stabildir, kanın ameliyattan önce alınmasına ve gerektiğinde uzun operasyonlar sırasında kullanılmasına izin verir. Bu ilk protein salımından sonra, trombositler hayatlarının geri kalanı için ek proteinler sentezler ve salgırlar (22,23).

Trombosit konsantrasyonu kalsiyum ve/veya trombin ile aktive edildikten sonra, üç boyutlu bir fibrin iskelesi oluşur, büyüme faktörleri ve bazı proteinler salgılanır ve nihayetinde post operatif yara iyileşmesi desteklenir ve hızlandırılır (21). Ayrıca bu preparat, iyileşme dokusunun hızlı vaskülarizasyonunu teşvik eder ve insanda

kullanımında otolog olduğundan immünojenik reaksiyonlar ve olası hastalık bulaşı ile ilgili endişeleri ortadan kaldırır (18,24). Sonuç olarak, yeni bir terapötik alternatif olarak otolog PRP kullanımı ortopedi, spor hekimliği, diş hekimliği, periodontal cerrahi ve plastik ve maksillofasiyal cerrahi gibi anostomoz iyileşmesinde de yeni bir yaklaşım haline gelebilir.

PRP gibi otolog maddelerin kullanımı, yeni cerrahi ve klinik yaklaşımlar için umut verici bir gelişme olarak görülmüştür. Ayrıca iyileşme bölgesinde lokal büyüme faktörü konsantrasyonlarını artırdığı ve böylece yara iyileşme sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir (18). Bu tip biyolojik tedaviler doku onarımı için gerekli tüm proteinlerin lokal olarak salınmasına neden olduklarından dolayı, gerekli olan zamanı azaltarak doğal doku iyileşmesini taklit ederek hızlandırır (25).

Beyin omurilik sıvısı (BOS) beyin ventriküllerinde ve kraniyal ve spinal subaraknoid boşluklarda bulunan ortalama hacmi, ventriküller içinde 25 ml ve subaraknoid boşluklarda 125 ml ile 150 ml olan sıvıdır. BOS ağırlıklı olarak koroid pleksuslar tarafından salgılandığında beyin interstisyel sıvısı, ependimal hücreler ve kılcıl damarlar da oluşumunda rol oynamaktadır. İnsanlarda 24 saat içinde 600 ml BOS üretilmektedir ki bu miktar, mevcut BOS'u üç ila dört kez tamamen değiştirmek için yeterlidir. BOS'taki daha düşük protein seviyesi dışında, bu sıvının diğer bileşimi kan plazmasına nispeten benzerdir ve bu benzerlik, BOS oluşumunda kan plazmasının ultrafiltrasyonun da rol oynadığını göstermektedir. Bununla birlikte, dikkatli bir şekilde incelendiğinde BOS'un, sadece plazmanın filtrelenmesi ile değil, ayrıca aktif sekresyonla oluşturulduğu da görülmektedir (26,27,28). BOS'un içeriğinde çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri olduğu bilinmektedir. BOS'un içeriğinde bulunan IGF II (insülin benzeri büyüme faktörü II), VP (vazopressin) ve TGF- β 1 (transforme edici büyüme faktörü beta 1) dahil olmak üzere çeşitli hormon ve büyüme faktörlerinin kaynağı aynı zamanda BOS üretiminden sorumlu olan Koroid pleksustur (29).

Hidrocefalisi mevcut pediyatrik vakaların standart tedavisi ventrikülo-peritoneal şantlardır (30). Ventrikülo-peritoneal şantı mevcut pediyatrik vakalarda barsak kullanılarak yapılan üriner trakt rekonstruktif cerrahilerinin sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Şant mevcut vakalarda görülen batın içindeki şant kataterine bağlı

intraabdominal komplikasyonlar hakkında literatürde yeterli miktarda veri bulunmaktadır (31,32) ancak mevcut şantın ve dolayısıyla batın içinde bulunan BOS'un bu operasyonlar sırasında yapılan anastomozlara olan etkisini gösteren herhangi bir veri literatürde bulunmamaktadır.

Biz bu çalışmada barsak anastomozu sonrası PRP ve BOS kullanımının inflamasyon, remodeling, ödem, vaskülarite, batın içi yapışıklık üzerindeki ve ayrıca anastomoz patlama basıncı üzerindeki etkilerini gözlemledik. Bu sonuçlar ışığında, daha iyi bir anastomoz gücü elde etmek için, hastalarda, kolon anastomozunda PRP'nin kullanılıp kullanılmayacağını araştırdık. Ayrıca ihtiva ettiği büyüme faktörlerine ek olarak PRP ye göre daha az lökosit içeren BOS'un anastomozlar üzerine etkisini hem PRP ve kontrol grubu ile kıyaslamak hem de ventrikülo-peritoneal şantı mevcut hastalarda yapılan barsak anastomozlarını incelemek adına araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi; vücudun yaralanmaya karşı verdiği fizyolojik bir cevaptır. Doku bütünlüğünün herhangi bir travma sonucu bozulması, travma tipine bağlı olmaksızın yara bölgesinin morfolojik ve fonksiyonel özelliklerinin yeniden kazanılmasını sağlayacak bir seri fizyolojik olayı başlatır. Yara iyileşmesi olarak adlandırdığımız bu dönem özellikle deri dokusunda oldukça iyi bilinmekte olup enflamasyon, proliferasyon ve yeniden düzenlenme (remodelling) evresi olarak 3 farklı aşamadan meydana gelmektedir (9,33).

Enflamasyon (lag) fazı: Trombositler fibrin tabanlı bir tıkaçla yara yerinde hemostaz oluşturmaktadırlar. Yaralanma damar geçirgenliğini artırarak yara yerine enflamatuvar hücrelerin akışını kolaylaştırır. Trombosit havuzu tükendiğinde, bölgeye sızan makrofajlar, bazıları trombositlerin ürettikleri ile aynı olan büyüme faktörlerini

salgılayarak yara iyileşmesi düzenlemesinin işlevini üstlenirler (23). Nötrofiller başlangıçta baskın hücre tipidir. Sonraki 2-3 gün içerisinde monositler ve doku makrofajları baskın hale gelir. Makrofajlar salgıladıkları büyüme faktörleri ile doku iyileşmesinde kritik öneme sahiptirler (34).

Proliferasyon fazı: Yara yerine fibroblastların gelmesi ile başlar. Fibroblastlar 4. gün baskın hücre olup yara yerine gelmeleri çeşitli büyüme faktörleri ile düzenlenmektedir. Bunlar; PDGF (platelet kaynaklı büyüme faktörü), TGF β (Transforme edici büyüme faktörü β) ve bFGF (basic fibroblast büyüme faktörü) dür (34).

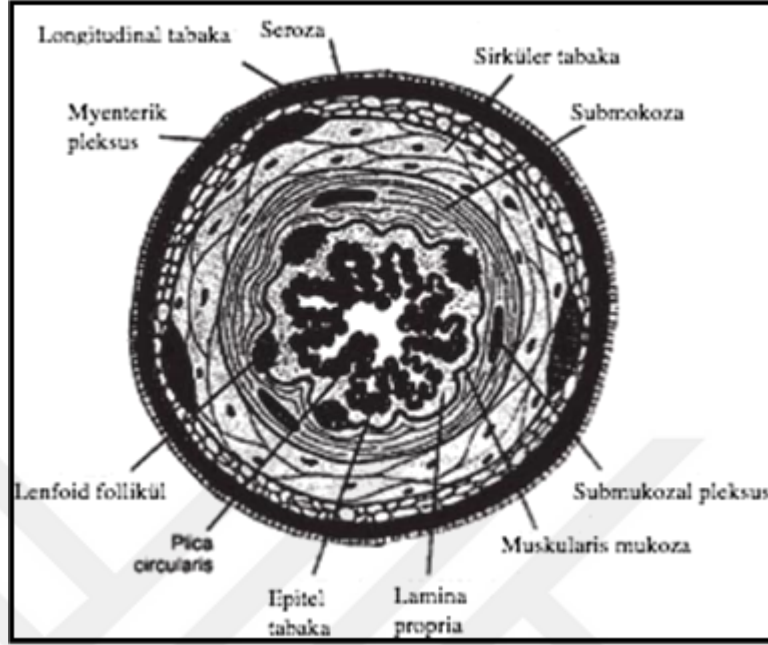
Yeniden Düzenlenme (Remodelling): Zamanla oluşan granülasyon dokusu yeniden düzenlenir. Makrofaj ve fibroblast yoğunluğu zamanla azalır. Kollajen lifler zamanla kalınlaşarak yara yerinde kasılma ve sağlamlığı oluşturur ve yara iyileşmesi ve remodelling dönemi tamamlanmış olur (34).

GİS ile ciltteki yara iyileşmesi benzer ve aynı evreleri içermekle birlikte bazı farkları da içinde barındırmaktadır. Bu farklar Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1: GİS ve ciltteki yara iyileşmesindeki farklar

	Gastrointestinal Sistem	Cilt
Kollajen Subtipi Üretim Regülasyon	1,3,5 Düz kas hücresi ve fibroblast TGF- β	1,3 Fibroblast TGF- β , Dexametasone, IL-1 β
Yara gücü İyileşme süresi Komponent	Hızlı (Haftalar içinde) Seroza	Uzun (Aylarca) Serozal komponent yok
Yara Çevresi kesme stresi Bakteri Vasküler Perfüzyon	İntralüminal içerik geçişi ve peristaltizm Aerobik ve anaerobik (anastomoz iyileşmesini etkileyebilir) Hipovolemik şokla azalır	Aerobik Sabit
Kollajenaz Aktivite	İlk 3 günde artar ve geçici güç kaybına neden olur	Önemli ölçüde değil

Gastrointestinal sistem histolojik olarak dört tabakadan oluşur (özofagus ve rektumun alt üçte biri gibi ekstraperitoneal yapılar hariç): mukoza, submukoza, muskularis propria ve serosa (Şekil 1). Mukoza tabakası epitel (genellikle kolumnar hücreler), lamina propria (kollajen içeren gevşek bağ dokusu) ve muskularis mukozasından (düz kas hücrelerinin oluşturduğu ince bir tabaka) oluşur. Mukozal bozulmalarda epitelyal hücrelerin migrasyonu ve hiperplazisi ile defekt kapatılır ve lümendeki bakterilerin invazyonuna engel oluşturulur. Mukoza defektlerinin tamiri yaklaşık 3 gün sürer. 1887’de Halsted gastrointestinal sistem organlarının mukavemetinin büyük kısmının kollajen, damarlar, lenfatikler ve sinirleri ihtiva eden submukoza tabakası tarafından sağlandığını bildirmiştir (14).

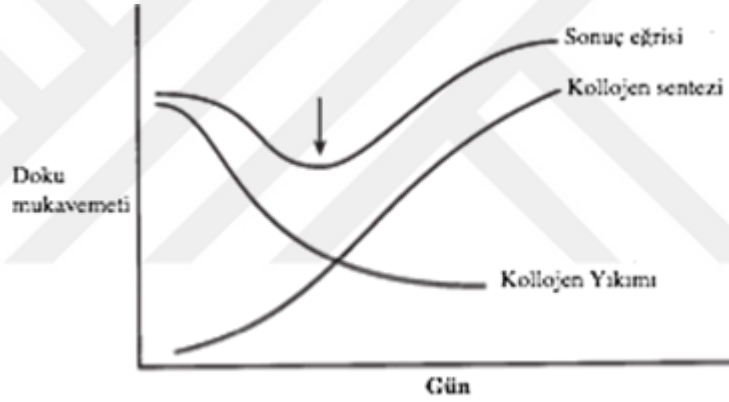


Şekil 1: Gastrointestinal sistemin histolojik tabakaları

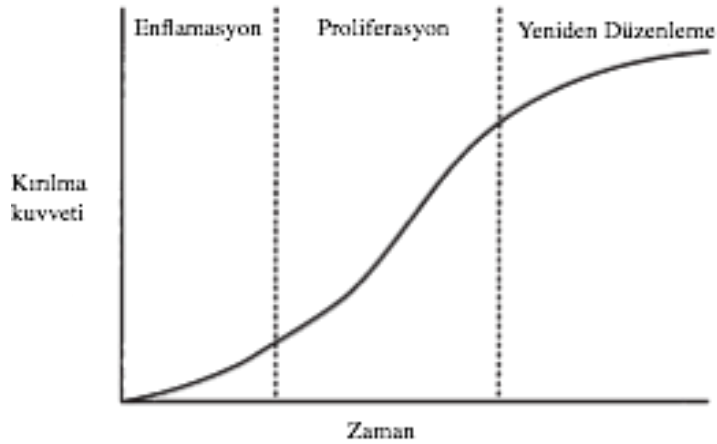
Submukozada bulunan kollajen tipleri tip I kollajen (% 68), tip III kollajen (% 20) ve tip V kollajen (% 12) dir (14,35). Muskularis propria, kollajen ağının içine gömülmüş düz kas hücrelerinden oluşur. Bu tabakadaki kollajen içeriği kronik obstrüksiyona yanıt olarak önemli ölçüde artmaktadır (35). Seroza, muskularis propria'yı kaplayan ince bir bağ dokusu tabakasıdır. Bir anastomoz oluştururken, bu katmanın doğru bir şekilde yerleştirilmesi, sızıntı riskini en aza indirir (14). Anastomozun gücü esas olarak submukozal tabaka içinde bulunan kollajen fibrillerinden elde edilir. İlk birkaç postoperatif günde, kollajenaz aktivitesine sekonder olarak anastomotik güç düşüktür. Bu nedenle, erken anastomotik güç, büyük miktarda yeni kollajen hem fibroblastlar hem de düz kas hücreleri tarafından sentezlenene kadar mevcut kollajenin ve sütürlerin tutma kapasitesine bağlıdır. Ameliyat sonrası anastomoz, bu gerçekleşene kadar 1 veya 2 gün boyunca zayıf olacaktır (Şekil 2). İyileşmenin son aşaması yeni oluşan anastomozun olgunlaşmasını sağlar. Anastomozda makrofajlar ve fibroblastların yoğunluğu azalır ve yeni oluşan kollajen kalın demetler ve kontraktıl birimlere dönüşür (14, 36,37).

Yara iyileşmesi, öngörülebilir, düzenli ve zamana bağlı bileşenlerin etkileşimini içeren karmaşık bir süreçtir. Bu nedenle iyileşme, bir yara iyileşme-zaman eğrisi kullanılarak

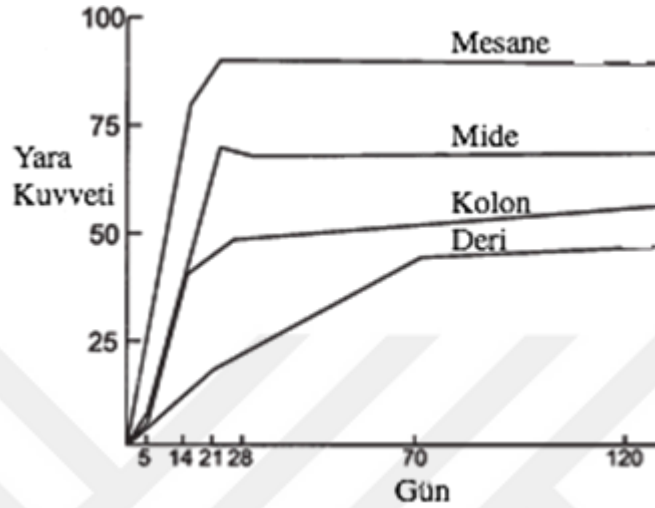
ifade edilebilir.(Şekil 3) (9). Klasik akut yara iyileşme eğrisi, apsis üzerinde zaman ve ordinatta gerilme veya kopma mukavemeti olan bir sigmoid biçimli eğridir. Eğri, yara iyileştirici kaskatın başlangıcını temsil eden düz bir "gecikme fazı" ile başlar. Özellikle gastrointestinal doku iyileşmesinde kollajenaz aktivitesi en yüksek olduğu aralıkta yara iyileşme başarısızlığı riski en yüksektir. 48 saat sonra özofageal anastomozlardaki güç yaklaşık% 40 oranında azalırken, kolon anastomozları başlangıçtaki güçlerinin% 70'ini kaybeder (14). Proliferasyon grafiğe dik bir eğimle çizilir, ardından yeniden modelleme başladığında eğrisi düzleşir. Bu, anastomozun bir noktaya kadar daha güçlü hale geldiğini gösterir.



Şekil 2: Değişen kollajen miktarına bağlı doku mukavemeti eğrisi



Şekil 3: İyileşme fazlarına bağlı değişen kırılma eğrisi



Şekil 4: Farklı dokularda yara kuvveti değişimi

Yara iyileşmesi başarısızlığı, doku onarımının bileşenlerinden birinin miktarında veya süresinde bir anormallik olduğunda ortaya çıkar. Özünde, “yaralı dokunun mekanik bütünlüğünün zamanında iyileşmesinde bir kesinti” dir. Gastrointestinal iyileşmeyi engelleyen faktörler eğriyi sağa ve iyileşmeyi hızlandıran faktörler ise eğriyi sola kaydırır.

2.2. Anastomoz

Kolorektal cerrahinin en önemli komplikasyonlarından olan anastomoz kaçaklarını tanımlamak için birçok sınıflama kullanılmaktadır. Cerrahi enfeksiyon çalışma grubu 1991’de anastomoz kaçaklarını klinik ve subklinik olarak ayırmıştır (38). Bruce ve ark., radyolojik olarak tespit edilen, minör (girişim gerektirmeyen) ve majör klinik semptomlarla seyreden (girişim gerektiren) olmak üzere anastomoz kaçaklarını 3 alt gruba ayırmışlardır (39).

Anastomoz iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve sistemik faktör vardır. Bu faktörler Tablo 2’ de gösterilmiştir.

Tablo 2: Anastomoz iyileşmesini etkileyen faktörler

LOKAL FAKTÖRLER	SİSTEMİK FAKTÖRLER
Anastomoz gerginliği	Şok, sepsis, asidoz
Yeterli kanlanma	Hipovolemi
Bakteriyel kontaminasyon	Malnütrisyon
Sağlıklı doku uçları	Kan transfüzyonu
Barsak hazırlığı ve antibiyotik kullanımı	İmmün yetmezlik
Distal tıkanıklık	Bazı ilaçlar (steroid, NSAİİ)
Radyasyon hasarı	Malign hastalıklar
Hipertermi	Karaciğer yetmezliği
Lokal infeksiyon	Sarılık
Cerrahi teknik ve dikiş materyali	Hipoksi
Hematom	Obezite
Yabancı cisimler	Anemi
Aşırı mobilizasyon	Vitamin/mineral eksikliği
Mekanik travmalar	Üremi, Diyabet

2.3. Anastomoz İyileştirilmesinin Değerlendirilmesi

Anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesinde mekanik, biyokimyasal ve histolojik yöntemler kullanılır. Histolojik inceleme özellikle doku düzeyinde iyileşmenin saptanmasında önemli bir göstergedir.

2.3.1. Mekanik Patlama Basıncı

Bir anastomoz, bağırsak hareketlerinin neden olduğu hem intraluminal hem de longitudinal kuvvetlere dayanabilmelidir (40). Anastomotik gücü değerlendirmek için ya patlama basıncı ya da kopma mukavemeti ölçülebilir. Anastomoz patlama basıncı ve kırılma kuvveti, iyileşme sırasında anastomoz gücünün ve bütünlüğünün değerlendirilmesi için geçerli kriterlerdir (41). Kırılma mukavemeti, bağırsak duvarının

boyuna kuvvetlere olan direncini ölçer ve iyileşme sürecinin biyolojik yönlerini değerlendirir. Patlama basıncı, bağırsak duvarının intraluminal basınca ve genel anastomoz bütünlüğüne direncini belirlerken (41,42,43), bazı çalışmalarda anastomoz iyileşmesini daha az yansıtabileceği savunulmuştur(43). Literatür incelendiğinde anastomoz kuvvetinin ölçümü için de farklı yaklaşımlar vardır ve belli bir konsensus bulunmamaktadır. Bununla birlikte, Ikeuchi ve ark. (1999 yılında), gerilme gücünün, sütür tutma kapasitesi de dahil olmak üzere, anastomoz iyileşmesinin biyolojik yönünü değerlendirmek için daha iyi bir standart olduğunu bildirmişlerse de bir çok araştırmada , genel anastomoz bütünlüğünü değerlendirmek için daha uygun bir araç olduğu için patlama basıncını ölçmeyi tercih edilmiştir (43).

Patlama basıncı anastomoz sonrası 2-3. günlerde en düşük değerde iken hızla artarak yedinci günde ameliyat öncesi düzeye çıkar. Bu nedenle iyileşmenin erken döneminin değerlendirilmesi için uygundur (44). Bu sebeplerden dolayı ve ayrıca elde ettiğimiz sonuçlarımızı literatür ile daha rahat kıyaslayabilmek adına yaptığımız çalışmada anastomozun gücünü değerlendirmede anastomoz patlama basıncı ölçümü tercih edilmiştir.

2.3.2. Biyokimyasal Hidroksiprolin Ölçümü

Hidroksiprolin düzeyinin ölçümü en sık kullanılan yöntemdir. Kollajenin kendine özgü bir amino asiti olan hidroksiprolin tespiti iyileşmenin değerlendirilmesinde önemli bir parametredir.

2.3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Anastomoz hattının hücrel infiltrasyonu ve fibroblastik aktivitesinin ışık mikroskobu ile incelenmesine dayanır. Çalışmamızdaki preparatlar Hematoksilin& Eozin boyası ve Masson Trikrom boyası ile neovaskülarizasyon, hücrel infiltrasyon, fibroblastik aktivite, kollajen yoğunluğu açısından incelenmiştir.

2.4. Karın İçi Yapışıklık

İntraabdominal yapışıklıklar en sık geçirilen cerrahi girişimlere ikincil olarak oluşurlar. Başta barsak tıkanıklığı olmak üzere atipik karın ağrıları, barsak disfonksiyonu, infertilite gibi birçok kliniğe sebep olabilirler. Genel cerrahi yönünden ele alındığında ise intraabdominal yapışıklıkların sebep olduğu en önemli morbidite barsak tıkanıklıklarıdır.

Bu çalışmada kullanılan PRP ve BOS'un karın içi yapışıklık üzerine olan etkilerini karşılaştırmada Nair sınıflaması (Tablo 3) kullanılmıştır (45).

Tablo 3: Nair Sınıflaması

Grade	Adhezyon bantlarının tanımı
0	Adhezyon yok.
1	Organlar arasında veya organla karın duvarı arasında tek bir adhezyon bandının olması
2	Organlar arasında veya organla karın duvarı arasında iki adhezyon bandının olması
3	Organlar arasında veya organla karın duvarı arasında ikiden fazla adhezyon bandı veya karın duvarına yapışıklık olmaksızın barsak anslarının yapışıklığı
4	Adhezyon bantlarının sayısı ve yaygınlığına bakılmaksızın organın direk olarak abdominal duvara yapışık olması

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı, Biyokimya Laboratuvarı ve Patoloji Laboratuvarında yapılmıştır. Bu çalışmanın yapılabilmesi için Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 06/09/2018 tarih ve 65202830-050.04.04-203 sayılı kararı ile izin alınmıştır.

Çalışmamızda ağırlıkları 310-355 gram (ortalama 322,5 gr) arasında değişen 24 adet Wistar albino tipi erkek rat kullanıldı. Her biri 8 denekten oluşan 3 grup oluşturuldu.

Grup I: Kontrol grubu

Grup II: PRP grubu

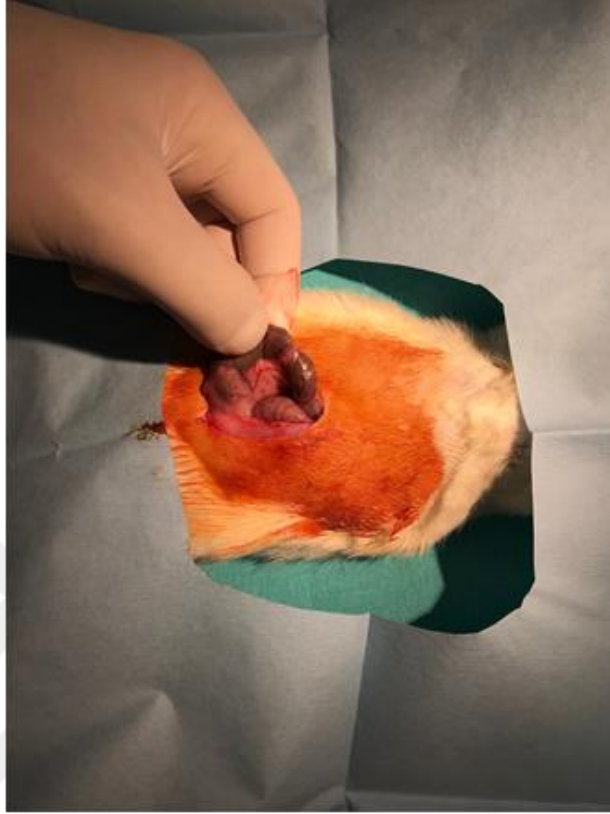
Grup III: BOS grubu

Tüm ratlar sabit çevre koşulları altında su ve standart laboratuvar yemi ile beslendiler. Deneklere antibiyotik veya mekanik barsak temizliği uygulanmadı. Ratlar 5 mg/kg Xylazine (Rhompun, Abdi İbrahim, İstanbul) ve 40 mg/kg Ketamin Hydrochloride (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul) İM. uygulanarak yapılan anestezi sonrası karın duvarı tıraş edilip Povidone iyodine ile cilt temizliği yapıldı. Orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı (Şekil 5). Pelvik refleksiyonun 2-4 cm üzerinden inen kolon bulunarak 1 cm' lik kolon segmenti rezeke edildi. Proksimal ve distal kolon sağma yöntemi ile temizlendi. Gruplarda Vicryl® (4/0) ile tek tek, tek kat olacak şekilde (ortalama 8 sutür) tekrar anastomoz yapıldı. (Şekil 6 ve Şekil 7).

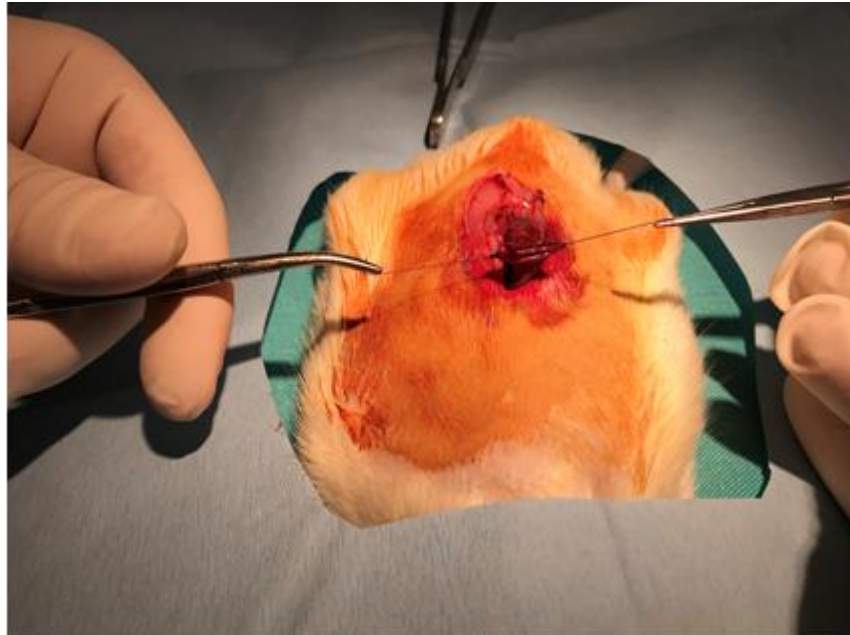
Grup I'de anastomoz sonrası her deneğin fasyası ve cilt insizyonu Prolene® (4/0) ile kapatıldı.

Grup II'de anastomoz bölgesine her ratın kendi otolog PRP'si uygulandıktan sonra deneğin fasyası ve cilt insizyonu Prolene® (4/0) ile kapatıldı.

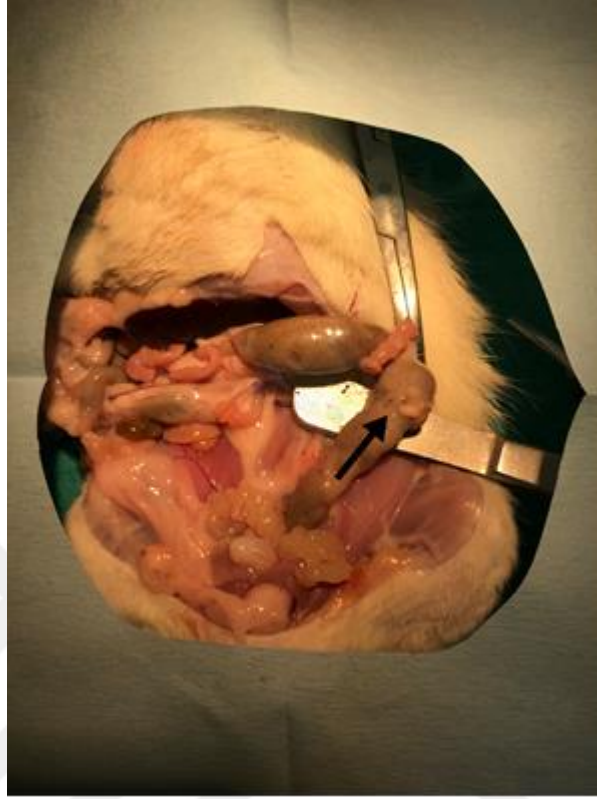
Grup III'de anastomoz bölgesine otolog BOS örnekleri anastomoz etrafına sürüntü şeklinde uygulandıktan sonra deneğin fasyası ve cilt insizyonu Prolene® (4/0) ile kapatıldı.



Şekil 5: Laparotomi yapılan ratın görüntüsü



Şekil 6: Anastomozun yapılışı



Şekil 7: Anastomozun anastomoz basıncı ölçümü öncesi görüntüsü. (Anastomoz hattı ok ile gösterilmiştir.)

3.1. PRP Hazırlanım tekniği ve uygulanması:

PRP, otolog anti-koagulan eklenmiş tam kanın santrifüje edilmesi ile elde edilir. Pıhtılaşmış kanda plateletlerin pıhtının bir parçası olacağı için ayrıştırılma imkanı yoktur. PRP hazırlamak üzere tam kan santrifüje edilmeden önce sitrat katılarak iyonize kalsiyum bağlanır ve pıhtılaşma kaskadı inhibe edilir. Santrifüj sonrasında tam kan yer çekimine göre plazma (üst katman), plateletler ve lökositler (“buffy coat” olarak adlandırılan orta katman) ve eritrositler (en alt katman) olmak üzere 3 katmana ayrılır. Standart bir yaklaşım bulunmamasıyla birlikte, bazı otörler buffy coat ve plazma kısmının ikinci bir santrifüje tabi tutularak PRP ve plateletten fakir plazmanın (platelet poor plasma-PPP) daha ileri ayrışma sağlayabileceğini belirtmektedir (Şekil 9).

Standardize edilmiş bir PRP hazırlama tekniği yoktur. PRP üreten cihazların teknik tasarımı ve çalışma prensipleri tamamen farklıdır, ancak günümüzde klinik ortamlarda

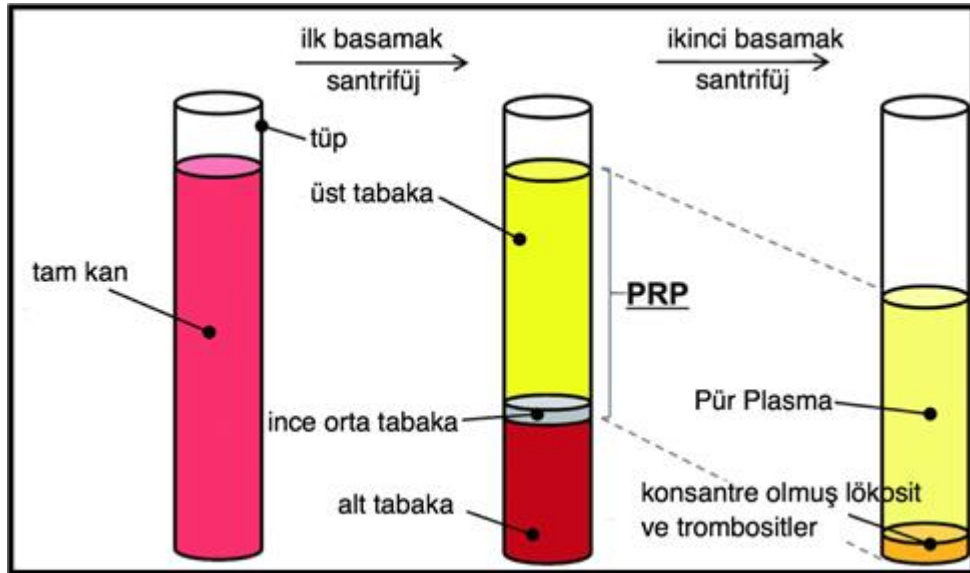
kullanılabilmektedirler. Manuel olarak hazırlanabildiği gibi, FDA(Food and Drug Administration) onaylı *The Gravitational Platelet Sequestration Systeme*”, (Biomet Co, Warsaw, IN, USA) (GPS) , *The Electa Cell-Separatore* (Sorin Group, Mirandola, Italy) (CS) ve *The Autologous Growth Factor Filtere*, (Interpore Cross, Irvine CA, USA) (AGF) gibi farklı ticari PRP hazırlama kitleri de mevcuttur. Bu farklı kitler ve yöntemler ile elde edilen PRP preparatları hazırlanırken farklı konsantrasyonlarda, farklı pıhtılaşma aktivatörleri kullanarak ve farklı lökosit içerikleri olan PRP substratları elde edilir ve dolayısıyla büyüme faktörleri, beyaz kan hücreleri ve fibrin konsantrasyonları da farklılık gösterebilir (25, 46).

Teorik olarak ne kadar fazla tam kan alınır, o kadar yüksek konsantrasyonda platelet içeren PRP elde edilir. Kan alınırken 18G gibi geniş iğnelerin kullanılması plateletlerin daha az travmatize edilerek, uygulama öncesinde inaktif durumda kalmasını sağlaması açısından önemlidir. PRP içerisinde lökosit varlığının pozitif ya da negatif etkileri olduğuna dair farklı türdeki dokuların kullanıldığı farklı çalışmalarda farklı veriler vardır. PRP elde etmek için manüel tekniğin kullanılması ise, minimum teknik gereklilikler ve optimal trombosit verimliliği ile düşük maliyetli bir prosedürdür (16).

Yaptığımız çalışmada kullandığımız PRP hazırlama methodunda deneklerden intrakardiyak olarak alınan kanlar (Şekil 8) %3,8 sodyum sitratlı tüplere alınıp 2 aşamalı santrifüj uygulanmıştır (Şekil 9). İlk olarak birinci basamak santrifüj işlemi (4000 rpm, 20 °C, 10 dk) uygulanmıştır. Bu işlem ile plazma eritrositlerden ayrılmış olur ve tüpte üç katman oluşturulur. En üstte sarımsı trombositten fakir plazma, altta buffy coat ismi verilen trombosit ve lökositten zengin kısım ve en altta eritrositlerden oluşan kırmızımsı tabakanın oluştuğu görülmüştür. Daha sonra üst iki katman alınarak yapılan 2. basamak santrifüj işlemi (2600 rpm, 20 °C, 10 dk) plateletler ile plateletten fakir plazmayı tamamen ayırtmak için uygulanır. Elde edilen PRP, kullanım öncesi 1:10 oranında kalsiyum klorid ile karıştırılmış ve aktive edilmiş jel formunda PRP elde edilmiştir. Anostomoz için hazırlanan barsak uçları PRP ile ilişkili büyüme faktörlerinin başlangıç patlaması ile intestinal teması sağlamak için en az 10 dakika solüsyon içerisinde tutulmuştur. Sonrasında jel formundaki PRP anostomozun etrafına sürülmüş ve işlem tamamlanmıştır.



Şekil 8: Ratlarda intrakardiyak kan alma işlemi

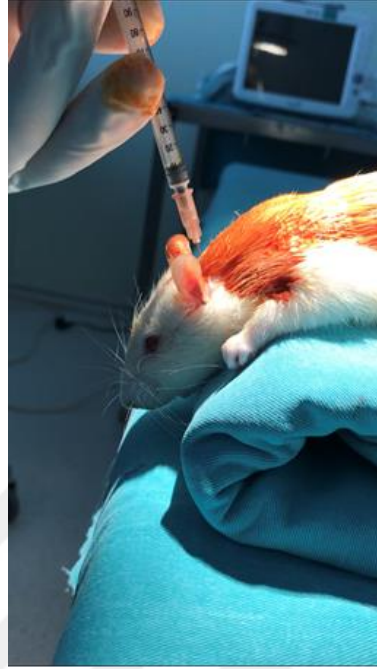


Şekil 9: PRP'nin hazırlanması

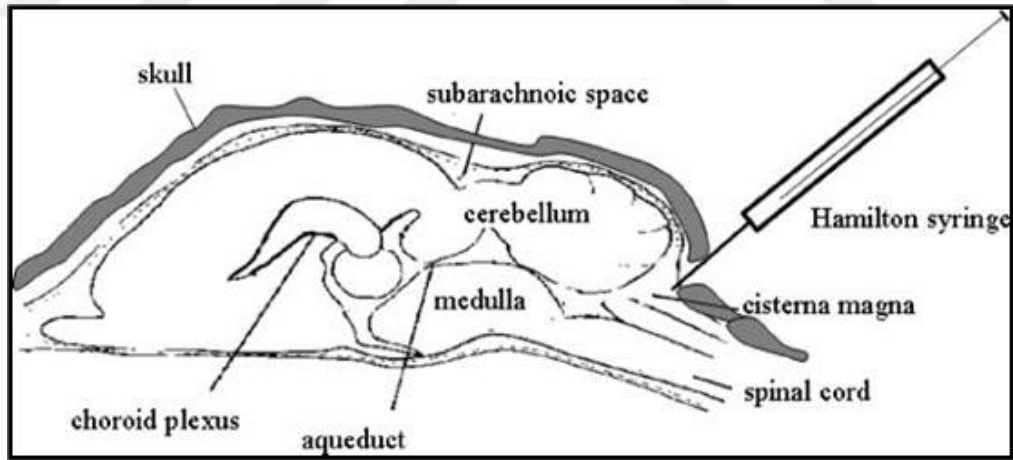
3.2. Ratlarda BOS Alımı:

BOS, lomber bölgeden, sisternadan ya da ventrikül içinden iğne ile alınabilir. Bu işlem için hayvanın feda edilmesi gerekmez ancak anestezi altında yapılan ve komplikasyona açık bir işlem olduğu unutulmamalıdır. Yaptığımız çalışmada Grup III deki deneklerin anastomoz bölgelerine otolog BOS örnekleri uygulanmıştır. BOS alma işlemi üç denekte mortaliteye sebep olmuştur. BOS alınacak ratın başı gövdesine göre 90 derece açı verilecek şekilde eğilir. Baş öne doğru eğildiğinde oksipital çıkıntı belirgin hale gelir ve bu çıkıntı ile atlasın dikenini arasındaki çukurlukta atlanto-oksipital membran bulunur. 24 G lik iğne ile bu çukurluktan girilir. Membran geçilirken iğne ucunda hissedilen direnç membran geçildiği zaman kaybolur ve boşluğa girme hissi alınır. Bu sisterna magnaya düşüldüğünün işaretidir ve bu aşamadan sonra BOS gelmeye başlar (Şekil 10 ve Şekil 11). Yaptığımız çalışmada ratlardan yaklaşık 0,2 cc'lik BOS örnekleri toplandı. Normalde berrak olan BOS yakın aralıklarla ponksiyon yapıldığında kanlı gelebilir. Şayet bir denekten daha fazla miktarda BOS almak için işlem tekrarlanacak ise olası komplikasyonları azaltmak için iki sisterna ponksiyonu arasında 3-7 gün süre bırakılmalıdır.

Ameliyat sonrası su içmelerine izin verilen ratlar birinci gün standart yem ile beslendi. Tüm gruplardaki denekler post operatif 7. günlerinde eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapılarak sakrifiye edildi. Tüm deneklerde yara yeri enfeksiyonunun varlığı, karın duvarının bütünlüğünün korunup korunmadığı, batın içi yapışıklık skorlaması, batın içi apse varlığı, anastomozun makroskopik bütünlüğünün korunup korunmadığı değerlendirildi. Biyomekanik patlama basınçları ölçüldü. Biyokimyasal olarak dokuda hidroksiprolin değerleri ve anastomoz hattının histopatolojik değerlendirilmesi için doku örnekleri alındı ve patoloji ve biyokimya laboratuvarlarına gönderildi.



Şekil 10: Ratlarda BOS alma işlemi



Şekil 11: Ratlarda BOS alma işlemi illüstrasyonu

3.3. Biyomekanik Çalışma (Anastomoz Patlama Basıncı Ölçümü)

Patlama basıncı ölçümü için basınç transducer (Transpac İV. Abbott, USA) ve monitör (Bionet Patient Monitor BM5, Seoul, Korea) temin edildi (Şekil 12). 2F Feeding katater rektal yoldan ilerletildi. Anastomozun 2 cm. altından katateri içine alacak şekilde 2/0 ipekle kolon bağlandı. Anastomozun proksimal kısmı da klemple kapatılarak kapalı bir

sistem oluşturuldu. Perfüzyon pompası ile 50 ml/saat hızla rektuma yerleştirilen kataterden kolon içerisine metilen mavisi içeren sıvı verilerek monitörde basınç takip edildi (Şekil 13). Basıncıdaki ani düşme olmadan önceki değer anastomoz patlama basıncı olarak kaydedildi.



Şekil 12: Anastomoz patlama basıncı ölçüm monitörü



Şekil 13: APB ölçümü düzeneği. (Anastomoz hattı ok ile gösterilmiştir.)

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Patlama basıncı ölçüldükten sonra anastomozun 2 cm distal ve 2 cm proksimalini içine alacak şekilde kolon rezeke edildi. Rezeke edilen kolon parçası uzun eksenini boyunca açılarak 1/2 lik parçası bidistile suyla yıkanıp, kurutma kâğıdıyla kurutuldu, tartıldı ve küçük parçalara ayrıldı. Ağzı açık beherlere konularak 100°C'ye ayarlanmış etüvde 72 saat kurutuldu. Kurutulan örnekler daha sonra 110 °C de 18 saat 6 M HCl içinde hidroliz edildi (Şekil 14). Örnekler üç kez distile su ile yıkandı. Asidi uzaklaştırılan örnekler 2 ml tampon (% 1,2 asetik asit, % 12 sodyum asetat, %5 sitrik asit, % 3,4 sodyum hidroksit pH=6) içinde tekrar çözüldü. Daha sonra 1 ml örneğe, 0,5 ml Kloramin -T eklendi ve örnekler 20 dakika oda ısısında inkübe edildi. 0,5ml propanol içinde çözülmüş % 15,6 perklorik asit + % 15 4-dimetil aminobenzaldehit karışımı eklendi. Daha sonra 60 °C de 15 dakika inkübe edildikten sonra spektrofotometrede 550 nm de absorbanansı köre karşı okundu. L-hidroksiprolin kullanılarak çizilen standart eğriden faydalanılarak µg/mg doku sonuçlar hesaplandı (47, 48).



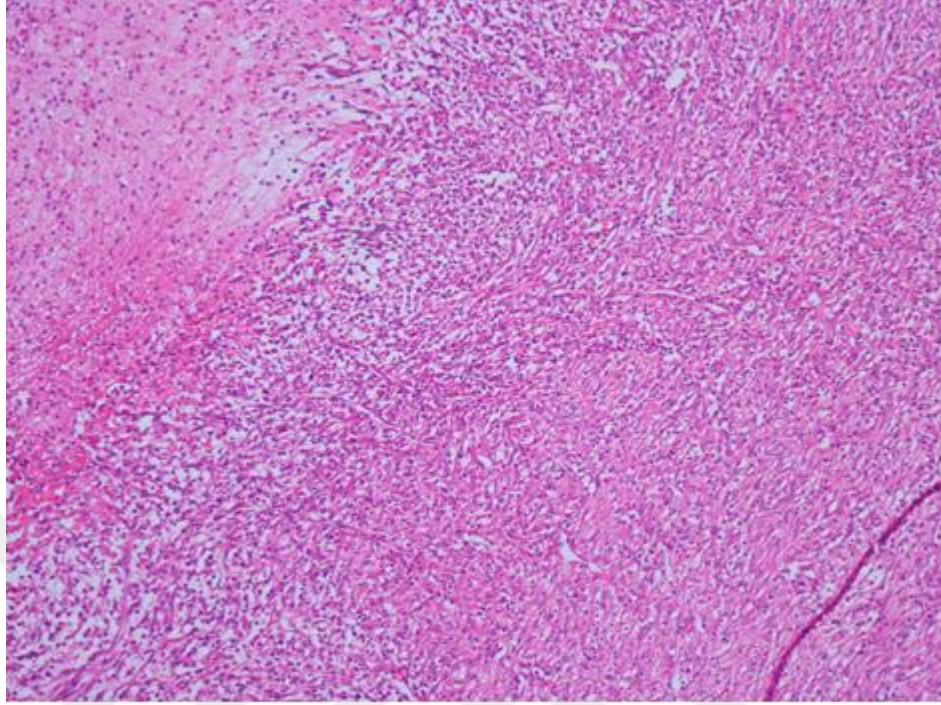
Şekil 14: Dokuların HCl içerisindeki hidroliz aşaması

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

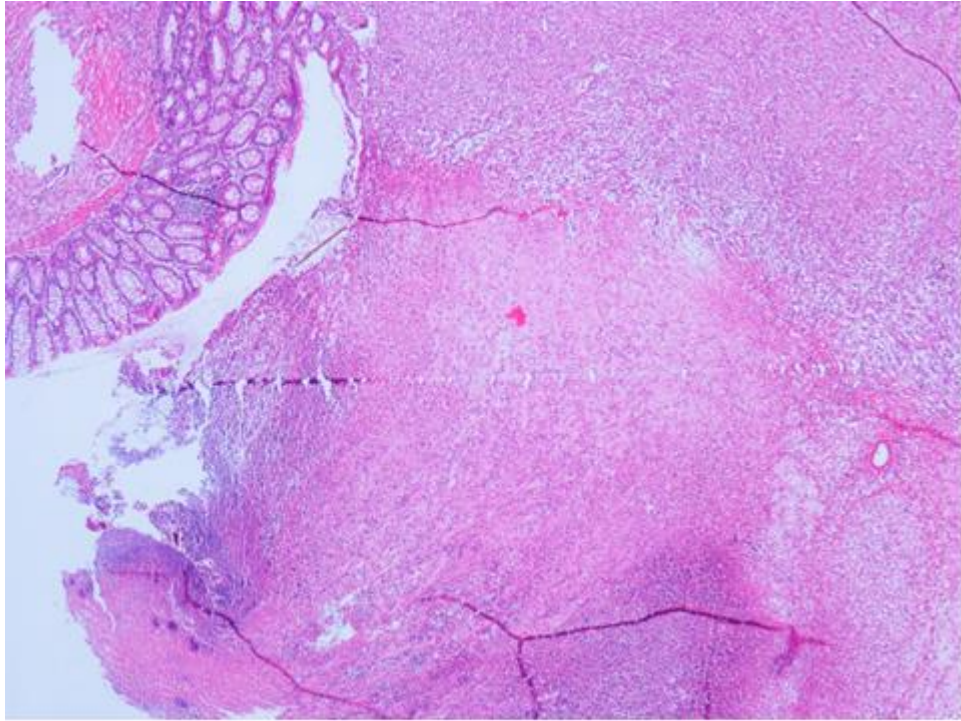
Rezeke edilen kolon parçası uzun eksenini boyunca açılarak 1/2 lik parçası %10 luk formaldehit içerisinde kondu. Alınan parça 24 saat fikse edildikten sonra parafine gömüldü. Bu dokulardan 4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson Trikrom boyası ile boyandı. Rutin H&E kesitlerde; enflamatuvar hücre infiltrasyonu [polimorfonükleer lökosit (PMNL), mononükleer hücre (MNH)], ödem, neovaskülarizasyon, kollajen lif ve fibroblast yoğunluğu modifiye Ehrlich ve Hunt skalası (49) kullanılarak değerlendirildi (Tablo 4). Masson Trikrom boyama ile ise dokudaki kollajen yoğunluğu değerlendirildi.

Tablo 4: Modifiye Ehrlich ve Hunt skalası

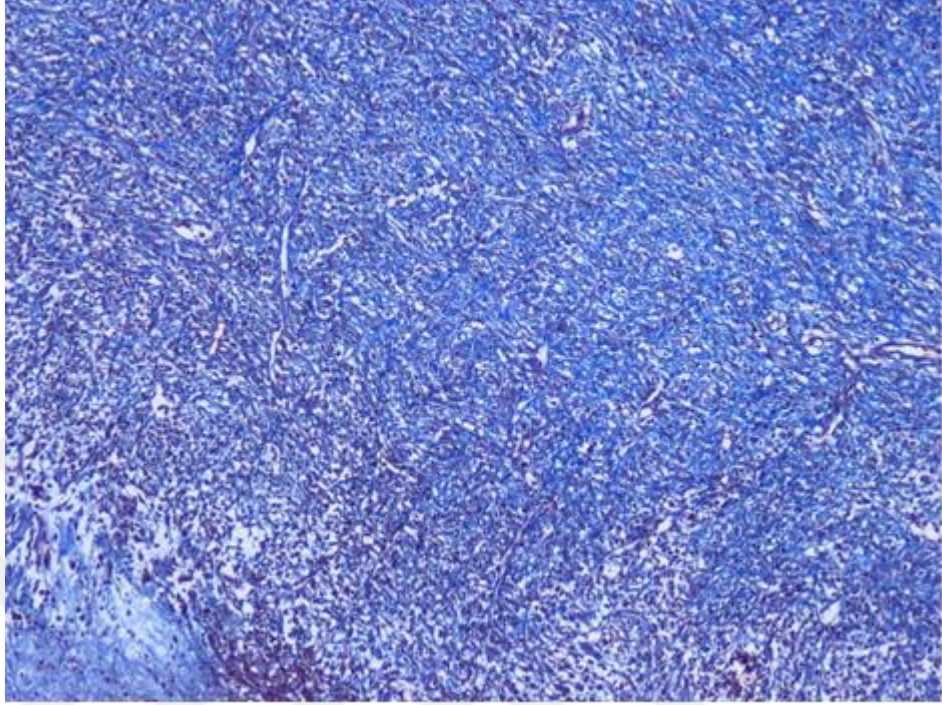
Puan	Parametre
0	Yok
1	Az miktarda
2	Orta düzeyde
3	İyi düzeyde
4	Çok iyi düzeyde



Şekil 15: 100X büyütmede PRP uygulanmış deneğin anastomoz hattında neovaskülarizasyon ve inflamasyonun görüntüsü



Şekil 16: 40X büyütmede anastomozun genel görüntüsü



Şekil 17: 100X büyütmede PRP uygulanmış deneğin anastomoz hattının Masson Trikrom boyamadaki görüntüsü

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın verilerinin değerlendirilmesinde SPSS (Statistical Package for Social Sciences, ver: 22.0) programı kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirildiğinde (Kolmogorov-Smirnov) varyans analizi ve Tukey testi, parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinde Kruskal Wallis testi ve Man-Whitney U testi kullanılmıştır. Yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

Deneklerin hiç birinde cilt enfeksiyonuna rastlanmadı. Post operatif 7. günde sakrifiye edilen gruplardaki deneklerin tümünde anastomoz hattı salim olup deneklerde batın içi apseye rastlanmadı. BOS grubunda üç denekte BOS alım işlemi sırasında mortalite görüldü. Post operatif takipler sırasında ise PRP grubundan bir denekte post operatif 3. saatte mortalite görülmüş olup sebebinin hipovolemi olabileceği düşünüldü.

4.1. Anastomoz Patlama Basıncı

Gruplara ilişkin patlama basıncı değerleri karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak değerli bulunmuş olup ($p<0,05$) en yüksek değer PRP grubunda elde edilmiştir. Gruplara ilişkin değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında PRP ile BOS grubu arasındaki farklılık anlamlı olarak bulunmuş olup ($p<0,05$) diğer gruplar arası farklılık anlamsız olarak bulunmuştur ($p>0,05$). Sonuç olarak PRP ile kontrol grubu arasındaki fark ve BOS grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı değildir ($p>0,05$). Gruplara ait patlama basıncı (mmHg) ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasına ait veriler Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5: Gruplara ait patlama basıncı (mmHg) ölçüm değerlerinin karşılaştırılması

Grup	N	Ortalama	Std. Sapma	Sonuç
Kontrol	8	147,37	39,73	F=5,95
PRP	7	174,00	35,77	p=0,011*
BOS	5	106,28	26,04	

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Grupların doku hidroksiprolin değerlerinin karşılaştırılmasına ait veriler Tablo 6’ da verilmiştir. Elde edilen hidroksiprolin (OH-Prolin) değerleri dokunun miligramı başına mikrogram ($\mu\text{g}/\text{mg}$ Kolon dokusu) olarak verilmiştir. En yüksek OH-prolin düzeyi PRP

grubunda, en düşük düzey ise BOS grubunda tespit edilmiştir. Gruplara ilişkin hidroksiprolin değerleri karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Gruplara ilişkin değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında PRP grubu ile BOS grubu arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$), diğer gruplar arası farklılıklar önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Gruplara ait hidroksiprolin düzeylerinin karşılaştırılmasına ait veriler Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: Gruplara ait hidroksiprolin düzeylerinin karşılaştırılması

Grup	N	Ortalama	Std. Sapma	Sonuç
Kontrol	7	13,92	3,11	F=8,95 p=0,003*
PRP	7	18,51	4,37	
BOS	5	9,05	4,22	
Total	19	14,33	5,30	

4.3. Histopatolojik Bulgular

Gruplara ilişkin kollajen yoğunluğu, neovaskülarizasyon, inflamasyon ve ödem değerlerinin dağılım ve aynı parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılmasına ait veriler Tablo7, Tablo 8, Tablo 9, Tablo 10 ve Tablo 11'de gösterilmiştir. Histopatolojik değerlendirmenin istatistiksel sonuçlarında gruplara ilişkin kollajen değer skalaları karşılaştırıldığında farklılık önemli olarak bulunmuş ($p<0,05$) olup en yüksek kollajen yoğunluğunun kontrol grubunda olduğu görülmüştür. Gruplara ilişkin değerler ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile PRP grubu ve PRP ile BOS arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$) kontrol grubu ve BOS arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Gruplara ilişkin neovaskülarizasyon, inflamasyon ve ödem skalaları karşılaştırıldığında ise gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 7: Gruplara ilişkin kollajen yoğunluğu değerlerinin dağılımı

			Kollajen			Toplam
			1,00	2,00	3,00	
Gruplar	Kontrol	S	0	1	7	8
			,0%	12,5%	87,5%	100,0%
	PRP	S	4	3	0	7
			57,1%	42,9%	,0%	100,0%
	BOS	S	0	2	3	5
			,0%	40,0%	60,0%	100,0%
Toplam	St		4	6	10	20
			20,0%	30,0%	50,0%	100,0%

Tablo 8: Gruplara ilişkin neovaskularizasyon değerlerinin dağılımı

			Neovaskularizasyon			Toplam
			1,00	2,00	3,00	
Gruplar	Kontrol	S	3	3	2	8
			37,5%	37,5%	25,0%	100,0%
	PRP	S	0	3	4	7
			,0%	42,9%	57,1%	100,0%
	BOS	S	0	2	3	5
			,0%	40,0%	60,0%	100,0%
Toplam	St		3	8	9	20
			15,0%	40,0%	45,0%	100,0%

Tablo 9: Gruplara ilişkin inflamasyon değerlerinin dağılımı

			İnflamasyon			Toplam
			1,00	2,00	3,00	
Gruplar	Kontrol	S	1	4	3	8
			12,5%	50,0%	37,5%	100,0%
	PRP	S	3	4	0	7
			42,9%	57,1%	,0%	100,0%
	BOS	S	2	3	0	5
			40,0%	60,0%	,0%	100,0%
Toplam		S	6	11	3	20
			30,0%	55,0%	15,0%	100,0%

Tablo 10: Gruplara ilişkin ödem değerlerinin dağılımı

			Ödem				Toplam
			,00	1,00	2,00	3,00	
Gruplar	Kontrol	S	4	3	0	1	8
			50,0%	37,5%	,0%	12,5%	100,0%
	PRP	S	5	1	1	0	7
			71,4%	14,3%	14,3%	,0%	100,0%
	BOS	S	3	2	0	0	5
			60,0%	40,0%	,0%	,0%	100,0%
Toplam		S	12	6	1	1	20
			60,0%	30,0%	5,0%	5,0%	100,0%

Tablo 11: Gruplara ilişkin kollajen yoğunluğu, neovaskülarizasyon, inflamasyon ve ödem değerlerinin karşılaştırılması.

Parametre	Gruplar	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca 3,00	Minimum	Maksimum	Sonuç
Kollajen yoğunluğu	Kontrol (8)	2,87	,35	1,00	2,00	3,00	KW=13,04 p=0,001*
	PRP(7)	1,42	,53	3,00	1,00	2,00	
	BOS(5)	2,60	,54		2,00	3,00	
Neovaskülarizasyon	Kontrol (8)	1,87	,83	2,00	1,00	3,00	KW=3,90 p=0,142
	PRP(7)	2,57	,53	3,00	2,00	3,00	
	BOS(5)	2,60	,54	3,00	2,00	3,00	
İnflamasyon	Kontrol (8)	2,25	,70	2,00	1,00	3,00	KW=4,44 p=0,108
	PRP(7)	1,57	,53	2,00	1,00	2,00	
	BOS(5)	1,60	,54	2,00	1,00	2,00	
Ödem	Kontrol (8)	,75	1,03	0,50	,00	3,00	KW=0,59 p=0,742
	PRP(7)	,42	,78	0,00	,00	2,00	
	BOS(5)	,40	,54	0,00	,00	1,00	

4.4. Karın İçi Yapışıklığa Ait Bulgular

Karın içi yapışıklıklar Nair sınıflaması ile değerlendirildi. Karın içi yapışıklık dağılım ve karşılaştırmaları Tablo 12 ve Tablo 13’de verilmiştir. Gruplara ilişkin Nair sınıflaması skorları karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 12: Gruplara ilişkin Nair sınıflaması dağılımı

			Nair sınıflandırılması			Toplam
			,00	1,00	2,00	
Gruplar	Kontrol	S	2	3	3	8
			25,0%	37,5%	37,5%	100,0%
	PRP	S	4	2	1	7
			57,1%	28,6%	14,3%	100,0%
	BOS	S	4	1	0	5
			80,0%	20,0%	,0%	100,0%
Toplam		S	10	6	4	20
			50,0%	30,0%	20,0%	100,0%

Tablo 13: Gruplara ilişkin Nair sınıflaması karşılaştırması

Grup	N	Ortalama	Std. Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum	Sonuç
Kontrol	8	1,12	,83	1,00	,00	2,00	KW=4,37 p=0,112
PRP	7	,57	,78	0,00	,00	2,00	
BOS	5	,20	,44	0,00	,00	1,00	

5. TARTIŞMA

Bağırsak iyileşmesi iltihap, proliferasyon ve olgunlaşma fazları olmak üzere üç iyileşme evresi ile karakterizedir. Bu basamaklar ameliyat sonrası 0. ile 4. günler arasında, 3. ve 14. günler arasında ve 10. ve 180. günler arasındadır (18). Genellikle ilk aşamada fibrin yara iyileşmesine ve kuvvetine katkıda bulunur, ancak asıl direnç bu dönemde dikişlerle bağlıdır. Anostomoz iyileşmesinde 3. ve 4. günler arasında anostomozun mukavemeti fibrinoliz ve kollajen birikimine bağlı olarak daha düşüktür. Bu koşullar altında, dikiş hattının ayrılması kolaylıkla meydana gelebilir. Bu çalışmada sadece proliferatif faz dikkate alınarak tüm ratlara cerrahi sonrası 7. günde ötenazi uygulanmıştır. Çalışmamızda bu periyodu özellikle dikkate alınmıştır çünkü bu aşamada makrofajlar fibrin debridmanında (inflamatuvar fazda ortaya çıkmakta) ve doğal büyüme faktörü üretiminin maksimum tepe noktasında yer alarak fibrozis ve anjiyogenezi modüle etmektedirler (50).

Preoperatif hazırlık ve cerrahi tekniklerde önemli gelişmeler olmasına rağmen, kolonik anastomoz kaçakları, günümüzde kolon cerrahisi geçiren hastalarda perioperatif morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeni olmaya devam etmektedir (51,52,53). Klinik olarak belirgin anastomoz ayrılmasının perioperatif mortaliteyi 3 kat ve hastanede kalış süresini 2 kat arttırdığı gözlenmiştir. Anastomoz kaçağı ile bağırsağın mekanik durumu, kan akımı, oksijenasyon, nekroz, kan transfüzyonu, cerrahi teknik, dikiş materyalleri, fekal kontaminasyon, peritoneal sepsis, anastomozdaki gerilim ve obstrüksiyon arasında doğrudan bir korelasyon vardır (13,14).

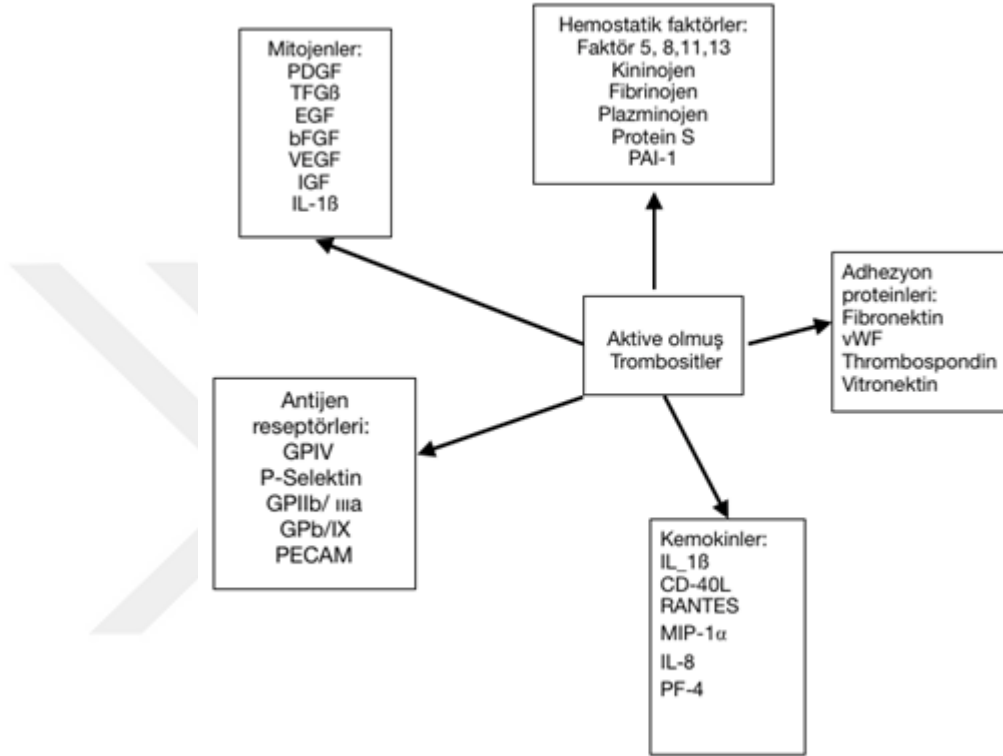
Trombositler; Kemik iliğinde megakaryositlerden üretilen ve kan konsantrasyonları 150-400.000 / μ L arasında değişen kan hücreleridir (54). Normal koşullar altında yara iyileşmesi, trombositlerin kalsiyum ve trombin mevcudiyetinde agregasyonları yoluyla başlatılır ve inflamatuvar hücrelerin göçü için gerekli olan ortamın oluşturulacağı bir fibrin pıhtı oluşturulur (55). Trombositlerin aktivasyonu ile megakaryositlerde granül şeklinde

paketlenmiş halde bulunan koagülasyon faktörleri, büyüme faktörleri, sitokin, kemokin ve integrin olarak bilinen salgısal moleküller pıhtılaşmadan sonraki yaklaşık 10 dakikalık süreçte salınırlar (23). Trombositler alfa ve delta granülleri-yoğun cisimcikler olmak üzere iki tip granül içerirler. Her trombositte 50-80 adet arasında trombosit kaynaklı alfa granül bulunur. Alfa granül içeriğinde biyoaktif büyüme faktörleri ve sitokinler bulunur (56). Yoğun cisimcikler ve delta granülleri ise ATP ve ADP içerir ve ayrıca iyonize kalsiyum, serotonin, histamin, epinefrin, dopamin, katekolamin gibi platelet agonistlerini içerirler. Alfa granülleri, inaktif durumdaki trombosit kaynaklı büyüme faktörlerini, P-Selektin, osteokalsin ve osteonektin gibi (membranlarda yapışmayı sağlayan) potent adeziv substratları, Fibrinojen, fibrin, fibronektin, F-5 ve F-8, F-4 ü içerir (57). Slater ve ark. ile Spencer ve ark., trombosit büyüme faktörlerinin yara iyileşmesine katkıda bulunabilecek mitojenik ve kemotaktik özelliklere sahip olduklarını göstermişlerdir (58).

Yara iyileşmesindeki kaskat sırasında, trombositler yakalanır ve aktive edilir, bu da trombositlerin alfa-granüllerinde bulunan büyüme faktörlerinin salınmasına neden olur (58). Artan damar geçirgenliği sonucunda yaralanma bölgesine enflamatuar hücreler gelerek enflamasyon fazını başlatır. Enflamatuar hücrelerden bölgeye ilk gelen hücreler nötrofillerdir ve başlangıçta dominantlardır. Nötrofillerin görevi yarayı invaze eden mikroorganizmalardan temizlemektir (34). Nötrofillerden salgılandığı düşünülen proteinazlar sonucunda anastomoz iyileşmesinin erken dönemlerinde kollajenolizis meydana gelir (59). Bu nedenle de anastomozun gücü azalır (60). Bu dönemde anastomoz güvenliği kullanılan sutür ve/veya stapler ile sağlanır (61). Enflamatuar fazın uzaması veya aşırı şekilde gelişmesi sonucunda anastomozdaki güç kaybı daha da artar.

Büyüme faktörlerinin iyileşme sürecinde ve doku oluşumunda önemli bir rolü olduğu kabul edilir (62). Genel Olarak büyüme faktörleri hücre bölünmesini ve hücre büyümesini arttıran, hücreleri apoptotik ölümden koruyan, kök hücrelerin uyarılmasını sağlayan faktörlerdir. Dokulardaki onarım sürecinin tüm aşamaları, endokrin, parakrin, otokrin ve intrakrin mekanizmaları kullanıp en temel hücre fonksiyonlarının düzenleyicileri olarak hareket eden çok çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir. Büyüme faktörleri, anjiyogenez, kemotaksis ve hücre proliferasyonu dahil olmak üzere, doku onarımında meydana gelen birçok işlemi etkiler, ayrıca hücre dışı matris proteinlerinin

sentezini ve yıkımını kontrol ederler. Etkilerini hücre içi sinyal iletim yollarını aktive eden bir hedef büyüme faktörü reseptörünün hücre dışı alanına bağlanarak gösterirler (63,64).



Şekil 18: Aktive olmuş trombositlerden salgılanan biyoaktif moleküller

Bu bulgular, geniş bir doku yelpazesinin onarımı veya rejenerasyonu için, farklı büyüme faktörlerini ve sitokinleri terapötik moleküller olarak test etmeyi amaçlayan önemli bir araştırma çabasına yol açmıştır (65). Büyüme hormonu ve sistemik veya topikal olarak uygulanan büyüme faktörlerinin etkileri halen değerlendirilmekle birlikte (66, 67, 68) PRP uygulamasının etkileri; henüz yeterli olarak belgelenememiştir (69).

Trombositler tarafından trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF-β), epitelyal büyüme faktörü (EGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), vasküler endotelyal büyüme faktörü, (VEGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi büyüme faktörleri salgılanır (70,71,72). Büyüme faktörleri sadece trombositler tarafından değil aynı zamanda onarım için çoğu zedelenme alanında

aktifleşen veya iltihabi sürecin parçası olan lökositler tarafından ve hücre zedelenmesine yanıt olarak parankimal veya stromal-bağ dokusu hücreleri tarafından da salgılanır.

IGF, yara iyileşmesinin tüm evrelerinde, özellikle de inflamatuvar ve proliferatif evrelerde önemli bir medyatördür (73). Primer rolü doku hasarının olduğu yerde fibroblast proliferasyonunu ve diğer hücrelerin migrasyonunu stimule etmek, kollajen ve ECM üretimini artırmaktır (74,75).

TGF- β ; diğer büyüme faktörlerinin varlığında yara iyileşmesinin tüm evrelerinde aktif olup; hücre büyümesini, undiferansiye mezenkimal hücrelerin proliferasyonunu ve ECM üretimini uyarır. Diğer büyüme faktörlerinin endotelial kemotaksis ve anjiogenez etkilerini destekler, makrofaj ve lenfosit çoğalmasını inhibe eder (76,77).

FBF, hücre proliferasyonu ve migrasyonunda rol alır. Granülasyon dokusu oluşumunda fibroblastların proliferasyonunu stimule eder (78). Serbest FGF, heparin sülfata bağlanır ve ECM'de depolanır. FGF çoğunlukla endotel hücre proliferasyonunu uyararak anjiogeneze katılır. Aynı zamanda makrofaj ve fibroblastların, hasarlı alana migrasyonu ile yarayı kapatmak için epitel hücre migrasyonunu uyarır (79, 80, 81).

EGF, başlıca fibroblastlar ve epitelial hücreler olmak üzere birçok hücre tipinde mitojenik etki ile proliferasyonunu uyarıcı role sahiptir (79).

PDGF, mezenkimal hücrelerin mitogenezini (82), fibroblastların kemotaksisini ve mitogenezini uyarır(83,82). Ayrıca satellite hücrelerin proliferasyonunu uyarır ve myoblastların terminal differansiyasyonunu inhibe eder (84).

VEGF, endotel hücrelerin mitogenezini ve migrasyonunu uyarır ve damar geçirgenliğini artırır (85). Myoblast migrasyonunu uyarır ve apoptozlarını engeller (86,87). Yapılan bir çalışmada muskuleris propriya tabakasına lokal VEGF enjeksiyonunun kolonik anastomoz iyileşmesini hızlandırdığı ve anjiyogenezini artırarak anastomozu güçlendirdiği bildirilmiştir (88).

PRP, "Platelet Rich Plasma" trombosit yönünden zenginleştirilmiş plazma uygulaması adı verilen tedavi yönteminin kısaltılmış ismidir. PRP'nin kullanımının amacı, eritrosit miktarını azaltıp trombosit sayısını artırarak suprafizyolojik konsantrasyonlarda büyüme faktörü salınımını sağlayıp, doku tamirini direkt ve indirekt yollardan hızlandırmaktır (89). PRP, 1980'lerin sonunda, kronik bacak ülserlerinin fizyolojik yara iyileşmesini

desteklemek için topikal bir adjuvan tedavi olarak sunulmuştur (90). Yine seksenli yıllarda Ferrari ve ark. açık kalp ameliyatı sırasında fazla homolog kan ürünü kullanmamak adına otolog PRP kullanılabileceğini bildirmiştir (91). Sonraki yıllarda 1993 yılında Bourquie ve ark ve 2004 yılında Mazzuco ve ark trombositlerin yara iyileşmesinde ihtiva ettikleri büyüme faktörleri sayesinde büyük katkıda bulduklarını ve bu faktörlerin yara iyileşmesini başlatıp modüle ettiğini bildirmişlerdir (19,92). PRP tedavisinin temeli, iyileşme sürecinde daha az yararlı olan kırmızı kan hücrelerinin miktarının yaklaşık % 5'e düşürülmesi ve trombosit miktarının yaklaşık % 94'e çıkarılmasına dayanır. PRP çeşitli kitler ile ya da manüel olarak kan santrifüjünden üretilir ve daha sonra trombin ve/veya kalsiyum klorür ile aktive edilerek viskoz bir pıhtı jeli üretilir (93). PRP elde etmek için manuel tekniğin kullanılması, minimum teknik gereklilikler ve optimal trombosit verimleri ile düşük maliyetli bir prosedür olduğu için tercih edilebilir (16). Ancak manuel olarak PRP elde edilme işlemleri için de herhangi bir standardizasyon bulunmamaktadır. Literatürde manuel olarak PRP elde edilen çalışmalara bakıldığında farklı santrifüj cihazları ile farklı tekrarlamaya sayıları, farklı devir sayıları ve farklı zaman miktarlarının kullanıldığı görülmektedir. Han Moi Choi ve ark. yaptıkları çalışmada PRP hazırlanmadan önce kullanılacak olan santrifüj cihazının doğru kombinasyonu bulunana dek test edilmesi gerektiği ve doğru devir ve zamanın cihazdan cihaza değişebildiği bildirilmiştir (94).

PRP'nin geniş kullanımına rağmen, PRP preparatında standartlaştırılmış protokoller olmaması, bileşen kompozisyonunda, ve ayrıca ihtiva edilen lökosit konsantrasyonunda varyasyonlara neden olur (95). PRP nin lökosit içerip içermemesi gerektiği konusu tartışmalıdır. PRP'deki lökositlerin, hücre dışı matriksin (ECM) katabolizmasını arttıran IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinleri yüksek miktarlarda salgıladıkları gösterilmiştir olup üretilen metalloproteinaz, serbest radikaller, reaktif oksijen türleri ve nitrojenin doku iyileşmesinde olumsuz etki gösterebileceği bildirilmiştir (96,97,98). Bununla birlikte, PRP'deki lökositler, enfeksiyona karşı immün yanıtı stimüle etmek ve kemotaksisi, proliferasyonu ve hücrelerin farklılaşmasını desteklemek için faydalı da olabilir (22).

Daha güvenli ve daha etkili bir ürün arayışının ürünü olan PRGF ise lökosit içermez, böylece ürünün homojenliğini artar ve donör-donör değişkenliğini azaltır (99). Terapötik

bir bakış açısında, PRGF rejenerasyonu harekete geçiren trombositlerden proteinlerin ve büyüme faktörlerinin salgılanmasını destekler, büyüme faktörlerini tutan ve salgılayan ve hücreler için bir iskele olarak hareket eden üç boyutlu bir fibrin matriks oluşturur (98). Yapılan çalışmalarda hayvan ve insan modellerinde ortopedik titanyum implantların yüzeyinin ana dokuya yerleştirilmeden önce PRGF ile kaplanmasının etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar, PRGF kullanıldığında implant çevresindeki kemik rejenerasyonunun kalitesinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Bunun sebebi PRGF'nin implant yüzeyini biyoaktif etmesi, implantın konak doku ile etkileşimini kolaylaştırması ve böylece hem implantların başlangıç stabilitesini hem de daha sonraki osteo-integrasyonunu arttırmasıdır (100,101). Diğer başka çalışmalarda da diş implantlarını trombosit türevli preparatlarla birleştirdikten sonra önemli faydalar gözlenmiştir (102,103). Ancak biz yaptığımız bu çalışmada literatür verileri ile kendi sonuçlarımızı daha etkin karşılaştırabilmek adına PRGF yerine PRP'yi kullanmayı tercih ettik.

PRP, tıbbın çok çeşitli alanlarında kullanılan ve gün geçtikçe popülaritesi artan bir preparattır. Literatürde PRP'nin doku iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştıran bir çok farklı çalışma olduğu ve bu çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. PRP kullanımı, oftalmoloji, ortopedi, spor tıbbı, kardiyoloji, dermatoloji, plastik cerrahi ve nöroloji gibi çok çeşitli klinik alanlarda kullanım alanı bulmuştur. Ortopedide PRP, menisküs patolojilerinin ve kas yaralanmalarının iyileşmesini arttırmak, kıkırdak dokusunu güçlendirmek için kondrositleri uyarmak, ağrıyı azaltmak ve artritlik dizlerde daha iyi ve daha dengeli bir sinovyal sıvı üretmek için ve total diz artroplastisi ve subakromiyal tedavi sonrası sonuçları iyileştirmek amacıyla uygulanmıştır. Yapılan çalışmalarda PRP uygulamasının erken iyileşme evrelerinde daha yoğun kemik rejenerasyonuna sebep olduğu görülmüştür (104). PRP kemik oluşumunu hızlandırır, ön çapraz bağ yaralanmasının merkezi defektleri, primer onarımı veya rekonstrüksiyonunu iyileştirir, ameliyat edilen rüptüre Aşil tendonlarının sonuçlarını olumlu yönde etkiler, kronik tendinopatilerde ağrıyı azaltır ve intervertebral disk dejenerasyonunu önler (89). Sanchez ve ark. tarafından aşil tendonundan opere edilen 12 profesyonel sporcu üzerinde yapılan çalışmada PRP grubuna kandakinin 2-3 katı trombosit ihtiva eden otolog PRP pre

operattif olarak uygulanmış ve PRP uygulanan gruptaki sporcuların spor aktivitelerine daha kısa zamanda döndüğü raporlanmıştır (105). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise Aşil tendinopatisi mevcut hastalara PRP enjeksiyonu yapılmış ancak ağrı ve aktivite olarak olumlu bir etki gözlemlenememiştir (106). El bileği ekstansör ve fleksör tendinopatisi olan hastalarda uygun ön çalışmalarla PRP'nin farklı klinik etkileri gözlenmiştir.PRP uygulanan vakalarda 8 hafta sonunda ağrının iyileştiği gözlemlenmiştir (107). Randomize klinik bir çalışmada kronik tenisçi dirseği mevcut vakalarda PRP uygulanan grubun daha hızlı şekilde tedavi olduğu gözlenmiştir (108). Bu ve bunun gibi farklı ortopedik vakalarda PRP kullanımı gün geçtikçe artmaktadır.

PRP'nin bir başka kullanım alanı ise, diş protezlerinde kemik implantların sabitlenmesidir. Oral ve maksillofasiyal cerrahide yapılan bazı çalışmalarda PRP ilavesinin, en az ilk 6 ay boyunca kemik grefti oranını ve kemik formasyon derecesini hızlandırdığı ileri sürülmüştür (72). Ayrıca PRP uygulamasının cerrahi hasar sonrası anjiogenezi hızlandırdığı ve ardından yumuşak doku tamirini hızlandırdığı bildirilmiştir (109). Trombosit bakımından zengin fibrin matrikslerin kullanımının, tendon hücresi proliferasyonunu hızlandırmak, tip I kollajen sentezini uyarmak ve hem in vitro hem de in vivo neovaskülarizasyonu teşvik etmek için güvenli ve etkili bir strateji olduğu bildirilmiştir (110). Önceki bir çalışma, PRP'nin kemik greftine, bağ dokusu greftine veya kesi yerine uygulandığında yara iyileşmesini olumlu etkilediğini ortaya koymuştur (111). Marx ve ark. , otolog PRP'nin mandibula defektlerinin rekonstrüksiyonunda PRP'nin potansiyel etkisini incelemiş ve PRP ile kemik greftlerinin kombinasyonunun daha hızlı bir matürasyon ve histomorfometrik olarak daha yoğun kemik rejenerasyonu ile sonuçlandığını bildirmişlerdir (72). Yine bazı çalışmalarda hemostaz ve yara iyileşmesini desteklemek için trombosit büyüme faktörünün uygulanmasından fayda görüldüğü bildirilmiştir (112,113). Oral ve maksillofasiyal cerrahide yayınlanan sonuçlar, mandibular defektlerde trombosit jeli kullanıldığında daha erken kemik grefti olgunlaşmasının beklenebileceğini düşündürmektedir (72,114). Ayrıca, trombosit jel uygulamalarının, kronik iyileşmeyen yaralarda yumuşak doku iyileşmesini hızlandırdığı da bildirilmiştir (90, 115). Del Buono ve ark., PRP nin ortopedik ve oral cerrahide yara iyileşmesini başarılı bir şekilde iyileştirebileceğini, ancak diğer uygulamalar için dikkatli

olunması gerektiğini, çünkü PRP konsantrasyonlarının, dozların, zamanlamanın ve uygulamaların uzunluğunun henüz tam olarak tanımlanmadığını savunmuşlardır (116).

Otolog PRP kullanımı, kornea epitel hasarı, göz kuruluğu, ortopedik cerrahiler ve çene cerrahisinde meydana gelen kanamalardan kaçınmak gibi birkaç akut ve kronik patolojinin tedavisi için de önerilmiştir (17,117,118). Hemostatik özelliklerinden dolayı, trombosit açısından zengin preparatın cerrahi sırasında kapiler yatakların kapatılmasında etkili olduğu ve dolayısıyla kanamanın kontrol altına alındığı gösterilmiştir (119). PRP kullanımı, özellikle kemik rejenerasyonuna destek olarak, bu gereksinimlerin bir kısmını yerine getirmeye yardımcı olur. Aslında, in vitro çalışmalar, trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin, hem insan trabeküler kemik hücrelerinin (120) hem de insan osteoblast benzeri hücrelerin proliferasyonunu uyardığını açıkça göstermiştir (121) PRP'nin terapötik kullanımı ayrıca yüz plastik cerrahi, göz cerrahisi ve kozmetik cerrahi de dahil olmak üzere diğer alanlara da genişletilmiştir. Ayrıca, diyabetik ayak ülserasyonu tedavisi için platelet açısından zengin bir preparatın etkinliği ve güvenilirliği yakın zamanda bildirilmiştir (122).

Literatürde anastomoz iyileşmesini etkilediği düşünülen büyüme faktörleri kullanarak çeşitli çalışmalar yapılmış olsa da PRP uygulamasının bağırsak iyileşmesi üzerindeki etkileri yeterince belgelenmemiştir (69). PRP'nin barsak anastomozlarında olası kullanımıyla ilgili makaleler tam bir anlaşma içinde değildir. Çoğunluk, bu maddelerin kolon anastomozunun yara iyileşmesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu gösterirken, örneğin Fresno ve ark. yaptıkları çalışmada domuzlarda yapılan anastomozlara PRP uygulandığında anastomoz kuvvetinde 7. gün anlamlı bir fark bulunmadığını, ancak daha yüksek derecede fibrozis ve granülasyon dokusu olduğunu bildirmişlerdir, anastomozlar granülasyon dokusu ve fibroziste belirgin bir artış göstermesine rağmen, Faktör VIII ile ilişkili antijen için Masson Trikrom boyamada kalitatif farklılık gözlenmemiştir (16). Zhou ve ark. yaptıkları çalışmada, ratlarda yapılan açık karın olgularında PRP'nin barsak anastomozlarında oldukça etkili olduğu saptanmıştır (123). Yol ve ark. yaptıkları çalışmada PRP ve doku yapıştırıcısı karşılaştırılmış ve PRP'nin barsak anastomozunun iyileşmesinde kontrol ve doku yapıştırıcısı grubundan daha üstün olduğu bildirilmiştir. Yol ve ark. yaptıkları bu

çalışmada PRP uygulamasının ratlarda anastomozların etrafına ince bir film tabakası olarak PRP uygulamış ve PRP'nin bağırsak anastomozlarının patlama gücünü arttırdığını bildirilmiştir (69). Sözütek ve ark. yaptıkları çalışmada da, PRP'nin sispis modelinde barsak anastomozu iyileşmesi üzerinde pozitif etkisi olduğu gösterilmiştir (124).

Yapılan çalışmalarda kullanılan denek türlerindeki farklılıkların (rat-domuz), farklı bağırsak segmenti kullanımının (kolon, ince barsak) ve PRP üretim tekniğindeki farklılıkların literatürdeki ve çalışmamızdaki farklı sonuçlardan sorumlu olduğunu düşünmekteyiz.

PRP, hastanın sadece 20-40 cc otolog kanından kolaylıkla hazırlanabilir. Hastanın kanını aldıktan sonra kullanılan yöntem ve malzemelere bağlı değişebilmekle birlikte tüm süreç bir saatten fazla sürmez. Ameliyathanede santrifüj cihazları mevcut olduğu takdirde operasyon sırasında istenilen zamanlarda PRP hazırlanması da mümkündür.

Biyolojik olarak aktif bir ürün olan PRP'yi üretmek için farklı manuel yöntemler ve çeşitli kitler geliştirilmiştir ve bunlar, büyüme faktörleri, beyaz kan hücreleri ve fibrin konsantrasyonunda farklılık gösterebilmektedirler (25,46).

PRP hazırlandıktan sonra uzun süre depolanmadan uygulanmalıdır. Antikoagülanlı durumda PRP +4 C'de saklandığında trombosit sayısı 8 saat kadar muhafaza edilebilir. PRP solüsyonu en fazla 5 gün boyunca saklanabilir, çünkü; bakteriyel infeksiyon riskinin yanı sıra giderek artan trombosit apoptozisi başlayacaktır (125). "Taze PRP", PRP'deki her bir trombositin canlı ve aktif olduğunu ima eder. Aksi takdirde PRP, yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkisini tam olarak gösteremeyebilir çünkü trombositler ilk patlama ile ihtiva ettikleri büyüme faktörlerini salgıladıktan sonra ömürlerinin geri kalanı için ek büyüme faktörleri sentezlemeleri ve salgılamaları zaman alır. PRP aktive edildikten sonra BF sekresyonu 10-15 dakikada biter. 10. dakikada salınan faktörler en yüksek konsantrasyonda bulunurlar. BF'leri 3 gün boyunca oda sıcaklığında stabil kalabilir. İşlem yaparken bu özelliğe dikkat etmek gerekir (56).

Farklı uygulamaların olduğu bir diğer konu ise, PRP uygulanmadan önce plateletleri aktive etmek üzere PRP'ye trombin ve/veya kalsiyum klorid (CaCl₂) eklenmesidir. Plateletleri aktive etmek üzere PRP'ye trombin ve/veya kalsiyum klorid (CaCl₂) eklenmesi kimi çalışmalarda tercih edilmiş kimi çalışmalarda ise tercih edilmemiştir.

PRP'nin enjeksiyonu sırasında bir miktar doku hasarı ve kanama oluşmasının PRP içerisindeki trombositlerin uyarılması için gereken trombinin sağlayabileceğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (126). Aktivatör eklenmesi sonrasında α -granüllerden büyüme faktörlerinin %70'i 10 dakika içerisinde, tamamına yakınının da 1 saat içerisinde salındığı gösterilmiştir (22). Bu preaktivasyon yapılmadan, saf PRP'nin dokuya uygulandığında tip I kollajen ile temas sonrası yavaş şekilde aktive edilebileceği de düşünülmektedir (127). Aktivatör olarak trombin ve/veya kalsiyum klorid kullanılması planlanan uygulamalarda dikkat edilmesi gereken konu, aktivatör eklenmesi sonrası dakikalar içerisinde PRP'nin jel forma dönüşeceği. Bu nedenle aktive edilen PRP'nin en kısa sürede kullanılması gerekmektedir. Jel matriks kıvamının avantajı özellikle eklem içi uygulamalarda PRP'nin dokuya daha iyi tutunması ve iyileşme bölgesinde hücre migrasyonu ve ekstrasellüler matriks oluşumu için yapı iskelesi görevi üstlenmesidir. Aynı şekilde anastomoz için kullanımında da emdirme tekniğine alternatif olarak jel kıvamındaki aktive edilmiş PRP anastomoz çevresine sürülebilir. Bizim yaptığımız çalışmada anastomoz için hazırlanan barsak uçları PRP ile ilişkili büyüme faktörlerinin başlangıç patlaması ile intestinal teması sağlamak için en az 10 dakika solüsyon içerisinde tutulmuştur. Sonrasında jel forumundaki PRP anastomozun etrafına sürülmüş ve işlem tamamlanmıştır.

PRP'nin hazırlanış noktasında önemli ve henüz bir konsensusa varılamamış olan bir diğer konu ise hazırlanan PRP'nin trombosit konsantrasyonudur. Yaraya uygulanan PRP, yara iyileşmesinin maksimum düzeyde artmasını sağlayan optimal konsantrasyonda hazırlanmalıdır. PRP'nin ihtiva ettiği trombosit konsantrasyonu donörden alınan tam kandaki trombosit sayısına göre tarif edilir. Yoshida ve ark. ön çapraz bağ hasarı üzerine yaptıkları çalışmada donörün tam kanına yakın konsantrasyonda trombosit ihtiva eden PRP preparatının ön çapraz bağ hücrelerinin metabolizma ve pro-kollajen sentezinde diğer PRP preparatlarından daha etkili olduğu ve hücre apoptozunu engellemede, 5 kat trombosit ihtiva eden preparata göre daha etkili olduğu bildirilmiştir (128). Yine Yoshida ve ark. yaptıkları aynı çalışmada PPP (plateletten fakir plazma)'nın tip I ve tip III kollajen sentezinde ve apoptozu engellemede etkisinin olmadığı ancak kan ile aynı konsantrasyonda trombosit ihtiva eden preparat ile aynı ölçüde ön çapraz bağlardaki fibroblast aktivitesini arttırdığı bildirilmiş, bu etkinin PPP nin ihtiva ettiği fibronektin gibi

hücre proliferasyonunu arttıran plazma proteinlerini ihtiva etmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (128,129). Kawasumi ve ark. kemik rejenerasyonu üzerine yaptıkları in vitro çalışmada tam kana göre 10,6 kat trombosit ihtiva eden PRP preparatının kemik rejenerasyonunda ve hücre proliferasyonunda 3,5 ve 1,2 kat içerenlere göre daha üstün olduğu bildirilmiştir (130). Yine Kawasumi ve ark. yaptıkları çalışmada 10,6 katlık preparatın kemik mineralizasyonu ve iyileşmesinde düşük konsantrasyonlardaki preparatlara göre daha iyi olduğu bildirilmiştir (130). Arpornmaeklong ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada yüksek konsantrasyondaki PRP preparatların rat osteoblastik kemik iliği hücrelerindeki proliferasyonu daha fazla arttırdığı bildirilmiştir (131). Öte yandan Graziani ve ark. insan osteoblast ve gingival fibroblast hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada ilk 24 saatte tam kan ile aynı konsantrasyonda trombosit ihtiva eden preparatın, 72. saatte ise 2,5 kat trombosit ihtiva eden preparatın, daha yüksek konsantrasyondaki preparatlara göre daha etkili olduğu bildirilmiştir (132). Choi ve ark. alveolar kemik dokusu üzerinde yaptıkları çalışmalarda da düşük konsantrasyondaki preparatların hücreleri daha iyi uyardığı bildirilmiştir. PRP'nin, tam kandaki trombosit miktarının 5 katı (yani milimetre küpte de yaklaşık 1.000.000 platelet) trombosit ihtiva ediyor olması gerektiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (22,133).

Literatürdeki bu farklı sonuçların çalışmalarda kullanılan farklı hücre tiplerinden de kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Örneğin Yoshida ve ark. yaptıkları çalışmada kullanılan ön çapraz bağ hücreleri sinovial sıvı içerisinde, damarlanması olmayan bir ortamda olmalarına rağmen, kemik doku iyileşmesi çalışan Arpornmaeklong ve ark. yaptıkları çalışmada kullandıkları kemik doku hücreleri iyi damarlanmış farklı bir ortamdadır. Bunlar gibi farklı dokulara ait hücre gruplarının farklı trombosit konsantrasyonlarına farklı tepkiler verebilecekleri unutulmamalıdır. Barsak hücrelerinde Yamaguchi ve ark. tarafından kan trombosit miktarları yaklaşık 960.000/mm³ olan ratlar üzerinde yapılan çalışmada ise trombosit içeriği serum değerinin 2 katı olan PRP grubunda yapılan proksimal jejunal anastomozların anastomoz patlama basıncı değerlerinin diğer gruplardan daha yüksek olduğu, serum değerinin 5 katı trombosit konsantrasyonu içeren grup olan PRP grubunun APB değerlerinin ise , diğer üç gruba göre anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (18). Yapılan bu ve bazı diğer çalışmalarda düşük

konsantrasyonlu PRP uygulamasının anastomoz iyileşmesini önemli ölçüde desteklediği sonucuna varılmış, ancak yüksek konsantrasyonlu PRP uygulamasının yara iyileşme sürecini bozabileceği vurgulanmıştır (14,18,132). Yine Yamaguchi ve ark. yaptığı çalışmada düşük konsantrasyonlu PRP grubunda yapılan histopatolojik çalışmalarda anastomoz bölgesindeki serozal katmanda fibroblast ve kollajen yoğunluğu artmış olarak bulunmuştur (18). Yine yapılan bazı çalışmalarda daha yoğun miktarda büyüme faktörü elde etmek adına konsantre PRP'nin dokulara uygulanmasının etkisinin olmadığı bildirilmiştir (134,135,136,137). Everts ve ark. tarafından PRP elde edilirken kullanılan farklı yöntemleri araştıran bir çalışmada ise üç farklı PRP hazırlanım methodu ele alınmış ve sonuç olarak farklı trombosit hasadı yöntemlerinin PRP aktivasyonu ve trombosit jelinden trombosit büyüme faktörü salınımı üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğunu gözlemlenmiştir (71). Marx ve ark. 2000 yılında yaptığı çalışmada bir PRP preparatının trombosit konsantrasyonunun plazmaninkinin yaklaşık olarak 4 katı olması gerektiğini bildirmiştir (138). Trombosit konsantrasyonları sadece orta derecede yükseldiğinde biyolojik yarar açısından uygun olduğunu vurgulayan ve optimal konsantrasyonunun, uygulandığı yaranın türüne bağlı olduğunu ve çok yüksek bir konsantrasyon kullanıldığında olumsuz etkilerin ortaya çıkması olasılığı olduğunu bildiren farklı çalışmalar da mevcuttur (18,116). Platelet konsantrasyonları daha düşük veya daha yüksek olduğunda suboptimal ve inhibitör etkiler bildirilmiştir (116,132,139). Bizim yaptığımız çalışmada ise elde ettiğimiz PRP solüsyonlarının trombosit sayımları, ratlardan aldığımız sınırlı miktarda kan hacmi nedeniyle yine sınırlı miktarda PRP solüsyonları elde ettiğimizden dolayı yapılamamıştır. Dolayısıyla bu nokta yaptığımız çalışmanın sınırlamalarından biridir. PRP'nin ilaç ve cerrahideki potansiyel terapötik etkisini değerlendirmek ve tartışmalı sonuçlardan kaçınmak adına prosedürler standardize edilmeli ve ek, iyi tasarlanmış büyük hayvan deneyleri ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (140,141,142).

Otolog PRP'nin en önemli özelliği, otolog ürünlerin imünojenik reaksiyonları ve hastalık bulaşmasını engellemesidir. PRP otolog kandan üretildiğinde ve ayrıca heterolog trombin kullanılmadıkça HIV, Hepatit, Creutzfeldt-Jakob hastalığı veya immünojenik reaksiyonların görülme ihtimali ortadan kalkar (143). Bu nedenle PRP preparatlarında,

insan rekombinant trombininin kullanımı savunulmaktadır (116). Ancak ratlar gibi küçük boyutlu deneklerde PRP hazırlamak için gerekli kan hacmi alındığında denek için ek mortalite riskine neden olmaktadır. Literatürde yapılan deneysel çalışmaların bir kısmında otolog, bir kısmında ise homolog PRP preparatları kullanılmış olup bizim çalışmamızda deneklerin otolog PRP preparatları kullanılmıştır.

PRP preparatlarının bazı olası risk ve komplikasyonları akılda tutulmalıdır. Kanser hastalarında PRP kullanmanın riskleri dikkate alınmalıdır. Genel olarak, PRP uygulamasının kanser ameliyatından sonra klinik sonuçları kötüleştirilmesi pek olası görünmemektedir. PRP içeriğindeki büyüme faktörleri ile karsinogenez arasında herhangi bir neden sonuç ilişkisi henüz raporlanmamıştır (144). Ancak, bazı endişe verici durumlar vardır. Özellikle, subklinik peritoneal metastazı mevcut vakalarda anastomoz bölgesine PRP uygulanması, PRP kaynaklı çeşitli büyüme faktörleri ile kanser hücrelerini uyararak anastomoz bölgesini çevreleyen bölgede lokal nüks riskini arttırabilir (18). PRP'nin neoplazmların gelişimindeki olası rolü ile ilgili olarak, bu büyüme faktörleri hücre zarları üzerindeki reseptörler üzerinde etki ederler ve doğrudan mutajenik etki bildirilmediğinden normal gen ekspresyonunu aktive ederler (116). PRP uygulamasından sonra kanıtlanmış herhangi bir zararlı etki bildirilmemesine ve sistemik olarak kullanılmamalarına rağmen, büyüme faktörlerinin güçlü biyoaktif moleküller olduğu ve sonuç olarak konsantrasyonlarındaki küçük değişikliklerin bile çeşitli dengeleri bozabileceği akılda tutulmalıdır (116).

Literatür incelendiğinde anastomoz kuvvetinin ölçümü için de farklı yaklaşımlar vardır ve hangi yöntemin daha başarılı olduğu konusunda belli bir konsensus bulunmamaktadır. Bir anastomoz, bağırsak hareketlerinin neden olduğu hem intraluminal hem de longitudinal kuvvetlere dayanabilmelidir (40). Anastomotik gücü değerlendirmek için ya patlama basıncı ya da kopma mukavemeti ölçülebilir. Anastomoz patlama basıncı ve kırılma kuvveti, iyileşme sırasında anastomoz gücünün ve bütünlüğünün değerlendirilmesi için geçerli kriterlerdir (41). Bazı araştırmacılar, genel anastomoz bütünlüğünü değerlendirmek için daha uygun bir araç olduğu için patlama basıncını ölçmeyi tercih etmektedirler. Bununla birlikte, Ikeuchi ve ark. (43), gerilme gücünün, sütür tutma kapasitesi de dahil olmak üzere, anastomoz iyileşmesinin biyolojik yönünü

değerlendirmek için daha iyi bir standart olduğunu bildirmişlerdir (43). Kırılma mukavemeti, bağırsak duvarının boyuna kuvvetlere olan direncini ölçer ve iyileşme sürecinin biyolojik yönlerini değerlendirir. Patlama basıncı, bağırsak duvarının intraluminal basınca ve genel anastomoz bütünlüğüne direncini belirlerken (41,42,43), bazı çalışmalarda anastomoz iyileşmesini daha az yansıtabileceği savunulmuştur (43). Patlama basıncının dokudaki fizyolojik gerilmeyi kırılma kuvvetine göre daha iyi yansıttığı için daha doğru bir ölçüm olduğu savunulduğu çalışmalar mevcuttur (18). Anastomoz patlama basıncı, özellikle ameliyatın birinci haftası içinde erken postoperatif anastomotik mekanik gücü değerlendirmek için daha güvenilir bir ölçüm olduğunu ve bağırsaktaki yara iyileşmesini kopma mukavemetinden daha doğru yansıttığı savunan çalışmalar da mevcuttur (42,44). Ek olarak, patlama basıncı dolaylı kollajen oluşumunu gösterir ve kolajen birikimi ile liziz arasındaki dengeyi yansıtır (145). Literatür incelendiğinde anostomoz patlama basıncının hangi gün ölçüleceği konusunda da yine tartışmalar olduğu görülmektedir. Anostomoz kaçakları klinik pratikte en sık post operatif 7 gün içerisinde olmaktadır ve bu nedenle post operatif 7. gün yapılan ölçüm mantıklı olacaktır (146). Croin ve ark.nın çalışmasında anastomoz patlama basıncı, üçüncü günden itibaren anastomozdan kademeli olarak artmış ve 7. günde en yüksek düzeye ulaşmıştır (147). Aynı zamanda, anastomoz bölgesinde ilk 3 gün içinde hidroksprolin düzeylerinin% 40 azaldığını ve 5. güne normalize olduğunu bildirilmiştir (147). Yaptığımız çalışmada anastomoz mukavemetini değerlendirmede post operatif 7. günlerinde sakrifiye edilen deneklerin anastomoz patlama basınçlarının ölçümü tercih edilmiş olup en yüksek APB değeri PRP grubunda elde edilmiş, PRP ile BOS grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülse de PRP ile kontrol grubundaki fark anlamlı bulunmamıştır. Ancak bu sonuçlar değerlendirilirken bu çalışmada histopatolojik inceleme ve patlama basıncının sadece postoperatif 7. günde değerlendirilmiş olduğu ve dolayısıyla PRP'nin etkilerinin proliferatif fazda ölçülmüş olduğu unutulmamalıdır.

Hidroksprolin, gamma karbon atomunda hidroksil bağlı olması dışında prolin aminoasidinin yapısında olan ve kollajen yapısında bulunan bir aminoasittir. Anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal değerlendirmesi kollajen dokudaki hidroksprolin düzeyinin belirlenmesiyle gerçekleştirilir (42). Genel olarak, düşük bir hidroksprolin seviyesi yara

iyileşmesinin yetersiz olduğunu gösterir (42,148). Büyüme faktörleri, kolonik anastomoz iyileşmesinde önemli rol oynar. Bu moleküllerin, kollajenin sentezi, birikimi ve olgunlaşması da dahil olmak üzere yara iyileşmesinin aşamalarına aracılık ettiği gösterilmiştir (13). PRP deki büyüme faktörleri ve sitokinler kollajen sentezini indükleyeceği için dokuda hidroksiprolin miktarının artması beklenir. Yaptığımız çalışmada ise en yüksek hidroksiprolin düzeyi PRP grubunda, en düşük düzey ise BOS grubunda tespit edilmiştir. PRP grubu ile BOS grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunurken, diğer gruplar arası farklılıklar önemsiz olarak bulunmuştur. Sonuç olarak PRP ve kontrol grubu arasındaki ve BOS ile kontrol grubu arasındaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. PRP'nin barsak anastomozu üzerine etkilerinin araştırılmasında farklı PRP hazırlanma tekniklerinin kullanılarak elde edilen farklı ve bilinen trombosit konsantrasyonları ihtiva eden PRP preparatlarının kullanımına ve barsak anastomozu üzerine daha uzun zaman aralıklarında ve daha büyük deneklerde yapılan çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Yaptığımız çalışmada bir diğer parametremiz ise BOS idi. Merkezi sinir sistemi lenfatik drenaja sahip değildir (149), fakat ventrikülleri ve subaraknoid boşluğu dolduran serbest bir lenf benzeri sıvı, beyin-omurilik sıvısı (BOS) vardır (150). Normal şartlar altında BOS'da mm^3 'de 5 den fazla lökosit bulunmaması gerektiği konusunda genel bir konsensus bulunmaktadır. Bu lökositler merkezi sinir sisteminin bağışıklığından sorumlu mononükleer hücreler olup BOS'a Koroid pleksustaki fenestre kapiller damarlardan ve pial yüzeydeki post-kapiller venüllerden geçmektedirler (151,152,153,154). BOS'ta ayrıca nadiren BOS'un direk temas halinde bulunduğu koroid pleksus, ventriküllerdeki ependimal doku, araknoid zar gibi dokulara ait hücreler de bulunabilir (155). Ayrıca yine nadiren kıkırdak doku ve kemik iliğine ait hücreler de BOS'ta bulunabilir (156,157). Normal BOS'ta eritrositler bulunmaz ve bulunduğu takdirde travma yada subaraknoid boşluğa kanama akla gelir. BOS'ta bulunan birçok protein serum kaynaklıdır ve sadece %20'si koroid pleksus tarafından üretilmektedir (158). Serum proteinlerinin BOS'a geçişi çoğunlukla kan beyin bariyerinden kapiller endotel hücrelerinde veya koroid pleksus epitel bariyerindeki hücrelerde meydana gelen pinositoza bağlı olmakla beraber BOS'u tamamen kan serumunun ultrafiltrasyonu ile oluşan bir sıvı olarak değerlendirmek yanlış

olacaktır çünkü bazı proteinlerin konsantrasyonu serumdan daha fazla olabilmektedir ve bu proteinler koroid pleksus, meninksler ve çeşitli nöral dokularda yapılmaktadır. BOS büyük ölçüde serumdan kaynaklandığı için elektroforez çalışmalarında protein içeriğinin seruma benzemesi beklenen bir durum olup BOS'ta en yüksek miktarda bulunan protein albumindir (159,160). Albumin BOS'ta bulunan toplam proteinlerin %52-67 sini ihtiva etmektedir. Serumdaki toplam proteinlere oranı 200 olan albuminin BOS'taki oranı 236 olup benzerdir (158, 161,162). BOS'ta bulunan serum proteinlerinden konsantrasyon olarak ikinci sırada bulunan protein ise IgG olup albuminden 10 kat az miktarda bulunur ve BOS'ta en çok bulunan üçüncü proteindir. BOS'ta en yüksek miktarda bulunan ikinci protein ise L-PGDS'dir (151,158). Ayrıca küçük ve değişken miktarlarda IgA, IgM, IgD ve IgE de normal BOS içeriğinde bulunmaktadır (151,155). Ön pitüiter bezden salgılanan prolaktin, büyüme hormonu gibi hormonlara ek olarak kan plazmasında bulunan kortizol, insulin ve tiroid hormonu gibi hormonlar da az miktarlarda BOS'ta bulunurlar. Nöronlardan salgılanan ve sayıları yüzün üzerinde olan çeşitli nöropeptitler de dağılım yolu olarak BOS'u kullanırlar (151,158,163,164). BOS'un içerisinde IL-1 α ,IL-1 β , IL-2 ,IL-4, IL-6, 1 IL-10, IFN- γ , TGF- β 1, TGF- β 2, TNF- α , IGF-II, VP, GM-CSF, GH, HGF(Hepatosit büyüme faktörü) gibi hormonlar, sitokinler ve büyüme faktörlerinin bulunduğu bilinmektedir (165,166,167,168,169,170,171). Ayrıca BOS içeriğinde PGD2, PGE2, PGF-2 α ve 6-keto-PGF 1 α gibi prostoglandinler de bulunmaktadır. (172,173,174). Son olarak BOS çeşitli vitaminleri de ihtiva etmektedir (175,176,177,178,179,159,160). BOS içeriğindeki başlıca protein ve biyoaktif moleküllerin miktar ve seruma göre konsantrasyon oranları Tablo 14, Tablo 15 ve Tablo 16' da verilmiştir.

Anostomozda BOS kullanma fikri BOS'un tıpkı serumda olduğu gibi çeşitli büyüme faktörleri içerip seruma göre oldukça düşük düzeyde lökosit içermesi ve ayrıca ventrikülo-peritoneal şant mevcut hastalarda geçirilen özellikle ürolojik rekonstruktif cerrahilerde yapılan barsak anastomozları hakkında BOS un mevcut anastomozlar üzerindeki etkisini araştıran literatürde herhangi bir çalışma bulunmaması idi. Ayrıca bir diğer amacımız ise ventrikülo-peritoneal şanti mevcut hastalarda batın içindeki mevcut BOS'un karın için yapışıklıklara etkisini görebilmek adına BOS grubunu kontrol grubu ile Nair sınıflamasına göre karşılaştırmak idi.

Ventriküloperitoneal şantlar hidrosefaliye bağlı pediyatrik yaş grubunda mortaliteyi önemli ölçüde azaltmıştır (180). Ventriküloperitoneal şantı mevcut özellikle pediyatrik vakalarda incebarsak kullanılarak yapılan üriner trakt rekonstruktif cerrahilerinin sayısı gün geçtikçe artmaktadır (30). Literatürde ventrikülo-peritoneal şant takılan hastalarda meydana gelen abdominal komplikasyonlar hakkında genelde şant kataterine bağlı iritasyon sonucu olan veya pseudokist oluşumu gibi komplikasyonlar ile ilgilidir. Şant takılı ve dolayısıyla abdominal kavitede BOS mevcut hastaların intraabdominal özelliklede intestinal dokularda histopatolojik incelemelerine dair veri literatürde bulunmamaktadır. Ayrıca yine literatürde ventrikülo-peritoneal şantı mevcut hastalarda geçirilen abdominal cerrahiler (özellikle intestin kullanılarak yapılan dolayısıyla anostomoz içeren üriner trakt rekonstruktif cerrahiler) ele alınmış (181) ancak bu verilerde geçirilen abdomen cerrahinin mevcut şanta etkisi sorgulanmıştır. Yine ventrikülo-peritoneal şant kataterine bağlı olarak oluşacak komplikasyonlar ile ilgili bir çok yayın mevcuttur (31,32,182,183,184, 185,186).

Spinal disrafizmlı hastaların% 85'inde 4. ventrikülün çıkışını engelleyen Arnold-Chiari malformasyonu mevcuttur (187). Bu ve diğer non-kominikan hidrosefalisi mevcut hastaların BOS akımları ventrikülo-peritoneal şantlara bağlıdır. Spina bifidası mevcut pediyatrik vakaların bakımlarındaki gelişmeler bu hastalardaki ölüm oranını azaltmış ve çoğunun normal bir yaşam sürebilmesine imkan vermiştir (188). Bu hasta grubu yaşamlarının herhangi bir döneminde şant revizyonu, üriner rekonstruktif cerrahiler, fekal inkontinans gibi durumlar dolayısıyla abdomen cerrahisine adaydırlar. Myelodisplazi ile hidrosefalisi mevcut pediyatrik vakaların standart tedavisi ventrikülo peritoneal şantlardır (30).

Yaptığımız çalışmada anastomoz hatlarına lokal olarak BOS uygulanan deneklerin APB değerleri en düşük düzeyde bulunmuş ve PRP grubuna göre anlamlı derecede düşük olarak hesaplanmış olup kontrol grubuna göre ise anlamlı düzeyde farklılık görülmemiştir. Hidroksiprolin düzeyleri ise BOS grubunda PRP grubuna göre anlamlı derecede düşük olarak bulunmuş olup kontrol grubuna göre ise anlamlı bir fark görülmemiştir. Karın içi yapışıklığa etkisinin diğer gruplara göre anlamlı düzeyde farklı olmadığı görülmüştür. Histopatolojik değerlendirmede en yüksek kollajen yoğunluğunun kontrol grubunda

olduğu ancak BOS grubuna göre anlamlı farkın olmadığı görülmüş, BOS grubunun PRP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha çok kollajen ihtiva ettiği görülmüşse de bu sonuç biyokimyasal hidrokisprolin ölçümü ile çelişmektedir. Biyokimyasal ölçümün daha objektif bir değerlendirme olduğu kanısındayız zira histopatolojik incelemede doku örneklerinden alınan farklı kesitler sonucu etkileyebileceğini düşünmekteyiz. Neovaskülarizasyon, inflamasyon ve ödem noktasında ise BOS grubunda diğer gruplara göre anlamlı bir fark ihtiva etmediği görülmüştür. Sonuç olarak BOS uygulanan gruptaki deneklerin APB, hidrokisprolin, neovaskülarizasyon, inflamasyon ve ödem değerleri kontrol grubuyla kıyaslandığıında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Tablo 14: BOS içeriğinde en çok bulunan proteinlerin konsantrasyonları

	Protein	BOS konsantrasyonu (mg/dl)	BOS'taki yüzdesi
1	Albumin	20.0	67
2	L-PGDS	2.6	9
3	IgG	2.2	7
4	Transthyretin	1.7	6
5	Transferrin	1.4	5
6	Alfa-1-antitripsin	0.8	3
7	Apolipoprotein E	0.8	3
8	Sistatin C	0.6	2

Tablo 15: BOS içeriğindeki biyoaktif moleküllerin konsantrasyonları

	Mediyatör	Normal BOS konsantrasyonu
Sistemik Hormonlar	İnsulin Kortisol Tiroksin (serbest) Tiroksin (protein bağlı) Melatonin	0.69±0.12 µU/ml 0.73±0.03 ng/ml 0.48±0.49 µg/ml 1.56±1.68 ng/ml 0.14±0.11 nmol/l
Adenohipofiziyal hormonlar	Büyüme hormonu (GH) Prolaktin Tiroid stimüle edici hormon(TSH) Lüteinize edici hormon (LH) Follikül-stimüle edici hormon (FSH) Adenokortikotrofik hormon (ACTH)	<1 ng/ml 1–4 ng/ml <2 µU/ml <1 µU/ml <1 µU/ml 20 –80 pg/ml
Arka hipofiz bezi hormonları	Vazopressin Oksitosin	<1.5 –1.8 pg/ml 7–15 pg/ml
Hipotalamik hormonlar	Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) Somatostatin Büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) Kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH)	2.0± 0.6 pg/ml 40–65 pg/ml 29±2 pg/ml 60 pg/ml

Opioid peptidler	Endorfin	15 pg/ml
	Met-enkefalin	5–29 pg/ml
	Leu-enkefalin	<5 pg/ml
	Dinorfin	30± 2 pg/ml
VIP-Glucagon ailesi	Vazoaktif intestinal peptid (VIP)	68 pg/ml
Taşikininler	P maddesi	25–45 pg/ml
NPY ailesi üyeleri	Nöropeptid Y (NPY)	233 ± 10 pg/ml
Natriüretik peptitler	Beyin natriüretik peptit	0.27 ± 1.10 fmol/ml
	Atrial natriüretik peptit	0.20 ± 0.13 fmol/ml
	C-tip natriüretik peptit	2.13 ± 0.27 fmol/ml
Diğer nöropeptitler	Cholecystokinin (CCK)	
	Calcitonin gene-related peptide(CGRP)	14 ± 3 pmol/ml
	Hypocretin (Orexin)	4.47 ± 0.68 pmol/l
	Cocaine and amphetamine related transcript (CART)	286 ± 34 pg/ml
		111 ± 6 pmol/l

Tablo 16: BOS içeriğindeki bazı sitokin ve büyüme faktörlerinin konsantrasyonları

Sitokin	Konsantrasyon
IL-1 α	1.28 \pm 0.15 ng/ml
IL-1 β	< 0.1 pg/ml
IL-2	1.25 \pm 0.08 ng/ml
IL-4	6.2 \pm 0.8 pg/ml
IL-6	1.4 \pm 0.2 pg/ml-3.0 \pm 5.0 pg/ml
IL-10	0.61 \pm 0.10 pg/ml - 1.3 \pm 0.3 pg/ml
IFN- γ	< 2.0 pg/ml
TGF- β 1	159 \pm 10 pg/ml -492 \pm 35 pg/ml
TNF- α	0.2 \pm 0.1 pg/ml - < 2.0 pg/ml
GM-CSF	18.0 \pm 9.0 ng/ml

Yaptığımız çalışmada PRP solüsyonunu barsak kenarlarına uygularken PRP-jel kontaminasyonu, kan ile temas ve bağırsak kenarlarının daldırılması sırasında bağırsak içerikleri ile kontaminasyon gibi dezavantajlar olabilir. Yaptığımız girişimlerden herhangi birinde barsak doku kontaminasyonu olmamasına rağmen, bağırsak kenarlarındaki damarlardan meydana gelen kanamalar daha az kontrol edilebilirdi ve bu da aktif PRP'de büyüme faktörlerini seyreltebilir ve böylece klinik etkinliğini azaltabilir. Öte yandan şanti mevcut hastalarda çalışmamızdaki aksine anastomoza BOS maruziyeti devamlıdır ancak rat gibi küçük deney hayvanlarından tek seferde alınabilecek BOS miktarı çok düşük miktarlardadır. Daha büyük boyuttaki deneklerde ventriküloperitoneal şant ile otolog BOS kullanımının daha doğru sonuçlar verebileceği aşıkardır.

6. SONUÇLAR

Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre anastomoz patlama basıncı en yüksek değerler PRP grubunda görülmüştür. Anastomoz patlama basıncında PRP ile BOS grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ancak PRP grubu ile kontrol grubu arasındaki fark ve BOS grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı değildir. Hidroksiprolin düzeylerinde en yüksek değer PRP grubunda, en düşük değer BOS grubunda bulunmuştur. Hidroksiprolin değerlerinde PRP ile BOS grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuş, kontrol grubu ile PRP grubu arasındaki fark ile yine kontrol grubu ve BOS grubu arasındaki fark ise anlamlı bulunmamıştır. Histopatolojik değerlendirmenin istatistiksel sonuçlarında kollajen değerleri karşılaştırıldığında farklılık önemli olarak bulunmuş olup kollajen yoğunluğu en yüksek değer kontrol grubunda en düşük değer ise PRP grubunda bulunmuştur. Kontrol grubu ile PRP grubu ve BOS ile PRP grubu arasındaki farklılık önemli olarak bulunmuş, kontrol grubu ile BOS arasındaki fark önemsiz olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar biyokimyasal sonuçlarımız ile çelişmektedir. Biz histopatolojik incelemenin alınabilecek kesit çeşitliliğinden etkilenebileceği ve ayrıca daha sübjektif bir değerlendirme olduğu dolayısıyla biyokimyasal hidroksiprolin değerlerinin daha objektif ve anastomozun bütününe daha iyi değerlendirebileceği kanaatindeyiz. Yine yapılan histopatolojik çalışmalarda neovaskülarizasyon, inflamasyon ve ödem açısından gruplar arası fark anlamlı bulunmamıştır. Nair sınıflaması baz alınarak yapılan batın içi yapışıklılık değerlendirmesinde ise gruplar arası fark anlamlı değildir.

7. KAYNAKÇA

1. Siemonsma, M.A., de Hingh, I.H.J.T., de Man, B.M., Lomme, R.M.L.M., Verhofstad, A.A.J., Hendriks, T., 2003. Doxycycline improved wound strength after intestinal anastomosis in the rat. *Surgery* 133, 268–276.
2. Hyman N, Manchester TL, Osler T, Burns B, Cataldo PA. Anastomotic leaks after intestinal anastomosis: it's later than you think. *Ann Surg.* 2007;245:254–8.
3. Kube R, Mroczkowski P, Granowski D, et al. Anastomotic leakage after colon cancer surgery: a predictor of significant morbidity and hospital mortality, and diminished tumour free survival. *Eur J Surg Oncol*, 2010; 36: 120-124.
4. Marra F, Steffen T, Kalak N, et al. Anastomotic leakage as a risk factor for the long-term outcome after curative resection of colon cancer. *Eur J Surg Oncol*, 2009; 35: 1060-1064.
5. Peeters KC, Tollenaar RA, Marijnen CA, et al. Risk factors for anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer. *Br J Surg*, 2005; 92: 211-216.
6. Bertelsen CA, Andreasen AH, Jorgensen T, et al. Anastomotic leakage after anterior resection for rectal cancer: risk factors. *Colorectal Dis*, 2010; 12: 37- 43.
7. Krarup PM, Jorgensen LN, andrean AH, et al. On behalf of the Danish Colorectal cancer group. A nation wide study on anastomotic leakage after colonic cancer surgery. *Colorectal Dis*, 2012; 14: e661-667.
8. National Center for Health Statistics. National Center for Health Statistics database. Atlanta: National Hospital Discharge Survey; 2003. p 64.
9. Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg* 2001;38:71–140.
10. Vignali A, Fazio VW, Lavery IC, Milsom JW, Church JM, Hull TL, Strong SA, Oakley JR. Factors associated with the occurrence of leaks in stapled rectal anastomoses: a review of 1,014 patients. *J Am Coll Surg* 1997;185:113–121.

11. Kingham TP, Pachter HL. Colonic anastomotic leak: risk factors, diagnosis, and treatment. *J Am Coll Surg*. 2009;208(2):269-78. PMID: 19228539.
12. Buchs, N. C., Gervaz, P., Secic, M., Bucher, P., Mugnier-Konrad, B., & Morel, P. (2007). Incidence, consequences, and risk factors for anastomotic dehiscence after colorectal surgery: a prospective monocentric study. *International Journal of Colorectal Disease*, 23(3), 265–270. doi:10.1007/s00384-007-0399-3
13. Buckmire MA, Parquet G, Greenway S, et al. Temporal expression of TGF- 1, EGF, and PDGF-BB in a model of colonic wound healing. *J Surg Res* 1998;80:52.
14. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am* 1997;77:549.
15. Oines MN, Krarup PM, Jorgensen LN, Agren MS. Pharmacological interventions for improved colonic anastomotic healing: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(35):12637–48.
16. Fresno L, Fordevila D, Bambo O, Chacaktana A, Garcià F, Andaluz A. Effects of platelet-rich plasma on intestinal wound healing in pigs. *Vet J*. 2010;185(3):322–7.
17. Anitua E, Muruzabal F, De la Fuente M, Merayo-Llodes J, Orive G. Effects of heat-treatment on plasma rich in growth factors-derived autologous eye drop. *Exp Eye Res*. 2014;119:27–34.
18. Yamaguchi R, Terashima H, Yoneyama S, Tadano S, Ohkohchi N. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor. *J Surg Res*. 2012;173:258–66.
19. Bourquie WT, Gross M, Hall BK. 1993. Expression of four growth factors during fracture repair. *Int J Dev Biol* 37:573–579.
20. Gibble, J. and Ness, P. (1990) Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion* 30, 741–747
21. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration . *Thromb Haemost*. 2004;91(1):4–15. PMID: 14691563.
22. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001;10:225.

23. Marx, R.E., 2004. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 62, 489–496.
24. Thompson SK, Chang EY, Jobe BA. Clinical review: Healing in Gastrointestinal anastomoses, part I. *Microsurgery*, 2006; 26: 131-136.
25. Anitua E, Prado R, Sánchez M, Orive G. Platelet-rich plasma: preparation and formulation. *Oper Tech Orthop.* 2012;22:25–32.
26. H. Davson, A comparative study of the aqueous humor and cerebrospinal fluid in the rabbit, *J. Physiol.* 129 (1955) 111 – 133.
27. H. Davson, K. Welch, The permeation of several materials into the fluids of the rabbit's brain, *J. Physiol.* 218 (1971) 337 – 351.
28. H. Davson, M.B. Segal, The effects of some inhibitors and accelerators of sodium transport on turnover of ^{22}Na in the cerebrospinal fluid and the brain, *J. Physiol.* 209 (1970) 139 – 153.
29. Redzic, Z.B. and Segal, M.B. 2004. The structure of the choroid plexus and the physiology of the choroid plexus epithelium. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 56: 1695–1716.
30. Davidson, R. I.: Peritoneal bypass in the treatment of hydrocephalus: historical review and abdominal complications. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 39:640, 1976
31. Jackson, I. J. and Snodgrass, S. R.: Peritoneal shunts in the treatment of hydrocephalus and increased intracranial pressure; 4-year survey of 62 patients. *J. Neurosurg.*, 12:216, 1955
32. Grosfeld JL, Cooney DR, Smith J, Campbell RL (1974) Intraabdominal complications following ventriculoperitoneal shunt procedures. *Pediatrics* 54: 791–796
33. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am* 1997;77:509–528.
34. Ogino, Y. et al. (2005) The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells in vitro. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 100, 302–307
35. Mast BA. Healing in other tissues. *Surg Clin North Am* 1997;77:529–547.

- 36.** Martens MF, Hendriks T. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. *Gut* 1991;32:1482–1487.
- 37.** Graham MF, Drucker DE, Diegelmann RF, Elson CO. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. *Gastroenterology* 1987;92:400–405.
- 38.** Peel AL, Taylor EW. Proposed definitions for the audit of postoperative infection: a discussion paper. Surgical Infection Study Group. *Ann R Coll Surg Engl*, 1991; 73: 385-388.
- 39.** Bruce J, Krukowski ZH, Al-Khairy G, et al. Systematic review of the definition and measurement of anastomotic leak after Gastrointestinal surgery. *Br J Surg*, 2001; 88: 1157-1168.
- 40.** Posma, L.A.E., Bleichtodt, R.P., van Goor, H., Hendriks, T., 2007. Transient profound mesenteric ischemia strongly affects the strength of intestinal anastomoses in the rat. *Diseases of the Colon and Rectum* 50, 1070–1079.
- 41.** Rabau, M., Eyal, A., Kluger, Y., Dayan, D., 1998. Bursting pressure in anastomotic healing in experimentally induced colitis in rats. *Diseases of the Colon and Rectum* 41, 468–472.
- 42.** Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990; 33:891.
- 43.** Ikeuchi, D., Onodera, H., Aung, T., Kan, S., Kawamoto, K., Imamura, M., Maetani, S., 1999. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. *Digestive Surgery* 16, 478–485.
- 44.** Mansson P, Zhang XW, Jeppsson B, et al. Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. *Int J Colorectal Dis*, 2002; 17: 420-425.
- 45.** Nair SK, Bhat IK, Aurora AL. Role of proteolytic enzyme in the prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. *Arch Surg*, 1974; 108: 849-853.
- 46.** Anitua E, Sanchez M, Orive G. The importance of understanding what is platelet-rich growth factor (PRGF) and what is not. *J Shoulder Elb Surg*. 2011;20(1):e23–4.

47. Edwards C A, and O'Brien WD Jr. Modified assay for determination of hydroxyproline in a tissue hydrolyzate. *Clinica Chimica Acta* 1980; 104: 161- 167
48. Bergman I, Loxley R. Two improved and simplified methods for the spectrophotometric determination of hydroxyproline. *Anal Chem*, 1963; 35:1961-1965.
49. Philips JD, Kim CS, Fonkalsrud EW, et al. Effects of chronic corticosteroid and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. *Am J Surg*, 1992; 163: 71-77
50. Hedlund CS. Surgery of the small intestine. Surgery of the digestive system. In: *Small animal surgery*. Second ed. St Louis: Mosby Inc.; 2002. p. 369–98.
51. Nagler A, Rivkind AI, Raphael J, et al. Halofuginone, an inhibitor of collagen type-I synthesis, prevents postoperative formation of abdominal adhesions. *Ann Surg* 1998;227:575.
52. Khoury GA, Waxman BP. Large bowel anastomoses. The healing process and sutured anastomoses. A review. *Br J Surg* 1983;70:61.
53. Fielding LP, Stewart-Brown S, Blesovsky L, et al. Anastomotic integrity after operations for large bowel cancer. A multicenter study. *Br Med J* 1980;281:411.
54. Wroblewski AP, Melia HJ, Wright VJ. Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Oper Tech Orthop*. 2010; 20:98–105.
55. Lin PH, Kirko MK, von Fraunhofer JA, Greisler HP. 1997. Wound healing and inflammatory response to biomaterials. In: Chu CC, von Fraunhofer JA, Greisler HP, editors. *Wound healing Closure and devices*. Boca Raton, Fla: CRC Press. p 7–24.
56. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118: 147e-59e.
57. Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Frontiers in Bioscience*. 2008;13:3532-3548.
58. Slater M, Patava J, Kingham K, Mason RS. 1995. Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity. *J Orthop Res* 13:655 – 663.
59. Agren MS, Andersen TL, Mirastschijski U, et al. Action of matrix metalloproteinases at restricted sites in colon anastomosis repair: an immunohistochemical and biochemical study. *Surgery*, 2006; 140:72–82.

- 60.** Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet*, 1968, 126: 747- 753.
- 61.** Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *J Surg Res*, 1990; 48: 504-515.
- 62.** Werner, S. and Grose, R. (2003) Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol. Rev.* 83, 835–870
- 63.** Lieberman, J.R. et al. (2002) The role of growth factors in the repair of the bone. Biology and clinical applications. *J. Bone Joint Surg. Am.* 84- A, 1032–1044
- 64.** Tabata, Y. (2003) Tissue regeneration based on growth factor release. *Tissue Eng.* 9, S5–S15
- 65.** Kirker-Head, C.A. (2000) Potential applications and delivery strategies for bone morphogenetic proteins. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 43, 65–92
- 66.** Christensen, H., Chemnitz, J., Christensen, B.C., Oxlund, H., 1995. Collagen structural organization of healing anastomoses and the effect of growth hormone treatment. *Diseases of the Colon and Rectum* 38, 1200–1205.
- 67.** Egger, B., Tolmos, J., Procaccino, F., Sarosi, I., Friess, H., Büchler, M.W., Stamos, M., Eysselein, V.E., 1998. Keratinocyte growth factor promotes healing of left-sided colon anastomoses. *American Journal of Surgery* 176, 18–24.
- 68.** Dinc, S., Alagol, H., Gulcelik, M.A., Ozbirecikli, B., Kuru, B., Renda, N., Ustun, H., 2002. Locally applied granulocyte-macrophage colony-stimulating factor improves the impaired bowel anastomoses in rats with long-term corticosteroid treatment. *World Journal of Surgery* 26, 1208–1213.
- 69.** Yol, S., Tekin, A., Yilmaz, H., Küçükkartallar, T., Esen, H., Çaglayan, O., Tatkan, Y., 2008. Effects of platelet-rich plasma on colonic anastomosis. *Journal of Surgical Research* 146, 130–194.
- 70.** Anitua, E., Andía, I., Sánchez, M., Azofra, J., Zalduendo, M.M., de la Fuente, M., Nurden, P., Nurden, A.T., 2005. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *Journal of Orthopaedic Research* 23, 281–286.

71. Everts PA, Brown Mahoney C, Hoffmann JJ, et al. Platelet-rich plasma preparation using three devices: implications for platelet activation and platelet growth factor release. *Growth Factors*. 2006;24(3):165-171.

72. Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M., Schimmele, S. R., Strauss, J. E., & Georgeff, K. R. (1998). Platelet-rich plasma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 85(6), 638–646. doi:10.1016/s1079-2104(98)90029-4

73. Sciore P, Boykiw R, Hart DA. Semi-quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction analysis of mRNA for growth factors and growth factor receptors from normal and healing rabbit medial collateral ligament tissue. *J Orthop Res*. 1998; 16: 429-437.

74. Jones JJ, Clemmons D. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev*. 1995;16(1):3-34.

75. Abrahamsson SO. Similar effects of recombinant human insulin-like growth factor-I and II on cellular activities in flexor tendons of young rabbits: experimental studies in vitro. *J Orthop Res* 1997;15 (2): 256-262.

76. Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, et al. Transforming growth factor beta: Biological function and chemical structure. *Science*. 1986;233:532–534.

77. Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM, et al. Type beta transforming growth factor: A bifunctional regulator of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82:119–123.

78. Molloy T, Wang Y, Murrel G A.C. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med*. 2003;33(5)381-394

79. Borrione P, Gianfrancesco A, Pereira MT, Pigozzi F. Platelet rich plasma in muscle healing. *Am J PHYS Med Rehabil*. 2010;89:854-861.

80. Ross R, Ralnes EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell*. 1986;46:155–169

81. Senior RM, Griffin GL, Huang JS, Walz DA, Deuel TF. Chemotactic activity of platelet alpha granule proteins for fibroblasts. *J Cell Biol*. 1983;96:382–385.

- 82.** Heldin CH, Westermark B: Platelet-derived growth factors: A family of isoforms that bind to two distinct receptors. *Br Med Bull* 1989;45:453–64
- 83.** Williams LT: Signal transduction by the platelet- derived growth factor receptor. *Science* 1989;243: 1564 –70
- 84.** Senior RM, Griffin GL, Huang JS, et al: Chemotactic activity of platelet alpha granule proteins for fibro- blasts. *J Cell Biol* 1983;96:382–5
- 85.** Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J: The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669–76
- 86.** Arsic N, Zacchigna S, Zentilin L, et al: Vascular endothelial growth factor stimulates skeletal muscle regeneration in vivo. *Mol Ther* 2004;10:844–54
- 87.** Germani A, Di Carlo A, Mangoni A, et al: Vascular endothelial growth factor modulates skeletal myo- blast function. *Am J Pathol* 2003;163:1417–28
- 88.** Ishii M, Tanaka E, Imaizumi T, et al. Local VEGF administration enhances healing of colonic anastomoses in a rabbit model. *Eur Surg Res* 2009;42:249.
- 89.** Mei-Dan O, Lippi G, Sanchez M, Andia I, Matfulli N. Autologous platelet-rich plasma: arevolution in soft tissue sports injury management? *Phys Sports med* 2010;38:127-135.
- 90.** Margolis DJ, Kantor J, Santanna J, Strom BL, Berlin JA. 2001. Effectiveness of platelet releasate for the treatment of diabetic neuropathic foot ulcers. *Diabetes Care* 24:483–488.
- 91.** Ferrari M, Zia S, Valbonesi M. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. *Int J Artif Organs*. 1987;10:47–50.)
- 92.** Mazzuco L, Medici D, Serra M, et al. 2004. The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: A pilot study. 44:1013–1018.
- 93.** Lozada JL, Caplanis N, Proussaefs P, et al. Platelet rich plasma application in sinus graft surgery: Part I. Background and processing techniques. *J Oral Implantol* 2001;27:38.
- 94.** Choi HM, Kim SH, Kim CK, Choi HG, Shin DH, Uhm K, et al. The cheapest and easiest way to make platelet-rich plasma preparation. *Arch Aesthetic Plast Surg*. 2015;21:12-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.14730/aaps.2015.21.1.12>

95. Chahla J, Cinque ME, Piuze NS, et al. A call for standardization in platelet-rich plasma preparation protocols and composition reporting: a systematic review of the clinical Orthopaedic literature. *J Bone Joint Surg Am.* 2017;99(20):1769–79.

96. Pifer MA, Maerz T, Baker KC, Anderson K. Matrix metalloproteinase content and activity in low-platelet, low-leukocyte and high-platelet, high-leukocyte platelet rich plasma (PRP) and the biologic response to PRP by human ligament fibroblasts. *Am J Sports Med.* 2014;42(5):1211–8.

97. Kobayashi Y, Saita Y, Nishio H, et al. Leukocyte concentration and composition in platelet-rich plasma (PRP) influences the growth factor and protease concentrations. *J Orthop Sci.* 2016;21(5):683–9.

98. Anitua E, Alkhraisat MH, Orive G. Perspective and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *J Control Release.* 2012;157(1):29–38.

99. Weibrich, G. et al. (2005) Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma rich in growth factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 20, 118–123

100. Anitua, E. and Andia, I. (2001) BTI implant system: the first implant system with a bioactive surface. *Maxillaris* 39, 2–7

101. Anitua, E. et al. (2002) Clots from platelet-rich plasma promote bone regeneration in reducing the time needed for dental implants and favoring their osteointegration. *Blood* 11, 242a

102. Zechner, W. et al. (2003) Influence of platelet-rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 18, 15–22

103. Fuerst, G. et al. (2003) Enhanced bone to implant contact by platelet- released growth factors in mandibular cortical bone: a histomorphometric study in minipigs. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 18,685–690

104. Suba, Z. et al. (2004) Facilitation of b-tricalcium phosphate-induced alveolar bone regeneration by platelet-rich plasma in beagle dogs: a histologic and histomorphometric study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 19, 832–838

- 105.** Sanchez M, Anitua E, Azofra J, et al: Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med* 35:245-251, 2007
- 106.** De Vos RJ, Weir A, van Schie HT, et al: Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: A randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 303:144-149, 2010
- 107.** Mishra A, Pavelko T: Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am J Sports Med* 34:1774-1778, 2006
- 108.** Peer booms JC, Sluimer J, Bruijn DJ, et al: Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial: Platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with a 1-year follow-up. *Am J Sports Med* 38:255-262, 2010
- 109.** Lindeboom, J.A.H., Mathura, K.R., Aartman, I.H.A., Kroon, F.H.M., Milstein, D.M., Ince, C., 2007. Influence of the application of platelet-enriched plasma in oral mucosal wound healing. *Clinical Oral Implants Research* 18, 133–139.
- 110.** Anitua, E. et al. (2006) Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J. Biomat. Med. Res.* doi 10.1002/jbm.a.30585
- 111.** Petrunaro PS. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. *Compend Contin Educ Dent* 2001;22:729.
- 112.** Englert SJ, Estep TH, Ellis-Stoll CC. 2005. Autologous platelet gel applications during cardiovascular surgery: Effect on wound healing. *J Extra Corpor Technol* 37:148–152.
- 113.** Everts PAM, Devilee RJJ, Brown-Mahoney Ch, et al. 2006. Platelet gel and fibrin sealant reduce allogenic blood transfusions and in total knee arthroplasty. *Acta Anaesth Scand* 50:593–599.
- 114.** Steigmann M, Garg AK. 2005. A comparative study of bilateral sinus lifts performed with platelet-rich plasma alone versus alloplastic graft material reconstituted with blood. *Implant Dent* 14:261 – 266.
- 115.** Crovetti G, Martinelli G, Issi M, et al. 2004. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci* 30:145–151.

116. Del Buono A, Osti L, Maffulli N. Platelet-rich plasma: anatomical application to date: does it really work? *Oper Tech Orthop.* 2013;23:75–7.

117. Alsousou J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg.* 2009;91B:987–96.

118. Lange-Consiglio A, Cazzaniga N, Garlappi R, Spelta C, Perrini C, Cremonesi F. Platelet concentrate in bovine reproduction: effects on in vitro embryo production and after intrauterine administration in repeat breeder cows. *Reprod Bio Endocrinol.* 2015;13:65.

119. Man, D. et al. (2001) The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 107, 229–237

120. Gruber, R. et al. (2002) Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clin. Oral Implants Res.* 13, 529–535

121. Weibrich, G. et al. (2002) Growth stimulation of human osteoblast-like cells by thrombocyte concentrates in vitro. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 6, 168–174

122. Saldamacchia, G. et al. (2004) A controlled study of the use of autologous platelet gel for the treatment of diabetic ulcers. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 14, 395–396

123. Zhou B, Ren J, Ding C, Wu Y, Chen J, Wang G, Gu G, Li J. Protection of colonic anastomosis with platelet-rich plasma gel in the open abdomen. *Injury.* 2014;45(5):864–8. PMID: 24552769.

124. Sozutek, A., Colak, T., Cetinkunar, S., Reyhan, E., Irkorucu, O., Polat, G., & Cennet, A. (2016). The Effect of Platelet-Rich-Plasma on the Healing of Left Colonic Anastomosis in a Rat Model of Intra-Abdominal Sepsis. *Journal of Investigative Surgery,* 29(5), 294–301. doi:10.3109/08941939.2015.1111473

125. Test at CHUV-VD, Switzerland, 2005.

126. Lee KS, Wilson JJ, Rabago DP, Baer GS, Jacobson JA, Borrero CG. Musculoskeletal applications of platelet-rich plasma: Fad or future? *AJR* 2011;196:628–636.

127. Mishra A, Woodall J Jr, Vieira A. Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma. *Clin Sports Med* 2009;28:113-25.

128. R.Yoshida, M.Cheng, and M.Murray, “Increasing platelet concentration in platelet-rich plasma inhibits anterior cruciate ligament cell function in three-dimensional culture,” *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 32, no. 2, pp. 291–295, 2014.

129. Han SW, Roman J. Fibronectin induces cell proliferation and inhibits apoptosis in human bronchial epithelial cells: pro-oncogenic effects mediated by PI3-kinase and NFkappa B. *Oncogene*. 2006;25:4341–4349.

130. Kawasumi M, Kitoh H, Siwicka KA, et al. The effect of the platelet concentration in platelet-rich plasma gel on the regeneration of bone. *J Bone Joint Surg Br*. 2008;90:966–972.

131. Arpornmaeklong P, Kochel M, Depprich R, et al. Influence of platelet-rich plasma (PRP) on osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells. An in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2004;33:60–70.

132. Graziani F, Ivanovski S, Cei S, et al. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17:212–219.

133. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg* 2002; 30:97–102

134. Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE. 1999. Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. *Bone* 25 (Suppl): S46 – S50.

135. Weiner BK, Walker M. 2003. Efficacy of autologous growth factors in lumbar intertransverse fusions. *Spine* 28:1968–1971.

136. Castro FP Jr. 2004. Role of activated growth in lumbar spinal fusions. *J Spinal Disord Tech* 17:380–384.

137. Carreon LY, Glassman SD, Anekstein Y, Puno RM. 2005. Platelet gel (AGF) fails to increase fusion rates in instrumented posterolateral fusions. *Spine* 30:243–247.

138. Marx, R.E., 2000. Discussion. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 58, 300–301.

- 139.** Weibrich, G. et al. (2004) Effect of platelet concentration in platelet- rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone* 34, 665–671
- 140.** Sanchez, A.R. et al. (2003) Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int. J. Oral Maxillofac.*
- 141.** Freymiller, E.G. and Aghaloo, L. (2004) Platelet-rich plasma: ready or not? *J. Oral Maxillofac. Surg.* 62, 484–488
- 142.** Tozum, T.F. and Demiralp, B. (2003) Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J. Can. Dent. Assoc.* 69, 664
- 143.** Landesberg R, Moses M, Karpatkin M: Risks of using platelet rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg* 56:1116-1117, 1998
- 144.** Engebretsen L, Steffen K, Alsousou J, et al: IOC consensus paper on the use of platelet-rich plasma in sports medicine. *Br J Sports Med* 44:1072-1081, 2010
- 145.** Kerem M, Bedirli A, Karahacioglu E, et al. Effects of soluble fiber on matrix metalloproteinase-2 activity and healing of colon anastomosis in rats given radiotherapy. *Clin Nutr* 2006; 25:661.
- 146.** Daglioglu, Yusuf Kenan; Duzgun, Ozgul; Sarici, Inanc Samil Ulutas, Kemal Turker. Comparison of platelet rich plasma versus fibrin glue on colonic anastomoses in rats. *Acta Cir. Bras.* [online]. 2018, vol.33, n.4, pp.333-340.
- 147.** Croinin K, Jackson DS, Dunphy JE. Specific activity of hydroxyproline-tritium in the healing colon. *Surg Gynecol Obstet.* 1968;126(5):1061-5. PMID: 5652652
- 148.** Bucknall TE. The effect of local infection upon wound healing: An experimental study. *Br J Surg* 1980;67:851.
- 149.** H. Davson, M.B. Segal, *Physiology of the CSF and Blood– Brain Barriers*, CRC Press, Boca Raton, 1996, pp. 1 – 822.
- 150.** R. Keep, S.R. Ennis, A.L. Betz, Blood–brain barrier ion transport, in: W.M. Pardridge (Ed.), *An Introduction to the Blood–Brain–Barrier: Methodology, Biology and Pathology*, University Press, Cambridge, 1998, pp. 207–213.
- 151.** Fishman RA. *Cerebrospinal Fluid in Diseases of the Nervous System*, 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1992.

- 152.** Ransohoff RM, Kivisakk P, Kidd G. Three or more routes for leukocyte migration into the central nervous system. *Nat Rev Immunol* 2003;3:569–581.
- 153.** Svenningsson A, Andersen O, Edsbacke M, Stemme S. Lymphocyte phenotype and subset distribution in normal cerebrospinal fluid. *J Neuroimmunol* 1995;63:39–46.
- 154.** Svenningsson A, Hansson GK, Andersen O, Andersson R, Patarroyo M, Stemme S. Adhesion molecule expression in cerebrospinal fluid T lymphocytes: evidence for common recruitment mechanisms in multiple sclerosis, aseptic meningitis, and normal controls. *Ann Neurol* 1993;34:155–161.
- 155.** Nerenberg ST, Prasad R, Rothman ME. Cerebrospinal fluid IgG, IgA, IgM, IgD, and IgE levels in central nervous system disorders. *Neurology* 1978;28:988–990.
- 156.** Chen KT, Moseley D. Cartilage cells in cerebrospinal fluid. *Arch Pathol Lab Med* 1990;114:212.
- 157.** Craver RD, Carson TH. Hematopoietic elements in cerebrospinal fluid in children. *Am J Clin Pathol* 1991;95:532–535.
- 158.** Thompson EJ. *Proteins of the Cerebrospinal Fluid. Analysis and Interpretation in the Diagnosis and Treatment of Neurological Disease*, second edition. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2005.
- 159.** Balabanova S, Richter HP, Antoniadis G, et al. 25-Hydroxyvitamin D, 24,25-dihydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D in human cerebrospinal fluid. *Klin Wochenschr* 1984;62:1086–1090.
- 160.** Vatassery GT, Nelson MJ, Maletta GJ, Kuskowski MA. Vitamin E (tocopherols) in human cerebrospinal fluid. *Am J Clin Nutr* 1991;53:95–99.
- 161.** Felgenhauer K. Protein size and cerebrospinal fluid composition. *Klin Wochenschr* 1974;36:66–69.
- 162.** Cutler RWP, Watters GV, Hammerstad JP. The origin and turnover of cerebrospinal fluid albumin and gamma globulin in man. *J Neurol Sci* 1970;10:259–268.
- 163.** Bilic E, Bilic E, Rudan I, et al. Comparison of the growth hormone, IGF- 1, and insulin in cerebrospinal fluid and serum between patients with motor neuron disease and healthy controls. *Eur J Neurol* 2006;13:1340–1345.

164. Bjorkqvist M, Leavitt BR, Neilsen JE, et al. Cocaine- and amphetamine- regulated transcript is increased in Huntington's disease. *Movement Disorders* 2007;22:1952–1954.

165. Rapaport MH, McAllister CG, Pickar D, Tamarkin L, Kirch DG, Paul SM. CSF IL-1 and IL-2 in medicated schizophrenic patients and normal volunteers. *Schizophr Res* 1997;25:123–129.

166. Tarkowski E, Andreasen N, Tarkowski A, Blennow K. Intrathecal inflammation precedes development of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:1200–1205.

167. Stoeck K, Bodemer M, Ciesielczyk B, et al. Interleukin 4 and interleukin 10 levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol* 2005;62:1591–1594.

168. Steensberg A, Dalsgaard MK, Secher NH, Pedersen BK. Cerebrospinal fluid IL-6, HSP72, and TNF- α in exercising humans. *Brain Behav Immun* 2006;20:585–589.

169. Brisby H, Olmarker K, Larsson K, Nutu M, Rydevik B. Proinflammatory cytokines in cerebrospinal fluid and serum in patients with disc herniation and sciatica. *Eur Spine J* 2002;11:62–66.

170. Natelson BH, Weaver SA, Tseng C-L, Ottenweller JE. Spinal fluid abnormalities in patients with chronic fatigue syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12:52–55.

171. Li X, Miyajima M, Jiang C, Arai H. Expression of TGF- β s and TGF- β type II receptor in cerebrospinal fluid of patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Neurosci Lett* 2007;413:141–144.

172. Montine Tj, Sidell KR, Crews BC, et al. Elevated CSF prostaglandin E₂ levels in patients with probable AD. *Neurology* 1999;53:1495–1498.

173. Vilanova JM, Figueras-Aloy J, Rosello J, Gomez G, Gelpi E, Jimenez R. Arachadonic acid metabolites in CSF in hypoxic-ischemic encephalopathy of newborn infants. *Acta Paediatr* 1998;87:588–592.

174. Nishino S, Mignot E, Benson KL, Zarcone VP. Cerebrospinal fluid prostaglandins and corticotropin releasing factor in schizophrenics and controls. *Psych Res* 1998;78:141–150.

- 175.** Tabassi A, Salmasi AH, Jalali M. Serum and CSF vitamin A concentrations in idiopathic intracranial hypertension. *Neurology* 2005;64:1893–1896.
- 176.** Spector R, Johanson CE. Vitamin transport and homeostasis in mammalian brain: focus on Vitamins B and E. *J Neurochem* 2007;103:425–438.
- 177.** Spector R, Johanson C. Micronutrient and urate transport in choroid plexus and kidney: implications for drug therapy. *Pharm Res* 2006;23:2515–2524.
- 178.** Spector R. Micronutrient homeostasis in mammalian brain and cerebrospinal fluid. *J Neurochem* 1989;53:1667–1674.
- 179.** Nijst TQ, Mevers RA, Schoonderwaldt HC, Hommes OR, de Haan AF. Vitamin B12 and folate concentrations in serum and cerebrospinal fluid of neurological patients with special reference to multiple sclerosis and dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990;53:951–954.
- 180.** Jackman SV, Weingart JD, Kinsman SL, Docimo SG. Laparoscopic surgery in patients with ventriculoperitoneal shunts: Safety and monitoring. *J Urol* 2000;164:1352–1354.
- 181.** White B, Kropp K, Rayport M (1991) Abdominal cerebrospinal fluid pseudocyst: occurrence after intraperitoneal urological surgery in children with ventriculo-peritoneal shunts. *J Urol* 146: 583–587
- 182.** Agha FP, Amendola MA, Shirazi KK, Amendola BE, Chandler WF (1983) Abdominal complications of ventriculoperitoneal shunts with emphasis of the role of imaging methods. *Surg Gynecol Obstet* 156: 473–478
- 183.** Bryant MS, Bremer AM, Tepas JJ 3rd, Mollitt DL, Nquyen TQ, Talbert JL (1988) Abdominal complications of ventriculoperitoneal shunts. Case reports and review of the literature. *Am Surg* 54: 50–55
- 184.** Murtagh FR, Quencer RM, Poole CA (1980) Extracranial complications of cerebrospinal fluid shunt function in childhood hydrocephalus. *Am J Roentgenol* 135: 763–766
- 185.** Norfray JF, Harvey HM, Givens JD, Sparberg MS (1979) Abdominal complications from peritoneal shunt. *Gastroenterology* 77: 337–340

186. Rush DS, Walsh JW, Belin RP, Pulito AR (1985) Ventricular sepsis and abdominally related complications in children with cerebrospinal fluid shunts. *Surgery* 97: 420–427

187. Al-Mufarrej F, Nolan C, Sookhai S, Broe P. Laparoscopic procedures in adults with ventriculoperitoneal shunts. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2005;15:28-9.

188. Baskin JJ, Vishteh AG, Wesche DE, Rekate HL, Carrion CA. Ventriculoperitoneal shunt failure as a result of laparoscopic surgery. *JSLs* 1998;2:177-80.



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

06.09.2018

Sayı : 65202830-050.04.04-203
Konu : Etik Kurul Kararı.

Sayın Prof.Dr.Cihan YILDIRIR
Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi ABD

Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 06.09.2018 tarihinde Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Prof.Dr.Cihan YILDIRIR'ın yürütücülüğünü yapmış olduğu ve yardımcıları Prof.Dr.Yavuz SİLİĞ Doç.Dr.Ersin TUNCER Öğr.Gör.Dr.Ayça TAŞ Op.Dr.Mustafa ATABEY Arş.Gör.Dr.M.İlker ÖZEL'in 31.08.2018 tarih ve 157 sayılı "Ratlarda Kolon Anastomozu İyileşmesinde Trombosit Yönünden Zenginleştirilmiş Plazma Uygulaması ve Beyin Omirilik Sıvısının Lokal Uygulamada Etkileri." isimli Uzmanlık Tezi Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

<p>(İzintili) Prof.Dr.İhsan HUBBEZOĞLU Üye</p>	<p>(İzintili) Prof.Dr.Zübeyda Akın POLAT Üye</p>	<p>(İzintili) Dr.Öğr.Üyesi.Ahmet Duran ATAS Üye</p>
<p>(İzintili) Dr.Öğr.Üyesi.Cengiz GÜNEY Üye</p>	<p>(İzintili) Dr.Öğr.Üyesi.Erhan YÜKSEL Üye</p>	<p>(İzintili) Dr.Öğr.Üyesi.Erkan GÜMÜŞ Üye</p>
<p>(İzintili) Dr.Öğr.Üyesi.Hakan İŞİDAN Üye</p>	<p>(Katılmadı) Dr.Öğr.Üyesi.Mustafa ATABEY Üye</p>	<p>(Katılmadı) Dr.Öğr.Üyesi.M.Önder KARAYİĞİT Üye</p>
<p>(Katılmadı) Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN Üye – Başkanvekili</p>	<p>(Katılmadı) Hilmi GÜL Sivil Üye</p>	<p>(Katılmadı) Özcan KARATAŞ Sivil Üye</p>
	<p>(İzintili) Prof. Dr. Haki KARA Başkan</p>	