

**1993**  
**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

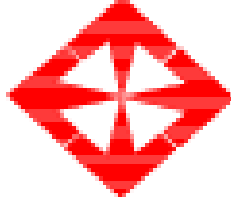
**Genel Cerrahi Anabilim Dalı**  
**Genel Cerrahi Bilim Dalı**

**KISA BARSAK SENDROMLU SIÇANLARDA KÖK HÜCRE**  
**TEDAVİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Murat KUŞ**

**Ankara, 2014**



**1993**  
**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**Genel Cerrahi Anabilim Dalı**  
**Genel Cerrahi Bilim Dalı**

**KISA BARSAK SENDROMLU SIÇANLARDA KÖK HÜCRE**  
**TEDAVİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Murat KUŞ**

**Doç. Dr. Yahya EKİCİ**

**Ankara, 2014**

## TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi alanı uzmanlık eğitiminde bana bildiklerini ve tecrübelerini aktararak benim genel cerrahi uzman hekim olmamı sağlayan başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Gökhan Moray olmak üzere Prof. Dr. Esat Hersek, Prof. Dr. Sedat Yıldırım, Doç. Dr. Feza Karakayalı, genel cerrahi hocam olmasının yanı sıra tez danışman hocam Doç. Dr. Yahya Ekici, Yrd. Doç. Dr. Cem Aydoğan, Uzm. Dr. Tugan Tezcaner, Uzm. Dr. Mahir Kırnay, Uzm. Dr. Aydınca Akdur, Uzm. Dr. Ebru Ayvazoğlu Soy ve tüm asistan arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamda emeği geçen başta tez danışmanım Doç. Dr. Yahya Ekici olmak üzere plastik cerrahiden Doç. Dr. Çağrı Uysal, eş kıdemlilerim Dr. Ahmet Celaledin Şendoğan ve Dr. Birkan Birben, Vet. Hekim Didem Bacanlı, araştırma merkezi çalışanları Sezai Kölcük ve Adem Kurtçuoğlu'na teşekkürü bir borç bilirim. Eğitimimde emeği geçen diğer bütün Başkent Üniversitesi çalışanlarına da teşekkür ederim.

Beş yıllık eğitimimde hep yanımda olan canım aileme ve hayatıma girdiği gündün beri hayatı bana kolaylaştıran, bir an bile beni yalnız bırakmayan, beni hep mutlu eden hayat arkadaşım Dr. Eda Özden' e çok teşekkür ederim.

Dr. Murat Kuş

## ÖZET

Bu çalışmada, kısa barsak sendromu oluşturulan sıçanlarda kök hücre tedavisinin etkisi araştırıldı. Her grupta 18 sıçan olacak şekilde iki grup oluşturuldu. Grup 1; fosfat buffer saline( PBS) grubu ve Grup 2; kök hücre grubu olarak planlandı. Bütün sıçanlarda, Treitz' in 5 cm distali ile ileoçekal valvin 10 cm proksimali arasında kalan ince barsak rezeke edilerek kısa barsak sendromu( KBS) oluşturuldu. PBS grubunun kalan ince barsak duvarına, jejunum ve ileuma ayrı ayrı, kök hücre içermeyen PBS verilirken; diğer gruba aynı miktarda kök hücre içeren PBS verildi. Tüm sıçanlar ameliyat günü ve sacrihye edilen ameliyat sonrası 7.günde tartıldı. Kök hücre verilen KBS grubunda, diğer gruba göre kilo kaybı daha az oldu. Geride kalan barsakta uzama ve barsak çapında artma kök hücre grubunda diğer gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. İntestinal adaptasyonun parametreleri olarak kabul edilen villus yüksekliği, kript derinliği, mukozal kalınlık, mitoz ve goblet hücre sayıları kök hücre verilen KBS grubunda daha yüksek bulundu. Bu çalışmada oluşturulan KBS modelinde kök hücrenin barsak adaptasyonunu olumlu yönde etkilediği görüldü.

**Anahtar kelimeler:** kısa barsak sendromu, kök hücre, barsak adaptasyonu

## **ABSTRACT**

### **Stem cell therapy in rats with short bowel syndrome : an experimental study**

The aim of the current study was to search the effects of stem cell therapy in rats with short bowel syndrome (SBS). Rats were divided into two groups that each group included 18 rats. Group 1 was planned as phosphate buffered saline (PBS) group (not applying stem cell therapy) and Group 2 as stem cell group. In all rats have been occurred short bowel syndrome with resection of the proximal small bowel from a point 5 cm distal to the ligament of Treitz to a point 10 cm proximal to the ileocecal valve. In PBS group only PBS (not containing stem cell) was given to the residual small intestine wall both jejunum and ileum while at the same amount of PBS that containing stem cell was given to the stem cell group. Rats were sacrificed on the 7th day after SBS operation. All rats were weighed on the SBS operation day and 7 days later. In the stem cell group, weight loss was found to be less than the PBS group. Compared to PBS group, the length and diameter of the residual intestine increased statistically significant in the stem cell group. In the stem cell group villus height, crypt depth, mucosal thickness, mitosis and the number of goblet cells that known as parameters of intestinal adaptation increased statistically significant. In this study we observed that stem cells affected positively intestinal adaptation in the short bowel syndrome model

**Key words:** short bowel syndrome, stem cell, intestinal adaptation

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR .....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
TABLolar LİSTESİ .....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İnce Barsak Anatomisi.....	3
2.2. İnce Barsak Histolojisi.....	4
2.3. Kısa Barsak Sendromu.....	5
2.3.1. İnsidans .....	6
2.3.2. Etiyoloji.....	6
2.3.3. Patofizyoloji .....	6
2.3.4. KBS' de Tedavi Yönetimi.....	9
2.3.5. Beslenme desteği.....	9
2.3.6. Diyarenin Kontrolü .....	10
2.3.7. Hormonal Tedavi .....	10
2.3.8. Cerrahi Tedavi.....	11
2.3.9. Adaptasyon.....	12
2.4. Kök Hücre.....	13
2.4.1. Mezenkimal kök hücreler.....	16
2.4.2 Kök hücrelerin dokularda takibi .....	17
2.4.3. Kök hücrelerin potansiyel kullanım alanları .....	18
2.4.4. Kök hücre kaynağı olarak adipoz doku.....	19
2.4.5. Histolojik Genel Bilgiler .....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı .....	22
3.2. Cerrahi işlem.....	22

3.3. Adipoz doku elde edilmesi .....	24
3.4. Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi ve DiI ile işaretlenmesi .....	25
3.5. Patolojik değerlendirme .....	27
3.6. İstatiksel Yöntem .....	28
3.7. DiI İşaretli Kök Hücrelerin İzlenmesi ile Değerlendirme .....	28
3.8. Karın içi yapışıklıkların değerlendirilmesi .....	29
4. BULGULAR .....	30
4.1. Eksplozasyon bulguları .....	30
4.2. Histopatolojik Değerlendirme.....	30
4.3. İmmünohistokimyasal bulgular .....	33
4.4. İstatiksel bulgular.....	34
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ.....	45
7. KAYNAKÇA .....	46

## KISALTMALAR

<b>ADKKH</b>	: Adipoz kökenli kök hücre
<b>DiI</b>	: 1,1'-Dioktadesil-3,3,3',3'-tetrametilindokarbosiyanin
<b>DMEM</b>	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
<b>EGF</b>	: Endotelyal Büyüme Faktörü
<b>FBS</b>	: Fetal Buzağı Serumu
<b>FGF</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>GFP</b>	: Yeşil Floresan Protein
<b>GVHD</b>	: Graft Versus Host Hastalığı
<b>HKH</b>	: Hematopoetik Kök Hücre
<b>HLA</b>	: İnsan Lökosit Antijeni
<b>HS</b>	: İnsan serumu
<b>IGF</b>	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>IL-8</b>	: İnterlökin-8
<b>ISCT</b>	: Uluslararası Hücresel Tedavi Birliği
<b>İMA</b>	: İnférieur mezenterik arter
<b>İMV</b>	: İnférieur mezenterik ven
<b>Kİ</b>	: Kemik İliğı
<b>KİKH</b>	: Kemik İliğı Kökenli Kök Hücre
<b>MKH</b>	: Mezenkimal Kök Hücre
<b>NSAİİ</b>	: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
<b>PBS</b>	: Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik
<b>PDAF</b>	: Trombosit kaynaklı anjiogenezis faktörü
<b>PDEGF</b>	: Trombosit kaynaklı endotelyal büyüme faktörü
<b>PDGF</b>	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
<b>PLA</b>	: İşlenmiş Lipoaspirat
<b>PMNL</b>	: Polimorfonükleer Lökosit
<b>PCD</b>	: Purkinje hücre bozunumu
<b>RNAi</b>	: Ribonükleik asit interferans



<b>SMA</b>	: Superior mezenterik arter
<b>SMV</b>	: Superior mezenterik ven
<b>SSS</b>	: Santral Sinir Sistemi
<b>TGF<math>\beta</math></b>	: Transforme Edici Büyüme Faktörü $\beta$
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekroz Faktörü $\alpha$
<b>TSP-1</b>	: Thrombospondin-1
<b>TZF</b>	: Trombositten zengin fibrin
<b>TZP</b>	: Trombositten zengin plazma
<b>VEGF</b>	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 3.1. Cerrahi prosedür öncesi.....	23
Şekil 3.2. İnce barsağın ve çekumun ortaya konulması .....	24
Şekil 3.3. İnguinal yağ yastıkçığını eksizyonu .....	25
Şekil 3.4. Adipoz dokunun homojenizasyonu .....	27
Şekil 3.5. Metilen mavisıyla boyanan hücrelerin ışık mikroskobu altında sayılması. ....	27
Şekil 4.1. Grup-1, villus ve kript x100 .....	31
Şekil 4.2. Grup-2, villus ve kript x100 .....	31
Şekil 4.3. Grup-1, goblet hücreleri x200 .....	32
Şekil 4.4. Grup-2, goblet hücreleri x200 .....	32
Şekil 4.5. Endotelde kök hücre.....	33
Şekil 4.6. Villuslarda DİL + hücreler .....	33
Şekil 4.7. Gruplara Göre Ameliyat Öncesi ve Ameliyat Sonrası Kilo Değerleri Ortalamaları .....	34
Şekil 4.8. Gruplara Göre Ameliyat Öncesi ve Ameliyat Sonrası İnce Barsak Uzunluğu Değerleri Ortalamaları .....	35
Şekil 4.9. Gruplara Göre İleum ve Jejunum Barsak Çapının Ameliyat Öncesi ve Ameliyat Sonrası Değerleri Ortalamaları .....	36
Şekil 4.10. Gruplar ve Alt gruplar arasında Villus Uzunluğu, Kript Derinliği ve Mukozal kalınlık Değerleri Ortalamaları.....	38
Şekil 4.11. Gruplar ve alt gruplar arasında mitoz ve goblet hücre sayısı ortalamaları.....	39
Şekil 4.12. Gruplara Göre Yapışıklık Dağılımı.....	40

## TABLULAR LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
Tablo 3.1. Yapışıklıkların değerlendirilmesi.....	29
Tablo 4.1. Gruplar Arasında Kilo ve İnce Barsak Uzunluğunun Preop ve Postop Değerlerinin Karşılaştırılmasında Tekrarlı Ölçümler İçin Tek Yönlü ANOVA Testi.....	34
Tablo 4.2. Gruplar İle Alt Gruplar Arasında Barsak Çapının Preop ve Postop Değerlerinin Karşılaştırılmasında Tekrarlı Ölçümler İçin İki Yönlü ANOVA Testi.....	35
Tablo 4.3. Gruplar Arasında İleumda Villus Uzunluğu, Kript Derinliği, Mukozal Kalınlık, Mitoz Sayısı ve Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılmasında İki Yönlü ANOVA Testi .....	37
Tablo 4.4. Gruplar Arasında Jejunumda Villus Uzunluğu, Kript Derinliği, Mukozal Kalınlık, Mitoz Sayısı ve Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılmasında İki Yönlü ANOVA Testi .....	37
Tablo 4.5. Birinci Grupta Alt Gruplar Arasında Villus Uzunluğu, Kript Derinliği, Mukozal Kalınlık, Mitoz Sayısı ve Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılmasında İki Yönlü ANOVA Testi .....	37
Tablo 4.6. İkinci Grupta Alt Gruplar Arasında Villus Uzunluğu, Kript Derinliği, Mukozal Kalınlık, Mitoz Sayısı ve Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılmasında İki Yönlü ANOVA Testi .....	38
Tablo 4.7. Gruplar Arasında Yapışıklık Değerlerinin Karşılaştırılmasında Ki-Kare Testi .....	39

# 1. GİRİŞ

Kısa barsak sendromu (KBS) geniş intestinal rezeksiyonu takiben gelişen malabsorbsiyon ve buna bağlı malnütrisyonla karakterize klinik bir durumdur. Yenilen besinler geride kalan emilim yüzeyi yetersiz olduğu için emilememekte ve diarenin de eşlik etmesiyle gastrointestinal yoldan yoğun besin, sıvı ve elektrolit kaybı gelişmektedir. İnce barsakların bu bariyer fonksiyonu yanında yoğun lenfoid doku içerdiği ve bağışıklık sisteminde önemli bir rolü olduğu da önemli bir gerçektir( 1- 5).

Yetişkinlerde geniş rezeksiyonun sıklıkla nedeni mezenterik infarkt, chron hastalığı, travma ya da radyasyon enteriti iken, pediatrik grupta nekrotizan enterokolit, intestinal atrezi, gastroşizis gibi hastalıklardır(5, 6). Geniş rezeksiyon sonucu geride kalan barsaktaki yapısal ve fonksiyonel adaptasyon rezeksiyon miktarı ve yeri, ileoçekal valvin varlığı ve kalan barsağın adaptasyon yeteneğine bağlı olup sağ kalımı genelde kötüdür(6, 7). Yetişkinlerde ince barsakların %75 veya daha fazlasının rezeke edilmesi ve geride kalan barsak uzunluğunun 70-100 cm olması durumunda enteral otonomi kaybolur ve dolayısıyla uzun süreli total parenteral nutrisyon zorunluluğu doğar(8, 10).

Hasta bakımındaki gelişmeler ile birlikte Total Parenteral Beslenme' nin( TPB) kullanıma başlanmasıyla KBS' li hastaların yaşam süreleri uzamış ve mortalite oranları düşmüştür(10). Yaşayan hastaların çok yönlü problemleri daha iyi anlaşılmasına başlanmıştır. Ancak en büyük yardımcı olan TPB bile teknik güçlükleri, ekonomik olmaması ve çeşitli komplikasyonları nedeniyle sınırsız uygulanabilecek bir yöntem değildir. Bu nedenle TPB' ye bağımlılığı en kısa zamanda kaldırmak ya da önemli bir oranda azaltmak hayat kurtarıcı olabilir. Prognozu daha umutlu hale getirecek alternatif ya da yardımcı yöntemler araştırılmalıdır.

Kök hücreler son yıllarda tüm tıp dünyasının en çok üzerinde durduğu ve her yıl yüzlerce yeni çalışmanın yapıldığı bir konu haline gelmiştir. Kemik iliği kaynaklı MKH' lerin, de novo miyokard oluşturduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda miyokard enfarktüsü ve koroner arter hastalıklarında intrakoroner kök hücre infüzyonunun, kalp kası rejenerasyonunda oldukça etkili olduğu bildirilmiştir(75, 76). Bundan başka oftalmolojide de araştırmacılar hasar görmüş göze başarılı bir şekilde korneal kök hücre transplante ederek, görme kabiliyetini restore etmişlerdir(77). Aynı hücrelerin başka uyaranlarla nöral hücre serisine de dönüşebildikleri gözlenmiş ve ALS gibi hastalıklarda spinal korddaki

hasarlı bölgeye verilen kök hücrelerin, ablatif sinir hücrelerini rejenere ettiği ve sonuçta lökomotor fonksiyonun geri döndüğü gösterilmiştir(78).

Bu araştırmada kısa barsak sendromlu sıçanlarda kök hücre tedavisinin yeri araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnce Barsak Anatomisi

İnce barsaklar erişkinlerde tahmini uzunluğu 6 metre olan tübüler bir yapıdır. Sırasıyla    bölümden oluşur: duodenum, jejunum, ve ileum(12- 14). Duodenum en proksimal segmenttir, pankreas başı ve pankreas cisminin inferioruna çok yakın komşuluk içinde ve retroperitoneal yerleşimlidir. Duodenum mideden pilor, jejenumdan ise Treitz ligamanı ile ayrılır. Jejenum ve ileum periton boşluğu içerisinde yer alır ve retroperitoneal alana geniş tabanlı bir mezenter ile tutunur. İleumu jejenumdan ayıran kesin bir anatomik sınır yoktur; genel olarak jejunoileal segmentin proksimal %40' lık bölümünü jejunum, distal %60' lık bölümünü ileum oluşturur. İleum çekumdan ileoçekal valv ile ayrılır(12-14)

İnce barsaklar inspeksiyonla ayırt edilebilen sirküler plaka ya da valvula conniventes adı verilen mukozal kıvrımlar içerirler. Bu kıvrımlar radyolojik olarak da izlenebilmekte ve bu sayede abdominal radyografide ince barsak ile kolon ayırımı yapılabilmektedir. Bu kıvrımlar distal ince barsaklara göre proksimal ince barsaklarda daha belirgindir. Proksimal ince barsaklar için distal ince barsaklara göre daha karakteristik olan özellikler barsak çapının daha geniş olması, duvarının daha kalın olması, mezenterin daha az yağlı olması ve vaza rektaların daha uzun olmasıdır. İnce barsak mukozası ayrıca gross olarak da izlenebilen lenfoid follikül grupları içerir. Bu foliküller ileumda daha da belirginleşerek Peyyer plaklarını oluştururlar(12- 14)

Duodenumun proksimal bölümü arteriyel kan akımını  olyak ve süperior mezenterik arterden alır. Distal duodenum, jejunum ve ileum artreyel kan akımını süperior mezenterik arterden alır. Venöz drenaj süperior mezenterik ven ile olur. Lenfatik drenaj arterlerle ilişkili, ve arterlere paralel seyreden lenf damarları aracılığıyla olmaktadır. Lenf sıvısı, mezenter lenf nodlarından lenfatikler ile sisterna şiliye, buradan da torasik duktus yolu ile sol subklavien vene olmaktadır. Parasempatik innervasyon vagus siniri, sempatik innervasyon splanknik sinirler aracılığı ile olmaktadır(12- 14)

## 2.2. İnce Barsak Histolojisi

Sindirim kanalı genel yapı özelliği olarak; Tunika mukoza, Tunika submukoza, Tunika muskularis ve Tunika seroza tabakalarından oluşmaktadır(15).

İnce barsak mukozası üç tabakadan oluşur;

1- Epitel

2- Lamina propria

3- Muskularis mukoza

Mukozal yüzeyde iki önemli yapı vardır;

a- Villus

b- Lieberkühn kriptalar

İnce barsağın mukozası, emilim amacıyla yüzey alanını arttıran özel yapılar sergilemektedir. Bu yapılar:

**Plika sirkülares:** Submukozal içyapı ile birlikte mukozanın oluşturduğu, barsak lümenine dek uzanan ve süreklilik gösteren spiral şekilli katlantılar ya da yükseltilerdir. Bu yapılar ince barsak emiliminin en çok olduğu proksimal kısımda daha belirgindir ve ileuma doğru belirginlikleri azalır(15).

**Villuslar:** Mukozanın epitel ve lamina propria tabakasının oluşturduğu, aynı zamanda lümeneye doğru çıkıntılar yapan ve süreklilik gösteren parmaksız uzantılardır. Bu yapılar tek katlı prizmatik epitelyum ile döşelidir ve ince barsağın proksimalinde daha belirgindir. Her bir villusun iç bağ doku yapısı lakteal olarak adlandırılan lenf kapillerleri, kan kapillerleri ve düz kas demetleri içermektedir. İnsan jejunal villusu yaklaşık 0,5- 1 mm yüksekliktedir ve mukoza yüzeyinin her mm<sup>2</sup>' sine 10- 40 vili düşer. Her villusun muskularis mukozasında kontraktilesini sağlayan düz kas lifleri bulunur(15)

**Mikrovilluslar:** İnce barsağın apikal bölgelerini kaplayan sitoplazmik uzantılardır. Bu yapılar ışık mikroskopunda çizgili kenar olarak izlenir.

Plikalar intestinal yüzeyi üç kat, villuslar on kat ve mikrovilluslar yirmi kat arttır. Böylece bu oluşumların hepsi birlikte intestinal yüzeyde 600 kat artış sağlar. Bu da 200 m<sup>2</sup> lik bir alanı kapsar(15)

**M (Membranöz epitelyal) hücreler,** Peyer Plaklarının lenfoid foliküllerini örten özelleşmiş epitelyal hücrelerdir. Bu hücrelerin apikal ve lateral yüzeylerinde çok sayıda membran invajinasyonları vardır(15).

**Lamina propria:** Kan damarları ve lenfatik kanallar ile zengin bir bağ dokusu tabakasıdır. Peyer plakları olarak adlandırılan yaygın lenf düğümlerini içerir. Her plak 10-

200 nodülden oluşur ve ince barsağın antimezenterik tarafında çıplak gözle oval bir alan olarak görülebilir. İnsanda yaklaşık 30 plak vardır ve çoğu ileumda bulunur(15)

**Tunika submukoza:** Gevşek bağ dokusu yapısı ile mukozanın hareketini sağlayan bu tabakada da lamina propriada olduğu gibi, çeşitli bağ dokusu hücreleri bulunur. Submukozal makrofajlar tarafından yapılan bakteriyel fagositozda oldukça önemli bir basamaktır. Pleksus Submukoza Meissneri, Pleksus Myenterika Auerbachî' den gelen sinir ağının submukozadaki devamı gibidir(15)

**Tunika muskularis:** İnce barsakların duvarında, içte sirküler, dışta longitudinal sıralanmış düz kas hücreleri kuvvetli bir kas tabakası oluştururlar. İki tabaka arasında Pleksus Myenterika Auerbachî yer almıştır(15)

**Tunika seroza:** Midedeki yapıyı sürdürür. Kan ve lenf damarları girişleri ile damar ağları subserozada bulunur(15).

### 2.3. Kısa Barsak Sendromu

İlk başarılı ince barsak rezeksiyonu 1880 yılında Koberle tarafından yapılmıştır. 1888' de Senn geniş ince barsak rezeksiyonu sonucunda diyare ve malabsorbsiyonun meydana geldiğini gözlemlemiş olup bu konudaki ilk yayın, 1912 yılında 200 cm' den fazla ince barsak kaybına uğramış 55 hasta ile Haymond' a aittir(2, 6, 7, 16, 17). Kısa barsak sendromu (KBS) geniş ince barsak rezeksiyonun nutrisyonel ve metabolik sonuçları olarak tanımlanır. Hastaya KBS tanısı koyabilmek için malabsorbsiyonun bulunması gereklidir. Geniş ince barsak rezeksiyonunu takiben 1- 3 aydan uzun süreyle Total Parenteral Beslenme (TPB) desteğine ihtiyaç duyan hastaya, KBS tanısı konulabilir(9).

KBS tablosu erişkinlerde 200 cm' den az ince barsaklar kaldığı durumlarda oluşur. Erişkinlerde ortalama ince barsak uzunluğu 550 cm' dir. Bu uzunluk ırka, vücut ağırlığına ve vücut biçimine bağlı olarak 350- 700 cm arasında değişir. Fonksiyonel kolon varlığında TPB' den bağımsız 100 cm rezidü barsak tolere edilebilirken TPB ile bu sınır 60 cm' ye kadar düşmüştür(2, 6, 18). Yetişkinlerde KBS' nin en sık nedenlerinden biri Crohn Hastalığı nedeniyle yapılan tekrarlayıcı rezeksiyonlardır(2, 3 6, 18)



### **2.3.1. İnsidans**

KBS görülme sıklığı hakkında bildirilmiş kesin veriler yoktur. Genel olarak Avrupa’ da 12,7 milyon/ yıl, Kanada’ da 4,8 milyon/ yıl olarak bildirilmiştir. ABD’ de 2 milyonun üzerinde hastayı kapsamaktadır ve 40.000’ in üzerinde hasta evde kronik TPB’ ye bağımlı olarak yaşamaktadır(3, 4, 18).

### **2.3.2. Etyoloji**

Masif ince barsak rezeksiyonun en sık nedeni ince barsak kanlanması bozulmasına bağılı iskemi veya nekrozdur(2, 3, 5). Gençlerde en sık sebebi tekrarlayan rezeksiyonları nedeniyle Crohn hastalığıdır. Morbid obezite cerrahisinin gelişimi sırasında birçok hastaya iyatrojenik KBS oluşturularak tedavi edilmeye çalışılmıştır(17, 20, 21).

### **2.3.3. Patofizyoloji**

Kısa barsak sendromundaki patofizyolojik değişiklikler barsak absorpsiyon yüzeyinin kaybına ve barsak geçişinin daha hızlı olmasına bağılı ortaya çıkar. Besin malabsorpsiyonu, malnutrisyon ve kilo kaybına, ishal ve yağlı dışkıya, vitamin eksikliği ve elektrolit dengesizliğine neden olur. Diğer spesifik komplikasyonlar ise hiperoksalüriye bağılı nefrolitiazis, değişen safra tuzları ve bilirubin metabolizmasına bağılı kolelitiazis ve gastrik hipersekresyondur. Mekanik tıkanıklık ya da primer motor anormalliklerine bağılı bakteriyel çoğalma oluşur. Klinik bulgular %50- 80 barsak rezeksiyonundan sonra ortaya çıkarken duodenum, proksimal jejunum, terminal ileum ve ileoçekal valvin korunması halinde ince barsakların yarısının çıkarılması önemli bir sorun yaratmaz. Terminal ileum ve ileoçekal valvinde çıkarıldığı %25’ lik bir ince barsak rezeksiyonu bile önemli malabsorpsiyon ve yaşam kalitesinde bozulmaya yol açabilir(4, 22).

Günümüzde TPB, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, ileri hasta desteği ve organ nakli gibi modern cerrahi tekniklerle yaşam süresi ve kalitesi arttırılmış olsada, KBS’ nin morbidite ve mortalitesi hala yüksektir(3). KBS’ nin seyrini geride kalan barsağın uzunluğu ve niteliği, ileoçekal valvin varlığı, sepsis ve TPB’ ye bağılı komplikasyonlar belirler(4, 5, 23)

İnce barsak rezeksiyonu sonrası yaşam şansını ve kalitesini belirleyen üç faktör vardır. Bunlar; kalan barsağın uzunluğu, çıkartılan barsak kısmı ve hastanın ameliyat öncesi genel durumudur(4).

#### **Kalan barsağın uzunluğu:**

Desteksiz yaşam için Treitz' dan itibaren 150 cm' nin üzerinde jejunum gereklidir. Sağlam bir kolon varlığında ise 50- 70 cm jejunum- ileal uzunluk intestinal otonominin sağlanması için yeterlidir(2, 6, 16).

180 cm' den fazla barsak kalanların çoğu parenteral beslenmeye ihtiyaç duymazlar. 90 cm' den fazla barsak kalanlara ise 1 yıldan daha az parenteral beslenme verilirken,60 cm' den az barsak kalanlar kalıcı parenteral beslenmeye gerek duyarlar.

#### **Çıkartılan barsak kısımlarının önemi:**

**Jejunum:** Normal bir bireyde sindirim ve besinlerin absorpsiyonunun %90' ı jejunumun ilk 100 cm' lik kısmında tamamlanmaktadır. Proksimal ince barsaklarda villuslar daha uzun, kripler daha derindir. Mikrovillus enzim aktivitesi ve besin absorpsiyon kapasitesi distale göre birkaç kat daha fazladır. Buna rağmen jejunumun çıkartılmasının makronutrientler, elektrolitler ve su absorpsiyonu üzerine olumsuz etkisi daha azdır. Çünkü ileum tüm barsakların adaptasyon kapasitesi en yüksek olan kısmıdır. Jejunumun tüm absorbtif fonksiyonlarını üzerine alır. Böylelikle jejunal rezeksiyonlar iyi tolere edilebilir(16). Jejunum rezeksiyonlarından sonra buradan salınan kolesistokinin ve sekretin salınımı azalır. Bunun sonucu olarak safra ve ekzokrin pankreas sekresyonları azalır. Besinlerin absorpsiyon kapasitesinde düşme meydana gelir. Ayrıca jejunum rezeksiyonlarından sonra kolesistokinin, vasoaktif intestinal peptid, gastrik inhibitör peptid ve serotonin salınımındaki azalma, serum gastrin seviyesinde artma ile beraber gastrik hipersekresyona yol açar(24). Jejunum rezeksiyonu, jejunal fırçamsı kenarlardan salınan karbonhidrat enzimlerinin kaybına ve dolayısıyla karbonhidrat sindirim ve absorpsiyonunun azalmasına neden olur. Lümen içindeki yüksek şeker konsantrasyonu, bakteriyel gelişmeyi artırır. Bakteri ve karbonhidrat etkileşimi sonucu laktik asit oluşur. Bu laktik asidin kolondan yüksek oranda absorpsiyonu da laktik asidoza neden olur(20).

**İleum:** Jejunuma oranla besinler, su ve elektrolitlere daha az geçirgen olmasına rağmen yağda eriyen vitaminlerin, safra asitleri ve vitamin B12' nin aktif transportu açısından kritik öneme sahiptir. 100 cm' den fazla ileum rezeksiyonu sonrasında safra asitlerinin aktif transportu bozulur ve lümen içinde kalan safra asitleri kolona geçer. Bu safra asitleri kolonik bakteriler tarafından dekonjuge edilir. Dekonjuge safra asitleri kolonu

stimüle ederek sıvı ve elektrolit salınımına ve sekretuar diyareye yol açar. İntestinal adaptasyon periyodu sırasında safra asidi kaybı hepatik safra asidi sentezindeki artışla karşılanmaya çalışılır. Geniş ileum rezeksiyonlarında safra asidi malabsorbsiyonu safra asidi sentezini azaltır. Bu durum yağların miçel oluşturmadan kolona serbest geçişine yol açar. Kolondaki serbest yağlar bakteriler tarafından hidroksile edilir. Oluşan hidroksistearik asit kolonu stimüle ederek steatore ile birlikte sıvı ve elektrolit kaybına yol açar. Vitamin B12 ileumdan absorbe edilir. 60 cm' den fazla ileum rezeksiyonlarında vitamin B12 malabsorbsiyonu görülür(24).

**Kolon:** Kolon bütün barsaklar içinde en yavaş motilite ve en yüksek absorbtif kapasiteye sahip kısımdır. Kolonun primer fonksiyonu günde 2- 3 litreyi bulan sıvı absorpsiyonudur. İleum ve kolonun beraber rezeksiyonu, ciddi dehidratasyona, hipokalsemi ve hipomagnezemiye yol açar. Majör ince barsak rezeksiyonlarından sonra kolonun korunması, absorpsiyon yüzeyini arttırarak ve erken gastrik boşalmaya engel olarak KBS' nin şiddetini azaltır. Kolonu korunmuş olan hastalar çok kısa jejunuma sahip olsalar bile parenteral destek olmadan yaşamlarını sürdürebilirler. Fakat kolonik bakterilerin safra asitlerini dekonjuge ve yağ asitlerini hidroksile etmesi sonucu kolondan olan sıvı ve elektrolit sekresyonu, kolonun korunmasının sağladığı yararlı etkileri kısıtlar. Ayrıca kolonun korunması ile lümen içindeki serbest yağ asitleri kalsiyumu bağlayarak okzalatın serbest kalmasına neden olur. Serbest okzalat absorbe edilip sistemik dolaşıma katılır ve renal kalsiyum okzalat taşlarının oluşmasına yol açar(18, 19, 25, 26).

**İleoçekal valv:** Bu valvin en önemli görevi intestinal transit zamanını uzatmasıdır. Böylelikle intestinal içeriğin mukozal yüzeylerle daha uzun süre temas etmesine ve yeterli bir absorpsiyona olanak sağlar. Ayrıca ileoçekal valv kolonik mikroorganizmaların distal ince barsağa reflüsüne engel olan bir bariyer görevi görür(4, 19) İleoçekal valvin rezeksiyonu ince barsaklarda bakterilerin aşırı çoğalmasına neden olur. Bu bakteriler ince barsak lümeninde safra tuzlarını dekonjuge ederek miçel formasyonuna engel olur, yağların ve yağda eriyen vitaminlerin emilmesini bozarlar. Dekonjuge safra tuzlarının kolon geçmesi sıvı ve elektrolit sekresyonunu uyarak diyareyi arttırır. Son olarak bu bakteriler intestinal lümendeki vitamin B12' yi kullanırlar ve bu vitaminin malabsorbsiyonunu daha da arttırırlar(19). KBS' li bir hastada ileoçekal valvin korunması gerideki ince barsağın adaptasyon kabiliyetini iki katına çıkarmasına katkıda bulunur. Ancak ileoçekal valv tek başına yeterli değildir, geriye kalan ince barsağın tipi daha önemlidir(19, 24).

#### 2.3.4. KBS' de Tedavi Yönetimi

KBS klinik tablosunun ortaya çıkmadan önlenmesi tedavisinden çok daha önemlidir. Yaygın ince barsak iskemisi olan hastalarda mümkün olduğu kadar geniş ince barsak rezeksiyonu yapmaktan kaçınılmalı ve 24 saat sonra ikinci bir ameliyat ile barsakların durumu tekrar değerlendirilmelidir. Crohn Hastalığında da cerrahi tedavi prensip olarak; medikal tedaviye rağmen striktürlerin devam etmesi halinde mümkün olduğunca konservatif rezeksiyon şeklinde olmalıdır(4, 22).

KBS tedavisi hastadan hastaya değişir. Tedavi klinik evrelere göre düzenlenmelidir(4, 22, 26, 28).

**1.Evre:** Ameliyat sonrasındaki üç haftalık süreyi kapsar. İlk semptom olarak dinamik ileus gelişir, sonrasında bu evrede en önemli özellik yüksek miktardaki sıvı ve elektrolit kaybıyla giden diyaredir. Bu dönem boyunca sıvı- elektrolit ve besin ihtiyacı parenteral yolla karşılanmalıdır. Oral alım gastrik hipersekresyonu arttırarak sıvı ve elektrolit kayıplarını arttırır. Ağız yoluyla beslenme yapılmayarak TPB uygulanır. Dışkı hacminin belirli bir platoya erişmesi ve sıvı-elektrolit kayıplarının kabul edilebilir seviyeye inmesiyle ikinci evre tedavisine geçilir. Bu süre 3- 4 aya kadar uzayabilir(4, 22, 28).

**2.Evre:** Adaptasyon ile ishalin azaldığı dönemdir. Hastalar oral aldıkça diyare başlar. Ancak enteral beslenme intestinal adaptasyon için şart olduğundan uygun şartlar oluştuğunda oral gıdalara geçilmelidir(28). Oral beslenmeye kademeli olarak geçilir ve bu dönemde de intravenöz sıvı desteği sürer. Bu dönem 3- 6 ay sürer. Maksimum adaptasyon 2 yıla kadar sürebilmektedir ve bu dönemin süresinin belirleyicisi adaptasyondur.

**3.Evre:** 3- 12 ay sonra bu evreye geçilir. Çoğu hasta normal diyetle evine gönderilse bile beslenme bozuklukları gösterirler. Normal diyete ek olarak demir, B12 vitamini, folat, magnezyum, D vitamini verilmelidir.

#### 2.3.5. Beslenme desteği

KBS' de tedavi, kalan barsak segmenti uzunluğuna, ostomi varlığına, hastanın içinde bulunduğu klinik evreye, barsakların adaptasyon yeteneğine ve komplikasyonların varlığına bağlı olarak değişen dinamik bir süreçtir. Geniş ince barsak rezeksiyonu yapılan hastaların hemen hepsine ameliyat sonrası erken dönemde 35 kcal/ kg/ gün ve 1,0- 1,5 g/ protein/ gün başlanmalıdır(27). Bu hastaların kiloları, fekal- stomal ve üriner sıvı-

elektrolit kayıpları yakından izlenerek en uygun sıvı- elektrolit balansı sağlanmalıdır. Gastrik hipersekresyonu azaltmak için erken dönemde H2 reseptör blokörü veya proton pompa inhibitörü başlanmalıdır(4).

Somatostatin ve uzun etkili analogu octreotid kullanımı, KBS' li hastalarda şiddetli ishal tedavisinde tartışılmış; transit zamanını kısaltıcı, sekresyonları azaltıcı etkisinden faydalanmaya çalışılmıştır. Fakat kolelithiazis gelişimi, pankreatik ekzokrin sekresyonların önlenmesine bağlı steatorenin daha da kötüleşmesi gibi yan etkiler kullanımı sınırlamıştır. Somatostatin kullanımının hayvanlarda intestinal adaptasyonu önlediği gösterilmiş, bu durum kullanımını, çok gerekli ise erken ameliyat sonrası dönemle sınırlamıştır(3, 2, 26). Erken ameliyat sonrası dönem geçtikten sonra tedavi planı rezeksiyon tipine göre şekillendirilir(18).

### **2.3.6. Diyarenin Kontrolü**

KBS' de diyarenin kontrolünde en sık kullanılan ilaçlar sentetik opiatlar olup kodein, difenoksilat ve loperamid intestinal motiliteyi azaltarak absorpsiyonu arttırlar ve intestinal sekresyonu azaltırlar. Alfa 2 adrenerjik agonistler intestinal absorpsiyonun potent stimülatörleridir. Kolnidin, ince barsaklar ve kolonda sodyum ve klor absorpsiyonunu arttırır. Fakat hipotansif ve sedatif etkileri kullanımını kısıtlar. Somatostatin analogları KBS' de diğer ilaçlara dirençli diyarenin tedavisinde kullanılabilirler(22, 24).

### **2.3.7. Hormonal Tedavi**

KBS' de intestinal adaptasyonu arttırmak ve barsak rehabilitasyonunu sağlamak için kullanılan, klinik deneylerde en çok adı geçen maddeler Growth hormon ve glutamindir. Bu iki maddenin değişik miktar ve sürelerde KBS' li hastalar üzerinde kullanılması sonucunda elde verilen veriler birbirini destekler nitelikte değildir(1, 30- 34).

Klinik deneylerde kullanılan diğer bir büyüme faktörü GLP- 2(Glukagon Benzeri Peptid- 2)' dir(30). Bu faktörün terapötik dozlarda enerji ansorpsiyonunu arttırdığı, gastrik asit sekresyonunu azalttığı ve gastrik boşalma süresini uzattığı gösterilmiştir.Fakat henüz klinik olarak etkinliği kanıtlanmış standart bir hormonal tedavi yoktur.

### 2.3.8. Cerrahi Tedavi

Önemli olan KBS' nin oluşumunun önlenmesidir ve ilk cerrahiye ya da tekrarlayan cerrahi işlemlerde mümkün olan en az miktarda barsak çıkartılmaya çalışılmalıdır. İntestinal adaptasyonla çoğu hastada yeterli beslenme sağlanır ve ek cerrahi tedavi gereği ortaya çıkmaz. KBS' li ve birinci yılında olan hastalar barsak dismotilitesi, bakteriyel aşırı çoğalma, yetersiz adaptasyon ve çok kısa barsak uzunluğu nedeniyle TPB' ye bağımlıdırlar. Bu grup hastalar cerrahi prosedürlerden yarar görebilirler.

Kalan barsak segmentlerinin kapasitesini arttırmak için intestinal geçişi yavaşlatan ve emilim alanını arttıran teknikler uygulanır.

**1.İntestinal geçişi yavaşlatan teknikler:** Geçiş zamanı oldukça kısalmış olan hastalar için kullanılan tekniklerdir(29, 35, 36).

a. Antiperistaltik barsak segmenti; genellikle distal ince barsaktan 10- 15 cm' lik bir segment ters çevrilerek yapılır. Erişkin hasta serilerinde % 70' e varan olumlu etkileri olmasına rağmen çocuklarda etkinliği kısıtlı olan bir yöntemdir.

b. Kolon interpozisyonu; bir kolon segmentinin distal ince barsağa izoperistaltik olarak yerleştirilmesidir.

c. İntestinal valv oluşturulması; sıklıkla barsak segmentlerinin birbiri içine teleskopik olarak olarak itilmesi ile oluşturulur.

d. Retrograd elektriksel uyarı ve recycling lup uygulamaları; insanlardaki kullanımı kısıtlı olan transit yavaşlatma teknikleridir.

**2.Emilim alanını arttıran teknikler:** KBS' de transplantasyon haricinde en sık kullanılan tekniklerdir. Adaptasyon süresi sonunda ince barsaklarda dilatasyon meydana gelmektedir(35, 36).

a. İlk kez Bianchi tarafından tarif edilen intestinal inceltme ve uzatma tekniğinde ince barsak mezosu her iki tarafın beslenmesi bozulmayacak şekilde ikiye ayrılır. Barsak uzunlamasına stapler ile ikiye bölünür. Ve uç uca anastomoz edilir.

b. Bundan başka, peş peşe transvers enteroplastiler yeni tarif edilmiş olmasına rağmen sıkça kullanılan diğer bir yöntemdir. Bu yöntemde lineer stapler ile barsak ansına karşılıklı küçük çentikler yapılır.

**3. Transplantasyon:** KBS' nin cerrahi tedavisinde en uygun yöntem ince barsak transplantasyonudur. Özellikle çocuklarda komplikasyonların sıklığı nedeniyle bazen tek tedavi seçeneği olmaktadır. Cerrahi teknik ve immunsupresif ajanlardaki gelişmeler her geçen yıl sağ kalım oranlarını artırmaktadır(35).

### **2.3.9. Adaptasyon**

Adaptasyon, masif barsak rezeksiyonu sonrası ani mukozal yüzey alanı azalmasına verilen kompensatuar bir cevaptır(25).

İnsanlarda masif ince barsak rezeksiyonlarından sonra kalan barsak kısımlarında adaptif değişiklikler 24- 48 saat içinde başlar ve 1- 2 yıl kadar sürer(22, 37, 38). Altı aydan daha uzun bir süre içinde eğer barsak adaptasyonu gelişmezse refrakter KBS denir. Kompensatuar değişiklikler barsağın tüm tabakalarında görülmektedir ve kalan ince barsakta uzama, genişleme ve kalınlaşma şeklinde ortaya çıkar(39). En erken değişiklik, villus hiperplazisi ile sonuçlanan, hızlı bir şekilde villuslara doğru göç eden proliferatif zondaki kriplerde artmış enterosit sayısıdır. Adaptasyonda değişikliğin derecesi distal bölgelere nazaran proksimal bölgelerdeki rezeksiyonlarda daha belirgindir. Adaptasyon, rezeksiyonun yeri ve miktarına, ileoçekal valv varlığı ya da yokluğuna, altta yatan primer hastalığa ve medikal tedaviye göre değişebilir. Barsak kaybı ne kadar fazla ise, villusların hipertrofisi de o oranda fazla olur. Jejunum rezeksiyonu sonrası ileum daha uzun villuslara ve daha derin kriplere sahip olarak jejunum benzeri morfoloji ve fonksiyona ulaşır. Barsakların kalan bölümlerini besleyen damarlarda dilatasyon ve kolonda da uzunluk artışı olmaktadır(17).

#### **Yapısal adaptasyon**

##### **1. Makroskopik (40) :**

a. Hipertrofi ve hiperplazi nedeniyle barsak duvarı kalınlaşır. Barsağın çapı genişleyerek 5- 6 cm kadar artar. Bu durum bakteri stazı ve translokasyonuna zemin hazırlar.

b. Barsağın boyu uzar. Hastanın yaşı barsağın ne kadar uzayacağı konusunda belirleyicidir.

##### **2. Mikroskopik(24, 41) :**

a. Villus ve kript sayısı değişmez.

b. Villus ve kript başına düşen epitel hücrelerinin sayısı artar.

#### **Fonksiyonel adaptasyon**

##### **1. Sindirim ve emilim(42, 43) :**

a. Özellikle su ve sodyum emilim kapasitesi artırılır. Bu amaçla sodyum/ glukoz reseptörleri daha etkin çalışır ve böylece su emilimi 2,5 katına kadar çıkarılabilir.

b. Disakkaridaz ve dipeptidaz aktiviteleri üç hafta içinde iki katı artmaktadır.

## 2. Barsak geçirgenliği(44) :

a. Direkt geçirgenlik artışı olduğu henüz gösterilememiştir.

b. Rezeksiyon yapılan ve TPB alan olgularda bakteriyel translokasyon fazla bulunmuştur.

Kısa zincirli yağ asitleri bakteriler tarafından karbonhidratların fermantasyonu sonucunda üretilirler. Kolonda epitel hücreleri tarafından metabolize edilirler ve enerji kaynağı olarak kullanılırlar. Masif rezeksiyon sonrasında mukozal atrofiyi engelleyerek adaptasyonu hızlandırmaktadır(24, 45). Enteral besinlerin adaptasyonu arttırdığını düşündüren diğer bir mekanizma; pankreas ve safra sekresyonudur. İleal mukoza içerisinde pankreas ve safra sekresyonlarının normalden yüksek konsantrasyonda bulunması mukozal hiperplaziyi arttırmaktadır(46, 47). Enteral beslenme ayrıca barsak nöronal aktivitesini, peristaltizmini ve splanknik kan akımını artırarak adaptasyona katkıda bulunmaktadır(48). Kalan ince barsak dokusunda metabolizmanın ihtiyacını karşılamak üzere, makroskopik ve mikroskopik değişiklikler ile belirginleşen adaptasyon süresi ortaya çıkmaktadır. Geniş rezeksiyon sonrası intestinal geçirgenlik artmakta, bu da bakteriyel translokasyon ve sepsise zemin hazırlamaktadır. Adaptasyonun bu faktörlere bağlı yetersiz kalması, KBS' li hastaların tedavisinde umut veren seçeneklerden biri konumuna gelmiştir.

## 2.4. Kök Hücre

Kök hücreler, uygun biyokimyasal sinyallerin varlığında farklı hücre tiplerine dönüşebilme özelliğine sahip hücrelerdir. Bugün için tedavisi mümkün görünmeyen hastalıkların birçoğu, yaşam için vazgeçilmez olan bazı hücre, doku ve organların, bir daha asla normal yapı ve işlevlerine döndürülmeyecek şekilde hasarlanmış olması sonucudur. Tip 1 diyabet hastalığı, Parkinson hastalığı, Alzheimer, Multipl skleroz gibi birçok hastalığın tedavisini sağlamak amacıyla araştırmacılar; hasar gören hücre, doku veya organların biyolojik işlevlerini yerine koymayı ya da tamir etmeyi sağlayacak yöntemler üzerinde çalışmışlardır. Bir hedef doku veya organa, o organın işlevlerini eski haline getirmeye yetecek kadar sayıda ve kalitede izole edilmiş ve özellikleri belirlenmiş olan hücrelerin nakledilmesiyle bu amaca ulaşılabilir. Kök hücreler, bu amaca hizmet edebilecek yani hücre tabanlı tedavide kullanılacak başlıca unsur olarak görünmektedir(49).



1983 yılında allojenik hematopoetik kök hücre nakli sonrası komplikasyon olarak, yaygın akciğer ossifikasyonlarına bağlı olarak solunum yetmezliği tespit edilmiştir. Bu olayın üzerine ilk kez Sale tarafından, in vivo plastisite kavramı tanımlanmıştır(50). Sonraki yıllarda, başta kemik iliğinde bulunan kök hücrelerin in vitro ve in vivo koşullarda yalnızca kaynaklandıkları doku ve organların hücrelerini değil vücudun diğer işlevsel hücrelerine de dönüşebildiklerini (plastisite) gösteren birçok rapor yayınlanmıştır. Diğer erişkin kök hücre kaynaklarına oranla daha kolay elde edilebilir olmaları nedeniyle kemik iliği kaynaklı kök hücreleri (KİKKH) öncelikli olmak üzere farklı kaynaklardan elde edilen kök hücreler, tıpta oldukça önemli kaynak olmuşlardır(49).

Farklı sınıflamalar olmakla birlikte kök hücreler buldukları dokuya göre embriyonik kök hücreler ve erişkin kök hücreler olmak üzere iki genel gruba ayrılabilir. Farklılaşma potansiyellerine göre kök hücreler totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent kök hücreler olarak sınıflandırılırlar(49). Totipotent hücre; döllenme meydana geldiğinde oluşan hücre (zigot) tek başına tüm organizmayı meydana getirebilecek genetik bilgiye ve güce sahiptir. Pluripotent hücreler; vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip olmalarına rağmen, artık tek başlarına tüm organizmayı oluşturacak güce sahip değildir(49). Multipotent hücreler; birbirine yakın hücre gruplarını oluşturabilen kök hücrelerdir. Kan kök hücreleri, kemik iliğinde bulunur ve gerektiğinde beyaz kan hücrelerine, kırmızı kan hücrelerine ve trombositlere dönüşebilir. Oligopotent hücreler; lenfoid ve myeloid hücrelerde olduğu üzere sadece birkaç hücre grubunu oluşturan kök hücrelerdir. Unipotent hücreler; kas ana hücresinde olduğu üzere bir hücre tipini oluşturan kök hücrelerdir(51).

Kök hücreler birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Bunun en iyi örneği döllenmiş yumurta hücresi ya da zigottan itibaren görülebilmektedir. Bu totipotent hücreler sınırsız farklılaşma ve farklı yönlere gidebilme yeteneğine sahip kök hücrelerdir. Embriyonel kök hücreler yüksek seviyede telomeraz aktivitesi içerirler. Hücre replikasyonu ile aktivasyonda azalma gözlenmez, bu nedenle sınırsız proliferasyon kapasitesine sahiptirler. Embriyonel kök hücreler tüm somatik dokuları oluşturabildiği halde, tam yeni kişiyi oluşturması mümkün değildir. (52- 54)

Erişkin bir kök hücresi, bir doku veya organdaki farklılaşmış hücreler arasında bulunan farklılaşmamış hücre olup, bu hücre kendisini yenileyebilir ve içinde bulunduğu doku veya organın özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilir. Bazı bilim adamları, erişkin kök hücresi yerine artık “somatik kök hücresi” terimini kullanmaktadır(55).

Erişkin kök hücreler totipotent değil pluripotenttir. Bu hücrelerin geniş bir farklılaşma kapasitesi olsa da embriyonik kök hücreler kadar değildir(56). Erişkin kök hücreleri kendilerini yenileme özelliklerine sahiptirler ve yaşayan organizmadaki esas görevleri ihtiyaç halinde farklılaşma göstererek doku ve organların tamirini, yenilenmelerini ve yaşamlarını devam ettirmelerini sağlamaktadırlar. Son yıllarda araştırılan birçok dokuda bu kök hücreler bulunmaktadır. Erişkin kök hücreler ile ilgili ilk çalışmalar hematopoetik kök hücreler ile yapılmıştır(57).

Friedenstein 1976' da ilk kez mezenkimal kök hücrelerin (MKH) kendilerini yenileyebildiğini, değişik bağ doku elemanlarına farklılaşabileceğini ve fibroblastlara benzer yapıları olduğunu göstermiştir(58). Ashton ve arkadaşları, 1980' de tavşan kemik iliği stromal hücrelerini izole edip başka hayvanların periton içine implante ederek kemik ve kartilaj oluşumunu göstermişlerdir(55).

Erişkin kök hücreler kemik iliğinde, periferik kanda, kan damarlarında, iskelet kasında, diş dokusunda, miyokardium içinde, karaciğerde, gastrointestinal sistemde, over epitelinde, testislerde, akciğerlerde, meme dokusunda, adipoz dokuda, deride, beyinde, medulla spinaliste, tükürük bezlerinde ve paratiroid bezlerde gösterilmiştir. Erişkin kök hücreler dokular içinde uykuda beklemekte ve ihtiyaç sinyalini aldıktan sonra etkinleşerek bölünmektedirler(55).

Kan hücrelerine köken olan hematopoetik kök hücrelerinin farklı embriyonik kökenli (ektoderm ve endoderm) hücre kaynaklı olabileceğinin ortaya çıkmasıyla, erişkin kök hücrelerine yönelik araştırmalar hızlanmıştır.

Kök hücrelerin kullanımında iki önemli özellik dikkate alınmaktadır:

- 1) Hücrelerin yüksek sayıda ve kolay elde edilebilmesi,
- 2) Uygun in vitro ve in vivo şartlarda istenilen hücre ve doku yapısına kolayca ve yüksek oranda dönüşebilmeleri.

Adipoz doku kökenli kök hücreler (ADKKH) lipoaspirasyon sonrasında veya abdominal cilt altı yolla alınmış yağ dokusunun mekanik ve enzimatik yollar ile ayrıştırılması ile elde edilen ve in vitro şartlarda farklanmadan büyüme özelliğine sahip hücrelerdir. İnsanda ilk kez 2001 yılında Zuk ve arkadaşları(59) tarafından ayrıştırılarak tanımlanan ADKKH, diğer yetişkin kök hücre kaynaklarıyla karşılaştırıldığında düşük verici morbiditesi ve yüksek oranda elde edilebilme özellikleri nedeniyle kök hücre uygulamaları için uygun hücre kaynağı olarak görülmektedir. Günümüze kadar farklı gruplar tarafından gerçekleştirilen birçok çalışmada bu hücrelerin in vitro gelişimleri ve

farklı hücre ve dokulara dönüşümleri incelenmiş, uygun şartlarda ADKKH' nin mezoderm kaynaklı kemik, kıkırdak, kas, fibroblast ve endotel hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir. (59- 61).

#### **2.4.1. Mezenkimal kök hücreler**

Mezenkimal kök hücreler, erişkin kök hücre tipidir. Stromal kökenli olmaları nedeniyle genel anlamda “destek hücresi” özelliği taşımaları, MKH' lerin tıbbın birçok alanında kullanım potansiyeli taşımalarının temelini oluşturmaktadır. Birçok dokudan elde edilebilen, sayıca çoğaltılmaya elverişli, dayanıklı hücrelerdir. Salgıladıkları çözünür faktörler, hücreler arası veya hücre dışı matriks ile yakın ilişki halinde bulunmaları nedeniyle içinde buldukları dokuya özel hücrelerin fonksiyonlarına önemli katkı sağlarlar(62).

MKH' ler pek çok hücre tipine farklılaşma yeteneğine sahip multipotent kök hücrelerdir. Yağ, kemik, kıkırdak, kas, tendon hücrelerine farklılaşabilirler(63). Kemik iliği hücreleri kültür kaplarında kültüre edildikleri zaman hızla plastik kültür kabına yapışan hücrelerin kemik iliği stromal hücreleri olduğu, yapışmayan hücrelerin ise hematopoetik hücreler olduğu 1960' lı yıllardan beri bilinmektedir. Son yıllarda ise, stromal hücre sistemine duyulan ilgi giderek artmaktadır. Önceleri, kemik iliği kökenli stromal hücreler, özellikle de MKH'ler, hematopoezi indüklemek amacıyla kullanıma girerken daha sonraları in vivo ve in vitro çalışmalarla aralarında kas, kıkırdak, kemik, sinir, karaciğer, kalp, beyin, adipoz doku, böbrek, akciğer ve bağırsakların da olduğu çeşitli hematopoetik olmayan dokuların parankim hücrelerine farklılaştıkları gösterilmiştir(64-66).

MKH' lerin başta hücresel tedaviler, doku mühendisliği, bağışıklık baskılayıcı tedaviler ve gen tedavileri olmak üzere birçok alanda klinik kullanım potansiyeli olması bu hücrelere olan ilgiyi giderek arttırmaktadır(67). MKH' lerin kardiyak rejenerasyonda, iskemik kalp hastalarında, ventriküler yeniden düzenlenme ve diyastolik fonksiyonların yeniden düzenlenmesi gibi olumlu etkileri oluşturabileceği rapor edilmektedir(68).

Bu olaylardan sorumlu olan moleküler mekanizmalar ise; apoptozis direncinde artış, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) salgılanmasında artış, hücresel düzeyde kan akımında artış ve mikrovasküler yapıda artış şeklinde özetlenmektedir(68-70).

Organizmanın en zengin kök hücre kaynaklarından biri olan kemik iliği, MKH' ler için de ana kaynak sayılmaktadır. Kemik iliğinde, mezodermden köken alan hematopoetik, endotel ve mezenkimal kök hücreler bulunmaktadır. Kemik iliği dışında birçok dokudan da MKH izole edilebilmektedir. Kemik/periost, kas dokusu, diş pulpası ve maksillofasial dokular, karaciğer, lipoaspirasyon materyalleri, kordon kanı, kordon stroması, plasenta, amniyon sıvısı, sinovial sıvı, hatta periferik kandan da adezyon özellikleri nedeniyle ayrıştırılarak çoğaltılabilmeleri mümkündür(71, 72).

Mezenkimal kök hücreler, kemik iliği de dahil olmak üzere dokularda çok az sayıda bulunmaktadır. Ayrıca yapışma özelliklerine bağlı olarak buldukları dokulardan yeterli sayıda elde edilmelerinde zorluklar vardır. Gerek klinik uygulama, gerekse temel bilim araştırmalarında yeterli hücre sayılarına ulaşabilmek için in vitro ortamda çoğaltılmaları gerekmektedir. Bu hücrelerin in vitro çoğaltılmaya elverişli, dayanıklı hücreler oldukları, kültürde çoğalma ve farklılaşma yeteneklerini korudukları bilinmektedir. Kültür ortamında çoğaltılan MKH' ler ışık veya faz kontrast mikroskobu ile incelendiğinde hücrelerin iğ şeklinde olduğu ve fibroblast benzeri hücre toplulukları oluşturdukları dikkati çekmektedir. Hücreler, düşük konsantrasyonlarda kültür edildiğinde koloni oluşturmaya meyil ederken, daha yüksek hücre yoğunluğunda ise koloni oluşturmak yerine yan yana dizilmiş hücre grupları halinde çoğaldıkları gözlenmektedir(70).

Hücrelerin in vitro kültür ortamında çoğalması için çok özel koşullar gerekmektedir. %10 Fetal Bovine Serum( FBS) içeren kültür ortamında plastik tabanına yapışma göstermiş olan hücreler, fenotipik ve farklılaşma özelliklerini koruyarak çoğalabilmektedirler(70).

Farklılaşma çalışmalarında, hedeflenen farklılaşmış hücelere dönüşüm olup olmadığını göstermek için histokimyasal, immünohistokimyasal veya immünfloresan yöntemler kullanılarak özgül işaretler araştırılır(62).

#### **2.4.2 Kök hücrelerin dokularda takibi**

İn vivo uygulamalarda MKH infüzyonu veya dokuya implantasyonundan klinik yarar elde edilse de, bu hücrelerin verildikten sonraki durumu, hasarlı dokuya göçü, yerleşim özellikleri, çoğalmaları, farklılaşma özellikleri, kısacası hücrelerin infüzyonu takiben durumu detaylı incelenmemiştir. Çalışmaların çoğunda hücre infüzyonunu takiben hücrelerin, dokularda veya kanda tespitinde zorlukla karşılaşmaktadır. Hücrelerin yeşil

flöresan protein (GFP) ile transfikse edilmesi ve floresan hücrelerin dokularda takibi ise en çok uygulanan yöntemlerden biridir(73, 74). Genetik işaretleme kalıcı olması yönünden tercih edilen bir yöntemdir. Kısa süreli deneysel çalışmalarda karboksifloresin diasetat süksinimidil ester (CFSE), 1,1'-Dioktadesil-3,3,3',3'-tetrametilindokarbosiyanin (DiI) gibi floresan işaretlemeler de kullanılabilir.

### **2.4.3. Kök hücrelerin potansiyel kullanım alanları**

Kök hücreler son yıllarda tüm tıp dünyasının en çok üzerinde durduğu ve her yıl yüzlerce yeni çalışmanın yapıldığı bir konu haline gelmiştir. Kemik iliği kaynaklı MKH'lerin, de novo miyokard oluşturduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda miyokard enfarktüsü ve koroner arter hastalıklarında intrakoroner kök hücre infüzyonunun, kalp kası rejenerasyonunda oldukça etkili olduğu bildirilmiştir(75, 76). Bundan başka oftalmolojide de araştırmacılar hasar görmüş göze başarılı bir şekilde korneal kök hücre transplante ederek, görme kabiliyetini restore etmişlerdir(77). Aynı hücrelerin başka uyarılarla nöral hücre serisine de dönüşebildikleri gözlenmiş ve ALS gibi hastalıklarda spinal korddaki hasarlı bölgeye verilen kök hücrelerin, ablatif sinir hücrelerini rejenere ettiği ve sonuçta lökomotor fonksiyonun geri döndüğü gösterilmiştir(78). Yine en önemli metabolik hastalıklardan tip 1 diyabet hastalığında, pankreasta insülin salgılayan beta hücrelerindeki hasar mekanizmasının moleküler düzeyde anlaşılması ile ilgili yüz güldürücü çalışmalar yapılmıştır(79).

Kök hücrelerin daha önce terapötik anjiyogenez yapıcı etkileri birçok çalışmada gösterilmiş olup (80- 83) flep cerrahisinde kullanımına ait ilk çalışma ise Ichioka ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Sıçanlarda yaptıkları bu çalışmada, kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin dorsal cilt fleplerindeki damarlanma üzerine etkisi araştırılmış ve kapiller dansitede iskemi reperfüzyon hasarını azaltıcı yönde belirgin artış tespit etmişlerdir.

Mezenkimal hücrelerin vasküler endotelial hücrelere farklılaşma yetenekleri olduğu bilinmektedir. Zheng ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, VEGF ve mezenkimal kök hücrelerin birlikte iskemik fleplerde neovaskülarizasyonu arttırdığı gösterilmiştir(85).

Uysal Ç. ve ark. yaptığı çalışmada ise sıçan dorsal cilt fleplerinde oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarının ADKHH uygulanması ve bir takım büyüme faktörlerinin regüle edilmesi sonucu önlenebileceği gösterilmiştir(86).

#### 2.4.4. Kök hücre kaynağı olarak adipoz doku

Bugüne kadar mezenkimal kök hücre kaynağı olarak çoğunlukla kemik iliği kullanılmış ancak son çalışmalara bakıldığında yeni kaynaklar tanımlanmıştır. Zuk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada adipoz dokunun mezenkimal hücrelerden oldukça zengin olduğu gösterilmiştir(59). Adipoz dokudan elde edilen kök hücrelerin kemik iliğinden elde edilen kök hücrelere göre izolasyonlarının daha az acı verici olmaları, lipoaspirasyon yöntemi ile kolayca elde edilebilmeleri nedeniyle adipoz dokunun plastik cerrahide son yıllarda kök hücre kaynağı olarak kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır.

Poznanski ve ark. yaptıkları çalışmada yağ dokusunun kök hücre bakımından oldukça zengin bir doku olduğunu göstermişlerdir. (80) Ayrıca adipoz doku santimetre küp başına kemik iliğine göre 100 ila 1000 kat daha fazla pluripotent hücre içermektedir.(81, 82)

Yağ dokusu da kemik iliği gibi embriyonik mezodermden oluşur ve bir stroma içerir. Lipoaspirata kısa süreli kollajenaz muamelesi ve santrifüj uygulaması sonrası elde edilen ürüne “processed lipoaspirate=işlenmiş lipoaspirat” (PLA) denilir. PLA’lar uygun uyarılar ile osteojenik, adipojenik, myojenik ve kondrojenik hücrelere farklılaşır(56) ve o diziye özel gen ve proteinleri içerir, bu da kök hücre fenotipini teyit eder. Bu nedenle bu doku mezodermal doku tamirinde kullanılabilir. Aspiratla elde edilen PLA fraksiyonu fibroblastik, endotelial hücreler, makrofaj ve düz kas hücreleri gibi heterojen bir gurubu içerir, seri pasajlarla MKH’ lere benzeyen homojen fibroblastik bir popülasyon kalır. Uzun süreli kültürlerle PLA’ ların büyüme kinetikleri ve farklılaşma kapasiteleri değişmez.

Adipoz doku adipositlerden oluşmuş olan gevşek bağ dokusudur. Adipoz doku lipoblastlardan oluşur ve asıl rolü yağ formunda enerji depolamaktır. Ayrıca vücudun destek ve izolasyonunu sağlar. Adipoz doku; leptin, rezistin ve Tümör Nekroz Faktörü  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) salgılayarak önemli bir endokrin organ olarak da işlev görür. Adipoz dokunun; enerji depolama, yağda eriyen vitaminleri depolama, fiziksel koruma sağlama ve termogenez fonksiyonlarına ek olarak, günümüzde adipositlerden ve adipoz stromal hücrelerden köken alan proteinlerin otokrin, parakrin ve endokrin etkiler ile hem lokal hem de sistemik etkileri olduğu gösterilmiştir. Adipositlerden sentezlenen sitokinlerin homeostazda, immün yanıtta, vazoregülasyonda ve steroid metabolizmasında rol oynadığı bilinmektedir.( 88)

#### 2.4.5. Histolojik Genel Bilgiler

Mezenkim ya da mezenkimal bağ dokusu, embriyoda yerleşik, her üç germ yaprağından gelişebilen gevşek bağ dokunun bir çeşididir. Mezenkim, retiküler fibril agregatları içeren ‘ground substance’ (ana madde) matriksi ile karakterizedir. Bu hücrelerin bağ doku, kemik, kıkırdak, lenfatik sistem ve dolaşım sistemi hücrelerine dönüşebilme yetenekleri vardır. MKH’ ler; osteoblast, kondrosit, adiposit gibi birçok hücre tipine dönüşebilen multipotent kök hücrelerdir. Mezenkim mezodermden gelişen, hematopoetik ve bağ dokuya dönüşebilen embriyonik bağ dokusudur. Ancak MKH’ ler hematopoetik hücrelere dönüşemezler. MKH ve kemik iliği kökenli kök hücre çoğunlukla birbirini yerine kullanılmaktadır. Ancak günümüzde kemik iliği dışında da multipotent MKH elde edilebildiğinden MKH yerine multipotent kök hücre denilmesi daha doğru olacaktır. MKH’ler mezodermal orijinlidir ancak endoderm ve ektoderm orijinli hücrelere transdiferansiye olabilirler.

Bağ doku, fibröz dokunun bir formudur. Klasik sınıflamadaki dört doku tipinden biridir. Diğerleri; epitel, kas ve sinir dokusudur. Kollajen, bağ dokunun esas proteini ve total protein içeriğinin %25’ ini oluşturur.

Adipoz doku (yağ doku) adipositlerden oluşmuş olan gevşek bağ dokusudur. Adipoz doku lipoblastlardan oluşur ve asıl rolü yağ formunda enerji depolamaktır. Ayrıca vücudun destek ve izolasyonunu sağlar. Normal ağırlıktaki bir insanda, erkeklerde vücut ağırlığının % 15-20’ sini, kadınlarda ise vücut ağırlığının % 20-25’ ini yağ dokusu oluşturmaktadır. Farklı yerleşim, renk ve patoloji gösteren ‘uniloküler’ ve ‘multiloküler’ olarak adlandırılan iki tip yağ dokusu vardır. Olgunlaşmış uniloküler yağ dokusu (sarı yağ dokusu) hücreleri, sitoplazmalarının ortasında bir tek sarı yağ damlacığı içerirler. Multiloküler yağ dokusu (kahverengi yağ dokusu) hücrelerinin sitoplazmalarında ise çok sayıda lipid damlacığı ve kahverengi mitokondriler mevcuttur(87). Bu da göstermektedir ki kahverengi adipositler kas hücreleri ile aynı kökenlidir. Bu köken benzerliği kahverengi hücrelerin bu farklı fonksiyonlarını anlamamıza yardımcı olur. Kahverengi rengi, içerdiği çok sayıda kan damarları ve mitokondrilerindeki renkli sitokromlardan kaynaklanır. Multiloküler yağ dokusu, vücudun her tarafına yayılmış uniloküler yağ dokusunun aksine vücudun belli yerlerinde toplanmıştır. Beyaz adipoz doku yağı depolarken, kahverengi adipoz doku yağı yakar(88). 1551’ de İsveçli doğa bilimci Konrad Gessner kahverengi yağ dokusunu ilk tanımlayanıdır. Gessner bu günden 450 yıl önce kahverengi yağ hücrelerini “neither fat nor flesh but something in between” diye tanımlamıştır(88).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nda değerlendirildi ve DA 13/07 numarasıyla onaylandı. Denekler Başkent Üniversitesi Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Ünitesi Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışmamızda adipoz kökenli MKH uygulamasının, kısa barsak sendromu üzerine olan etkileri araştırıldı.

Çalışmada, ağırlığı 180–250 gram (ortalama 210 gram) olan 46 adet dişi Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Her grupta 18 sıçan olacak şekilde 2 grup oluşturuldu, kalan 10 sıçan ise adipoz doku eldesi amaçlı kullanıldı.

#### ***Kısa Barsak Modeli***

12 saatlik açlık sonrasında intraperitoneal anesteziyi takiben ratların karın bölgesi traş edilerek, povidon iyot ile alan temizlendi. Yaklaşık 4 cm'lik orta hat insizyonu ile karına girildi. Treitz ligamentinin 5 cm distaliyle ve ileoçekal valvin 10 cm proksimali kesilerek ince barsaklar rezeke edildi. Geriye kalan jejunum ile ileum arasına 7/0 prolene ile uç uca anastomoz yapıldı. Yapılan anastomozun 3 cm distali ve 3 cm proksimalinin barsak çapı kumpas yardımıyla ölçüldü. Fasya ve cilt ayrı ayrı 3/0 ipek ile kapatıldı.

Bu çalışmada kısa barsak sendromu oluşturulan ratlarda kök hücre verilen ve verilmeyen iki grup karşılaştırıldı. Kök hücre PBS ile sulandırılarak verildiği için kontrol grubu kök hücre içermeyen PBS verilerek oluşturuldu.

***Grup 1 (PBS grubu, n=18):*** Kısa barsak modeli oluşturulan sıçanların ince barsak duvarına 4 kadran şeklinde anastomozun 2 cm proksimaline, anastomoz hattına ve anastomozun 2 cm distaline kök hücre içermeyen 0,5 cc Phosphate Buffered Saline (PBS) verildi. Sıçanlar ameliyat sonrası 7.günde sakrifiye edilerek anastomozun 4 cm distalini ve 4 cm proksimalini içerecek şekilde çıkarılan ince barsak histopatolojik olarak incelendi..

***Grup 2 (Kök hücre grubu, n=18):*** Kısa barsak modeli oluşturulan sıçanların ince barsak duvarına 4 kadran şeklinde anastomozun 2 cm proksimaline, anastomoz hattına ve anastomozun 2 cm distaline kök hücre içeren 0,5 cc Phosphate Buffered Saline (PBS) verildi. Sıçanlar ameliyat sonrası 7.günde sakrifiye edilerek anastomozun 4 cm distalini ve 4 cm proksimalini içerecek şekilde çıkarılan ince barsak histopatolojik olarak incelendi.

MKH eldesi amaçlı 10 adet sıçan kullanıldı. Sıçanların inguinal bölgelerinden eksize edilen adipoz dokular uygun işlemlerden geçirilerek MKH izolasyonu ve hazırlanması tamamlandı. Çalışma grubundaki sıçanlara hazırlanan kök hücreler



uygulandı. Sıçanlar inbred olduklarından graft versus host reaksiyonu gerçekleşmedi. Adipoz doku eldesi sonrası bu amaçla kullanılan 10 sıçan 150 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc) intraperitoneal verilmesi ile sakrifiye edildi.

Diİ ile işaretli ADKKH'lerin endotelial hücrelere dönüşümünü göstermek için floresan mikroskopta inceleme yapıldı.

Denek sayıları ve çalışma süresi belirlenirken literatürde daha önce kısa barsak sendromu üzerine yapılan çalışmalar örnek alındı. Anestezi ile cerrahinin etkisi de göz önüne alınarak çalışma sonunda elde bulunan denek sayılarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinin sağlıklı yapılabilmesi için her grup on sekiz denekten oluşturulmuştur ve çalışma süresi 7 gün olarak belirlenmiştir.(121, 122)

### **3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı**

Tüm deney hayvanlarına, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık olacak şekilde standart oda şartları sağlandı. Oda ısısı 18-20 °C arasında sabitlendi. Sıçanlar yem ve musluk suyu ile beslendi. Hipotermi oluşmasını engellemek için sıçanlar ışık kaynağı altında ameliyat edildi ve uyanma esnasında da bu uygulamaya devam edildi.

Çalışma süresi toplam 7 gün olduğundan ve toplam 36 sıçanla çalışıldığından, hayvanların barındırıldığı kafeslerin üzerine hangi grup olduğu yazılmasına rağmen, grupların birbirine karışmaması için her gruptaki deneklerin kuyruklarına farklı renklerde numaralar verilerek işaretlenmiştir. Tüm hayvanlara cerrahi sonrası dönemde cilt altı 0.02 mg/kg fentanil (Sufenta 5 mcg, Janssen Cilag inc.) ile analjezi uygulandı. Çalışma sonunda tüm sıçanlar, periton içine 150 mg/kg ketamin hidroklorür enjekte edilerek sakrifiye edildi.

### **3.2. Cerrahi işlem**

Sıçanlar deneyden 12 saat önce aç bırakıldı. Sıçanlara, periton içine 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc), 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer inc) uygulanarak anestezi verildi. Anestezi derinliği ekstremitte çekme yanıtı ile değerlendirildi. Hayvanlar uyuduktan sonra ameliyat alanları elektrikli tıraş makinesi ile temizlendi ve cerrahi masaya sırtüstü gelecek şekilde dört ekstremiteden flaster ile tespit

edildi. Ameliyat alanı %10 povidon-iodin (Batticon antiseptik solüsyon, Adeka ltd) ile temizlendi ve cerrahi boyunca sterilite koşulları sağlandı. (Resim 1)



**Şekil 3.1.** Cerrahi prosedür öncesi

Steril örtümü takiben orta hat 3 cm' lik kesi ile cilt-cilt altı ve fasya geçilip laparotomi yapıldı. Çekum ve ince barsaklar dışarı alındı (Resim 2). Treitz ligamanının 5 cm distali ve ileoçekal valvin 10 cm proksimali 7/0 prolen ile işaretlendi. İşaretli kısımların dolaşımına dikkat ederek ince barsak mezosu 4/0 ipek ile bağlanarak kesildi. İşaretli barsak kısımlarından kesilerek %75 ince barsak rezeksiyonu sağlandı. Jejenum ile ileum arasına 7/0 prolen ile devamlı dikişlerle anastomoz yapıldı. Anastomozun 3 cm proksimal ve distal çapları kumpas yardımıyla ölçüldü. Grup 1 sıçanların anastomozun 2 cm distaline , anastomoza ve anastomoz 2 cm proksimaline 0,5 cc PBS submukozaya 4 kadran şeklinde insülin enjektörü ile enjekte edildi. Grup 2 sıçanların anastomozun 2 cm distaline ,anastomoza ve anastomoz 2 cm proksimaline 0,5 cc kök hücre içeren PBS submukozaya 4 kadran şeklinde insülin enjektörü ile enjekte edildi. Fasya kapatılmadan önce karın içine 3 cc serum fizyolojik verildi. İşlem sonrası sıçanların fasya ve ciltleri 3/0 ipek dikişlerle devamlı olarak kapatıldı.

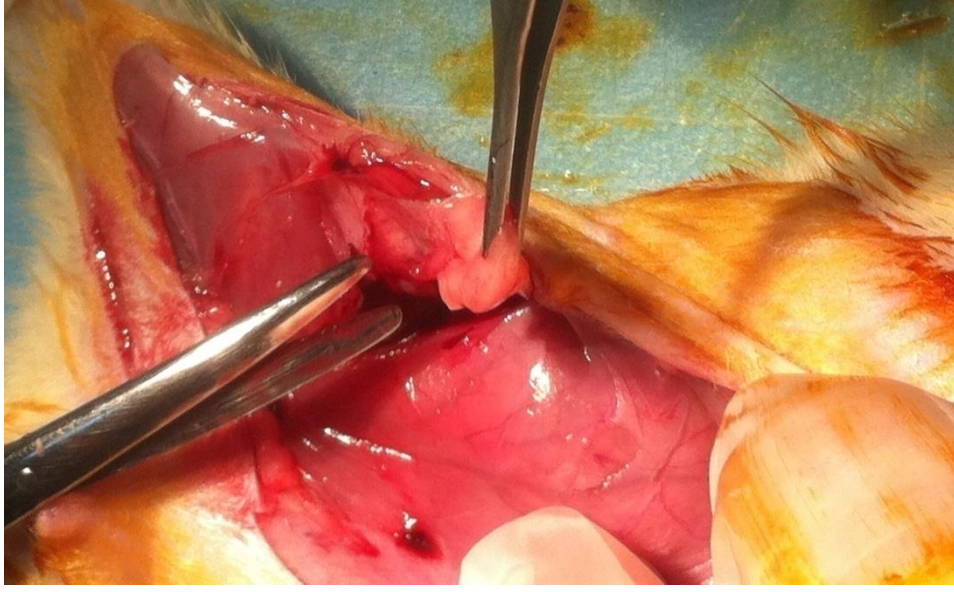


**Şekil 3.2.** İnce barsağın ve çekumun ortaya konulması

Tüm sıçanlar ameliyat sonrası 7. günde anestezi kullanılarak sakrifiye edildi. Laparotomi sonrasında yapışıklıklar değerlendirildi. Anastomozun 3 cm proksimal ve distal çapları kumpas yardımıyla tekrar ölçüldü. Anastomozun 4 cm proksimali ile 4 cm distali rezeke edilerek, spesmen antimezenterik yüzünden kesilip tespit edildikten sonra %10 formol içerisinde patolojik incelemeye gönderildi..

### **3.3. Adipoz doku elde edilmesi**

Sıçanların abdominal ve inguinal bölgeleri anestezi sonrası tıraş edildi ve sırtüstü pozisyonda cerrahi masaya tespitleri yapıldı. Takiben insizyon planlaması yapıldı. İnsizyon ksifoidin yaklaşık 1 cm inferiorundan başlatıldı ve karın orta hat boyunca vertikal ekseninde devam edildi. Median insizyonun tamamlanmasını takiben, pubisin yaklaşık 1 cm superior seviyesinde, insizyon bilateral inguinal bölgelere doğru uzatıldı. İnsizyonların tamamlanmasının ardından cilt flepleri cilt altı planda yapılan disseksiyonla kaldırıldı. İnguinal bölgelerdeki yağ yastıkçıkları ortaya kondu. İnguinal yağ yastıkçıkları çıkarıldı. (Resim 3). İki sıçandan yaklaşık 10 cc kadar yağ dokusu elde edildi. Eksize edilen yağ dokuları, serum fizyolojik ile yıkanarak steril kaplara alındı.



**Şekil 3.3.** İnguinal yağ yastıkçığını eksizyonu

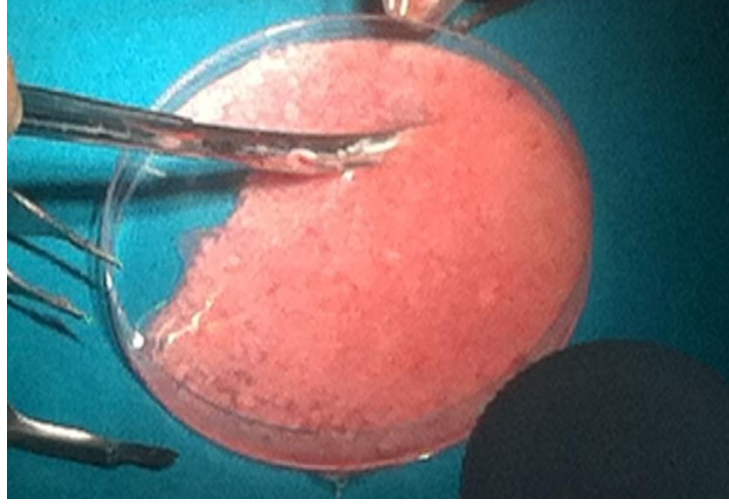
#### **3.4. Mezenkimal Kök Hücre Elde Edilmesi ve DiI ile İşaretlenmesi**

Mezenkimal kök hücrelerin izolasyonu, hazırlanması ve işaretlenmesi işlemleri Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarı' nda tarafımızca yapıldı. Adipoz kökenli mezenkimal kök hücre elde edilmesinde Ogawa ve ark.' nın yayınlamış oldukları protokol uygulandı(89). İki adet Sprague-Dawley cinsi sıçanın inguinal bölgesinden alınan adipoz dokular PBS ile yıkandı. Takiben 100 mm<sup>2</sup>' lik petri kaplarına alınan dokular burada mekanik olarak no:15 bistüri ve doku makası yardımıyla küçük parçalara ayrıldı (Resim 6). Bu esnada vasküler ve fibrotik yapılar ayıklanarak uzaklaştırıldı. Ayırma işlemi tamamlandıktan sonra kalan adipoz dokular yeni petri kaplarına alındı. Sonrasında dokular, 3 defa PBS ile 5 dakika boyunca yıkayıp süspansiyon haline getirildi. Yıkama işlemini takiben dokular 50 cc'lik konik santrifüj tüplerine alındı. 0,3 mg %0,15' lik tip 1 kollajenaz, tüplerin içindeki dokuların üzerine eklendi. 37 °C'de 30 dakika çalkalamalı su banyosunda bekletildi. Bekleme süresi içinde her 10 dakikada bir örnekler çıkarılıp hızlıca karıştırıldı. Bekleme süresinin sonunda kollajenazı nötralize etmek için homojenize olan süspansiyona eşit volümde (15 ml) kontrol fetal bovine serum (FBS) eklendi ve 5-10 dakika kadar karıştırıldı. Oluşan süspansiyon 200 µm' lik hücre süzgecinden geçirilerek hücre dışı dokular (örn: fasya, bağ doku, vb.) temizlendi. Takiben hücre süspansiyonu 260 g' de 5 dakika santrifüj edildi (Resim 7). Santrifüj sonunda tüpün üst kısmında kalan süpernatant atıldı, alttaki birikmiş

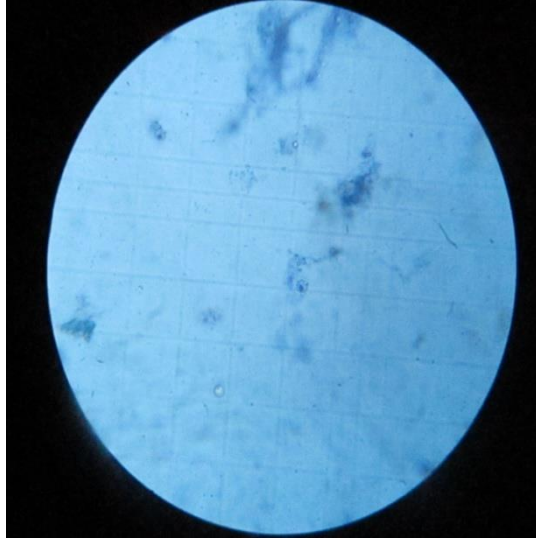
kök hücrelerin olduğu pellet dikkatli bir şekilde alınarak 10 cc' lik santrifüj tüpüne konuldu. Diğer 50 cc' lik konik tüplerde kalan hücrelerde aynı 10 cc' lik tüpte toplandı (Resim 14). Üzerine 10 ml PBS eklendi ve tekrar süspansiyon haline getirildi. Sonrasında bu süspansiyonda kaç hücre olduğunu hesaplamak amacıyla 0,5 ml alınarak metilen mavisiyle boyandı ve ışık mikroskopu altında Thoma lamında hücre sayımı yapıldı (Resim 8).  $19,8 \times 10^7$  adet hücre sayıldı. Hücre sayımını takiben 10 cc'lik hücre süspansiyonu 1300 rpm' de 5 dakika tekrar santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün üst kısmında kalan süpernatant atıldı, alt kısımdaki sayısını bildiğimiz kök hücrelerin olduğu pellet bırakıldı.

1,1'-Dioktadesil-3,3,3',3'-tetrametilindokarbosiyanin (DiI) bir tür sitoplazmik boyadır. Sitoplazmaya bağlandıktan sonra hücrenin transplante edildiği bölgede takibini sağlamaktadır(89- 93).

DiI, %25' lik konsantrasyonda %99' luk etanol çözeltisinde çözüldü ve  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de saklandı. 1/100 oranında PBS ile dilüe edildi. DiI partiküllerinin ayrılması için 3000 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün üst kısmında kalan süpernatanttan 200 µl kullanılmak üzere alındı. Buz dolu kabın içindeki kök hücrelerin bulunduğu tüpe 200 µl DiI eklendi.  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu süreçte DiI kök hücrelerin sitoplazmik membranlarına bağlandı. Inkübasyon periyodunun sonrasında, DiI sitoplazma bağlantısının fiksasyonu için 7 ml PBS konuldu ve karıştırıldı. Hücre DiI fiksasyonunun ardından, süspansiyon 1300 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi (Resim 9). Santrifüj sonunda tüpün üst kısmında kalan süpernatant atıldı, alttaki  $19,8 \times 10^7$  adet DiI işaretli kök hücrelerin olduğu pelletin üzerine 9 ml PBS (%1 penisilin/streptomisin içeren) eklendi, karıştırıldı ve tekrar süspansiyon haline getirildi. Elde edilen süspansiyon toplam 18 sığana verileceğinden 1 sığana uygulanacak miktar  $1,1 \times 10^7$  hücre içeren 0,5 cc süspansiyon olarak belirlendi.



**Şekil 3.4.** Adipoz dokunun homojenizasyonu



**Şekil 3.5.** Metilen mavisiyle boyanan hücrelerin ışık mikroskobu altında sayılması.

### **3.5. Patolojik değerlendirme**

Jejunum ve ileumdan alınan örnekler patolojik tarafından gruplar bilinmeksizin, tek kör olacak şekilde hazırlandı. Parafin bloklar halinde hazırlanan doku örnekleri Hematoksilen-Eosin ile boyanarak Olympus CX 41 marka ışık mikroskobu altında bir patolojik tarafından villus uzunluğu, kripta derinliği, mukozal kalınlık, mitoz ve goblet hücreleri incelendi.

### 3.6. İstatiksel Yöntem

Analizlere başlamadan önce verilerin birtakım varsayımlara uygunluğu araştırıldı. Normal dağılıma uygunluğun analizi için “Kolmogorov Smirnov Normallik Testi”, homojen varyans varsayımının uygunluğu içinse “Levene Test İstatistiği” kullanıldı. İlgili verilerin analizinde varsayımların sağlanıp sağlanmadığı ve verilerin yapısı göz önünde bulundurularak uygulanacak teste karar verildi. Sürekli değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde, kategorik değişkenler ise hasta sayısı (N) ve yüzde (%) şeklinde gösterilmiştir.

Gruplar arasında kilo ve ince barsak uzunluğunun preop ve postop değerlerinin karşılaştırılmasında *Tekrarlı Ölçümler İçin Tek Yönlü ANOVA Testi* kullanılmış olup, gruplar arasında ileum ve jejunum bakımından barsak çapının preop ve postop değerlerinin karşılaştırılmasında ise *Tekrarlı Ölçümler İçin İki Yönlü ANOVA Testi*’nden yararlanılmıştır. Gruplar arasında ileum ve jejunum bakımından villus uzunluğu, kript derinliği, mukozal kalınlık, mitoz sayısı ve goblet hücre sayısı değerlerinin karşılaştırılmasında *İki Yönlü ANOVA Testi*’nden yararlanılmıştır. Ayrıca gruplar arasında yapışıklık değerlerinin karşılaştırılmasında da *Ki-Kare Testi* kullanılmıştır.

Bu çalışmada istatistiksel analizler SPSS 20.0 istatistiksel paket programı kullanılarak yapılmıştır. Test sonuçlarında elde edilen p değerleri,  $\alpha=0,05$  anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

### 3.7. Diİ İşaretli Kök Hücrelerin İzlenmesi ile Değerlendirme

Bu değerlendirme sadece Diİ işaretli kök hücre çalışma grubu için yapıldı. Parafine gömülü dokulardan 5  $\mu$ m kalınlıkta uygun kesitler hazırlanarak sadece hematoksilen ile boyandı. Bunun sebebi floresan mikroskopta, eosin boyasındaki kırmızı renk ile Diİ işaretli hücrelerdeki kırmızı, mor rengin görüntü açısından karışıklık yaratmasıdır(95). Takip eden kesitlerde hematoksilen-eosin boyamaları da yapıldı. Dolayısıyla immünfloresan mikroskopta hematoksilen boyalı kesitlerde bakılan endotelial hücreler, takip eden hematoksilen-eosin boyalı kesitlerde teyit edildi. Bu endotelial hücrelerden mezenkimal kök hücre kaynaklı olanların (Diİ ile işaretli olanlar) 565 nm dalga boyundaki floresan mikroskopta kırmızı-mor renkte gözükmesi beklenmektedir(90, 91) Preperatlar tarafımızca Başkent Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı’nda değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal incelemeler için Nikon Eclipse E600 floresan mikroskop kullanıldı. Preperatlar 20x, 40x, 60x ve 100x büyütmelerde incelendi. Görüntüler, renkli dijital video kamera (Nikon CCD) ile bilgisayar ortamına aktarıldı ve bilgisayar programı olarak Cytovision Genus Software kullanıldı.

### 3.8. Karın içi yapışıklıkların değerlendirilmesi

Karın içi yapışıklıkların değerlendirilmesinde Houston ve ark. kullandığı değerlendirme yöntemi kullanıldı. (Tablo 1)

**Tablo 3.1.** Yapışıklıkların değerlendirilmesi

<b>1</b>	<b>Minimal adezyon (Sadece omentum-anastomoz)</b>
<b>2</b>	Orta derece adezyon (Omentum-anastomoz yada anastomoz-ince barsak/karın duvarı)
<b>3</b>	Yaygın yapışıklık (Birden fazla ince barsak/karın duvarında yapışıklık)



## **4. BULGULAR**

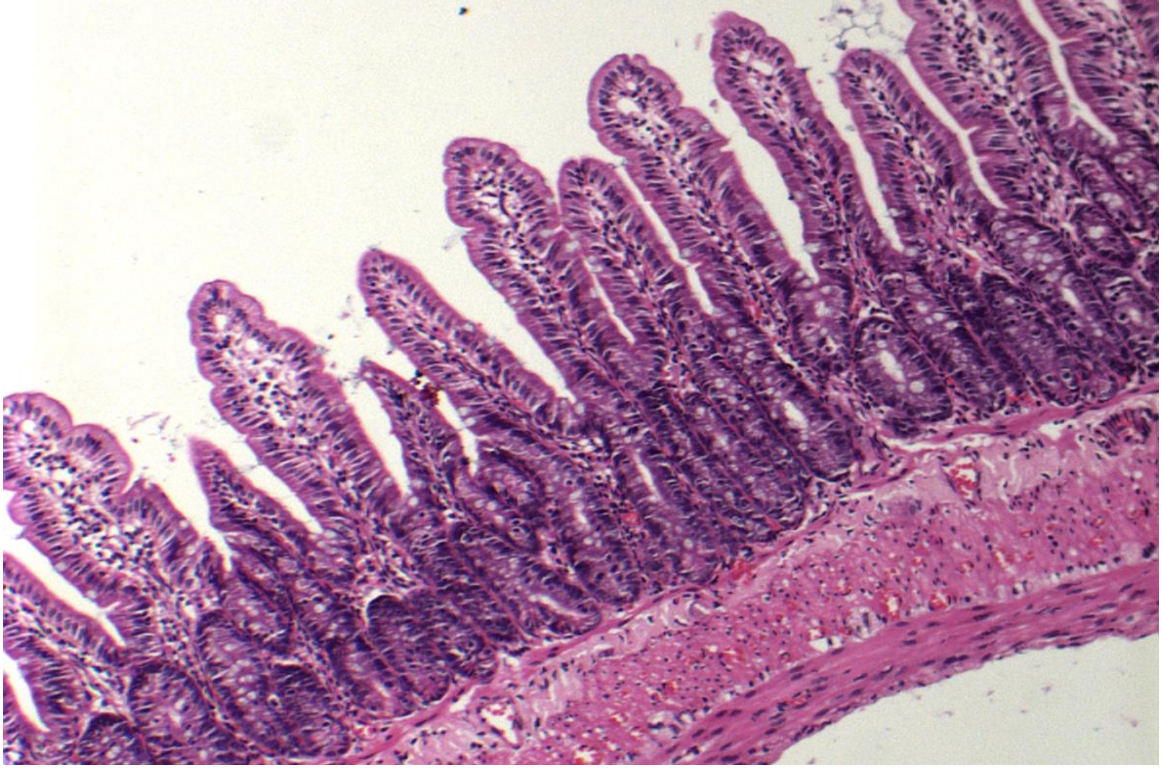
Deneilerin başlamasından bitimine kadar 7 günlük sürede hayvanlardan ölen veya deney dışı bırakılan olmadı.

### **4.1. Eksplozasyon bulguları**

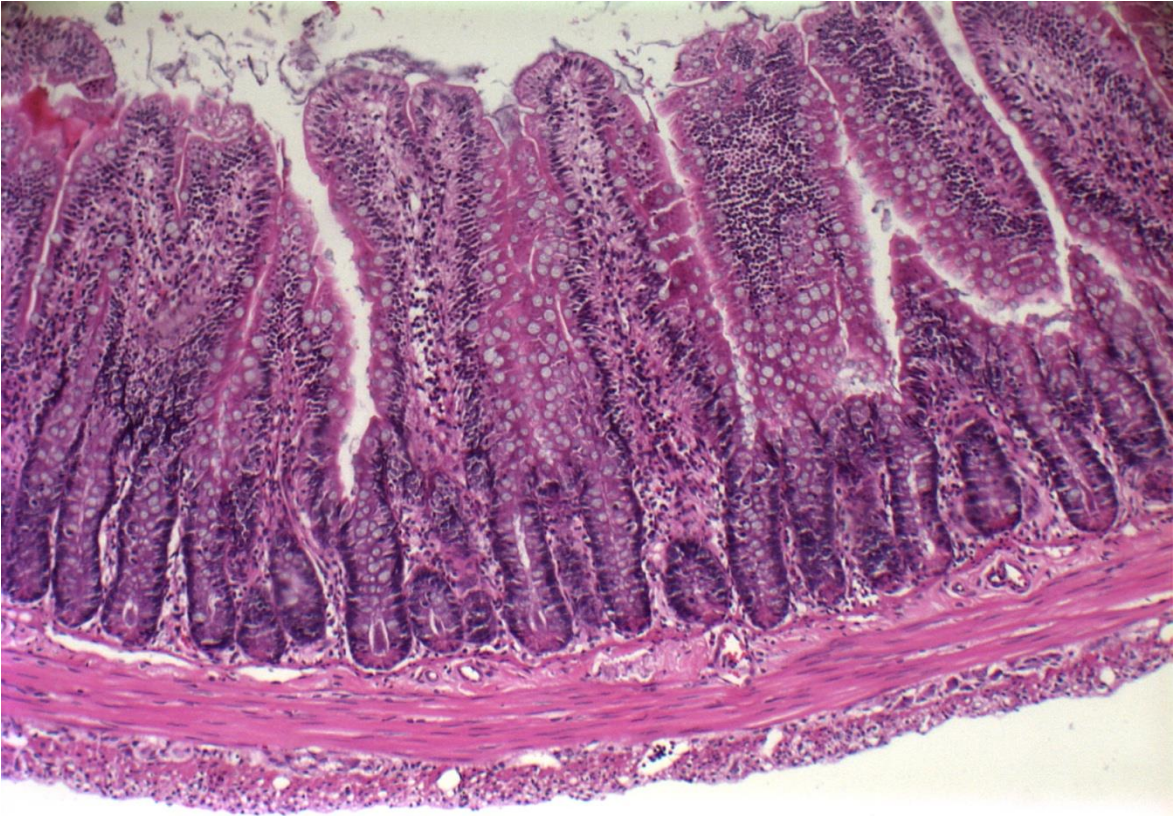
Çalışmada kullanılan 36 sıçan 7. günde ağırlık ölçümlerini takiben eksplore edilerek karın içi yapışıklık değerlendirildi. Jejunum ve ileum çapları ölçüldü. Treitz' den itibaren ileoçekal valve kadar ince barsak çıkarılarak barsağın boyu ölçüldü.

### **4.2. Histopatolojik Değerlendirme**

7. günde sakrifiye edilen tüm sıçanların jejenum ve ileumdaki villus uzunluğu, kript derinliği, mukozal kalınlık, mitoz sayısı ve goblet hücre sayısı değerlendirildi.



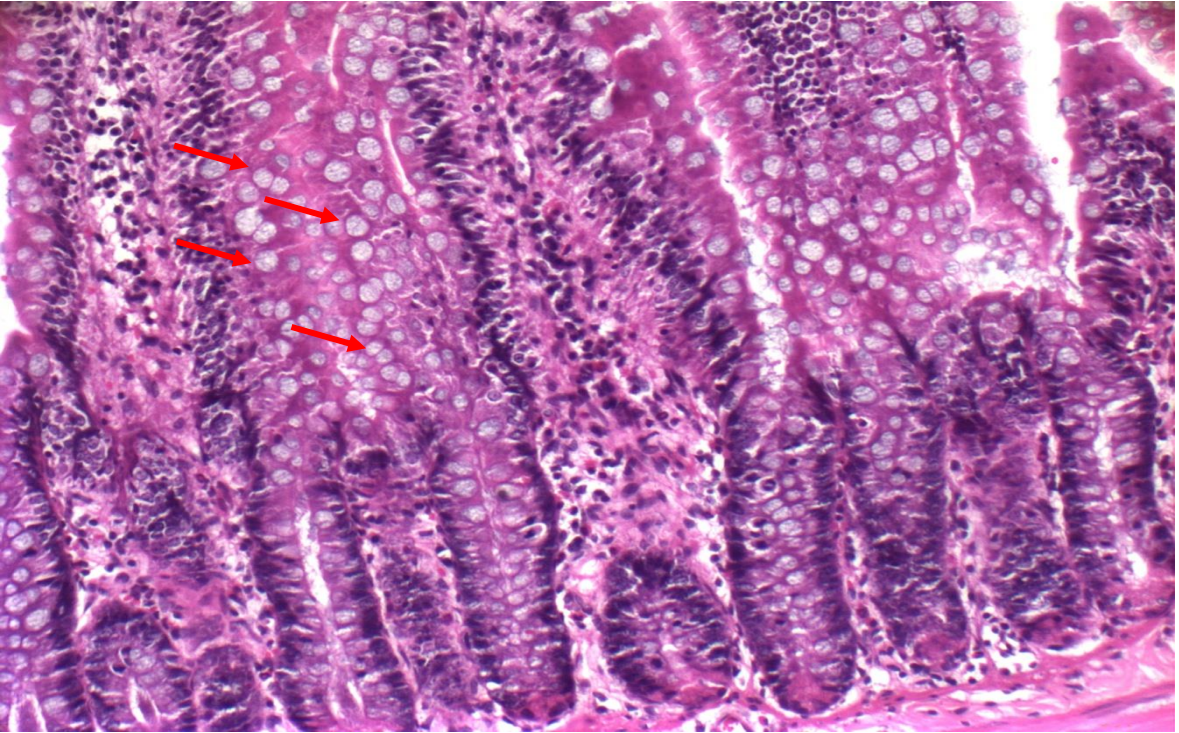
Şekil 4.1. Grup-1, villus ve kript x100



Şekil 4.2. Grup-2, villus ve kript x100



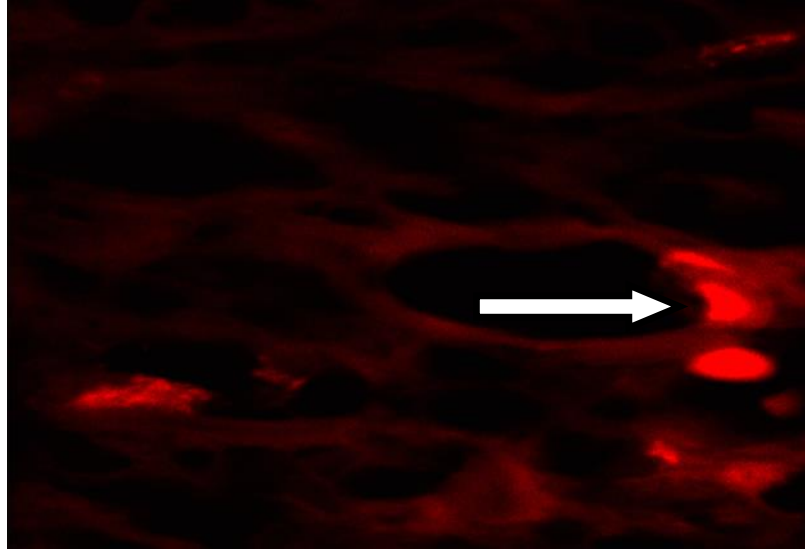
Şekil 4.3. Grup-1, goblet hücreleri x200



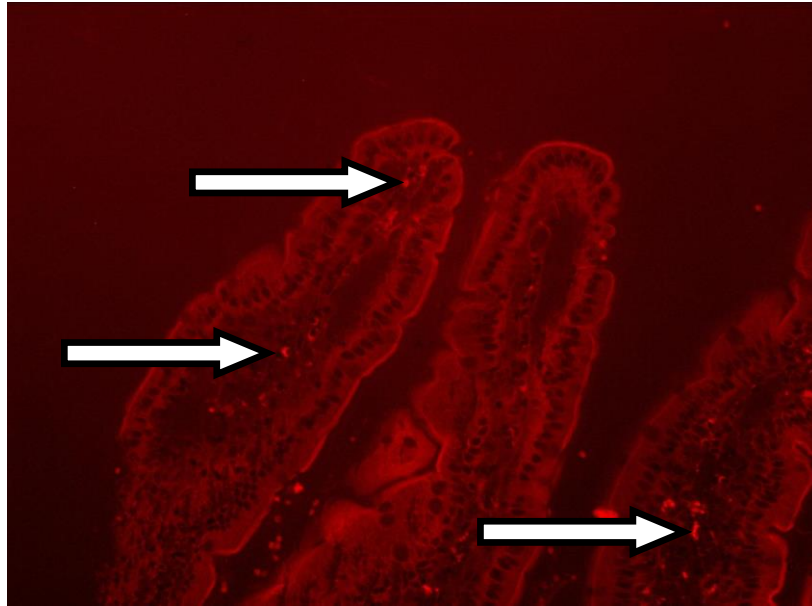
Şekil 4.4. Grup-2, goblet hücreleri x200

### 4.3. İmmünohistokimyasal bulgular

Parafine gömülü dokulardan alınan kesitler hematoksilin boyasıyla boyandı. Eosin boyasının bırakacağı kırmızı renk ile DiI işaretli hücrelerin karışmaması için eosin ile boyama yapılmadı. İmmünohistokimyasal olarak, DiI ile işaretli adipoz kaynaklı kök hücrelerden transforme olan endotelial hücreler, floresan mikroskop altında 565 nm dalga boyunda incelendi. Adipoz kaynaklı kök hücrelerden endotel hücreleri dönüşümü ve villus komşuluğunda kök hücre gösterildi (Resim 16,17).



Şekil 4.5. Endotelde kök hücre



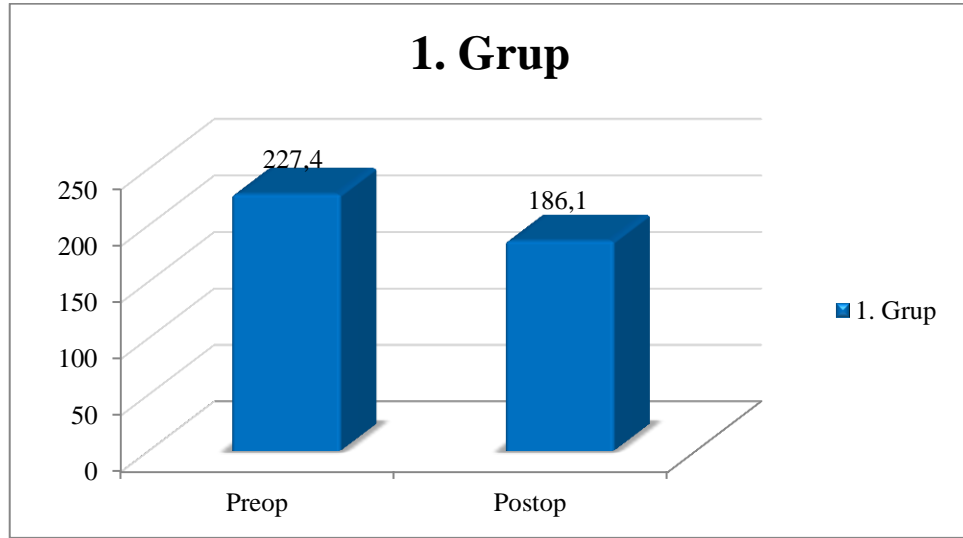
Şekil 4.6. Villuslarda DiI + hücreler

#### 4.4. İstatiksel bulgular

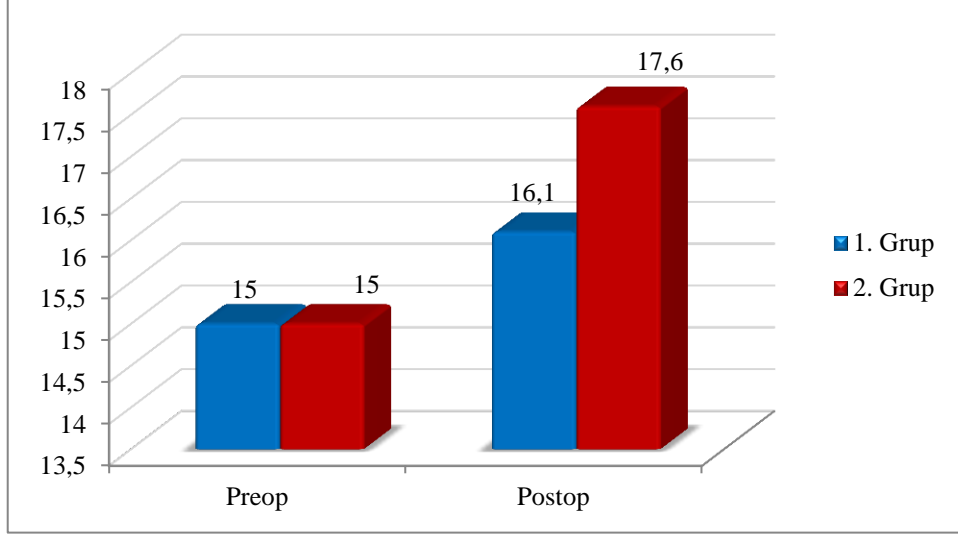
Yapılan Tekrarlı Ölçümler İçin Tek Yönlü ANOVA Testleri sonucunda: kilo ( $p<0,05$ ) ve ince barsak uzunluğu ( $p<0,05$ ) ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası ölçümleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandığı Tablo 4.1' de gösterildi. Ameliyat öncesi kilo ve ameliyat sonrası kiloya göre daha düşük olup, 2. grubun kilosu daha yüksektir. Ayrıca ameliyat sonrası ince barsak uzunluğu ameliyat öncesine göre daha yüksek olup, 2. grubun ince barsak uzunluğu daha fazladır.

**Tablo 4.1.** Gruplar Arasında Kilo ve İnce Barsak Uzunluğunun Ameliyat Öncesi ve Ameliyat Sonrası Değerlerinin Karşılaştırılmasında Tekrarlı Ölçümler İçin Tek Yönlü ANOVA Testi

		1. Grup (N=18)	2. Grup (N=18)	p değeri
Kilo	Ameliyat öncesi	227,4 ± 24,3	234,6 ± 23,3	p<0,05
	Ameliyat sonrası	186,1 ± 21,9	211,6 ± 28,4	p<0,05
İnce Barsak Uzunluğu	Ameliyat öncesi	15,0 ± 0	15,0 ± 0	p<0,05
	Ameliyat sonrası	16,1 ± 0,4	17,6 ± 0,8	p<0,05



**Şekil 4.7.** Gruplara Göre Ameliyat Öncesi ve Ameliyat Sonrası Kilo Değerleri Ortalamaları

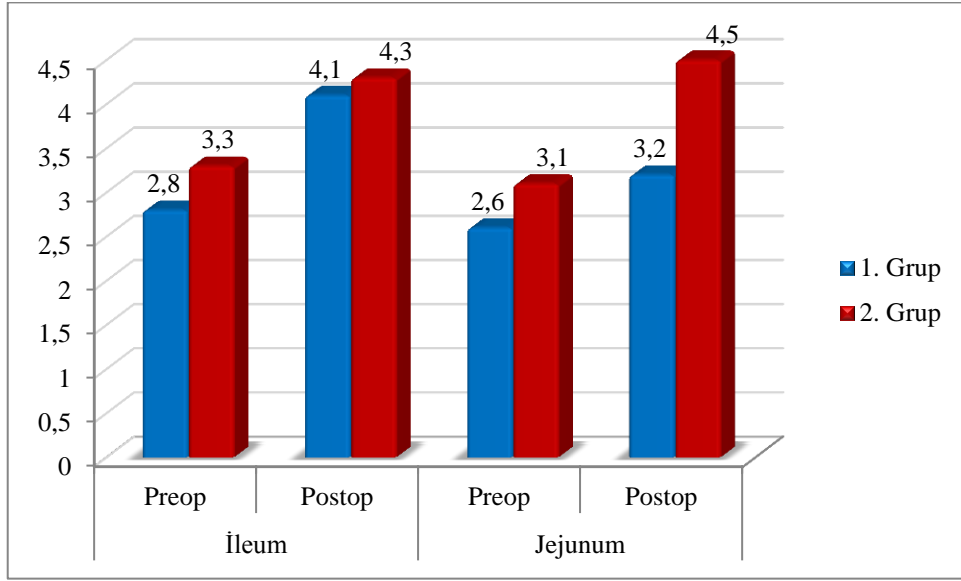


**Şekil 4.8.** Gruplara Göre Ameliyat Öncesi ve Ameliyat Sonrası İnce Barsak Uzunluğu Değerleri Ortalamaları

Yapılan Tekrarlı Ölçümler İçin İki Yönlü ANOVA Testi sonucunda: barsak çapının ( $p < 0,05$ ) ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası ölçümleri bakımından gruplar ve alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptandığı Tablo 4.2’ de gösterildi. Genel olarak 2. grubun barsak çapı 1. gruba göre daha yüksek, ileum grubunun barsak çapı jejunum grubuna göre daha yüksek ve ameliyat sonrası barsak çapı ameliyat öncesine göre daha yüksektir. Ayrıca 2. grubun hem jejunum hem de ileum ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası barsak çapı değerleri 1. gruba göre daha yüksektir.

**Tablo 4.2.** Gruplar İle Alt Gruplar Arasında Barsak Çapının Ameliyat Öncesi ve Ameliyat Sonrası Değerlerinin Karşılaştırılmasında Tekrarlı Ölçümler İçin İki Yönlü ANOVA Testi

		Alt Grup	1. Grup (N=18)	2. Grup (N=18)	p değeri
Barsak Çapı	Ameliyat öncesi	İleum (N=18)	2,8 ± 0,5	3,3 ± 0,6	p<0,05
		Jejunum (N=18)	2,6 ± 0,3	3,1 ± 0,6	p<0,05
Ameliyat sonrası		İleum (N=18)	4,1 ± 0,9	4,3 ± 0,6	p<0,05
		Jejunum (N=18)	3,2 ± 0,4	4,5 ± 0,9	p<0,05



**Şekil 4.9.** Gruplara Göre İleum ve Jejunum Barsak Çapının Ameliyat Öncesi ve Ameliyat Sonrası Değerleri Ortalamaları

Yapılan İki Yönlü ANOVA Testi sonucunda: villus uzunluğu ( $p<0,05$ ), kript derinliği ( $p<0,05$ ), mukozal kalınlık ( $p<0,05$ ), mitoz sayısı ( $p<0,05$ ) ve goblet hücre sayısı ( $p<0,05$ ) bakımından 1. grup ve 2. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’ te gösterildi. 2. grubun bütün değerleri 1. gruba göre daha yüksektir.

Ancak alt gruplar değerlendirildiğinde tek başına ileum ve jejunum sadece mitoz sayısı ( $p<0,05$ ) bakımından fark göstermektedir. Jejunum grubunun mitoz sayısı ileum grubuna göre daha yüksektir. Diğer değişkenler ( $p>0,05$ ) için tek başına ileum ve jejunum arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

Gruplar ve alt gruplar birlikte değerlendirildiğinde ise sadece goblet hücre sayısında ( $p<0,05$ ) anlamlı fark saptanmıştır. 1. grupta ileum grubunun goblet hücre sayısı jejunum’a göre daha fazla iken, 2. grupta jejunum grubunun goblet hücre sayısı ileum’a göre daha fazladır. Diğer değişkenler ( $p>0,05$ ) için grupların ve alt grupların birlikte etkisi anlamlı değildir.

**Tablo 4.3.** Gruplar Arasında İleumda Villus Uzunluğu, Kript Derinliği, Mukozal Kalınlık, Mitoz Sayısı ve Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılmasında İki Yönlü ANOVA Testi

		<i>1. Grup (N=18)</i>	<i>2. Grup (N=18)</i>	<i>p değeri</i>
Villus Uzunluğu	<b>İleum (N=18)</b>	0,48 ± 0,12	0,72 ± 0,08	p<0,05
Kript Derinliği	<b>İleum (N=18)</b>	0,21 ± 0,06	0,33 ± 0,05	p<0,05
Mukozal Kalınlık	<b>İleum (N=18)</b>	0,71 ± 0,16	0,98 ± 0,21	p<0,05
Mitoz Sayısı	<b>İleum (N=18)</b>	6,2 ± 1,4	9,6 ± 1,9	p<0,05
Goblet Hücre Sayısı	<b>İleum (N=18)</b>	29,4 ± 8,1	42,4 ± 8,9	p<0,05

**Tablo 4.4.** Gruplar Arasında Jejunumda Villus Uzunluğu, Kript Derinliği, Mukozal Kalınlık, Mitoz Sayısı ve Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılmasında İki Yönlü ANOVA Testi

		<i>1. Grup (N=18)</i>	<i>2. Grup (N=18)</i>	<i>p değeri</i>
Villus Uzunluğu	<b>Jejunum (N=18)</b>	0,54 ± 0,12	0,73 ± 0,11	p<0,05
Kript Derinliği	<b>Jejunum (N=18)</b>	0,22 ± 0,04	0,30 ± 0,06	p<0,05
Mukozal Kalınlık	<b>Jejunum (N=18)</b>	0,79 ± 0,14	1,04 ± 0,15	p<0,05
Mitoz Sayısı	<b>Jejunum (N=18)</b>	6,9 ± 1,7	11,5 ± 1,6	p<0,05
Goblet Hücre Sayısı	<b>Jejunum (N=18)</b>	26,9 ± 7,7	48,7 ± 7,5	p<0,05

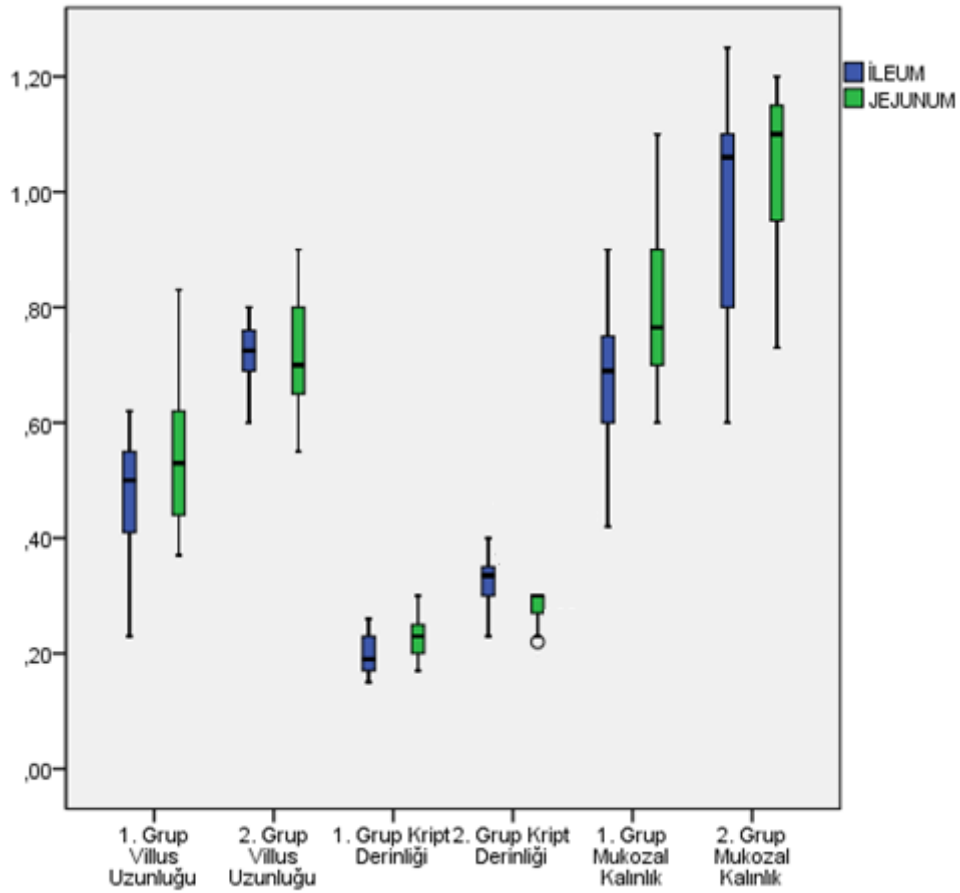
**Tablo 4.5.** Birinci Grupta Alt Gruplar Arasında Villus Uzunluğu, Kript Derinliği, Mukozal Kalınlık, Mitoz Sayısı ve Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılmasında İki Yönlü ANOVA Testi

		<i>İleum (N=18)</i>	<i>Jejunum (N=18)</i>	<i>p değeri</i>
Villus Uzunluğu	<b>1. Grup (N=18)</b>	0,48 ± 0,12	0,54 ± 0,12	0,173
Kript Derinliği	<b>1. Grup (N=18)</b>	0,21 ± 0,06	0,22 ± 0,04	0,674
Mukozal Kalınlık	<b>1. Grup (N=18)</b>	0,71 ± 0,16	0,79 ± 0,14	0,081
Mitoz Sayısı	<b>1. Grup (N=18)</b>	6,2 ± 1,4	6,9 ± 1,7	0,001
Goblet Hücre Sayısı	<b>1. Grup (N=18)</b>	29,4 ± 8,1	26,9 ± 7,7	0,325

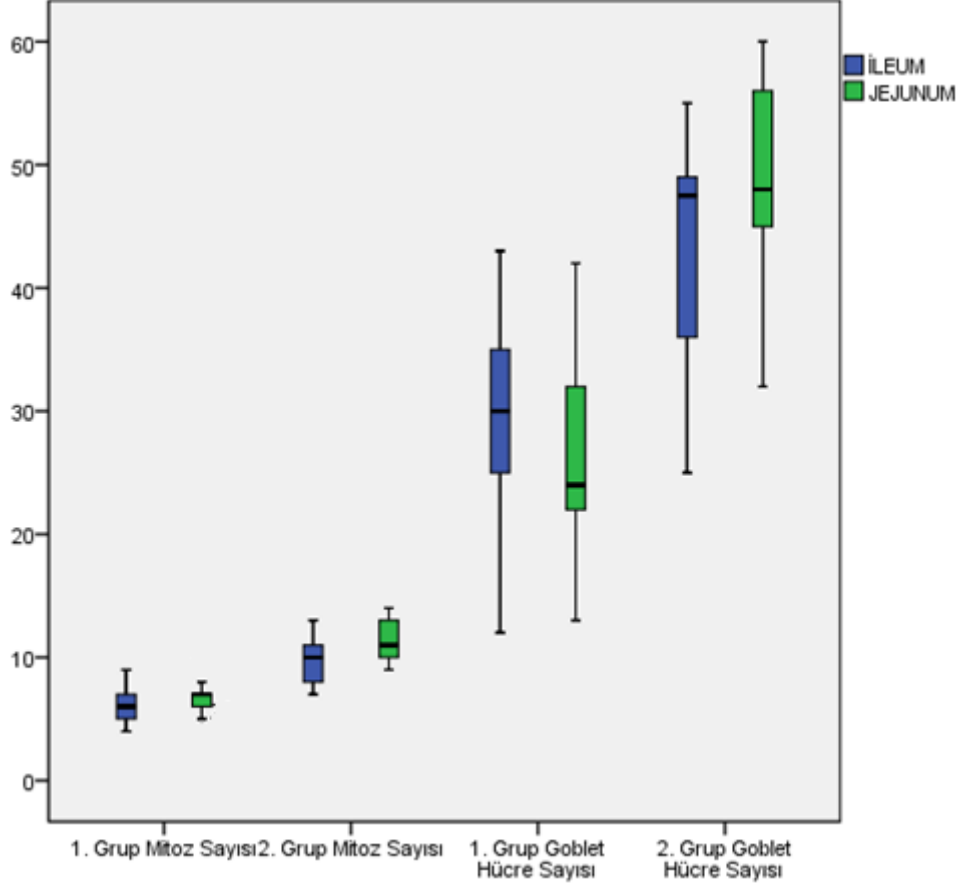


**Tablo 4.6.** İkinci Grupta Alt Gruplar Arasında Villus Uzunluğu, Kript Derinliği, Mukozal Kalınlık, Mitoz Sayısı ve Goblet Hücre Sayısı Değerlerinin Karşılaştırılmasında İki Yönlü ANOVA Testi

		<i>İleum</i> (N=18)	<i>Jejunum</i> (N=18)	<i>p değeri</i>
Villus Uzunluğu	<b>2. Grup (N=18)</b>	0,72 ± 0,08	0,73 ± 0,11	0,173
Kript Derinliği	<b>2. Grup (N=18)</b>	0,33 ± 0,05	0,30 ± 0,06	0,674
Mukozal Kalınlık	<b>2. Grup (N=18)</b>	0,98 ± 0,21	1,04 ± 0,15	0,081
Mitoz Sayısı	<b>2. Grup (N=18)</b>	9,6 ± 1,9	11,5 ± 1,6	0,001
Goblet Hücre Sayısı	<b>2. Grup (N=18)</b>	42,4 ± 8,9	48,7 ± 7,5	0,325



**Şekil 4.10.** Gruplar ve Alt gruplar arasında Villus Uzunluğu, Kript Derinliği ve Mukozal kalınlık Değerleri Ortalamaları

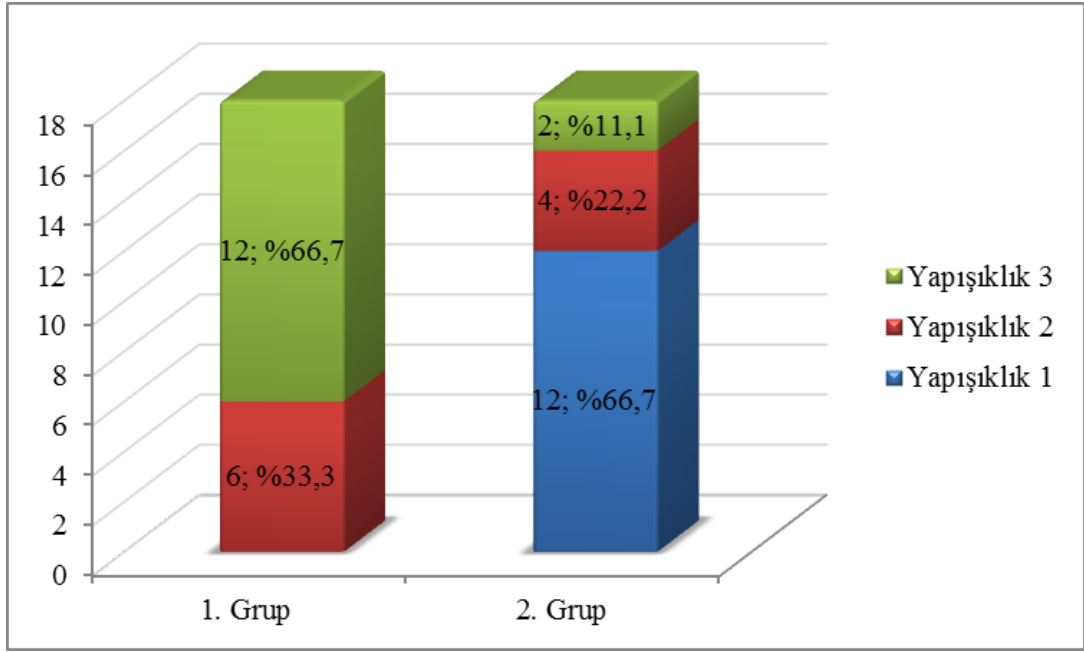


**Şekil 4.11.** Gruplar ve alt gruplar arasında mitoz ve goblet hücre sayısı ortalamaları

Yapılan Ki-Kare Testi sonucunda: gruplar arasında yapışıklık ( $p < 0,05$ ) bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandığı Tablo 4.7' de gösterildi. 1. grupta yapışıklık 3 olma oranı %66,7 iken, 2. grupta 1 olma oranı %66,7'dir. Sonuç olarak 1. grupta yapışıklık daha fazladır.

**Tablo 4.7.** Gruplar Arasında Yapışıklık Değerlerinin Karşılaştırılmasında Ki-Kare Testi

		1. Grup (N=18)	2. Grup (N=18)	<i>p</i> değeri
Yapışıklık	<b>1</b>	0 (0%)	12 (66,7%)	$p < 0,05$
	<b>2</b>	6 (33,3%)	4 (22,2%)	
	<b>3</b>	12 (66,7%)	2 (11,1%)	



Şekil 4.12. Gruplara Göre Yapışıklık Dağılımı

## 5. TARTIŞMA

Kısa barsak sendromu, ince barsakların önemli bir bölümünü anatomik ya da fonksiyonel nedenlerle kaybeden hastalarda, kısa geçiş zamanı, yetersiz kalori, protein ve vitamin emilimiyle karakterize, steatore ve elektrolit bozukluklarıyla seyreden klinik bir tablodur. Bu sendrom ince barsak rezeksiyonları sonucu geride yeterli uzunlukta ince barsak kalmaması ya da alerji, vasküler yetmezlik veya aşırı bakteriyel proliferasyon sonucu ince barsak mukozasının zedelenerek fonksiyon kaybına uğraması ile ortaya çıkmaktadır.

Günümüzde total parenteral beslenme, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, ileri yaşam desteği ve organ nakli gibi modern cerrahi tekniklerle yaşam süresi ve kalitesi arttırılsa da, KBS' nin morbidite ve mortalitesi hala yüksektir(96). KBS' nin seyrini geride kalan barsağın uzunluğu ve niteliği, ileoçekal valv varlığı, sepsis ve TPB' ye bağlı komplikasyonlar belirler(97, 98). KBS' li hastalarda ölümün en önemli sebebi sepsis ve karaciğer yetmezliğidir. Bu komplikasyonlar mortalitenin en önemli kaynağıdır. Karaciğer yetmezliğinin parenteral beslenmeye ikincil geliştiğini öne sürenler olmakla birlikte, barsak pasajının adaptasyona sekonder yavaşladığı, intestinal staz sonucu, bakteriyel aşırı çoğalma, translokasyon ve portal venöz endotoksemi gelişmesi sonucu karaciğer yetmezliği geliştiği görüşünde olanlar da bulunmaktadır(99, 100)

Karın içi yapışıklık skorlaması yapıldığında kök hücre grubunda, PBS grubuna göre bilmediğimiz bir nedenle istatistiksel anlamlı olarak yapışıklığın az olduğunu gördük. İki grupta anastomoz kaçağı, barsak fistülizasyonu, anastomoz daralması ve karın içi apseye rastlanılmamıştır.

Kilo kaybı, KBS' li hastaların en başta gelen semptomlarından. Kilo takibi, özellikle ileoçekal valvin çıkarıldığı durumlarda önemli bir takip kriteri olmakla beraber, KBS modeli üzerindeki tüm araştırmalarda basit ve güvenli bir izleme yöntemidir. Kilo alımı, sadece KBS' de değil tüm hastalıklarda hastanın iyiye gittiğinin kabul edilen göstergesidir. Bu çalışmada kök hücre grubunda kilo kaybı % 9 olurken, kontrol grubunda %18 oldu. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Yapılan çalışmalar, çalışma sürelerine göre değişmekle beraber kilo kayıpları % 5,7- 30 arasında değişmektedir. Naohiro ve arkadaşları GH ve GLP- 2 üzerine yaptıkları çalışmada KBS oluşturdukları sıçanlarda 14 günlük takiplerinde % 10,8, Deborah ve arkadaşları ise vitamin A eksikliğinin KBS üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında %10- 20

arasında kilo kaybı tespit etmişlerdir. Koruda ve arkadaşları KBS' de yağ asitleri ile beslenmenin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında bir haftalık süreçte 12,7 gr (% 5,7) tartı kaybı bildirmişlerdir(47). Bu çalışmada kök hücre tedavisinin ilk bir haftada kilo kaybını azalttığını bulduk. Bu da kök hücrenin daha iyi bir adaptasyon yaptığının göstergesi olabilir.

Kısa barsak sendromunda sağkalım geride kalan barsağın adaptasyon kapasitesiyle ilişkilidir(101). KBS' de adaptasyon, geride kalan barsaktaki mukozal hipertrofi ve hiperplazi, dilatasyon ve uzama, her bir barsak ünitesindeki artmış sindirim ve emilim kapasitesiyle karakterizedir(102).Geride kalan barsaktaki adaptasyon besinler, pankreatikobiliyer sekresyonlar, gastrin, enteroglukagon, büyüme hormonu( GH), insülin benzeri büyüme faktörü 1(IGF 1), epidermal büyüme faktörü( EGF) gibi pek çok faktörden etkilenir(103) Daha önce yapılmış çalışmalarda barsak rezeksiyonu sonrası erken dönemde portal plazma ve ileum mukozasında EGF' nin arttığı saptanmıştır(104). EGF mukozal hipertrofi ve hiperplaziyi artırır( 104). Bizim çalışmamızda kök hücre grubunda mukozal hipertrofi ve hiperplazi artmıştır.

GH somatik büyümeyi sağlayan, protein sentezini uyaran ve karbonhidrat ve lipit metabolizmasını düzenleyen bir hormondur. Ming ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptığı çalışmada, GH' un barsak uzunluğunu ve fonksiyonunu birim başına arttırdığı bulunmuştur. Bununla birlikte eksojen olarak GH verilmesinin mukozal büyüme ve intestinal adaptasyonda pozitif etkileri olduğu, ayrıca GH' nun regüle ettiği IGF 1' in barsak hiperplazisini ve hipertrofisini arttırdığı gösterilmiştir(103). Bizim çalışmamızda kök hücre IGF- 1 salgısını artırarak adaptasyon sürecini pozitif yönde etkilemiştir.

Igor ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma da ratlardaki barsak rezeksiyonu sonrasında trombosit kaynaklı büyüme faktörü( PDGF) nün intestinal yeniden büyümeyi stimüle ettiği görülmüştür. Kök hücrenin PDGF stimülasyonunu arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur(105). Bizim çalışmamızda kök hücrenin PDGF stimülasyonunu arttırarak büyümeye etki etmiş olabilir.

DeneySEL intestinal adaptasyonun morfolojik makroskobik değişiklikleri barsak uzunluğunda ve çapında artmadır. Bu çalışmada barsak uzunluğu ve barsak çapında kök hücre grubunda diğer gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İntestinal adaptasyona bu açıdan kök hücrenin katkıda bulunduğu söylenebilir.

DeneySEL intestinal adaptasyonun morfolojik mikroskopik değişikliklerinden olan villus yüksekliği, kript derinliği ve mukozal kalınlıkta artma ölçü olarak alındığında, bu

parametrelerin hepsinde kök hücre grubunda diğer gruba göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Perez ve arkadaşları, deneysel kısa barsak modeli üzerinde yaptığı bir çalışmada, jejunum adaptif kapasitesini ölçmek için villus yüksekliğini ve kript derinliğini ölçmüşler, sonuç olarak barsak rezeksiyonu sonrası kalan barsakta hipertrofi olduğunu göstermişlerdir(106). Bizde çalışmamızda, rezeksiyon sonrası hipertrofinin her iki grupta olduğunu gözlemledik. Ancak kök hücre grubunda hem jejunumda hem de ileumda diğer gruba göre istatistiksel olarak anlamlı hipertrofinin arttığını gördük. Ancak kök hücre grubunda jejunum ile ileum arasında villus yüksekliği ve kript derinliği açısından fark saptanmadı.

Adaptasyonun diğer bir parametresi olan mitoz sayısına bakıldığında kök hücre grubunda jejunumdaki mitoz sayısı ileuma göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu durum jejunumun daha iyi adaptif cevap verdiğinin göstergesidir.

Her ne kadar çoğu çalışma enterositlere odaklanmış olsada non- enterositik mukozal epitelyal hücrelerde de adaptasyon artmaktadır. Goblet ve Paneth hücreleri barsak rezeksiyonu sonrası erken dönemde ve devamlı bir artış göstermektedir. Bu sekretuar hücreler barsak adaptasyonunu arttıran jukstakrin sinyalizasyona katkı sağlayabilirler. Washiazawa ve arkadaşları goblet hücre sayısını masif ince barsak rezeksiyonu yaptıkları bir deneysel modelde diğer parametrelerle birlikte kullanmıştır(107). Bizim çalışmamızda kök hücre grubunda diğer gruba göre villuslardaki goblet hücre sayısı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kök hücre grubunda jejunumda daha yüksek bulunmuştur. Şener ve arkadaşlarının enteral beta glukon verdikleri kısa barsak sendromlu ratlarda goblet hücre sayısında anlamlı fark saptanmamıştır. Tekin ve arkadaşlarının intravenöz glutamin verdikleri kısa barsak sendromlu ratlarda kontrol grubuna göre anlamlı fark saptanmamıştır.

Çalışmamızda kemik iliği kaynaklı kök hücre kullanımı yerine adipoz kökenli mezenkimal kök hücre kullanmayı tercih ettik. Hem kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücrelerin (MKH) hem de adipoz kökenli MKH'lerin çalışıldığı bir çalışmada, damarlanmanın adipoz kökenli MKH grubunda anlamlı derece fazla olduğu görülmüş. Ayrıca adipoz dokunun kemik iliğine göre santimetreküp başına 100 ila 1000 kat daha fazla pluripotent hücre içerdiği ve en az kemik iliği kaynaklı kök hücreler kadar değişik hücrelere farklılaşabildikleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmamızda da kök hücrenin hem endotelyal hücreye dönüşümü hem de villus hücresine dönüşümü flöresan mikroskopunda gösterildi.

Zuk ve ark.'nın yaptığı çalışmada adipoz dokunun mezenkimal hücrelerden oldukça zengin olduğu gösterilmiş ve kemik iliğinden elde edilen kök hücrelere göre izolasyonlarının lipoaspirasyon yöntemi ile kolayca ve bol miktarda elde edilebilmeleri nedeniyle son yıllarda kök hücre kaynağı olarak kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır(59).

İskemi-reperfüzyon modeli, Uysal ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada adipoz doku kökenli kök hücre kullanılmış. Çalışmada sıçanların sırt bölgesinde flep kaldırılmış. Sonrasında sırt bölgelerinin sol tarafına fosfatlanmış salin ve sağ tarafına da fosfatlanmış salinli kök hücre uygulanmıştır. Çalışmanın 7. gününde flep canlılığı termografik olarak değerlendirilmiş ve kök hücre grubunda flep canlılığı belirgin olarak daha fazla bulunmuş. Çalışmacılar bu sonucu kök hücrenin büyüme faktörlerini ve sitokinleri regüle etmesinden kaynaklandığı sonucuna varmışlar(86).

## 6. SONUÇ

Mezenkimal kök hücreler günümüzde etkinliğinin yüksek olması, kolay elde edilebilmesi ve yan etkilerinin az olması sebebiyle birçok hastalıkta tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Ayrıca adipoz doku mezenkimal kök hücre eldesi açısından zengin ve kolay ulaşılır bir dokudur.

Kök hücre tedavisi ile masif barsak rezeksiyonu sonrası barsak yeniden gelişiminde aşikâr pozitif etki vardır. KBS oluşturulan sıçanlardan kök hücre tedavisi alan hayvanlarda anlamlı olarak daha uzun villus, daha derin kript, daha fazla goblet hücresi, daha fazla mitoz sayısı kısacası daha iyi bir adaptasyon geliştiği saptanmıştır. Kök hücre grubunda makroskopik bulgular olan barsak çapı, barsak uzunluğu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu pozitif sonuçlar sıçanların kilo kaybına olumlu yansımıştır. Kök hücre grubunda diğer gruba göre kilo kaybı daha az olmuştur. Bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç olarak kök hücre grubunda diğer gruba oranla intestinal adaptasyonun daha iyi olduğunu gördük. Bu olumlu sonuçlar nedeniyle kısa barsak sendromlu insanlarda kök hücre verilmesi yeni bir tedavi seçeneği olabilir.



## 7. KAYNAKÇA

1. Jeppesen PB. Growth Factors in Short-bowel syndrome patients. *Gastroenterol Clin N Am* 36: 109- 121, 2007
2. Koffeman GI, Gemert WG, George EK, Veenendaal RA. Clasification, epidemiology and aetiology. *Best Prac Res Clin Gastroenterol* 17: 879- 893, 2003
3. Ege B, Ersoy E. Short-Bowel Syndrome Türkiye Klinikleri 2005; 1: 54- 56.
4. Abbasoğlu O, Sayek İ. Kısa barsak sendromu. In: Sayek İ ed. *Temel Cerrahi 3rd* Ankara, Güneş Kitabevi. 176- 179, 2004
5. Sundaram A, Koutkia P, Apovian CM. Nutritional Management of Short Bowel Syndrome in Adults. *J Clin Gastroenterol.* 34: 207- 220, 2002
6. Wilmore DW, Robinson MK. Short Bowel Syndrome. *World J Surg* 24: 1486- 1492, 2004
7. Haxhija EQ, Yang H, Spencer AU, Sun X, Teitelbaum DH. Intestinal epithelial cell proliferation is dependent on the site of massive small bowel resection. *Pediatr Surg Int* 23: 379- 390, 2003
8. Drozdowski L, Thomson AB. Intestinal mucosal adaptation. *World J Gastroenterol* 12: 4614- 4627, 2006
9. Wales PW. Surgical therapy for short bowel syndrome *Pediatr Surg Int.* 20: 647- 657, 2004
10. Duran B. The effects of long-term total parenteral nutrition on gut mucosal immunity in children with short bowel syndrome: a systematic review. *BMC Nursing* 4: 2, 2005
11. Salminen SJ, Gueimonde M, Isolauri E. Probiotics that modify disease risk. *J Nutr* , 135: 1294- 1298, 2005
12. Skandalakis JE. Small intestine. In: Skandalakis JE eds. *Surgical Anatomy. The embriyologic and Anatomic Basis of Modern Surgery- 2 Volumes 14th.* Greece, McGraw-Hill, 789- 839, 2004
13. Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. In: *Gray's Anatomy 37th Ed.* Philadelphia, Churchill Livingstone, 1358- 1364, 2004
14. Evers BM. The small intestine (Anatomy, Physiology). In: Sabiston DC Jr ed. *Textbook of surgery: The biological basis of modern surgical practice 18th ed.* Philadelphia, W.B. Saunders Company. 1278-1282, 2008

15. Junqueira CL, Carneiro J, Kelley RO. Gastrointestinal Tract. In: Basic Histology 7th. Brazil, McGraw-Hill. 380-396, 1992
16. Atalay F, Özçay N, Gündoğdu H, Oruç T, Güngör A, Akoğlu M. Evaluation of the outcome of short bowel syndrome and indications for intestinal transplantation. *Transplant Proc* 35: 3054- 3056, 2005
17. Lennard-Jones JE. Historical overview In: Nightingale J ed. *Intestinal Failure* 1st ed. London, Greenwich Medical Media Limited. 5-13, 2005
18. Nightingale J. The short bowel. In: Nightingale J ed. *Intestinal Failure* 1st ed. London, Greenwich Medical Media Limited. 179-198, 2001
19. Fedorak RN. Short bowel syndrome. In: Yamada T, Alpers DH, Laine L, Owyang C, Powell DW eds. *Textbook of Gastroenterology Vol:2* 3rd ed. Philadelphia, Lippincott, Williams and Wilkins, 1704- 1721. 1999
20. Ku WH, Lau DCY, Huen KF. Probiotics provoked D-lactic acidosis in short bowel syndrome. *HK J Paediatr*, 11: 246- 254, 2006
21. Collantes Pérez J, Prada Oliveira JA, Gómez Luy C, Vallo De Castro JJ, Verástegui Escolano C. A useful experimental model of short bowel syndrome. *Journal of Investigative Surgery*, m 17: 9- 14, 2007
22. Westergaard H. Short Bowel Syndrome. In: Feldman M, Scharschmidt BF. Sleisenger MH eds. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease Vol.2* 8th ed. Philadelphia, Saunders. 2257- 2275, 2006
23. Thompson JS. Surgical rehabilitation of intestine in short bowel syndrome. *Surgery*, 135: 465- 470, 2004
24. Vanderhoof JA, Young RJ. Enteral and parenteral nutrition in the care of patients with short-bowel syndrome. *Best Prac Res Clin Gastroenterol*, 17: 997- 1015, 2003
25. Di Baise JK, Young RJ, Vanderhoof JA. Intestinal rehabilitation and the short bowel syndrome: part 1. *Am J Gastroenterol* , 99: 1386- 1395, 2001
26. Sundaram A, Koutkia P, Apovian CM. Nutritional management of short bowel syndrome in adults. *J Clin Gastroenterol*, 34: 207- 220, 2002
27. Thompson JS. Management of short bowel syndrome, In: John L. Cameron ed. *Current Surgical Therapy* 9th ed. Philadelphia, Mosby. 145- 168, 2008
28. Martens M F, Hendriks T. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. *Gut*, 32: 1482- 1487, 1991

29. Booth I W. Enteral nutrition as primary therapy in short bowel syndrome. *Gut*, 1: 69-72, 1994
30. Washizawa N, Gu L H, Gu L, Openo K P, Jones D P, Ziegler T R. Comparative effects of glucagon-like peptide- 2 (GLP- 2), growth hormone (GH), and keratinocyte growth factor (KGF) on markers of gut adaptation after massive small bowel resection in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 28: 399- 409, 2004
31. Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am J Clin Nutr*. 73:399-405, 2001
32. Iannoli P, Miller J H, Ryan C K, Gu L H et al. Human growth hormone induces system B transport in short bowel syndrome. *J Surg Res* 69: 150- 158, 1991
33. Gu Y, Wu Z H, Xie J X, Jin D Y, Zhuo H C. Effects of growth hormone and glutamine supplemented parenteral nutrition on intestinal adaptation in short bowel rats. *Clin Nutrition*, 20: 159- 166, 2001
34. Evans M E, Tian J, Gu L H, Jones D P, Ziegler T R. Dietary supplementation with orotate and uracil increases adaptive growth of jejunal mucosa after massive small bowel resection in rats *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 29: 315- 321, 2005
35. Thompson JS. Surgery for patients with a short bowel In: Nightingale J ed. *Intestinal Failure* 1st ed. London, Greenwich Medical Media Limited. 517- 527, 2001
36. Burlington JD. Surgery after massive small bowel resection. *Am J Surg*, 121: 213- 214, 1971
37. Piena-Spoel M, Sharman-Koendjibiharie M, Yamanouchi T, Tibboel D. ‘Gut-feeling’ or evidence-based approaches in the evaluation and treatment of human short-bowel syndrome. *Pediatr Surg Int*, 16: 155- 164, 2000
38. Welters CF, Dejong CH, Deutz NE, Heineman E. Intestinal function and metabolism in the early adaptive phase after massive small bowel resection in the rat. *J Pediatr Surg*, 36: 1746- 1751, 2001
39. Shanbhogue LK, Molenaar JC. Short bowel syndrome: metabolic and surgical management. *Br J Surg*, 81: 486- 499, 1998
40. Shen TY, Qin HL, Gao ZG, Fan XB, Hang XM, Jiang YQ. Influences of enteral nutrition combined with probiotics on gut microflora and barrier function of rats with abdominal infection. *World J Gastroenterol* , 12: 4352- 4358, 2006
41. Sigalet DL. Short bowel syndrome in infants and children: an overview. *Semin Pediatr Surg*, 10: 49- 55, 2001

42. Schulzke JD, Fromm M, Bentzel CJ, Zeitz M, Menge H, Riecken EO. Ion transport in the experimental short bowel syndrome of the rat. *Gastroenterol*, 102: 497- 504, 1992
43. Chaves M, Smith MW, Williamson RC. Increased activity of digestive enzymes in ileal enterocytes adapting to proximal small bowel resection. *Gut*, 28: 981- 987, 1987
44. Alverdy JC, Aoyo E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery*, 104: 185- 190, 1998
45. Goulet O, Ruemmele F, Lacaille F, Colomb V. Irreversible intestinal failure. *JPGN*, 38: 250- 269, 2004
46. Vanderhoof JA, Langnas AN. Short-bowel syndrome in children and adults. *Gastroenterol* 113: 1767- 1778, 1997
47. Koruda MJ, Rolandelli RH, Setle G, Zimmaro DM, Rombeau JL. Effect of parenteral nutrition supplemented with short-chain fatty acids on adaptation to massive small bowel resection. *Gastroenterol*, 95: 715- 720, 1998
48. Sukhotnik I, Siplovich L, Shiloni E, Mor-Vaknin N, Harmon CM, Coran AG. Intestinal adaptation in short bowel syndrome in infants and children: a collective review. *Pediatr Surg Int*, 18: 258- 263, 2002
49. Karaöz E, Ovalı E. Kök Hücreler. Atı Teknoloji yayın no:1. Trabzon. 2004.
50. Sale GE, Storb R. Bilateral diffuse pulmonary ectopic ossification after marrow allograft in a dog. Evidence for allotransplantation of hemopoietic and mesenchymal stem cells. *s.l. : Exp Hematol.*;11(10):961-6, 1983.
51. Trucco M. Regeneration of the pancreatic beta cell. *s.l. : J Clin Invest.*;115(1):5-12, 2005.
52. Can A, Karahüseyinoğlu S, Çınar Ö, Erdemli E, Özdağ H. İnsan kök hücrelerinin çoğalma ve farklılaşma aşamalarında yapısal protein dinamiğinin belirlenmesi. *s.l. : Tübitak SBAG Proje 3314106S036*. 2008:1-39.
53. Embriyonel ve mezodermal kök hücreler. Prof.Dr Ali Uğur Ural Ders notları. *s.l. : GATA Hematoloji A.D. Ankara*.
54. Karaöz E. Nedir bu kök hücreler? Türkiye kök hücre araştırmalarının neresinde? *s.l. : Cumhuriyet Bilim ve Teknik Dergisi*. 18(884):2-14;2004.
55. Şahin F, Saydam G, Omay SB. Kök hücre plastisitesi ve klinik pratikte kök hücre tedavisi. *s.l. : Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*.1(15):48-56;2005.

56. Bunnell BA, Flaat M, Gagliardi C, Patell B. Adipose-derived stem cells: Isolation, expansion and differentiation. *s.l. : Methods.* 45:115-20;2008.
57. Çamurdanoğlu BZ, Kansu E. Erişkin ve hematopoetik kök hücreler. In: Kansu E (ed). *Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar.* *s.l. : Türkiye Bilimler Akademisi Raporları.* Ankara: Yalçın Matbaacılık:41-51; 2009.
58. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *s.l. : Exp Hematol.* 4(5):267-74; 1976.
59. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *s.l. : Tissue Eng.* 7:211-28, 2001.
60. Rodriguez AM, Elabd C, Amri EZ, Ailhaud G, Dani C. The human adipose tissue is a source of multipotent cells. *s.l. : Biochimie.* 87:125-8, 2005.
61. Lendenckel S, Jödicke A, Christophis P, Heidinger K, Wolff J, Fraser JK. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *s.l. : J Craniomaxillofac Surg.* 32:370-3, 2004.
62. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *s.l. : Science.* 284:143-7, 1999.
63. Çetinkaya DU. Mezenkimal kök hücreler. In: Kansu E (ed). *Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar.* *Türkiye Bilimler Akademisi Raporları.* *s.l. : Ankara: Yalçın Matbaacılık,53-62, 2009.*
64. Preston SL, Alison MR, Forbes SJ, Direkze NC, Poulson R, Wright NA. The new stem cell biology: something for everyone. *s.l. : Mol Pathol.* 56:86-96, 2003.
65. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *s.l. : Stem Cells.* 19(3):180-92, 2001.
66. Hawley RG, Sobieski DA. Stem cell bouillabaisse-potpourri. *s.l. : Stem Cells.* 20:360-3, 2002.
67. Karaoz E, Aksoy A, Ayhan S, Sariboyaci AE, Kaymaz F, Kasap M. Characterization of mesenchymal stem cells from rat bone marrow: ultrastructural properties, differentiation potential and immunophenotypic markers. *s.l. : Histochem Cell Biol.* 132(5):533-46, 2009.

68. Karaoz E, Ayhan S, Gacar G, Aksoy A, Duruksu G, Okçu A, et al. Isolation and characterization of stem cells from pancreatic islet: pluripotency, differentiation potential and ultrastructural characteristics. *s.l. : Cytotherapy.* 12(3):288-302, 2010.
69. Zheng Y, Yi C, Xia W, Ding T, Zhou Z, Han Y. Mesenchymal stem cells transduced by vascular endothelial growth factor gene for ischemic random skin flaps. *s.l. : Plast Reconstr Surg.* 121(1):59-69, 2008.
70. Simman R, Craft C, McKinney B. Improved survival of ischemic random skin flaps through the use of bone marrow nonhematopoietic stem cells and angiogenic growth factors. *s.l. : Ann Plast Surg.* 54(5):546-52, 2005.
71. Beksaç M. Kök hücre kaynağı olarak kordon kanı. In: Kansu E (ed). Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. Türkiye Bilimler Akademisi Raporları. . *s.l. : Ankara: Yalçın Matbaacılık,* 29-39, 2009.
72. Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, Mahon BP. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *s.l. : J Inflamm (Lond).* 26(7):2-8, 2005.
73. Tomiyama K, Murase N, Stolz DB, Toyokawa H, O'Donnell DR, Smith DM. Characterization of transplanted green fluorescent protein bone marrow cells into adipose tissue. *s.l. : Stemcells.* 26:330-8, 2008.
74. Baran Y, Ural A, Avcu F, Sarper P. Optimization of transfection of green fluorescent protein in pursuing mesenchymal stem cells in vivo. *s.l. : Turk J Hematol.* 25:172-5, 2008.
75. Strauer BE, Schannwell CM, Brehm M. Therapeutic potentials of stem cells in cardiac diseases. *s.l. : Minerva Cardioangiol.* 57(2):249-67, 2009.
76. Yoshioka T, Ageyama N, Shibata H, Yasu T, Misawa Y, Takeuchi K. Repair of infarcted myocardium mediated by transplanted bone marrow-derived CD34+ stem cells in a nonhuman primate model. *s.l. : Stem Cells.* 23(3):355-64, 2005.
77. Graham-Rowe D. Fetal tissue graft restores lost sight. *s.l. : New Sci.* 184(2471):16-17, 2004.
78. Vastag B. Stem cells step closer to the clinic: paralysis partially reversed in rats with ALS-like disease. *s.l. : JAMA.* 285(13):1691-1693, 2001.
79. Karaoz E, Okcu A, Saglam O, Genc ZS, Ayhan S, Kasap M. Pancreatic islet derived stem cells can express co-stimulatory molecules of antigen-presenting cells. *s.l. : Transplant Proc.* 42(9):3663-70, 2010.

80. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *s.l. : Science.* 275(5302):964-7, 1997.
81. Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, Yamaguchi JI, Uchida S, Masuda H. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *s.l. : Circulation.* 103(5):634-637, 2001.
82. Heintz-Green A, Radke PW, Munkongke FM, Frass O, Zhu J, Vincent K. The efficacy of a 'master switch gene' HIF-1alpha in a porcine model of chronic myocardial ischaemia. *s.l. : Eur Heart J.* 26(13):1327-32, 2005.
83. Madeddu P. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration. *s.l. : Exp Physiol.* 90(3):315-26, 2005.
84. Ichioka S, Kudo S, Shibata M, Ando J, Sekiya N, Nakatsuka T. Bone marrow cell implantation improves flap viability after ischemia-reperfusion injury. *s.l. : Ann Plast Surg.* 52(4):414-8, 2004.
85. Zheng Y, Yi C, Xia W, Ding T, Zhou Z, Han Y. Mesenchymal stem cells transduced by vascular endothelial growth factor gene for ischemic random skin flaps. *s.l. : Plast Reconstr Surg.* 121(1):59-69, 2008.
86. Uysal AC, Mizuno H, Tobita M, Ogawa R, Hyakusoku H. The effect of adipose-derived stem cells on ischemia-reperfusion injury: immunohistochemical and ultrastructural evaluation. *s.l. : Plast Reconstr Surg.* 124(3):804-15, 2009.
87. Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M. O., Schoeffler, C., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., Dohan, D. M. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet. *s.l. : concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,* 101, 56-60, 2006.
88. Gray, A. J., Bishop, J. E., Reeves, J. T., Laurent, G. J. A alpha and B beta chains of fibrinogen stimulate proliferation of human. *s.l. : fibroblasts. J Cell Sci,* 104 ( Pt 2), 409-13, 1993.
89. Zeng Q., Li X., Beck G., Balian G., Shen FH. Growth and differentiation factor-5 (GDF-5) stimulates osteogenic differentiation and increases vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in fat derived stromal cells in vitro. *s.l. : Bone* 40:374-81, 2007.

90. Cao Y., Sun Z., Liao L., Meng Y., Han Q., Zhao RC. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo. s.l. : Biochem Biophys Res Commun 332:370-9, 2005.
91. Perçem AK. İskemik kolon anastomozunda plasmidlere klonlanmış vasküler endotelial growth faktör ve fibroblastik growth faktör' ün anastomoz yara iyileşmesi üzerine etkisi. s.l. : Uzmanlık tezi, 2009.
92. Esposito, M., Hirsch, J. M., Lekholm, U., Thomsen, P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. s.l. : (II). Etiopathogenesis. Eur J Oral Sci, 106, 721-764, 1998.
93. Simonpieri, A., Choukroun, J., Del Corso, M., Sammartino, G., Dohan Ehrenfest, D. M. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. s.l. : Implant Dent, 20, 2-12, 2011.
94. Uysal, A. C., and Mizuno, H. Tendon regeneration and repair with adipose derived stem cells. s.l. : Current stem cell research & therapy, 5.2: 161-167, 2010.
95. Ehrenfest D., David M. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. s.l. : Growth Factors, 27.1: 63-69, 2009.
96. Ege B. , Ersoy E. Short Bowel Syndrome Türkiye klinikleri 1: 54- 56, 2005
97. Abbasoğlu O. Sayek İ. Kısa barsak sendromu. Sayek Temel Cerrahi 176- 179, 2004
98. Sunduran A. ,Koutkia P , Apovian CM. Nutritional Management of Short Bowel Syndrome in Adults. J Clin Gastroenterol. 34: 207- 220, 2002
99. Wales PW. Surgical therapy for short bowel syndrome . Pediatric surgery 20: 647- 657, 2004
100. Duran B. The effects of long term total parenteral nutrition on gut mucosal immunity in children with short bowel syndrome: a systematic review. BMC Nursing 4: 2, 2005
101. Ulshen MH, Dowling RH, Fuller CR, et all. Enhanced growth of small bowel in transgenic mice overexpressing bovine growth hormone. Gastroenterology. 104: 973- 980, 1993
102. Park JH, Vanderhoof JA. Growth hormone did not enhance mucosal hyperplasia after small bowel resection. Scand J Gastroenterol. 31: 349- 354, 1996



103. Lemmey AB, Martin AA, Read LC . IGF 1 and the truncated analogue des IGF 1 enhance growth in rats after gut resection. *Am J Physiol.* 260: 213- 219, 1991
104. Inoue Y. , EM Copeland , Souba WW. Growth hormone enhances amino acid uptake by the human small intestine . *Ann Surgery.* 219: 715- 724, 1994
105. Igor Sukhotnik, Jorge GM , Yulia P, Shiri B. , Jacob B. PDGF stimulates intestinal epithelial cell turnover after massive small bowel resection in a rat. *Am J Physiol.* 302: 1274- 1281, 2012
106. Collantes Pérez J, Prada Oliveira JA, Gómez Luy C, Vallo De Castro JJ, Verástegui Escolano C. A useful experimental model of short bowel syndrome. *Journal of Investigative Surgery* 17: 9- 14, 2004
107. Washizawa N, Gu L H, Gu L, Openo K P, Jones D P, Ziegler T R. Comparative effects of glucagon-like peptide- 2 (GLP- 2), growth hormone (GH), and keratinocyte growth factor (KGF) on markers of gut adaptation after massive small bowel resection in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2004; 28: 399- 409.