

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
CERRAHİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
KULAK BURUN BOGAZ
ANABİLİM DALI

RATLARDAKİ AKUT KORD VOKAL SKARLARINDA PRP TEDAVİSİ

DR. SERAP BULUT ÇÖBDEN

UZMANLIK TEZİ

KONYA 2013

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
CERRAHİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
KULAK BURUN BOGAZ
ANABİLİM DALI

RATLARDAKİ AKUT KORD VOKAL SKARLARINDA PRP TEDAVİSİ

DR. SERAP BULUT ÇÖBDEN

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. KAYHAN ÖZTÜRK**

KONYA 2013

TEŞEKKÜR

Hekimlik mesleğinin öğrenilmesinde ara kademelerden biri olan asistanlık eğitimin sonuna gelmiş bulunuyorum.

Uzmanlık eğitimi boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve tezimin her aşamasında yardımını esirgemeyen, ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam, sayın Prof. Dr.Kayhan ÖZTÜRK'e, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım diğer öğretim üyesi hocalarıma,

Tezimde yardımcı olan Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Selçuk DUMAN ve Prof. Dr. Murat AKTAN'a,

Tezimin histopatolojik incelemesini yapan Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Mustafa Cihat AVUNDUK ve Yrd. Doç.Dr. Hasan ESEN'e,

Diğer branş rotasyon eğitiminde bana yardımcı olan hocalarıma ve ekiplerindeki herkese; birlikte çalışmaktan zevk aldığım asistan arkadaşlarıma; klinik-poliklinik hemşire ve çalışanlarına,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞVE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
Larenks embriolojisi.....	2
Anatomik Yapı.....	2
Kord Vokal Yapısı.....	8
Histolojik Yapı.....	10
Epitel Tabakası.....	11
Lamina Propria.....	11
Kas Tabakası.....	14
Rat Larenksi Anatomisi	15
Rat Larenksi Histolojisi	15
Kord Vokalde Yara İyileşmesi Ve Skar Oluşumu	17
PRP	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ.....	38
7. KAYNAKLAR	39
8.ÖZET.....	43
9.SUMMARY.....	45

KISALTMALAR

ECM: Ekstraselüler matriks

EGF: Epidermal büyüme faktörü

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

HA: Hyaluronik asit

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü

PPP: Trombositten fakir plazmayı

PRP: Platelet Rich Plasma

TGF: Tümör growth faktör

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

GİRİŞ VE AMAÇ

Vokal kord skarlarının inflamasyon, irritasyon ve iatrojenik nedenleri içeren birçok sebebi vardır. Kord vokal cerrahisi sonrasında ortaya çıkan fonksiyonel ses kaybının en önemli nedeni skar oluşumudur . Skar vokal kord lamina propriasındaki ekstrasellüler matriksi bozarak disfoniye sebebiyet vermektedir ve tedavisi oldukça güçtür. Kord vokal histolojisinde subepitelyal planda yer alan lamina propria,ekstrasellüler matriks (ECM) ve bu matriksin bileşenlerini sentezleyen hücrelerden (fibroblast,myofibroblast, makrofaj) oluşmaktadır . Glikoproteinler, proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar, kollajen ve elastin bu matriksin ana bileşenlerini oluşturmaktadır . Kord vokalin biyomekanik özelliklerini belirleyen bu bileşenlerin dengeli dağılımı, ses oluşumunda kord vokale ideal viskoelastikiyeti kazandırır. Yara iyileşme sürecinde sağlıklı dokunun yerini fibröz doku almaktadır. Değişen ECM kompozisyonu mukozal dalga hareketini etkileyerekvokal kord fonksiyonunu bozmaktadır ve böylelikle disfoniye yol açmaktadır. Kronik vokal kord skarlarını iyileştirmenin son derece güç olması nedeni ile inatçı skar oluşumunu önlemek için vokal kord hasarları akut fazda tedavi edilmelidir.

Vokal kord skar tedavisi için henüz optimal metod yoktur. Kord vokalde yara iyileşmesi sürecini inceleyen birçok yayın mevcuttur. Yara iyileşmesi hakkındaki bilgilerimizin artması araştırmacıları skar oluşumunu azaltmayı amaçlayan çalışmalara yöneltmiştir. Bu amaçla yapılan in-vitro ve in-vivo araştırmalarda hepatosit growth faktör(22), fibroblast growth faktör, echinacoside(43) , Mitomisin-C(28) ,mezenkimal kök hücrelerinin(27) etkinliği denenmiş ve olumlu sonuçlar bildirilmiştir.

Platelet Rich Plasma(PRP) vücutta vokal kord dışındaki epitel hasarlarında kullanılmış otojen materyaldir. Otojen olması nedeni ile herhangi bir yan etki gözlenmemekle birlikte epitel iyileşmesi üzerine olumlu etkileri tespit edilmiştir. Çalışmamızda, ratlarda oluşturulan akut kord vokal hasarının iyileşme sürecini izlemeyi ve bu sürece PRP nin etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamız PRP nin, diğer dokularda gösterilen epitelizasyon ve yara iyileşme sürecinde olumlu davranışını kord vokal dokusundaki yara iyileşmesi sürecinde de sergilediğini ortaya koymuştur.

GENEL BİLGİLER

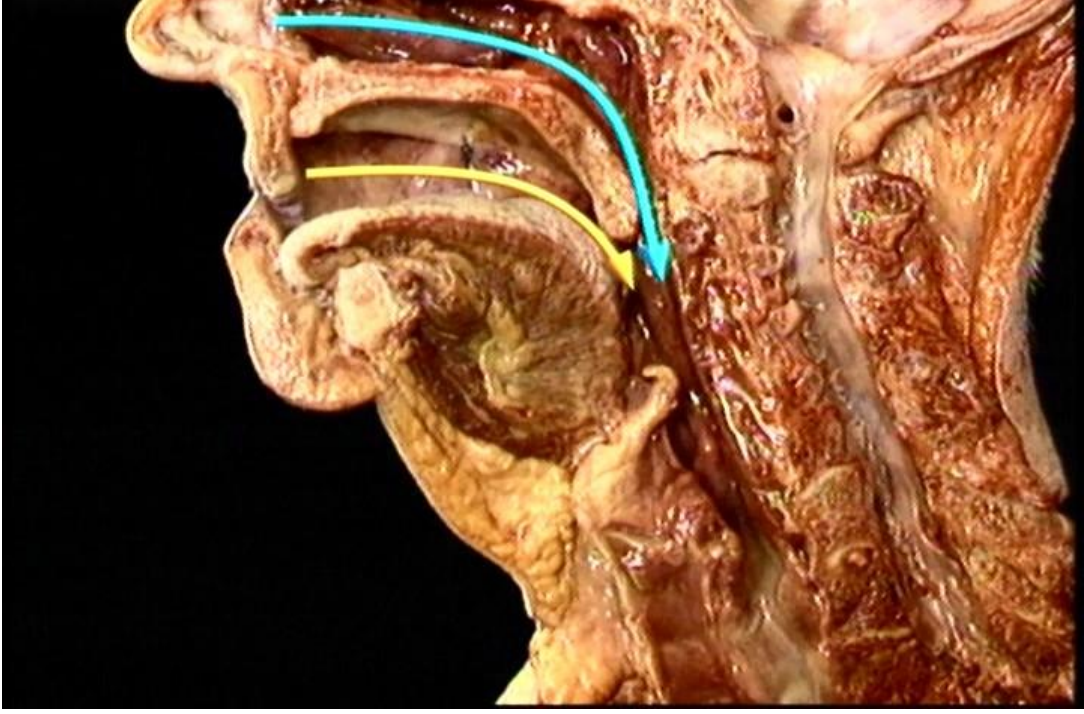
LARENKS EMBRİYOLOJİSİ

Bocca ve arkadaşları larenksin, ‘superior’ ve ‘inferior’ olmak üzere embriyolojik kökenleri farklı ve lenfatik dolaşımları birbirinden bağımsız olan iki ayrı hemilarenksten oluştuğunu göstermişlerdir. Supraglottik kısım 3. ve 4. brankiyal arklardan köken alır ve oral kavite ile orofarenksin gelişimi ile ilişkilidir. Glottis ve subglottis ise akciğer ve trakea ile birlikte 6. arktan gelişir. Larenksin kıkırdakları 4. ve 6. faringeal yay çiftlerindeki kıkırdaklardan gelişir. Larengeal kıkırdaklar, nöral krista hücrelerinden köken alan mezenkimden gelişirler. Larenksin epitelyal doşemesi laringotrakeal tüpün kranyal ucunun endoderminden gelişir. Laringotrakeal tüpün kranyal ucundaki mezenkim hızla çoğalarak aritenoid şişkinlik çiftlerini meydana getirir. Dile doğru gelişen bu şişkinlikler, yarık şeklindeki (glottis primitiva-ilk dil), T harfi biçimli larengeal giriş ve gelişmekte olan larengeal lümeni dar bir yarığa dönüştürür. Larengeal epitelin hızla çoğalması gecici olarak larengeal lümenin tıkanmasıyla sonuçlanır. Onuncu haftaya kadar larenks yeniden kanalize olur. Yeniden kanalize olma işlemi sırasında larengeal ventriküller oluşur. Bu girintiler plica vocalis-ses tellerini ve plica vestibularis-vestibüler kalıntıları oluşturan müköz membran kalıntıları ile sınırlanır. Epiglottis 3. ve 4. faringeal yayların ventral ucunda mezenkim çoğalmasıyla meydana gelen hipobrankiyal kabartının kaudal kısmından gelişir. Bu kabartının rostral kısmı dilin orta 1/3’lük kısmı olan faringeal kısmı oluşturur. Larengeal kaslar faringeal yayların 4. ve 6. çiftlerindeki miyoblastlardan geliştiği için, bu yayları destekleyen nervus vagusun larengeal dalları ile innerve olurlar. Larenks ve epiglottisin büyümesi doğumdan sonraki ilk üç yılda hızlıdır. Bu zaman içinde epiglottis yetişkin şeklini kazanır.

LARENKS ANATOMİSİ

Larenks, yetişkinlerde 3. ve 6. servikal vertebra, çocuklarda 1. ve 4. servikal vertebralar arasında yer alır. Larenks üst solunum ve sindirim yollarının iki ayrı yola ayrıldığı kavşakta yerleşmiştir; solunan hava larenks içinden trakeaya, oradan da

akciğerler yönelir, yutulan gıdalar ise yemek borusu yoluyla mideye gider(Resim 1). Bu kritik yerleşimi nedeniyle, larenks 3 önemli görevi üstlenmek için özelleşmiştir. Larenks boyunda yer alan çok önemli bir organ olup; nefes alma, yutkunma ve konuşmada önemli görevler üstlenir. Ses oluşumunda en önemli organ olan larenks 4 anatomik birimden oluşmaktadır; iskelet, mukoza, intrinsik kaslar ve ekstrinsik kaslar(39).



Resim 1: Larenksin kadaverik görüntüsü

Larenks kabaca iki ucu açık bir tüpe benzetilebilir; bu tüp yukarıdan aşağıya, vokal kordların seviyesine göre üç kompartmana ayrılır: supraglottis, ortada vokal foldları içeren glottis, altta subglottis yer alır.

Supraglottik bölge: Vokal kordların üzerinde yer alan, dil kökü ile komşu olan bölümdür.

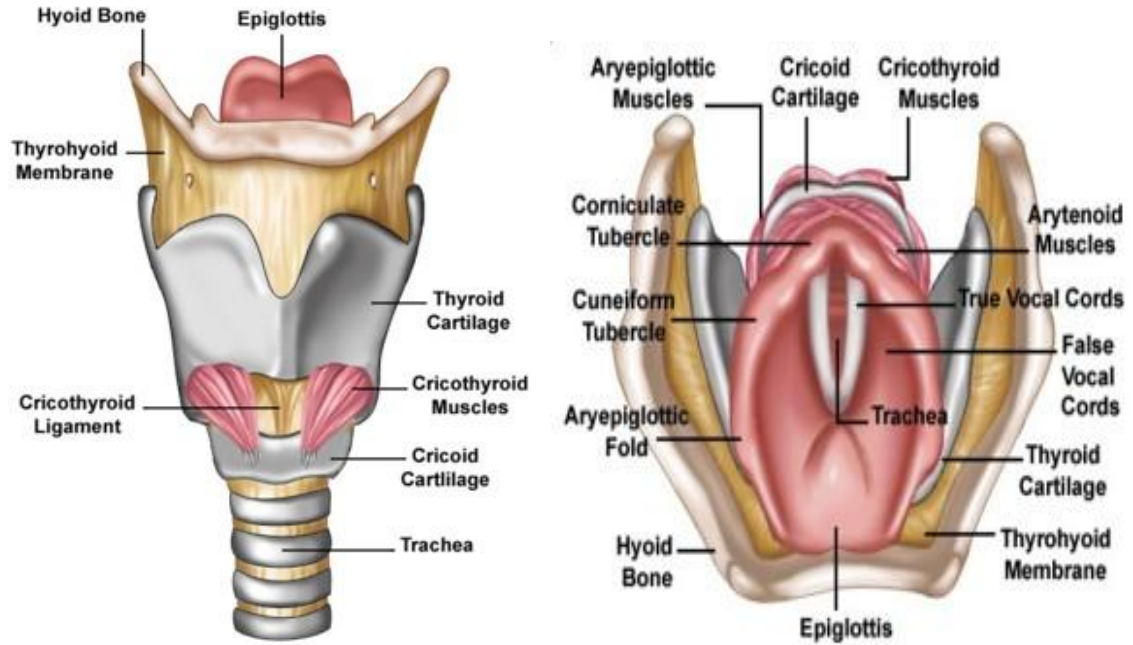
Glottik bölge: Vokal kordların bulunduğu bölümdür. Her iki vokal kord arytenoid kıkırdağın ön (vokal) çıkıntısından başlar ve önde tiroid kıkırdağın iç yüzüne yapışarak sonlanır.

Subglottik bölge: Vokal kordların altından başlar ve krikoid kıkırdağın alt sınırına kadar uzanır.

Hyoid larenksin üzerinde yer alan U şeklinde bir kemiktir. Genellikle 2 yaşında kemikleşir. Yukarıda kaslar ve bağlar aracılığı ile mandibulaya tutunur; aşağıda da thyroid kıkırdak ile bağlar aracılığı ile birleşiktir. Yukarıda milohyoid, geniohyoid ve hyoglossus kasları , alt kısmına ise tirohyoid membran yapışır. Her iki ucunda inferiorda küçük kornu, süperiorda büyük kornuları mevcuttur. Larenksin hyoide asılması yutkunma ve konuşma sırasında larenksin yukarı elevasyonunu sağlar.

LARENGEAL İSKELET

Larengeal iskeletin en önemli bölümünü tiroid kartilaj, krikoid kartilaj ve iki aritenoid kartilaj oluşturur. Laringeal iskeleti tiroid, krikoid, epiglot kıkırdaklar ve fonksiyonel önemiçok fazla olan bir çift aritenoid kıkırdaktan baska üç çift küneiform (Wrisberg), kornikulat(Santorini) ve sesamoid kıkırdaklar da aksesuar kıkırdaklar olarak yapıda yer alır(Resim 2).



Resim 2 : Larenksin önden ve süperiordan şematik görüntüsü

Tiroid Kıkırdak

Hyalin yapıda olan tiroid kıkırdak larenksin en büyük kıkırdagıdır. Dört kenarı orta hatta birleşerek açıklığı arkaya bakan v şeklinde bir görünüm oluşturan iki lamina ile süperior, inferiorda yerleşik iki adet kornudan oluşur. Laminalar erkeklerde alalar adem elması denilen larengeal çıkıntıyı oluşturan şekilde 90 derece açıyla birleşmiştir. Kadınlarda bu çıkıntı 120 derecelik açıyla birleşme nedeni ile yoktur. Ala laminaların arka kenarlarında üst ve alt kornular yer alır. Uzun olan süperior kornu lateral tirohiyoid ligament vasıtası ile hiyoid kemigin büyük boynuzu ile bağlantılıdır. Kısa olan alt kornular, krikoidin posterolateral yüzüyle krikotiroid eklemi yapar. Bu eklem sinoviyal yapıda olup krikoid kıkırdagın rotasyonunu sağlar. Bu rotasyon vokal kordlar üzerine uygulanan gerginliği değiştirir. Laminaların lateral yüzünde, tirohiyoid, sternotiroid ve inferior konstriktör kasların yapıldığı *Linea obliqua* adı verilen bir çizgi vardır. Palatofarıngeus ve stilofaringeus kaslarının fibrilleri ise tiroid kartilajın posterior sınırına yapışır(42).

Tiroid kıkırdagın iç ve dış yüzü, perikondrium ile örtülüdür. İç yüzeyi örten perikondrium dış yüzeydekine göre daha incedir(42). Kıkırdagın iç yüzeyi oldukça düzdür. İç yüzde tiroid notch ile alt kenar arasındaki mesafenin, yaklaşık olarak ortasına denk gelen yerde küçük bir kabartı vardır. Bu alan perikondriumdan yoksundur ve buraya ön komissür tendonu (*Broyle's ligamenti*) yapışır. Perikondrium içermeyen bu bölge kanser yayılımı için önemlidir. Tiroid kıkırdagın üst kenarına tirohiyoid membran, alt kenarına krikotiroid membran ve ligament yapışır. Tiroid kıkırdak 20'li yaşlarda kemiklesmeye başlar ve bu kemikleşme genellikle posterior ve inferiordan olur(43). 65 yaşında tamamen kemikleşmiş olabilir.

Krikoid Kıkırdak

Taşlı yüzük şeklindeki krikoid kartilaj hava yolundaki çevresel olan tek yapıdır. Halka şeklindedir. Hyalin yapıdadır ve tiroid kıkırdığa göre daha küçük fakat kalın ve güçlüdür. Hava yolunu tamamen çevreleyen tek destek yapı olup, fonksiyonel larenks için major koruyucu rol üstlenir. Ön kısmı dardır ve arkus krikoida adını alır. Öndeki arkı birkaç milimetre yüksekliğinde iken arka kısım erkeklerde 20-30 mm, kadınlarda 18-22 mm yüksekliğindedir. Ön kısmın hem dar olması hem de arka kısımdan daha geç ossifiye olması nedeni ile kolay kırılır. Buna cerrahi girişimler esnasında dikkat edilmelidir. Üst yüzeyinde aritenoid kıkırdakla eklem yapan iki eklem yüzeyi vardır. Krikoaritenoid eklem sinoviyal eklemdir. Kıkırdagın her iki arka yan yüzlerinde, inferior tiroid

kornularıyla eklem yapan yüzey mevcuttur. Laminanın arka yüzeyinde,özefagusun longitudinalina liflerinin yapıştığı bir çıkıntı vardır. Arkus alt kenar, yanlarda krikotrakeal ligament vasıtasıyla 1. trakeal halkayla birleşir. Epiglot ve trakeanın lümen çapları çok değişkendir ve entübasyon, dilatasyon, stent yerleştirilmesi, endoskopi ve anastomoz esnasında dikkat edilmelidir(42).

Epiglot

Yaprak şeklinde, fibroelastik kıkırdaktır. Dil kökü ve hyoid kemik korpusunun arkasında yer alır ve larenks girişini oluşturur. Epiglot serbest ucu kalındır ve aşağıya doğru incelerek petiolus adını alır. Petiolus tiroepiglottik ligament ile tiroid kıkırdak iç yüzüne, incisura tiroideanın hemen altına tutunur. Epiglot üst kısmı anteriorda dil kökünü, posteriorda larenks girişini oluşturur. Laringeal yüzünde, bazen ön kommissürün görülmesini engelleyen kabarıl-klık olur, buna epiglottik tüberkül denir(42). Yan kenarları ariepiglottik kıvrım ile aritenoid kıkırdağa ve ön yüzü hiyoepiglottik ligament ile hyoid kemiğe tutunur. Epiglotun üst kenarını döseyen mukoza ile dil kökü mukozası arasında lateral ve median glossoepiglottik plikalar bulunur.(1) Bu plikalar arasında oluşan çukurluğa vallekula denir. Epiglotun hiyoid kemik üzerindeki serbest bölümüne suprahiyoid kısım denir. Bu kısımdaki lingual ve laringeal yüzeyi mukoza ile örtülüdür. İnfrahioid kısmın ise serbest yüzeyi yoktur ve epiglotun bu kısmı preepiglottik boşluğun posterior sınırını oluşturmaktadır. Laringeal yüzde perikondrium, lingual yüze göre daha sıkı yapışıktır. Buda epiglottik ödemin neden valleкулada laringeal yüzden daha fazla olduğunu açıklamaktadır. Epiglotun laringeal parçasının ön kısmında tabanı tiroepiglottik ligaman ile sınırlanan bir yağ yastığı vardır ve yutkunma esnasında epiglotun hareketinde önemli bir rol oynar. Yutkunma esnasında epiglot yukarı ve öne doğru hareket ederek larenksin girişini kapatıp, lokmanın geçmesini sağlar(2).

Aritenoid Kıkırdaklar

Posterior krikoid laminanın superior yüzünde yerleşmiş, çift kıkırdakların en büyüğü ve larenksin en hareketli ve en fonksiyonel kıkırdaklarıdır. Hyalin yapıdadır. Tepesi yukarıda, tabanı aşağıda piramid şeklindedir. Krikoid kıkırdağın laminasının süperior ve lateralinde yer alan eklem yüzlerine oturur. Krikoid kıkırdağın posterior arkının superior yüzündeki fasetlerle eklemleşir. Aritenoidlerin önemli noktaları, konkav artiküler

taban, apeks, laterale uzanan musküler çıkıntı ve anteriora uzanan vokal çıkıntısıdır(3). Aritenoidlerin posterior, anterolateral ve medial olmak üzere üç yüzeyi vardır. Posterior yüze transvers aritenoid kas yapışır. Anterolateral yüzde apekse yakın arkuat bir çıkıntı vardır. Bu çıkıntı anterolateral yüzde iki çukur oluşturur. Üstte yer alan üçgenimsi çukura ventriküler plika, alttaki oblongoid çukura ise vokal adale ve lateral krikoaritenoid kas yapışır. Medial yüzeyi sadece perikondrium ile kaplıdır. Bu kıkırdakların hareketi ve vokal kordlarla ilişkisi larenksin kompleks fonksiyonunu sağlar.

Kornikulat kıkırdaklar (Santorini kıkırdağı)

İki adettir. Aritenoid kıkırdağın apeksi ile eklem yaparlar. Fibroelastik yapıda olup arkaya ve mediale doğru uzanırlar.

Kuneiform kıkırdaklar (Morgagni ve Wrisberg kıkırdakları)

Ariepiglottik kıvrım içinde bulunur ve pasif destek sağlarlar. Her zaman bulunmayabilirler(4).

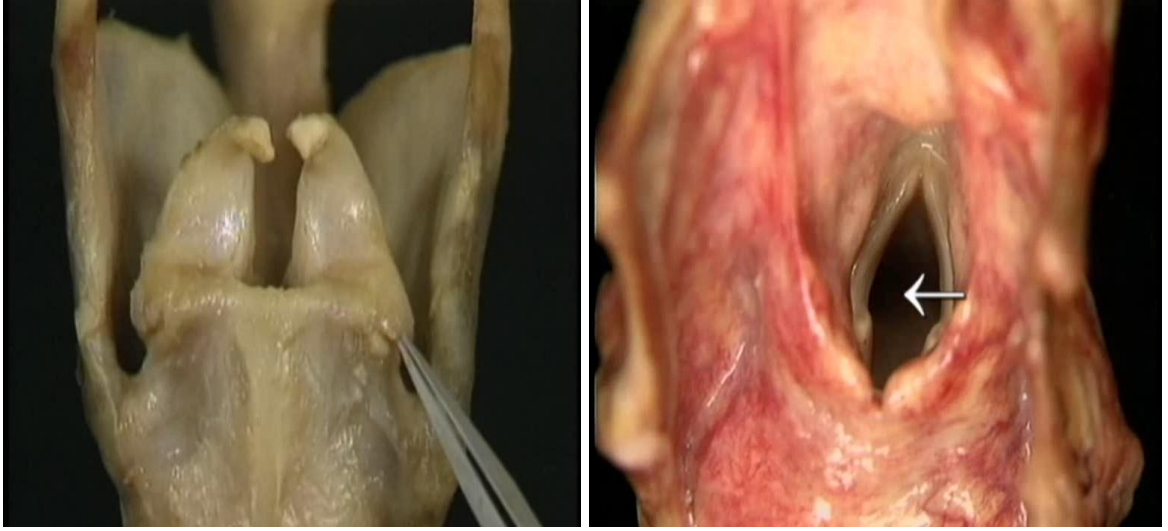
LARENKSİN LİGAMENT VE MEMBRANLARI

Larenksin Membranları

Tirohyoid membran: İnferiorda tiroid kıkırdağın üst kenarına ve üst kornunun ön yüzüne, süperiorda ise hyoid kemiğin korpusuna ve büyük boynuzuna yapışır. Medialde kalınlaşmış olan bölümüne median tirohyoid ligaman denir. Her iki tarafta lateralde, tiroid üst kornusunun yaklaşık 1 cm süperiorunda membranda incelme görülür ve buradan süperior laringeal arter, süperior laringeal sinir birlikte membranı delerek larenkse ulaşır(5). Tirohyoid membran preepiglottik boşluğun ön duvarını oluşturur.

Kuadrangüler membran: Epiglotun lateral sınırından başlayarak aşağıda aritenoidin vokal çıkıntısına uzanır. Üst ve alt serbest kenarları, sırasıyla ariepiglottik ve vestibüler ligamentleri oluşturmak üzere kalınlaşmışlardır(Resim 3).

Konus elastikus: Önde dar bir tabanla tiroid ve krikoid kıkırdağa tutunurken, arkada aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntısına tutunur. Membranın vokal çıkıntıya tutunan arka kenarı medial ve lateral yüzlerinde kalınlaşmış olarak vokal ligamenti oluşturur(Resim 3).



Resim 3 : larenksin membran ve ligamentleri

Larenksin Ligamentleri

Thyroepiglottic ligaman: Epiglotu tiroid kıkırdağa bağlar.

Hyoepiglottic ligaman: Hiyoid kemigin posterior yüzeyi ile epiglotun lingual yüzü arasındadır.

Stylohyoid ligaman: Temporal kemik tabanından hiyoidin küçük kornusuna uzanır.

Pharyngoepiglottic ligaman: Farenksin yan duvarlarıyla epiglot arasında bulunan plikanın içerisinde yer alır ve üzeri mukozayla örtülüdür.

Ventricular ligaman: Aritenoid kıkırdaktan anterolateral yüzüyle broyles tendonunun arasında yer alarak, ventriküler bandın serbest kenarını meydana getirir.

Krikotracheal ligaman: Krikoid alt kenarından trakeanın birinci halkasının üst kenarına ulaşır.

KORD VOKAL YAPISI

Anatomik Yapı

Larenksin iç yüzeyinde sağlı sollu ve birbiri üzerinde yerleşmiş iki çift plika yer alır. Üsttekilere ventriküler bantlar (yalancı vokal kordlar), alttakilere ise vokal kord (vokal fold,vokal plika) adı verilir. Bu plikalar larenks bosluğunu üç bölüme ayırır. Üst bölüm supraglottik bölge, orta bölüm kord vokallerin bulunduğu glottik bölge, alt bölüm ise kord vokallerin altındaki subglottik bölgedir.

Supraglottik bölge larengeal kavitenin farenkse açıldığı bir boşluktur. Larenksin vestibülü, ventriküler bantlarla larenksin girişi arasındaki yer olup yukarıda geniş, aşağıda dardır. Ventriküler bantlar supraglottik bölgede yanlardan larenks vestibülüne doğru uzanan kabartılardır; önde petiolusa, yanlarda tiroid kıkırdağa, arkada ise aritenoid yapışırlar. Ventriküler bantlar ve kord vokaller arasında, ventrikül adı verilen bir çukurluk vardır. Erkeklerde kadınlara göre çok gelişmiştir(3). Tiroid kıkırdak ön açısı ile aritenoid arasında uzanan ventriküler kavitenin görevi, içerdigi bol salgıbezleri nedeniyle kord vokallerin lubrikasyonunu sağlamaktır.

Glottik bölge (glottis), kord vokallerin bulunduğu bölgedir. Vokal kordlar tiroid kıkırdağın açısının orta kısmından, aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntısına uzanan iki beyaz banttandır. Önde tiroid kıkırdağa yapıştığı yer olan ön kommissürde fikse, arka kommissürde ise hareketlidir. Kord vokaller arasındaki açıklık rima glottis ya da glottik açıklık olarak adlandırılır . Rima glottis larinksin en dar kısmıdır(5). Kord vokaller çok katlı yassı epitel mukoza ile örtülü olup alttaki vokal ligamente sıkıca bağlıdır. Vokal kordların lateral kenarları ventrikül tabanına bitişik olup, aşağı yönde krikoid düzeyine kadar uzanır. Vokal çıkıntının perikondriuma yapışma yerinde elastik ve kollajen lifler vardır ve konnektif doku ile elastiklifler vokal çıkıntının önünde bir ağ yaparlar; Reinke buraya makula flava posterior adını vermiştir. Yetişkin erkekte glottisin ortalama uzunluğu 23mm, yetişkin bayanda ortalama 17mm kadardır.(3)

Kord vokaller glottisin anterior 2/3 membranöz parçasını oluşturlar; posterior 1/3kısım ise aritenoid kıkırdağın vokal prosesi tarafından meydana gelen kartilajinöz glottistir. Anterior 2/3 membranöz kısım fonasyon, posterior 1/3 kısım respirasyon açısından önemlidir.

Endolarenks mukozası silyalı çok katlı kolumnar epitel ve çok katlı yassı epitelden oluşur. Çoğunluğu respiratuar epitelle döşeli olmakla birlikte epiglotun suprahoid kısmı, ariepiglottik kıvrımların üst kenarları ve vokal kordların serbest kenarları çok katlı yassı epitelle kaplıdır.

Histolojik Yapı

Kord vokaller mukoza ve kasdan oluşur. Mukoza, epitel ve lamina propriayı içerir. Kord vokaller dıştan içe 5 tabakadan oluşurlar(Resim 5):

Örtü Tabakası: Non keratinize çok katlı yassı epitel

Lamina proprianın yüzeyel tabakası(Reinke mesafesi, daha çok amorf madde)

Lamina proprianın orta tabakası(daha çok elastik lifler)

Lamina proprianın derin tabakası(daha çok kollajen lifler)

Kas tabakası (Tiroaritenoid kasın medial bölümü: m. vocalis,vokal kas)

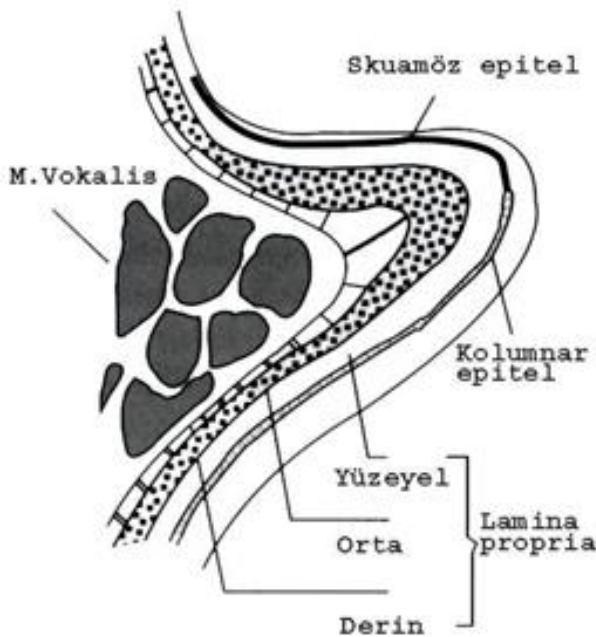
Mekanik olarak vokal kordlar üç tabakadan oluşur:

Örtü; skuamöz epitel ve lamina proprianın yüzeyel tabakası

Geçiş bölgesi; lamina proprianın orta ve derin tabakası

Gövde; vokal kas

Vokal kordların bu tabakalı yapısı doğumda mevcut değildir. Yaklaşık olarak 7-8 yaş civarında gelişmeye başlar ve adölesan çağın sonuna kadar tamamlanmamıştır(44,45). Lamina proprianın derin ve orta tabakası, triangüler membranın üst serbest kenarı olan vokal ligamenti oluşturur. Lamina proprianın orta tabakası anteriorda ve posteriorda sırasıyla, anterior makula flava ve posterior makula flavayı oluşturacak şekilde kalınlaşmıştır. Bunların vokal kordların uç bölümlerini, vibratuar hasardan koruyan yastıklar şeklinde fonksiyon gördükleri düşünülmektedir(6).



Resim 5: Larenksin histolojik kesitinin şematik görüntüsü

Epitel Tabakası

Kord vokal hariç laringeal mukoza mukus sekresyonları da içeren tipik respiratuar epitel olan psödostratifiye silyalı kolumnar epitel ile örtülüdür. Kord vokalin vibratuar kenarı ve üst yüzeyi ise vokal kordların teması esnasındaki travmaya karşı respiratuar epitele göre daha dayanıklı olan non keratinize çok katlı yassı epitel ile kaplıdır. Larenks epitelinde yüzeyin nemli ve yumusak kalmasına yardım eden ve mukus akısını düzenleyen bazı bölgelerde bulunan hücreler vardır. Bu alanlar; sakkül, epiglot posterior yüzü ve ariepiglottik folddur(42). Bu seromüköz, tubuloalvealer glandlar seröz ve/veya müsinöz lubrikan salgırlar. Bunlar tipik asini ve duktus içerirler. Kord yüzeyini ıslak tutarak fonasyon sırasında kordun aşınmasını önlerler. Aynı zamanda respiratuar epitel içerisinde mukus salgısı yapan goblet hücreleri de bulunmaktadır. Bunlar özellikle yalancı vokal kord bölgesinde lokalizedirler. Laringeal mukozada ayrıca immünolojik aktivitesi olan langerhans hücreleri de bulunmaktadır(42). Epitel tabakasını lamina proprianın yüzeyel tabakasına bağlayan çok tabakalı ve kompleks yapıda olan bazal membran mevcuttur.

Lamina Propria

Lamina propria sesin oluşması açısından oldukça önemli bir bölgedir ve benign vokal fold lezyonları genellikle lamina propria içinde oluşurlar. Lamina propria örtücü non-keratinize epitel ile kas arasında kalan kısımdır; süperfisyal (yüzeyel), orta ve derin tabakalar olmak üzere 3 bölümden oluşur. Ortalama kalınlığı 1.1 mm'dir(42).

Yüzeyel Tabaka:

Bu tabaka Reinke aralığı olarak da bilinir. Anatomist Frederich Reinke tarafından tanımlanan bu izafi boşluk vokal ligamentin üzerinde subepitelyal bağ dokuda yer alır. Kalınlığı 0.2-0.5 mm ortalama 0.3 mm'dir. Epitel tabakanın hemen altında yatan bu alan gevşek fibröz komponent ve matriksten oluşur. Bu alan çok az fibroblast, hyaluronik asit ve vokal kord örtücü yüzeyin esnekliğini sağlayan dekorin içerir. Bu bölgede ayrıca fibronektin de bulunmaktadır. Elastin prekürsörleri de içermektedir ancak relatif olarak matür elastin ve kollajen az miktardadır. Normalde lenfosit, sekretuar bez ve kapillerler çok az miktarda yada hiç bulunmaz(42). Ortada en kalın , ön ve arka yapışma yerinde en incedir Etrafı herhangi bir nedenle oluşan ödemin dışa yayılmasını engelleyen sağlam

fibröz doku ile çevrilidir. Bu boşlugun ödemi polipoid dejenerasyon, Reinke ödemi, polipoid kord vokal, polipoid hipertrofi olarak adlandırılır.

Orta Tabaka:

Kalınlığı 0.5-1.5 mm'dir. Histolojik olarak yüzeysel tabaka ile karışıktır. Kordun ön ve arka yapışma yerinde en kalın, ortada en incedir. Esas olarak matür elastik lifler bulunur ve bunlar longitudinal olarak düzenlenmişlerdir. Bu ince elastik liflerin vibrasyona katkısı vardır. Bu tabakada aynı zamanda hyalüronik asit ve fibromodülün de bulunmaktadır(46). Derin tabakayla birlikte vokal ligamenti oluşturur.

Derin Tabaka:

Vokal kasa paralel seyreden kollajen liflerden ve zengin fibroblastlardan oluşan bu tabaka vokal çıkıntıya yapışma yerinde en kalındır. En sert ve en az mobil olan tabakadır. Lamina propria kord vokalin ventriküle bitişik lateral kenarında kalınlaşarak korda yataklık yapar. Tiroid kıkırdagın iç yüzeyindeki yapışma yerinde anterior makula flava adını alır. Lamina proprianın vokal çıkıntıda kalınlaştığı nokta ise posterior makula flava adını alır. Vokal ligament ön ve arka makula flava arasında uzanır. Makula flava vokal ligamentin gelişmesi açısından önemlidir. Yeni doğanda fibroblastlarca zengindir ve doğumdan sonra çocuğun ses çıkarması ile bu fibroblastlar aktive olarak vokal ligamenti şekillendirirler. Makula flava kondrosit, fibroblast gibi hücrelerden ve kollajen, elastin gibi ekstrasellüler matriks bileşenlerinden zengindir. Lamina propria insanda kord vokalin vibrasyon performansı ile direkt ilişkilidir. Subepitelyal planda yer alan lamina propria, ekstrasellüler matriks ve bu matriksin bileşenlerini sentezleyen hücrelerden (fibroblast, myofibroblast, makrofaj) oluşmaktadır. Kord vokalin biyomekanik özelliklerini belirleyen bu bileşenlerin dengeli dağılımı, ses oluşumunda korda ideal viskoelastikiyeti kazandırır. Glikoproteinler, proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar, kollajen ve elastin bu matriksin ana bileşenlerini oluşturur .

Kollajen ve Elastin: Normal kord vokal dokusunda epitelyal mukozaya paralel uzanan demetler halindedir. Her üç tabakada da değişen oranlarda bulunurlar.

Fibronektin: Ekstrasellüler matriks glikoproteini olan fibronektinin önemli bir adezyon molekülü olduğu gösterilmiştir. İnflamatuar hücreler ve fibroblastlar için

kemotaksik özellikte olup ekstrasellüler matriks organizasyonuna katkıda bulunur. Normal kord vokal dokusu içinde primer olarak bazal membranda ve lamina proprianın yüzeyel tabakasında yer alır. Hipertrofik ve kronik yaralarda aşırı üretildiği , yara iyileşmesinde ekstrasellüler matriks içindeki yüksek düzeylerinin fibrozise katkıda bulunduğu gösterilmiştir.

Dekörin: Kollajene yapışarak fibril organizasyonunu sağlayan kısa zincirli bir proteoglikan adezyon molekülüdür. Ekstrasellüler matriks içindeki kollajenin formasyonuna ve fibrillerin kalınlığına etkisi vardır. Düşük düzeylerinin akut kord vokal hasarı sonrasında oluşan skar dokusunda düzensiz kollajen oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir . Özellikle lamina proprianın yüzeyel tabakasında bulunduğu gösterilmiştir ve bu tabakanın hasarında oluşan skar dokusuna katkısı vardır .

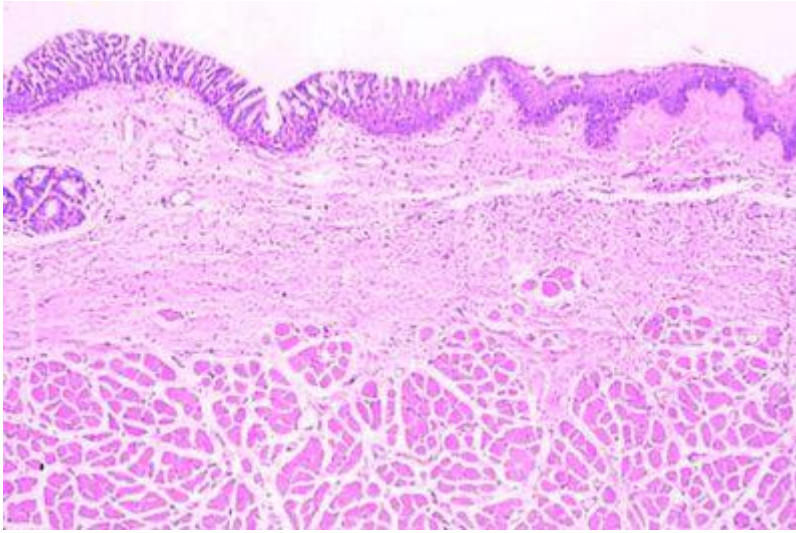
Fibromodulin: Esas olarak lamina proprianın orta ve derin tabakalarında vokal ligament içindeki kollajen ve elastin fibrilleriyle ilişkili halde bulunur. Transforming growth faktör beta'ya bağlanarak onu inhibe eden bir proteoglikan molekülüdür. Transforming growth faktör beta kollajen sentezini uyarır. Dolayısıyla dokuda azalmış fibromodulin seviyesi artmış kollajen senteziyle sonuçlanır. Tavşan modelinde yapılan çalışmalarda azalmış dekorin ve artmış fibronektin düzeyleri ile birlikte kollajen sentezinde artma (azalan fibromodulin yoluyla), dengesiz kollajen depolanması (azalan dekorin nedeniyle), devam eden inflamatuvar hücre ve fibroblast migrasyonu (artmış fibronektin yoluyla) gösterilmiştir .

Hyaluronik asit (HA): ECM'de bulunan non antijenik bir glikozaminoglikan molekülüdür. Mukozal dalga hareketinin başladığı kordun subglottik yüzünde yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir. Endojen HA organizmada hızla metabolize olur. Vokal kord dokusunda yarı ömrü 0.5-4 gün arasında değişir . Ekstrasellüler matriks içinden reseptör aracılı endositoz yoluyla hücre içine alındıktan sonra hyaluronidaz enziminin degradasyonu ile metabolize edilir. Bu enzimin inhibisyonu ile sağlanan yüksek HA düzeyinin yara iyileşmesine olumlu katkıları bildirilmiştir. HA yokluğu, kord vokalde artmış viskoziteyle, fonasyon ve vokal temel frekansı bozan doku değişiklikleriyle kendini gösterir. HA, erkeklerde kadınlara göre kord vokal içinde daha yüksek konsantrasyonda bulunur. Dokudaki HA düzeyinin yara iyileşmesi ve skar formasyonu üzerine direkt etkisi vardır. Fetal dokulardaki skarsız yara iyileşmesi bu dokuların HA içeriğinin anlamlı olarak yüksek olmasıyla açıklanır. Yapılan hayvan çalışmalarında kord vokalde yara iyileşmesinin erken fazında HA seviyeleri kontrole kıyasla anlamlı olarak düşük bulunmuştur .Bunların dışında lamina propria yapısında kaderin, sindekan-1, sindekan-4

gibi adezyon molekülleri de bulunur. Kaderin ve sindekan-1'in epitelyal interselüler aralıkta bulunduğu ancak skatize kord vokal dokusundaki düzeylerinin normalden farklılık göstermediği saptanmıştır.

Kas Tabakası

Tiroaritenoid kas tiroid kıkırdagın iç yüzünden arkaya uzanarak aritenoidin anterolateral yüzüne yapışır. Üst demetleri ön arka yönde vokal ligamente paralel seyrederek. Aşağıdaki lifleri biraz yukarı ve posterolateral yönde ilerleyip aritenoid kıkırdakta fovea oblangaya yapışırlar. Tiroaritenoid kasın medial demetleri vokal kası oluştururlar. Bunlar ses oluşmasında aktif rol oynarlar. Kord vokalin hareketi az olan en katı bölgesidir. Vibrasyon sırasında kord vokalin vertikal stabilitesine ve ossilasyon oluşmasına yardım ederler. Rekürren sinirin lifleri adele içinde ağ yapar. Kord vokalin vaskülarizasyonu karmaşıktır. Vibratuar parçada , kas ve kord mukozasında üst ve alt yüzeydeki vaskülarizasyon farklıdır. Kordun serbest kenarında damarlar uzun eksene paralel seyrederek. Lamina propriada ise serbest kenardan uzakta olup uzun eksene perpendiküler durumdadır(Resim 6). Kas tabakasında damarlar derinden girerler. Ana damar kord ekseninde ilerlerken kasa dallar verir .



Resim 6: Vokal kordun histolojik kesiti(epitel ve kas tabakası)

RAT LARENKSİ ANATOMİSİ

Larenks kıkırdakları, inspirasyon esnasında kollapsı önler ve larenksin şeklini korur. Altı adet kıkırdaktan oluşmuştur.

1. Epiglot: Triangüler şeklindedir.

2. Tiroid kıkırdak: Larenksin en büyük kıkırdağıdır. Lateral ve ventral duvarları vardır. Lateral yüzdeki arka boynuzlar krikoid kıkırdak ile eklem yapar. Ön boynuzlar hipofarenksi destekler.

3. Krikoid kıkırdak: Lateral ve ventral yüzü dar, arka kısmı geniş halka şeklinde bir kıkırdaktır.

4. Aritenoid kıkırdaklar: Çift olup, vokal kordu destekleyen 'V' şeklinde kıkırdaklardır.

5. Kuneiform kıkırdaklar: Vokal kordun önünde, ariepiglottik plikanın arkasında bir çift küçük kıkırdaktır.

6. 'U' şeklinde kartilaj: Aritenoid kıkırdakların düzeyinde, larengeal lümenin ön duvarında bir ventral poş vardır. 'U' şeklindeki kıkırdak bu poşun girişinde bulunur. Larengeal lümen 3 bölgeye ayrılır: Farenkse açılan vestibül bölümü, glottis ve infraglottis. Vokal kordlar, önde ventral poşun kaudal bölgesinde, aritenoid kıkırdağın vokal prosesinden tiroid kıkırdak orta hattına uzanım gösterir. Aritenoid kıkırdağın musküler süreci, krikoid kıkırdağın önü ile eklem yapar.

RAT LARENKSİ HİSTOLOJİSİ

Larenksin ışık mikroskopi ile incelenmesinde 5 tip epitel görülür. Bunlar; çok katlı skuamöz, skuamoid, yalancı çok katlı solunum ve yalancı çok katlı kübik epitelin 2 formudur. Bu epitel tiplerinin dağılımı karmaşıktır. Epiglottun büyük çoğunluğunda, aritenoid seviyesinin üzerinde, lateral ventriküllerin içinde ve dorsal bölgede çok katlı skuamöz epitel mevcuttur. Özellikle epiglotun üstünde olmak üzere ara ara tat tomurcukları da bulunur. Dorsal bölgede de keratinize küçük alanlar vardır. Vokal kordlar yaklaşık 2 hücre tabakası kalınlığında ince bir skuamöz epitel ile kaplıdır.

Epiglot kaudalının ventrolateral bölgesinde respiratuar epitelden oluşan geniş alanlar mevcuttur. Bu alanlar, büyük subepitelyal serömüköz bezlerin duktuslara açıldığı

yeri çevrelemektedir. Respiratuar epitel, aritenoid seviyesi iç yüzeyi boyunca ve vokal kordların kaudalinde mevcuttur.

Yalancı çok katlı kübik epitel ise yassı ve solunum epitelinin arasında bir geçiş bölgesinde mevcuttur. Geçiş bölgesinin en geniş olduğu yer aritenoid projeksiyonunun seviyesinde, ventrolateral bölge ve ventral poşun ventral ve lateralidir. Yalancı çok katlı kübik epitelin çok olduğu epiglot tabanının ventrolateral yüzünde epitel 3-4 hücre tabakası yüksekliğindedir. Bu yükseklik ventral poş etrafı kaudalinde ve vokal kord yakınında 2-3 hücre tabakası yüksekliğine düşmüştür.

KORD VOKALDE YARA İYİLESMESİ VE SKAR OLUSUMU

Skar oluşumu kord vokal hasarı sonrasında ortaya çıkan ses bozukluğunun en önemli sebebidir(11). Skar dokusu kord vokal serbest kenarında deformiteye yol açarak, lamina proprianın tabakalı viskoelastik yapısını bozarak, vibratuar yapıdaki katılığı artırarak ve glottik yetmezliğe katkıda bulunarak sesi etkiler. Skar oluşumunun nedenleri arasında travma, radyasyon, cerrahi travma, iyatrojenik nedenler, enfeksiyonlar sayılabilir. Kord vokalin biyomekanik özellikleri, ekstrasellüler matriks (ECM) içinde yer alan komponentlerin dansitesi ve dağılımı tarafından belirlenir. Kord vokalin biyomekanik özelliklerini belirleyen bu komponentlerin dengeli dağılımı, ses oluşumunda kord vokale ideal viskoelastikiyeti kazandırır. Lamina propriada skar dokusu oluştuğunda değişen bu özellikler fonasyon sırasında mukozal dalga hareketini bozarak ses karakterlerini etkilemektedir. Bu değişiklik hastalarda ses kısıklığı, vokal kontrolün kaybı ve seste yorulma gibi klinik şikayetler yaratmaktadır. Yapılan çalışmalarla yara iyileşme sürecine ilişkin bilgilerimizin artması skar formasyonunu engellemeye ya da azaltmaya yönelik tedavi seçeneklerini gündeme getirmiştir.

Yara iyileşmesi hücresel, fizyolojik ve biyokimyasal bir dizi olayın bütünleşmesi sonucu meydana gelmektedir(7). Bu süreç enflamatuar, proliferatif ve remodelasyon olarak adlandırdığımız iç içe geçmiş üç fazdan oluşmaktadır. Enflamatuar faz yaklaşık 3 gün, proliferatif faz yaklaşık 10 gün ve rejeneratif faz yaklaşık 2 yıl sürer(8). Hasar olur olmaz enflamatuar faz başlar. İlk olarak kanamanın durdurulması amacıyla koagülasyon sistemi aktive olur. Bu aşama temel olarak fibrin depolanması ve polimerizasyonu ile trombosit degranülasyonunu içermektedir. Trombositler yara oluştuğunda ilk aktive olan hücrelerdir. Yara bölgesine geldiklerinde ECM proteinlerinde bulunan selektin ve integrin reseptörlerine bağlanarak degranüle olurlar. Ardından trombositlerden salınan kemotaktik faktörler ve artan kan akımıyla birlikte nötrofiller ve makrofajlar hasar bölgesine migrasyon gösterirler. Nötrofillerin yara bölgesindeki primer görevleri, salgıladıkları proteolitik enzimlerle ortamdaki nekrotik materyalin debridmanı, yabancı cisim ve bakterilerin ortadan kaldırılmasıdır. Bunun yanı sıra çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salgılanmasına da katkıda bulunurlar. İnflamatuar fazın geç döneminde ortamdaki nötrofil sayısı azalırken, monosit ve makrofaj sayısı artar. Makrofajlar da öncelikle nötrofiller gibi ortamdaki patojenik mikroorganizmaları ve debris temizlerlerken aynı zamanda granülasyon dokusu oluşumu ve fibroblast proliferasyonunu başlatan ve geliştiren vazoaktif mediatörler, kemotaktik faktörler, büyüme faktörleri, proteazlar gibi çok sayıda

biyolojik aktif mediatörün salınımını sağlar(9). Proliferatif faz da hasardan hemen sonra başlar. İlk faza göre daha uzun sürer. Bu fazda epitelizasyon, anjiyogenez ve mezenkimal hücre proliferasyonu meydana gelir. Önce granülasyon dokusu oluşur ve granülasyon dokusunun ana komponenti fibronektin, hyalüronik asit ve kollajenden oluşan gevşek bir matriks içinde yer alan yoğun makrofaj ve fibroblastlar ile makroskopik olarak granüler görünüme neden olan yeni kan damarları oluşturur. Fibroblastlar ve epitelyal hücreler tarafından kollajen ve fibronektin gibi ECM komponentleri sentezlenir. Yapılan birçok çalışma bu ECM komponentlerinin yara iyileşmesinde anahtar rolü olduğunu ortaya koymuştur.

Yara oluşumunu takip eden ilk 2 gün yara bölgesinin etrafındaki bazal tabaka keratinositleri aşırı bir proliferasyon gösterirler(10). Keratinositlerin proliferasyon ve migrasyonu bir dizi büyüme faktörü tarafından kontrol edilir. Bunların başında epidermal büyüme faktörü(EGF), fibroblast büyüme faktörü(FGF), insülin benzeri büyüme faktörü(IGF), tümör growth faktör(TGF) gelmektedir. Cilt dokusunda epitelizasyonun trombositlerden salınan epidermal growth faktör aracılığıyla yaralanmadan birkaç saat sonra başladığı gösterilmiştir.

Normal yara iyileşme sürecinde hasardan yaklaşık dört gün sonra yara boşluğu granülasyon dokusuyla dolar. Granülasyon dokusu canlı bir epidermal yüzeyle örtüldüğü zaman rejenerasyon fazı başlar. Bu faz granülasyon dokusunun matür skar dokusuna dönüşümüyle sonuçlanır.

Rejenerasyon fazı yara iyileşmesinin son dönemini oluşturmaktadır. Bu fazda yeni kollajen sentezlenmez; var olan kollajen lifleri organize olarak matür skar dokusunun karakteristiğini oluşturur. Süresi üç hafta ile bir yıl arasında değişebilir. Geçici matriksde büyük yer tutan fibronektin ileri dönemlerde hızla elimine olurken yerini önce tip III daha sonra tip I kollajen alır. Erken matrikste yer alan bir diğer önemli komponent hyaluronik asittir. Yara iyileşme süreci ilerledikçe bölgedeki endotelial hücrelerin ve inflamatuvar hücrelerin sayısı giderek azalır ve kollajen matriks giderek daha kalın ve organize bir hale gelir.

Kord vokalde yara iyileşmesini inceleyen birçok yayında sürecin inflamatuvar ve proliferatif fazda ciltte görülen ile aynı olduğu ancak remodelasyon fazında farklılık sergilediği ortaya konmuştur. Normalde cilt dokusunda yara iyileşirken kollajen tipIII başlangıçta hızla sentezlenir. Kollajen tip I ise hasardan yaklaşık üç gün sonra sentezlenmeye başlar ve yedinci günden başlayarak tip III'ün yerini alır . Tateya ve ark. rat modelinde akut kord vokal hasarına cevabı inceleyen çalışmalarında cilttekine zıt olarak

kollajen tip I'in besinci günden sonra azalmasına karşılık kollajen tip III'ün 3-14. Günlerarasında değişmeden kaldığını ortaya koymuşlardır. Bu bulgu kord vokaldeki remodelasyon fazının ciltten farklı sürmekte olduğunu göstermektedir.

PRP

Platelet Rich Plasma (PRP) ilk kez M. Ferrari tarafından (1987'de) açık kalp ameliyatı sonrasında otolog kan ürünü transfüzyon komponenti olarak kullanılmıştır (12). PRP sağlıklı bireyden elde edilen tam kandan daha yüksek konsantrasyonda platelet içeren kan ürünü anlamında kullanılmakla birlikte, bazı yazarlar tam kandan 5 kat daha yoğun platelet içeriği olarak tanımlamaktadır (13,14). PRP kullanımındaki amaç trombositlerin içindeki doku rejenerasyonunu arttıran biyolojik molekülleri maksimum düzeyde hasarlı dokuya aktarmaktır. Ortopedi, spor hekimliği, diş hekimliği, kulak burun boğaz, beyin cerrahisi, oftalmoloji, üroloji, kozmetik, kardiyotorasik ve maksillofasiyal cerrahi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (12). Güvenli ve doğal olması PRP'nin popülaritesinin hızla artmasına neden olmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalar plateletlere yeni bakış açısı kazandırmıştır. Çalışmalar trombositlerin içerdikleri growth faktörler ve sitokinlerin inflamasyon, postoperatif kan kaybı, enfeksiyon, osteogenezis ve yara iyileşmesi üzerine etkili olduklarını göstermiş. Ayrıca plateletlerin makrofaj, mezenkimal kök hücre ve osteoblastları çeken biyoaktif proteinler salgıladıkları gösterilmiş. Bu hücreler sadece dejenere ve nekrotik dokuları temizlemekle kalmaz aynı zamanda doku rejenerasyonu ve iyileşmeye katkı sağlarlar (12).

Plateletler kemik iliğinde megakaryositlerden üretilirler. Kandaki konsantrasyonları 150,000 ile 400,000 / μ L arasında değişmektedir. Plateletler, koagülasyon kaskadında merkezi bir rol oynamanın yanı sıra, yara iyileşmesinde de görev almaktadır. Son yıllarda yara iyileşmesindeki fizyolojik rolünün daha iyi anlaşılmasıyla plateletler tedavi protokollerinde yer almaya başlamıştır. PRP kullanımının amacı, eritrosit miktarını azaltıp platelet sayısını artırarak suprafizyolojik konsantrasyonlarda büyüme faktörü salınımını sağlayıp, doku tamirini direkt ve indirekt yollardan hızlandırmaktır.

Alfa granülleri plateletler içerisinde yer alıp, inaktif durumdaki büyüme faktörleri için depo görevi görür. Genel olarak söylemek gerekirse hücre büyümesini, diferansiasyonunu, sitokin salınımını, kan damarı gelişimini, kollajen sentezini ve kemotaksisi uyarmakla birlikte anti-apoptosis etki gösterirler. İçerdikleri temel büyüme faktörleri; platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IBF), transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β), fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), epidermal büyüme faktörüdür (EGF). Bu büyüme faktörleri ile fibronektin ve vitronektin gibi adhezyon proteinleri arasındaki kompleks etkileşim, kemotaksis, hücre proliferasyonu, doku debrisinin uzaklaştırılması, angiogenez,

ekstrasellüler matriks formasyonu, osteid üretimi ve kollajen sentezi ile rejeneratif süreci yönetmekte ve yara iyileşmesini sağlamaktadır(17).

Etkin bir tedavi için PRP içerisindeki platelet ve BF konsantrasyonunun ne kadar olması gerektiği konusunda tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Graziani ve ark. optimal konsantrasyonun 2.5 kat olarak önermektedir(18). Genel görüş PRP'daki platelet konsantrasyonunun normalin 5 katı olan 1,000,000 / μ l olması gerektiği yönündedir.(15, 16).

BF'nin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin inhibe olmaması için, enjeksiyon öncesi ve sonrasında steroid olmayan antiinflamatuvar ilaç kullanımından kaçınılır.

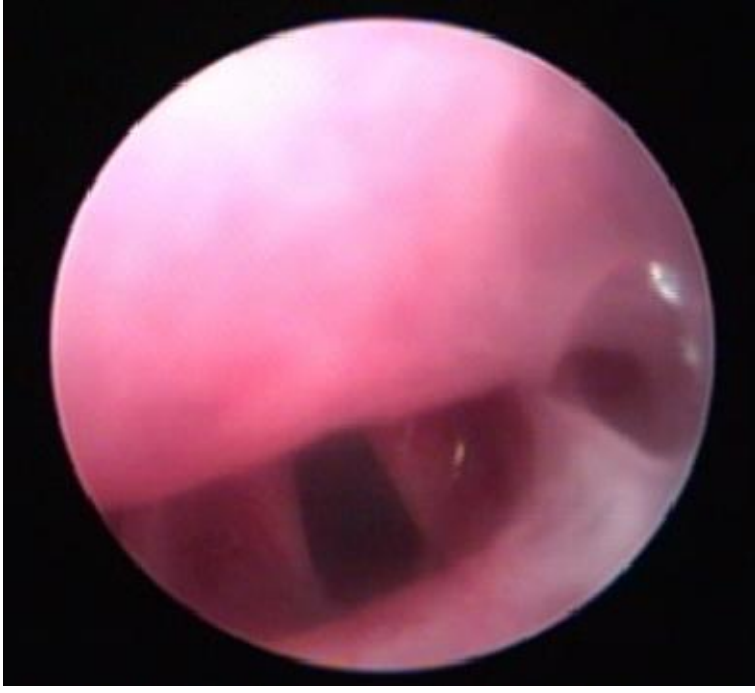
GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nin olanakları kullanılarak yapıldı. Araştırma Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alındıktan sonra (2011/136 karar sayısı ve 14/12/2011 karar tarihli) labaratuarda üretilmiş olan ağırlıkları 300-350(ort: 320)gr arasında değişen 24 adet sağlıklı erkek Wistar rat üzerinde yapılmıştır.

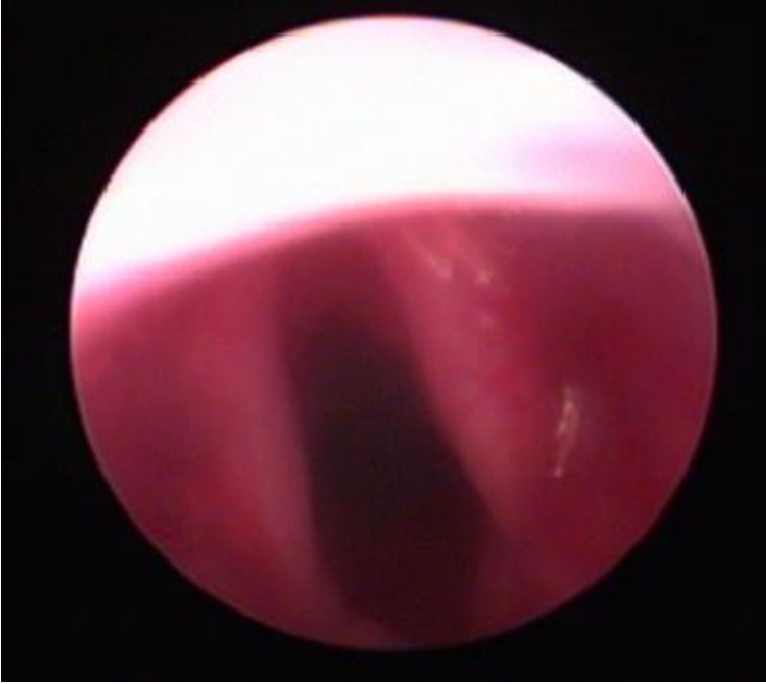
4 rattan inrakardiak 4er cc, içerisinde eritrositleri ayırmak için jel ,beyaz küreleri ayırmak için ficoll ve antikoagülan olarak da sitrat-dekstrozu solüsyonu bulunduran tüplere kan alındı. Alınan kanlar Meram Tıp Fakültesi Histoloji Labaratuarına teslim edildi. Kanlar histolog tarafından 3000 rpm de 10 dk çevrildikten sonra eritrositlerin tamamen jel altında tüpün dibinde gözleyip bufycoat ve hemen üzerindeki trombosit zengin plazmayı(PRP) ve trombosit fakir plazmayı(PPP) aldıktan sonra, bir başka konik tabanlı bir tüpte 2500 rpm de 8 dk döndürülerek pellet ışık mikroskopik olarak trombositlerin varlığı, biyokimyasal olarak da trombositlerin miktarları tesbit edildi. Ardından pellet 2cc plazmayla sulandırıldıktan sonra aseptik koşullarda işleme hazır hale getirildi.

Tüm hayvanlara cerrahi işlem öncesi intraperitoneal olarak 50mg/kg ketamin hidroklorür ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid verilerek anestezileri sağlandı. Ayak çekme refleksleri kontrol edilerek anestezinin derinliği sağlandıktan sonra operasyona başlandı. Operasyon spontan solunum devam ederken yapıldı.

Ratların dili bir gazlı bez ile nazikçe tutularak laterale alındı ve 0 derece 2,7mm pediatrik endoskop ile vokal kordlar görüntülendi(Resim 7, Resim 8). Ratlar hiperekstansiyona getirip dilleri laterale alarak endoskop ve enstrümanlarla cerrahi işlemi gerçekleştirdi. Bütün ratların sağ vokal kordlarına mikrobistüri ile kas tabakasına kadar kesi yapılarak hasar oluşturuldu(Resim 9). Ratlardan 10'una insizyonun ardından hazırlanmış olan PRP spongellere emdirilerek oluşturulan yaraya yerleştirildi ve 10 dakika beklendi. Diğer 10 rata aynı yöntemle vokal kortlarına insizyon yapıldıktan sonra serum fizyolojik emdirilmiş spongeller oluşturulan yaraya yerleştirilerek 10 dakika beklendi ve kontrol gurubu oluşturuldu.



Resim 7: Rat vokal kordunun 0 derece, 2.7mm endoskop ile görüntüsü 1



Resim 8: Rat vokal kordunun 0 derece, 2.7mm endoskop ile görüntüsü 2

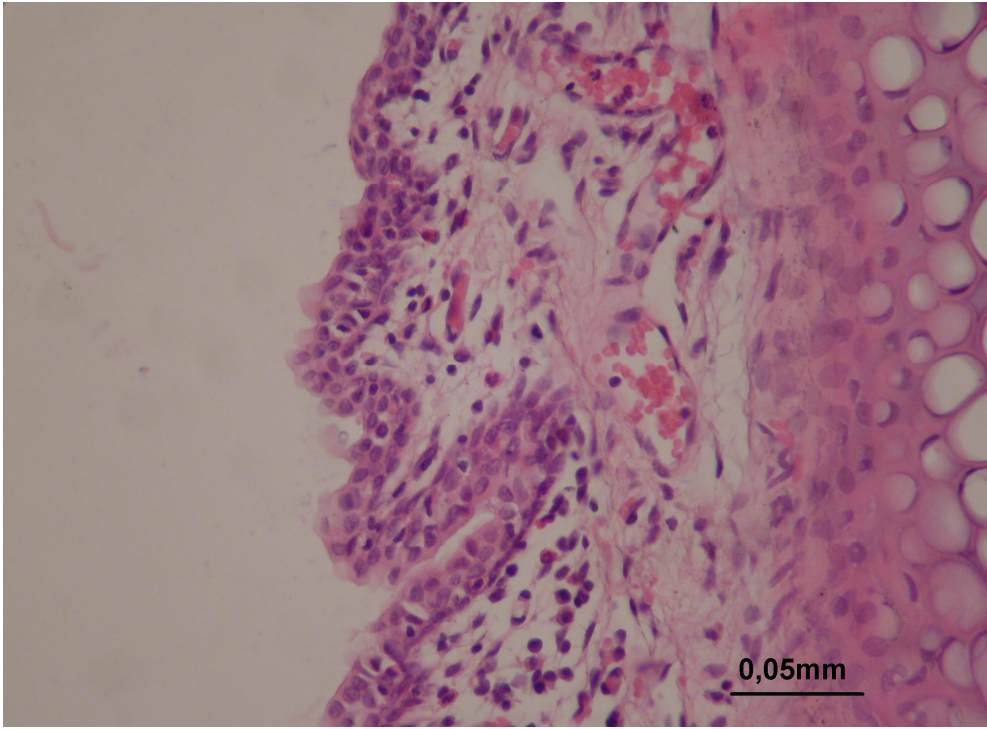


Resim 9: Rat vokal korduna bistüri ile skar oluşturulması

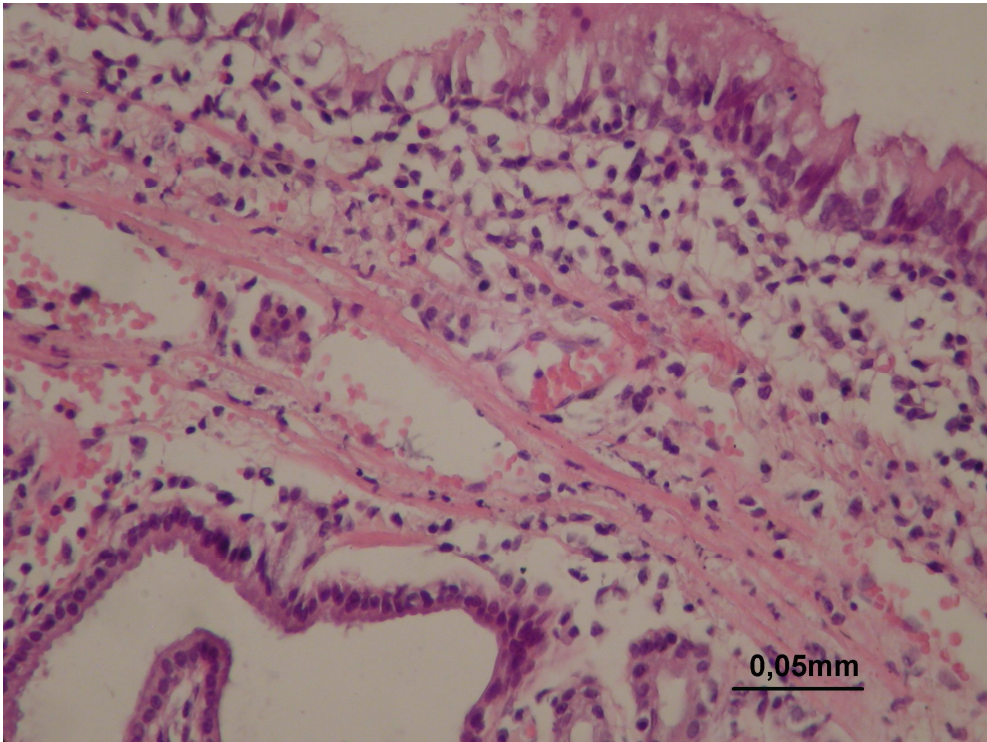
Postoperatif herhangi bir yan etki gözlenmedi. İşlemden sonra 3 hafta beklendikten sonra yüksek doz pentotal(200mg/kp, ip) verilerek hayvanlar sakrifiye edildi. tüm hayvanlara larenjektomi yapılarak patolojik spesmenler hazırlandı.

%10 luk tamponlu formaldehid içerisinde tesbit edilmiş dieksiyon materyallerinden alınan doku örnekleri ototeknikon takibine tutuldu. Doku takibinden sonra parafine gömülen dokulardan hazırlanan bloklar mikrotom yardımı ile kesilerek lizinli lam üzerine alındı. Preparatların bir kısmı Hematoksilen Eozin ile boyanarak lenfositleri ve kollajen lifleri incelemek için hazırlandı(Resim 10,11,12). Aynı alanlardan hazırlanan diğer kesitler de immünohistokimyasal olarak EGFR, FGF ve VEGF ile boyandı(Resim 13,14,15).

Boyalı spesmenler Vicon Eclipse E400 ışık mikroskobu ile incelendi. Her spesmen için aynı alan boyama sonrası Nikon Coolpix 5000 fotoğraf aparatı kullanılarak fotoğraflandı. Bütün fotoğraflar daha sonra bilgisayara aktarılarak Clemex Vision Lite 3.5 Image Analysis program (Longueuil, Canada) ile analiz edildi. 125427,4 milimetrekare alan Clemex Vision Lite 3.5 Image Analysis program ile belirlenerek fibroblast, lenfosit, kollajen, EGFR, FGF ve VEGF ile pozitif boyanan hücreler aynı program ile işaretlendi. Hasarlı hücreler değerlendirilmedi. İşaretli hücreler aynı görüntü analiz programı ile sayıldı.



Resim 10: Kontrol gurubundan bir kesit(3 no'lu ratın vokal kord kesitinin hematoksileneozin boyaması)



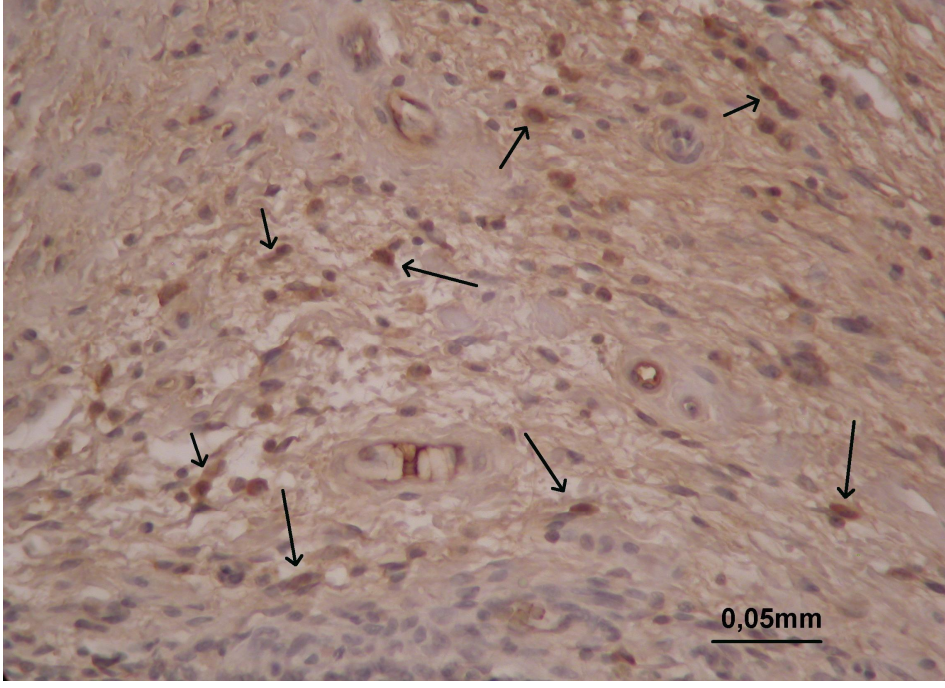
Resim 11: PRP uygulanan gurup(2 no'lu ratın vokal kord kesiti, hematoksileneozin)



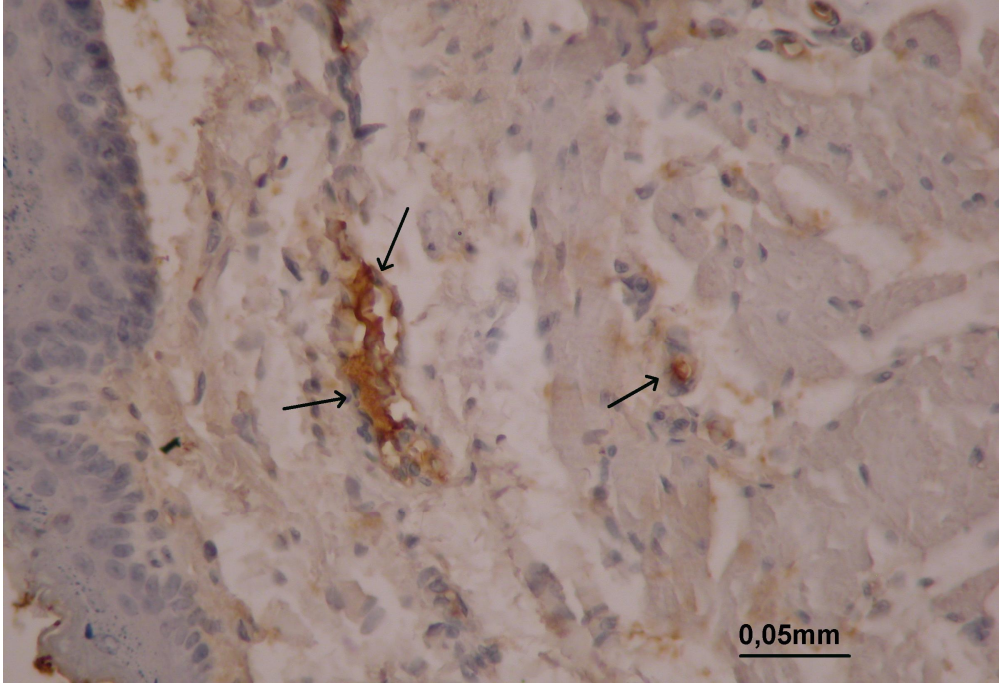
Resim 12: PRP uygulanan grup 5 no'lu rat, hematoksilen-eozin, oklar: lenfosit ve kollajen



Resim 13: PRP gurubundan 7 no'lu rat laringeal kesit, oklar: EGFR pozitif hücreler



Resim 14: PRP gurubundan 7 no'lu rat laringeal kesit, oklar: FGF pozitif hücreler



Resim 15: Kontrol grubundan 6 no'lu rat laringeal kesit, oklar: VEGF pozitif hücreler

Bulgular SPSS programına kaydedildi. Ortalama değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Gruplar arasý karşılaştırmada t testi kullanıldı. Analizlerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Araştırmada elde edilen tüm veriler Tablo 1 de gösterilmektedir.

Gruplar:

Grup 1: Kontrol gurubu(n:10)

Grup 2:PRP uygulanan gurup(n:10)

Tablo 1 : Çalışma verilerinin dökümü

gruplar	lenfosit	kollajen	EGFR	FGF	VEGF
1	27	5	10	11	7
1	19	4	13	8	9
1	28	4	12	9	4
1	25	4	18	7	5
1	18	5	14	7	10
1	24	6	15	10	6
1	31	7	14	8	6
1	22	5	10	5	4
1	26	4	14	5	9
1	29	5	13	7	6
2	31	7	17	12	8
2	27	8	19	9	8
2	38	9	18	11	9
2	26	8	16	10	10
2	22	6	15	8	8
2	20	7	14	12	6
2	29	8	19	7	7
2	25	6	14	8	7
2	23	7	12	7	6
2	26	7	18	12	10

Gruplardaki lenfosit, kollajen, EGFR, FGF, VEGF ölçümlerinin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 2 de gösterilmektedir.

Tablo 2 : Gruplarda lenfosit, kollajen, EGFR, FGF,VEGF ortalamaları ve standart sapmaları

	grup	n	Ortalama	Standart sapma
Kollajen	1,00	10	4.90	.99
	2,00	10	7.30	.95
Lenfosit	1,00	10	24.90	4.23
	2,00	10	26.70	5.12
EGFR	1,00	10	13.30	2.36
	2,00	10	16.20	2.39
FGF	1,00	10	7.70	1.95
	2,00	10	9.60	2.07
VEGF	1,00	10	6.60	2.12
	2,00	10	7.90	1.45

Yapılan değerlendirmede kontrol grubu için ortalama kollajen miktarı 4.90 ± 0.99 iken PRP uygulanan grupta 7.30 ± 0.95 olarak hesaplanmıştır. Ortalama değer PRP uygulanan grupta fazla olmasına rağmen iki grup arasında kollajen dansitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır.

Lenfosit miktarı kontrol grubunda ortalama değer 24.90 ± 4.23 iken PRP uygulanan grupta 26.70 ± 5.12 idi. Yine PRP uygulanan grubun ortalama değerinde hafif yükselme mevcut ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

EGFR ölçümünde kontrol grubu ortalaması 13.30 ± 2.36 ; PRP uygulanan grubun ortalaması 16.20 ± 2.39 olarak hesaplandı. EGFR değerinin PRP uygulanan grupta anlamlı olarak yükselmiş olduğu görüldü ($p < 0.05$).

FGF değeri ortalaması kontrol grubunda 7.70 ± 1.95 iken PRP uygulanan grupta 9.60 ± 2.07 idi. FGF değerlerinin de PRP uygulanan grupta anlamlı olarak yükseldiği görüldü ($p < 0.05$).

VEGF ölçümünde kontrol grubu ortalama değeri 6.60 ± 2.12 iken PRP uygulanan grupta 7.90 ± 1.45 olarak hesaplandı. Herne kadar VEGF PRP uygulanan grupta daha yüksek olsa da bu fark anlamlı değildi.

Guruplardaki lenfosit, kollajen, EGFR, FGF, VEGF ölçümlerinin independent t test ile analiz sonuçları tablo3 de gösterilmektedir.

TARTIŞMA

Lamina proprianın biyomekanik özellikleri sayesinde oluşan kord vokal vibrasyonu ses oluşumunu sağlayan esas etmendir. Vokal kordlarda oluşan skarlar katmanlı lamina propria tabakasına zarar vererek biyomekaniğini değiştirir ve yaşam kalitesini bozan bir dizi ses problemine yol açar. Skara bağlı oluşan disfonilerin derecesi skarın yeri ve büyüklüğü ile ilişkilidir(19).

Vokal kord skarları konjenital yada edinsel olabilmekle birlikte büyük bir kısmını edinseller oluşturmaktadır. Lamina propriada konjenital defektler olabilir; lamina proprianın bir bölgesinin defektif olması epitelin vokal ligament ile direkt temasına, ve bu da sulkus vokalise neden olur(20). Bazı yazarlara göre lamina propriada oluşan konjenital vokal kord kistleri de rüptüre olarak o bölgede kontraktür ve skara sebebiyet verebilmektedir(21). Bu sulkus vokalis gibi durumlarda ve nodül, polip, kist gibi fibrotik kitlelerde vokal kordun mikroçevresi ve biyomekaniği değişmektedir. Asimetrik vibrasyon ekstrasellüler matrikste fibrotik reaksiyona neden olan mikrotravmaya yol açarak diffüz vokal kord skarı oluşturur(19,20). Edinsel vokal kord skarları ise travmaya bağlıdır. Sesin yanlış yada fazla kullanılması, kimyasallara maruziyet (sigara, laringofaringeal reflü), termal (inhalasyon, lazer), künt veya penetran travma, iatrojenik travma (cerrahi tedavi, entübasyon, radyoterapi), enflamatuvar hastalıklar (romatoid artrit, sjögren gibi) edinsel vokal kord skarlarının nedenleridir. Woo benign vokal kord lezyonları nedeni ile cerrahi geçiren hastalarda postoperatif disfoninin en önemli sebebinin vokal kordlarda skar oluşumu olduğunu göstermiştir(21). Fonocerrahide mikroflep cerrahisi, lazer uygulamaları gibi gelişmeler söz konusu olsa da normal yara iyileşme sürecinin kaçınılmaz sonu olan skar oluşumu hala sorun teşkil etmektedir. Skar iyileştirilmesi amacı ile sayısız tedavi şekli ortaya atılmıştır ancak henüz tam olarak güvenilir ve etkin bir tedavi metodu bulunamamıştır.

Bu konuda insanda yapılan çalışmalar daha çok oluşmuş matür skar dokusunun tedavisiyle ilgilidir. Fakat matür skar dokusunu tedavi etmek oldukça güçtür. Klinik çalışmalar, doku içinde oluşan histopatolojik değişikliğin fonksiyona nasıl yansıdığını göstermesi bakımından önemlidir. Dinesh ve ark. (22) nın yapmış oldukları bir çalışmada 5 kronik vokal kord skarı olan hastaya bukkal mukozadan punch biopsi alınarak hazırlanan fibroblast kültürü enjeksiyonu sonuçlarını bildirmişlerdir. 4 hafta ara ile yapılan 3

enjeksiyon sonrası 12. ay takiplerinde mukozal dalga grade'leri, VHI(voice handicap indeks) ve ses kalite anketi değerlerinin hepsinde iyileşme olduğunu gözlemlemişler. Ancak bu konuda yapılan klinik çalışma sayısı hayvan çalışmalarına oranla oldukça azdır. Çünkü temel bilimlerde sağlanan gelişmeler ve hayvan çalışmalarından elde edilen bilgilerin klinikte uygulama alanı bulması oldukça uzun zaman almaktadır. Ek olarak insanda yapılan çalışmalarda yara iyileşmesini histopatolojik olarak gözlemlemek mümkün olmamaktadır. Ayrıca araştırılan her yeni biyomateriyalin insanda kullanımı mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, biz çalışmamızda kord vokal dokusunda skar oluşumunu azaltması amacıyla otojen bir materyal olan, yan etki profili az, hazırlanması kolay, insanda da kolaylıkla kullanılabilecek bir materyal olan PRP yi kullandık.

İnsan üzerinde yapılan birçok çalışmada skarın ortadan kaldırılmasından çok skarın neden olduğu problemlerin (doku sertliğinin yumuşatılması, glottik kapanma sağlanması) ortadan kaldırılması amaçlanmıştır. Bjorck ve ark. (23) dört hasta üzerinde prospektif bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında skatrize kord vokal içine dokuyu yumuşatması amacıyla kollajen (Zyplast) enjeksiyonu yapmışlardır. Enjeksiyondan 6-17 ay sonra hastalar değerlendirilmiş, vibrasyon amplitüdünde ve glottal kapanmada iyileşme olduğu gösterilmiştir. Ancak kord vokal hareketlerinde gözlenen bu iyileşme sesin akustik analizinde görülmemiş ve istenilen etkiyi yaratmamıştır. Hertegard ve ark.(25) skar nedeniyle glottik kapanma sorunu yaşayan hastalarda intrakordal Hylan B jel ve sığır kollajen enjeksiyonunu karşılaştırmışlardır. Her iki grupta da glottik kapanma düzelmiştir. Ancak vibratuar özellik, amplitüd ve maksimum fonasyon zamanı Hylan B jel grubunda anlamlı olarak artmıştır. Üstelik Hylan B jel doku içine enjekte edildikten sonra kollajene oranla çok daha az rezorbe olmuştur. Neuenschwander ve ark. (24) retrospektif çalışmalarında, skar oluşumu nedeniyle disfoni yakınması bulunan sekiz hastaya uygulanan otolog yağ implantasyonu sonuçlarını bildirmişlerdir. Kord vokal serbest kenarına yağ enjeksiyonuyla glottik kapanma, mukozal dalga ve kordun katılığında olumlu düzelme gözlenmiş ancak skar dokusunun boyu değişmemiştir. Yapılan bu çalışmaların hiçbirisi skarı ortadan kaldırmaya yönelik olmadığı için tüm parametrelerde düzelme sağlanamamıştır.

Yara iyileşmesinde önemli rolleri gösterilen hyalüronik asit ve kollajen bazı çalışmalarda kullanılmıştır. Kriesel ve ark. (26) yapmış oldukları çalışmada lamina propriada oluşmuş olan matür skar dokusunu iyileştirmek amacıyla enjektabl homolog kollajen matriks kullanmışlar ancak skarlı dokunun biyomekanik özellikleri değişmemiş ve istenilen sonuç elde edilememiştir. Rousseau ve ark. (27) hyalüronik asitin yara

iyileşmesindeki olumlu rolünden faydalanmak amacı ile domuz modelinde anti hyaluronidaz etkili echinacoside etkisini incelemişlerdir. Çalışmalarında hasarlanan vokal kord dokusunda hyaluronik asid seviyesini tedavi verilen grupta verilmeyene göre yüksek bulmuşlardır. Bu seviyenin hasarlanmayan normal vokal kord dokusuyla aynı olduğunu görmüşlerdir. Yine kollajen dansitesinin de tedavi verilen grupta anlamlı olarak azaldığını görmüşlerdir.

Vokal kord skar tedavisinde fibroblast proliferasyonunu ve skar olusumunu engellediği gösterilen Mitomisin-C Garrett ve ark. tarafından alternatif olarak denenmiştir. Cerrahi esnasında topikal uygulamasının fibrozisi azaltarak kalıcı disfoniyi önleyebileceğini ön gören Garrett ve ark. (28) köpek modelinde yaptıkları çalışmada mitomisin-C uygulanan vokal kord dokusunda lamina propria içeriğinin azaldığını ve kordun atrofik hale geldiğini histolojik olarak göstermişlerdir. Stroboskopi ile ölçülen vibratuar patern ise mukozal dalga hareketinin ya değişmediğini ya da azaldığını ortaya koymuştur. Histolojik analizde ise mitomisin-C uygulanan dokuda fibroblast ve kollajen yoğunluğu kontrole oranla düşük bulunmuştur. Ancak histolojik olarak istenen bu sonuç, beklenen fonksiyonel kazancı beraberinde getirmemiştir.

Yara iyileşmesinde görevli olan growth faktörler çeşitli yazarlar tarafından vokal kord skar oluşumunu önlemek amacı ile kullanılmıştır. Atsushi ve ark. köpek ve rat modellerinde basic fibroblast growth faktör(bFGF) etkisini araştırmışlardır(29,30). Köpek modelinde yaptıkları çalışmada akut hasardan 1 hafta sonra bFGF enjeksiyonu yapmışlar ve 5 hafta sonra larenjektomi yapılarak phonation threshold pressure(PTP), normalizad mukozal wave amplitude(NMWA), normalized glottal gap(NGG) değerleri, histolojik olarak da extrasellüler matriks değişiklikleri gözlemlenmiş. PTP de anlamlı olarak azalma ve NMWA da anlamlı artış olduğu görülmüş. Histolojik olarak lamina propriada anlamlı kalınlık artışı, hyalüronik asit artışı saptanmış. Rat modelinde ise rat vokal kord fibroblastlarına ekzojen bFGF ün etkisi araştırılmış. Hyalüronik asit sentezinde görevli HAS-2 geninde, fibronektin ekspresyonunda ve HGF de up-regülasyon olduğu gösterilmiş.

Hirano ve ark. (32,33) tavşan ve köpek modelinde dokuda hyaluronik asid düzeyini yükselttiği düşünülen hepatosit growth faktör'ün (HGF) etkisini incelemişlerdir. Tavşan modelinde hasardan 1 ay sonra 1 hafta arayla 2 kez HGF enjeksiyonu yapmışlar. Tedaviden 5 hafta sonra larenjektomi yapılmış ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tedavi edilen grubun vibratuar özelliklerinin daha iyi olduğu bulunmuş. Histolojik olarak her iki modelde de HGF kollajen dansitesini ve doku kontraksiyonunu azaltarak

biyomekanik özellikleri iyileştirmiştir. Ancak HGF nin yüksek dozlarda karsinojenik olabileceği kaygısı ile klinik kullanımı yoktur.

Yine bazı yazarlar tarafından vokal kord skarlarını tedavi etmek için kök hücre çalışmaları yapılmıştır. Kanemeru ve ark.(31) yaptıkları çalışmada köpek modelinde mezenkimal kök hücre tedavisini denemişlerdir. Kemik iliğinden elde edilen kök hücreler hasardan dört gün önce intrakordal enjeksiyonla doku içine verilmiştir. Tedavi edilen grupta morfolojik olarak kordun daha az irregülerite ve fibrotik değişiklik gösterdiği, granülasyon polibi gelişiminin azaldığı tespit edilmiştir. Ohno ve ark. köpek ve fare modellerinde yaptıkları çalışmalarda(34,35) kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücre tedavisini vokal kord skarlarını tedavi etmek için kullanmışlar. Her iki çalışmada da ekstrasellüler matriks bileşenlerinin dağılımında ve vokal kord vibrasyonunda anlamlı düzelme olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmalarda kullanılan materyallerin alınması kemik iliği aspirasyonu gibi invazif girişimler gerektirmektedir. Bu nedenle klinik olarak kullanılması zor olabilir.

Biz yaptığımız bu çalışmada skar oluşumunu azaltması amacıyla otojen, hazırlanması kolay, insanda kullanılması güvenli, yan etki profili az olması nedeni ile PRP yi tercih ettik. PRP daha önce birçok dokuda kullanılmış ancak vokal kordda yara iyileşmesinde denenmemiştir. PRP kullanımındaki amaç trombositlerin içindeki doku rejenerasyonunu arttıran biyolojik molekülleri maksimum düzeyde hasarlı dokuya aktarmaktır. Ortopedi, spor hekimliği, diş hekimliği, otolaringoloji, beyin cerrahisi, oftalmoloji, üroloji, kozmetik, kardiyotorasik ve maksillofasial cerrahi gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

PRP plastik cerrahide sıkça kullanılmaktadır. Flepler, ciltteki kronik yaralar, kemik defektleri bu alandaki PRP kullanım nedenlerini teşkil etmektedir. Man ve ark.(37) yüz, boyun ve göğüs cerrahisi sonrasında yapılan cilt fleplerinde 20 hastaya PRP uygulamışlar. Postoperatif bir takım faydalar saptamışlar. Operasyon sonrası yara yeri drenajı gereksiniminin olmadığını, postoperatif ödem ve ağrının azalmış olduğunu ve operasyon süresinde kısılma olduğunu bildirmişlerdir. Yine Marx ve ark. yapmış oldukları çalışmada mandibula defekti olan 88 hastaya PRP ile ve PRP kullanmadan kemik greftleri yerleştirmişler. 6 ay sonra hastaları radyografik ve histolojik olarak değerlendirmişler. PRP kullanılan grupta radyografik matüritenin ve trabeküler kemik dansitesinin anlamlı olarak yüksek olduğunu ve sonuç olarak PRP nin kemik formasyonunu hızlandırdığını bildirmişlerdir(38).

Ratlarda oluşturulan femur kırıklarında Güzel ve ark.(39) PRP etkisini araştırmışlar. PRP kullandıkları grupta histolojik olarak iyileşmenin daha iyi olduğunu; aynı zamanda biyomekanik test sonuçlarına göre iyileşme kalitesi ve kemik kuvvetinin de anlamlı iyi olduğunu bulmuşlardır.

Diş hekimliği alanında da yine greft stabilitesini sağlamak ve epitelizasyonu hızlandırmak amacı ile çeşitli vakalarda PRP kullanılmıştır. Archana ve ark.(40) gingival rezeksiyon yapılan hastalara defekt onarımı esnasında PRP kullanmışlar ve PRP nin gingival keratinizasyonu anlamlı oranda arttırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda PRP uygulanan ve kontrol grubunda iyileşmeyi değerlendirmek için hematoksilen-eozin boyama ile lökosit miktarı, kollajen miktarı, immünohistokimyasal olarak ise FGF, VEGF, EGFR incelenmiştir.

Lökosit miktarında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Bu PRP'nin vokal kordda enflamasyon artışına yada azalmasına neden olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Vokal kord skarlarında yapılan growth faktör terapileri ve kök hücre terapi çalışmalarında birçok araştırmacı kollajen dansitesinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Vokal kord skar oluşumunda kollajen miktarı ile birlikte kollajenin organizasyonu da önemlidir. Chhetri ve ark.yapmış oldukları çalışmada(47) akut vokal kord skarlarında fibroblast enjeksiyonu yapmışlar. Hasarlı vokal korda bukkal mukozadan elde edilen fibroblastları enjekte etmişler ve mukozal dalgalanmanın normal yada normale yakın olduğunu gözlemlerken histopatolojik olarak kollajende artış olduğunu görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda kollajen dansitesi ortalama değere bakıldığında PRP uygulanan grupta yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü.

Fibroblast growth faktör fibroblastların sayısında artış sağlayarak ve anjiogenik potansiyeli arttırarak yara iyileşmesi üzerine olumlu etkiler sağlar. FGF klinik olarak cilt ülserleri, yanık travmaları ve cilt greftleme öncesi vaskülarizasyonu arttırmak amacı ile kullanılmaktadır. Akasaka ve ark. ratlardaki cilt yaralarında intradermal olarak bFGF kullanmışlar. Cilt yara kalitesinde bFGF kullanılan grupta anlamlı artış olduğunu gözlemlemişler(48). Bu yazarlar bFGF'nin apoptozu regüle ederek granülasyon dokusu oluşumunu azalttığı ve böylece skarsız iyileşmeyi destekleyebileceği sonucuna varmışlar. Suehiro ve ark.(29,30) ise bFGF'yi vokal kord skarlarını tedavi etmek için köpeklerde ve ratlarda kullanmışlar. bFGF'nin eksize edilen larenks modellerinde fonksiyonel vibratuar ve histolojik sonuçlarının daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da PRP'nin FGF seviyesinde anlamlı artış sağladığı görülmüştür. PRP böylelikle FGF

seviyesinde artışa sebep olarak FGF'nin vokal kord skarlarındaki hem histolojik hem de fonksiyonel sonuçlarındaki iyileşmeye katkı sağlayabilir.

Birçok klinik ve eksperimental çalışma EGF 'nin yara iyileşmesinde, inflamasyon, yara kontraksiyonu, proliferasyon, migrasyon ve anjiogenezi içeren kutanöz yara iyileşmesinin birçok aşamasında pozitif etkileri olduğu gösterilmiştir(49,50,51). Snnjeev ve ark. Yapmış oldukları çalışmada(52) diabetik ayak ülseri iyileşmesinde epidermal growth faktörün rolünü araştırmışlar. Diabetik ayak ülseri olan 20 hasta çalışmaya dahil edilmiş. Çalışma grubundaki 10 hasta EGF ile pansuman yapılırken, kontrol grubundaki 10 hasta normal salin ile pansuman yapılmış. 8 hafta tedavi uygulana hastalar 1,3,5 ve 7. haftalarda yara iyileşmesi açısından değerlendirilmiş. EGF uygulanan grubun ilk 5 hafta kontrol grubuna göre erken iyileşme sağladığını ve hastanede kalış süresinin kısalttığını bildirmişlerdir. Kılıçarslan ve ark.(53) 24 rat üzerinde yaptıkları çalışmada cilt yara iyileşmesine EGF'ün etkisini araştırmışlar. Bütün ratlara, aynı bölgede yara oluşturduktan sonra çalışma grubuna EGF uygulamışlar. Çalışma grubunu da iki gruba ayırarak bir grubu 5 gün, diğer grubu 7 gün sonra değerlendirmeye almışlar. EGF tedavisinin anjiogenezi arttırdığını ve 7. gün 5. günden daha fazla artış olduğunu saptamışlar. Bizim çalışmamızda da PRP'nin EGFR seviyesinde anlamlı artışa neden olduğu görülmüştür($p<0.05$).

PRP hem trombositlerin içerdikleri growth faktörler ve sitokinlerin inflamasyon, postoperatif kan kaybı, enfeksiyon, osteogenezis ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerini, hemde growth faktör reseptörlerinde artışa sebep olarak growth faktörlerin yara iyileşmesi üzerine olan olumlu etkilerini birarada sağlayabilir. Ayrıca plateletlerin makrofaj, mezenkimal kök hücre ve osteoblastları çeken biyoaktif proteinler salgıladıkları gösterilmiş. Bu hücreler sadece dejenere ve nekrotik dokuları temizlemekle kalmaz aynı zamanda doku rejenerasyonu ve iyileşmeye katkı sağlarlar.

Sonuç olarak PRP'nin diğer dokularda gösterilen yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerinin vokal kord üzerinde de gösterdiği çalışmamızda ortaya konmuştur. Ancak bu etkinin insan vokal kord skarı üzerine olan etkisi ve ses parametrelerine fonksiyonel kazancı olup olmayacağı konusunda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Çalışmamızda PRP uygulanan grupta ve kontrol grubunda lenfosit miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Bu PRP'nin akut vokal kord hasarında enflamasyonu arttırıcı ya da azaltıcı bir etkisinin olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Her iki grupta kollajen dansitesinde de anlamlı fark saptanmadı. FGF ve EGFR ölçümlerinde ise PRP uygulanan grupta anlamlı artış olduğu görüldü. PRP böylece FGF'nin ve EGF'nin yara iyileşmesi üzerine olan olumlu etkilerini de sağlıyor olabilir. Hatta bizim çalışmamızda bakılmamış olan diğer growth faktörlerde de artış sağlıyor olabilir.

Çalışmamızda ECM içindeki diğer bileşenlerin (hyaluronik asit, fibronektin) düzeyine bakılmamıştır. Ayrıca kollajenin tipi ve organizasyonu da vokal kord fonksiyonlarında önemlidir. Kord vokalin biyomekanik özelliklerinin ECM içinde yer alan komponentlerin dansitesi ve dağılımı tarafından belirlendiği bilinmektedir. Vokal korddaki yara iyileşmesinde yüksek hyaluronik asit düzeylerinin olumlu katkısı ortaya konmuş, düzeyini arttırmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Dolayısıyla skar oluşumunun azaltılması hedeflenirken kollajen ve diğer ECM bileşenlerinin istenilen seviyeye getirilmesi de önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle skar oluşumunu azaltması amacıyla kullandığımız PRP'nin yara iyileşmesi sırasında diğer ECM bileşenlerinin ve kollajen subtiplerinin sentezini nasıl etkilediğini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu sonuçlar ratların vokal kordlarındaki hasara PRP'nin olumlu etkilerinin olduğunu desteklemektedir. Ancak aynı sonuçların insan vokal kordunda da görülüp görülmeyeceği konusunda ve bu histopatolojik değişikliklerin fonksiyonel bir kazancı olup olmayacağı konusunda ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Akasaka Y, Ono I, Yamashita T, Jimbow K, Ishii T. Basic fibroblast growth factor promotes apoptosis and suppresses granulation tissue formation in acute incisional wounds, J Pathol 2004;203:710–20.
2. Alper Murat ULAŞLI. Kas iskelet sistemi yaralanmalarında Plateletten Zengin Plazma Tedavisi. Kocatepe Tıp Dergisi 13:51-59/ Ocak 2012
3. Anderson TD. Benign lesions of the larynx. In: Merati AL, Bielamowicz SA, editors. Textbook of laryngology. San Diego: Plural Publishing; 2007 . pp. 303–322
4. Arkana RN, Alampalli VR, Dwarkanath CD, Madhukeshwara S, Chinnappa AB, Use of platelet rich plasma to treat gingival recession in esthetic periodontal surgery, J Indian Soc Periodontol. 2013, 17(3): 345-353
5. Barry L. Eppley, William S. Pietrzak, Matthew Blanton, Platelet Rich Plasma: A Review of Biology and Applications in Plastic Surgery , American Society of Plastic Surgeons, 2006, doi: 10.1097/01.prs.0000239606.92676.cf
6. Bjorck G, D'Agata L, Hertegard S. Vibratory capacity and voice outcome in patients with scarred vocal folds treated with collagen injections--case studies. Logoped Phoniatr Vocol 2002;27(1):4-11
7. Chhetri DK, Head C, Revazova E, Hart S, Bhuta S, Berke GS, Lamina propria replacement therapy with cultured autologous fibroblasts for vocal fold scars, Otolaryngology head and neck surg, 2004, 131: pp. 864-70
8. Clark RAF. Cutaneous tissue repair : Basic biologic considerations. J Am Acad Dermatol 1985; 13 pp. 701-25
9. Cummings CW, Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, dördüncü baskı, 2007, cilt 3, pp. 1963-73
10. Diane M. Bless and Nathan V. Welham , Characterization of vocal fold scar formation, prophylaxis, and treatment using animal models, Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery 2010, 18:481–486
11. Dinesh K. Chhetri, Gerald S. Berke, Injection of Cultured Autologous Fibroblasts for Human Vocal Fold Scars The Laryngoscope VC 2011 The American Laryngological, Rhinological and Otological Society, Inc.
12. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. Am J Sports Med 2009; 37:2259–2272.

13. Garrett CG, Soto J, Riddick J, Billante CR, Reinisch L. Effect of mitomycin-C on vocal fold healing in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110:25–30.
14. Graziani et al. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res.* 2006 Apr;17(2):212-9.
15. Greenhalgh DG: The role of growth factors in wound healing. *J Trauma* 1996, 41:159–167.
16. Guzel Y, Karalezli N, Bilge O, Kacira B, Esen H, Karadag H ve ark. The biomechanical and histological effects of platelet-rich plasma on fracture healing, Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 2013, doi 10.1007/s00167-013-2734-2
17. Hammond TH, Gray SD, Butler J, Zhou R, Hamond E. Age- and gender-related elastin distribution changes in human vocal folds. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998; 119:314-322.
18. Harmon K, Hanson R, Bowen J, Greenberg S, Magaziner E, Vandenbosh J et al. Guidelines for the Use of Platelet Rich Plasma
19. Hatley W, Samuel E, Evison G. The pattern of ossification in the laryngeal cartilages: a radiological study. *Br J Radiol* 1965; 38:585-591.
20. Hertegard S, Hallen L, Laurent C, Lindstrom E, Olofsson K, Testad P et al. A. Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 2002;112(12):2211-2219.
21. Hirano S, Bless DM, Nagai H, Rousseau B, Welham NV, Montequin DW et al. Growth factor therapy for vocal fold scarring in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004;113(10):777-785.
22. Hirano S, Bless DM, Rousseau B, Welham N, Montequin D, Chan RW et al. Prevention of vocal fold scarring by topical injection of hepatocyte growth factor in a rabbit model. *Laryngoscope* 2004;114(3):548-556.
23. Hirano M, Kurita S, Nakashima T. Growth, development and aging of human vocal folds. In: Bless DM, Abbs JH, eds. *Vocal Fold Physiology*. San Diego, Calif: College-Hill Press; 1983:2243
24. Hirano M, Nakashima T. Vascular network of the vocal fold. In: Stevens KN, Hirano M eds. *Vocal Fold Physiology*. Tokyo, Japan: University of Tokyo Press; 1981 :45-59.
25. Huggins B. Trauma Physiology. *Nurs Clin North Am.* 1990; 25 pp. 1-11

26. Jacqui Allen, Cause of vocal fold scar , Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery 2010, 18:475–480
27. Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Kojima H, Magruffov A, Hiratsuka Y. Regeneration of the vocal fold using autologous mesenchymal stem cells. Ann Otol Rhinol Laryngol 2003;112:915–920.
28. Kaya S. Larenks Hastalıkları, 1. baskı Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi 2002; pp. 19-20.
29. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi, ikinci baskı 2013; pp.1035-1047
30. Kriesel KJ, Thiebault SL, Chan RW, Suzuki T, VanGroll PJ, Bless DM et al. Treatment of vocal fold scarring: rheological and histological measures of homologous collagen matrix. Ann Otol Rhinol Laryngol 2002;111(10):884-889.
31. Kundakçı N. Doku Harabiyetinin Nedenleri, Ankara, Ayrıntı matbağa Ltd. Şti. 1996; pp. 8-16
32. Lee KJ. Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery 6th edition Appleton and Lange 1995.
33. Lorente AF, Brooks SA, Vinageras EN, Alvarez MCB, Brito BW, Concepción MT et al. Effect of blockade of the EGF system on wound healing in patients vaccinated with CIMAvax® , World Journal of Surgical Onkology, 2013, 11:275
34. Man D, Plosker H, Winland-Brown J.E. The use of autologous platelet-rich plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. Plastic Reconstr. Surg. 2001, 107:229
35. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Platelet rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts, Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod, 1998, 85:638
36. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? Implant Dent 2001;10:225–228.
37. Neuenschwander MC, Sataloff RT, Abaza MM, Hawkshaw MJ, Reiter D, Spiegel J. Management of vocal fold scar with autologous fat implantation: perceptual results. J Voice 2001;15(2):295-304
38. Ohno S, Hirano S, Kanemaru S, Kitani Y, Kojima T, Tateya I et al. Implantation of an Atelocollagen Sponge With Autologous Bone Marrow–Derived Mesenchymal

- Stromal Cells for Treatment of Vocal Fold Scarring in a Canine Model , *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology* 120(6):401-408.
39. Ohno S, Hirano S, Tateya I, et al. Atelocollagen sponge as a stem cell implantation scaffold for the treatment of scarred vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2009;118:805-10.
 40. Ömür M, Dadaş B. Klinik baş boyun anatomisi, Ulusal tıp kitabevi, İstanbul 1996; pp.
 41. Repertinger SK, Campagnaro E, Fuhrman J, El-Abaseri T, Yuspa SH, Hansen LA: EGFR enhances early healing after cutaneous incisional wounding. *J Invest Dermatol* 2004, 123:982–989.
 42. Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG, Champion RH, Burton JL, Textbook of Dermatology, 6th edition, Oxford , Blackwell Scientific Pub. 1997; pp.337-51
 43. Rousseau B, Tateya I, Lim X, Munoz-del-Rio A, Bless DM. Investigation of antihyaluronidase treatment on vocal fold wound healing. *J Voice* 2006;20(3):443-451.
 44. Sataloff RT, Professional voice the science and art of clinical care, thitd edition, Plural publishing, San Diego, 2004, pp.143-64
 45. Suehiro A, Hirano S, Kishimoto Y, Rousseau B, Nakamura T, Ito J , Treatment of acute vocal fold scar with local injection of basic fibroblast growth factor: a canine study. *Acta Oto-Laryngologica*, 2010; 130: 844–850
 46. Suehiro A, Hirano S, Kishimoto Y, Tateya I, Rousseau B, Effects of Basic Fibroblast Growth Factor on Rat Vocal Fold Fibroblasts, *The Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*; Oct 2010; 119, 10
 47. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg* 2002;30:97-102.
 48. Williams and Warwick. Gray’s Anatomy 36 th British Edition W.B.Sounders company Phladelphia Churchill Livingstone. 1980.
 49. Woo P, Casper J, Cotton R, Brewer D. Diagnosis and treatment of persistent dysphonia after laryngeal surgery: a retrospective analysis of 62 patients. *Laryngoscope* 1994;104:1084-1091.
 50. Wroblewski AP, Melia HJ, Wright VJ. Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Oper Tech Orthop.* 2010; 20:98–105.

ÖZET

RATLARDAKİ AKUT VOKAL KORD SKARLARINDA PRP TEDAVİSİ

Dr. Serap BULUT ÇÖBDEN Danışman: Prof. Dr. Kayhan ÖZTÜRK
Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı , 2013
Tıpta Uzmanlık Tezi

Vokal kord skarlarının inflamasyon, irritasyon ve iatrojenik nedenleri içeren birçok sebebi vardır. Kord vokal cerrahisi sonrasında ortaya çıkan fonksiyonel ses kaybının en önemli nedeni skar oluşumudur . Skar vokal kord lamina propriasındaki ekstrasellüler matriksi(ECM) bozarak disfoniye sebebiyet vermektedir ve tedavisi oldukça güçtür. Yara iyileşme sürecinde sağlıklı dokunun yerini fibröz doku almaktadır. Değişen ECM kompozisyonu mukozal dalga hareketini etkileyerek vokal kord fonksiyonunu bozmaktadır ve böylelikle disfoniye yol açmaktadır. Kronik vokal kord skarlarını iyileştirmenin son derece güç olması nedeni ile inatçı skar oluşumunu önlemek için vokal kord hasarları akut fazda tedavi edilmelidir.

Vokal kord skar tedavisi için henüz optimal metod yoktur. Kord vokalde yara iyileşmesi sürecini inceleyen birçok yayın mevcuttur. Yara iyileşmesi hakkındaki bilgilerimizin artması araştırmacıları skar oluşumunu azaltmayı amaçlayan çalışmalara yöneltmiştir. Bu amaçla yapılan in-vitro ve in-vivo araştırmalarda hepatosit growth faktör, fibroblast growth faktör, echinacoside , Mitomisin-C ,mezenkimal kök hücresinin etkinliği denenmiş ve olumlu sonuçlar bildirilmiştir.

Platelet Rich Plasma(PRP) vücutta vokal kord dışındaki epitel hasarlarında kullanılmış otojen materyaldir. Otojen olması nedeni ile herhangi bir yan etki gözlenmemekle birlikte epitel iyileşmesi üzerine olumlu etkileri tespit edilmiştir. Birçok dokudaki yara iyileşmesinde olumlu etkileri gösterilmiş ancak kord vokal üzerinde çalışılmamıştır.

Çalışmamızda yirmidört adet Wistar rat kullanılmıştır. Hayvanların 10 tanesinde cerrahi

prosedür olarak kord vokale bistüri ile tam kat kesi yapılarak skar oluşturulduktan sonra PRP emdirilmiş spongeller tatbik edildi, kalan 10 tanesinde ise kord vokalde aynı yöntemle skar oluşturularak serum fizyolojik emdirilmiş spongeller tatbik edildi. Her iki grupta da 21 gün sonra sakrifiye edilerek larenjektomileri yapıldı. Vokal kord kesitlerine hematoksilin-eozin, EGFR, FGF, VEGF boyamaları yapılarak histopatolojik inceleme yapıldı.

Çalışmamız PRP'nin diğer dokularda gösterilen epitelizasyonu hızlandırıcı ve yara iyileşmesi üzerine olan olumlu etkilerini vokal kord dokusundaki yara iyileşmesi sürecinde de sergilediğini ortaya koymuştur. Ancak bu getirisinin fonksiyonel anlamda ne kazandırdığı konusunda geniş olgu serileriyle yapılacak klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: PRP, rat, skar, vokal kord

SUMMARY

TREATMENT OF ACUTE SCAR WITH PRP ON RAT VOKAL FOLD

Vokal fold scarring has many causes , including inflammation, irritation and iatrojenic injury. Scar formation is the major cause of dysphonia following the vocal cord surgery.

Lamina propria consists of extracellular matrix (ECM) and cells producing the components of the matrix. Components of ECM determines the biomechanical properties of the vocal cord. A balanced distrubition of this components provides an ideal viscoelasticity to vocal cord. Within the wound healing process, fibrotic tissue replaces the original tissue. Changes in the composition of ECM disturbs the vocal cord function by impeding the mucosal wave movement. Because of the difficulty in remediating chronic vocal fold scar, treathments that target wound healing events during the acute phase of injury may be useful in minimizing the effects of eventual scar formation.

A well known healing and scar formation process enables to improve the effective treatment regimes. Different substances have been studied to assess this subject. Hepatosit growth faktör, fibroblast growth faktör, echinacoside , Mitomisin-C ,mezenkimal stem cell have been studied in vivo and in vitro in vocal fold scar treathment and have been reported beneficial effects.

PRP is a reliable and has low side effect profile and has beneficial effects on wound healing. Its investigatory effects on wound healing process was shown on many tissues but hasn't studied on vocal cords yet.

Twentyfour Wistar rats was used in the study. 10 rats vocal fold were unilaterally injured using microscissors and spongel with PRP were placed injured area. The other 10 rats vocal fold were unilaterally injured using microscissors and spongel with normal saline were placed injured area. Experimental animals were euthanized 21 days after treatment. After existed larynx experiments, serial sections were prepeared from vocal fold and hematoxylin eosin, EGFR, FGF and VEGF staining was performed for histological examination.

In the study; it is undoubtedly shown that PRP is accelerating epithelization and has beneficial effects in the wound healing of the vocal cord tissue as it has on the other tissue sites. However new clinical studies needed to provide the effect of the findings to the functional outcomes.

Key Words: PRP, rat, scar, vocal fold