



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAĞCILAR EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ KLİNİĞİ

RATLARDA İNTRAORAL YARA İYİLEŞMESİNDE
TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA TEDAVİSİNİN
KLİNİK ve HİSTOPATOLOJİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ
(DENEYSEL HAYVAN ÇALIŞMASI)

UZMANLIK TEZİ

DR. SEDAT RÜZGAR

TEZ DANIŞMANLARI:

DOÇ. DR. SALİH AYDIN

OP. DR. TÜLİN ŞENTÜRK

İSTANBUL-2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca üstün bilgi, beceri ve tecrübelerini aktararak, yetişmemde büyük emekleri olan saygıdeğer hocam, KBB Kliniği Eğitim sorumlusu Prof. Dr. Mehmet Faruk OKTAY'a, hem meslek hem de sosyal hayattaki öngörleriyle yol göstericim olan Doç. Dr. Ümit TAŞKIN'a ve tez çalışmam sırasında beni yönlendiren, her türlü yardım ve bilimsel desteğini esirgemeyen tez danışmanlarım Doç.Dr.Salih AYDIN ve Op.Dr. Tülin ŞENTÜRK'e teşekkür ederim.

Cerrahi felsefesini ve tecrübesini paylaşan ve mesleğimi öğrenmemde bana destek olan çok değerli uzmanlarım Op.Dr.Bilgehan GÜNTEKİN'e, Op.Dr. Şahin ÖĞREDEN'e Op.Dr.Hasan Deniz TANSUKER'e, Op.Dr. Hikmet KOÇAK'a Op.Dr.Şeyda BELLİ'ye, ve Op.Dr.Belma PEHLİVAN'a, teşekkür ederim.

Uyumlu bir çalışma ve yardımlaşma içerisinde bulunduğum sevgi ve dostluklarını esirgemeyen tüm Kulak Burun Boğaz asistan doktorlarına, hastanemizin tüm hemşire, laborant, teknisyen ve diğer personeline teşekkür ederim.

Histopatolojik örnekleme için patolojik kesitleri değerlendiren Uz. Dr.Funda EMRE'ye teşekkür ederim.

Ayrıca bu günlere gelmemde büyük emeği geçen, sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Dr. Sedat RÜZGAR

İstanbul/2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
RESİM LİSTESİ.....	vii
GRAFİK LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. ORAL KAVİTE ANATOMİSİ	2
2.1.1. Dudaklar.....	2
2.1.2. Yanak mukozası.....	2
2.1.3. Gingiva.....	2
2.1.4. Retromolar üçgen.....	3
2.1.5. Sert damak	3
2.1.6. Ağız tabanı.....	3
2.1.7. Dil	3
2.1.8. Tükürük bezleri.....	4
2.2. ORAL KAVİTE HİSTOLOJİSİ	4
2.3. YARA İYİLEŞMESİ.....	5
2.3.1. Yaranın Tanımı ve Yaralanma Tipleri	5
2.3.1.1. Yarayı oluşturan etkenlere göre yara tipleri	6
2.3.1.2. Yaranın derinliğine göre yara tipleri.....	7
2.3.1.3. Yaranın oluşma zamanına göre yara tipleri	7
2.3.2. Yara İyileşmesi	8
2.3.2.1. Koagülasyon ve Hemostaz.....	8
2.3.2.2. İnflamatuar Evre	10
2.3.2.3. Proliferasyon Evresi.....	12

2.3.2.4. Maturasyon Evresi (Remodeling).....	14
2.3.3.Yara İyileşmesi Tipleri	15
2.3.3.1.Primer iyileşme	15
2.3.3.2.Sekonder iyileşme	16
2.3.4.Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	16
2.4.TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA (PRP)	17
2.4.1. Trombositler.....	17
2.4.2. PRP Hazırlanışı:.....	20
2.4.3. PRP Çalışma Prensipleri	21
2.4.4. PRP Kullanım Alanları	22
2.4.5. PRP İçerisinde Bulunan Büyüme Faktörleri.....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	32
3.1. DENEY HAYVANLARI	32
3.2. TEDAVİ PROTOKOLÜ	33
3.2.1.PRP (Trombosit Zengin Plazma) ELDE EDİLMESİ	33
3.2.2. CERRAHİ PROSEDÜR	34
3.3. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	35
3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. İNFLAMASYON ŞİDDETİ.....	38
4.2 DAMAR YOĞUNLUĞU	39
4.3 KOLLOJEN YOĞUNLUĞU	41
4.4. FİBROBLAST PROLİFERASYONU	43
4.5. EPİTELİZASYON.....	45
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	52
KAYNAKLAR	53

KISALTMALAR

PRP : Trombositten Zengin Plazma

TFP : Trombositten Fakir Plazma

EGF : Epidermal Growth Faktör

IGF-1 : İnsüline like Growth Faktör

b-FGF : basic-Fibroblast Growth Factor

FGF : Fibroblast Growth Faktör

LT : Lökotrien

MMP : Matrix Metalloproteinaz

MNL : Mononükleer Lenfosit

PDGF : Platelet-Derived Growth Faktör

PNL : Polimorfo Nükleer Lökosit

TGF : Transforming Growth Faktör

TNF : Tümör Nekroz Faktör

VEGF : Vasküler Endotelyal Growth Faktör

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Akut inflamasyonda görev alan önemli mediyatörler (20)	12
Tablo 2: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler (28).....	16
Tablo 3: PRP ve kontrol grupları arasında inflamasyon şiddetinin haftalık değişiminin karşılaştırılması.....	38
Tablo 4: PRP ve kontrol grupları arasında damar yoğunluğunun haftalık değişiminin karşılaştırılması.....	40
Tablo 5: PRP ve kontrol grupları arasında kollojen yoğunluğunun haftalık değişiminin karşılaştırılması.....	42
Tablo 6: PRP ve kontrol grupları arasında fibroblast proliferasyonunun haftalık değişiminin karşılaştırılması	43
Tablo 7: PRP ve kontrol grupları arasında epitelizasyonun haftalık değişiminin karşılaştırılması.....	45

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Oral mukoza tabakaları.....	5
Şekil 2: Hemostaz mekanizmasının şematik olarak gösterimi	9
Şekil 3: Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı (15, 16).....	10
Şekil 4: Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı (15, 16)	13
Şekil 5: Yara iyileşmesinde görev alan hücreler ve etkileri (20).....	14
Şekil 6: Yara iyileşme tipleri (27).....	15
Şekil 7: Trombositin şematik yapısı	18
Şekil 8: Santrifüj işlemi sonrası kanın tabakalara ayrılmış görünümü	21

RESİM LİSTESİ

Resim 1: İntrakardiyak kan alınması	33
Resim 2: Sert damakta yara oluşturulması	34
Resim 3: Yara kenarlarına PRP uygulaması.....	35
Resim 4: PRP uygulanan grupta 3.haftada inflamasyon şiddetinde belirgin azalma gözlenmekte (HEx100).....	39
Resim 5: PRP uygulanan grupta 3.haftada damar yoğunluğundaki artış (HEx100)	41
Resim 6: PRP uygulanan grupta 3.haftada belirgin yoğunlukta organize ,çaprazlaşan kollojen boyanma yaygınlığı (MTx400).....	42
Resim 7: PRP uygulanan grupta 3.haftada fibroblast proliferasyonundaki artış (HEx400)	44
Resim 8: PRP uygulanan grupta 3.haftada epitelizasyon 3/3 oranda izlenmekte (HEx100)	46

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: PRP ve kontrol grupları arasındaki inflamasyon şiddet skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi	39
Grafik 2: PRP ve kontrol grupları arasındaki damar yoğunluğu skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi	40
Grafik 3: PRP ve kontrol grupları arasındaki kollojen yoğunluğu skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi	42
Grafik 4: PRP ve kontrol grupları arasındaki fibroblast proliferasyonu skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi	44
Grafik 5: PRP ve kontrol grupları arasındaki epitelizasyon skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi	46

ÖZET

Ratlarda İntraoral Yara İyileşmesinde Trombositten Zengin Plazma Tedavisinin Klinik ve Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi

Amaç: Yara iyileşmesi hemostazisin aşamalarında da dahil olmak üzere inflamasyon, proliferasyon ve remodelingin yanı sıra pek çok biyokimyasal ve hücrel mekanizmaları içeren bir süreçtir. Bu süreçte pek çok mediatör hücrelerin büyümesini, farklılaşmasını ve yara iyileşme sürecini modüle eder. Trombositten zengin plazma (PRP) içeriğinde yoğun şekilde bulundurduğu PDGF, TGF-Beta, IGF-1, EGF gibi sitokinler sayesinde yara iyileşmesinin her döneminde, mezenkimal ve epitelyal hücre migrasyonunda, kolagen matrix sentezinde ve angiogeneziste önemli rol oynar. Biz de PRP'nin bu özelliğinden dolayı deneysel olarak ratlarda oluşturulmuş intraoral yaraların iyileşmesi üzerindeki etkisini klinik ve histopatolojik olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya aynı cins, dişi, 250-350 gr ağırlığında, standart yemlerle beslenen 42 adet rat (Wistar hannover) alındı. 6 adet rat kan alınmak üzere PRP hazırlamak için ayrıldı. Geriye kalan 36 adet rata anestezi sağlandıktan sonra sert damaklarına 3mm çapında daire şeklinde insizyon yapıp periosta kadar dokular diseke edilip çıkarıldı. Ratlar randomize olarak, PRP uygulanan ve 7., 14. ve 21. günlerde sakrifiye edilen ve Kontrol grubu 7., 14. ve 21. günlerde sakrifiye edilen olmak üzere 6 gruba ayrıldı. PRP grubunda bulunan her bir ratın yara kenarlarına, 1., 3. ve 5. günlerde 0,1 ml trombositten zengin plazma (PRP) enjeksiyonu yapıldı. Kontrol grubunun yara yerine ise herhangi bir uygulama yapılmadı. 7., 14., 21. günlerde PRP ve kontrol gruplarından 6 adet rat yüksek doz anestetik madde ile sakrifiye edilip histolojik inceleme için sert damakları eksize edildi. Histopatolojik olarak inflamasyon şiddeti, neovaskülarizasyon (damar yoğunluğu), fibroblast proliferasyonu, kollojen yoğunluğu ve epitelizeasyon değerlendirildi.

Bulgular: Deneysel olarak oluşturulmuş ağız yarasında PRP uygulanan ve uygulanmayan grup arasında, inflamasyon şiddeti açısından 7. ve 14. günlerde anlamlı istatistiksel fark gözlenmezken, 21. Günde PRP uygulanan grupta inflamasyon şiddetinin deney grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı gözlemlendi. Neovaskülarizasyon (damar yoğunluğu), fibroblast proliferasyonu, kollojen yoğunluğu

ve epitelizasyon açısından ise deney ve kontrol grupları arasında 7. günde anlamlı fark gözlenmezken, 14. ve 21. günde PRP uygulanan grupta kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi.

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçlarına göre, PRP ile tedavi edilen yaralar kontrol gruplarına göre makroskopik ve mikroskopik olarak daha hızlı iyileşme gösterdi bununla birlikte PRP uygulamasının daha uzun dönem sonuçlarının bakılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: yara iyileşmesi, trombositten zengin plazma, rat, intraoral



ABSTRACT

Clinical and Histopathological Evaluation of Thrombocyte Rich Plasma Treatment in Intraoral Wound Healing in Rats

Introduction: Wound healing is a process involving many biochemical and cellular mechanisms, including inflammation, proliferation and remodeling, including the stages of hemostasis. In this process, many mediators modulate the growth, differentiation and wound healing process of the cells. It plays an important role in mesenchymal and epithelial cell migration, collagen matrix synthesis and angiogenesis in every period of wound healing thanks to cytokines such as PDGF, TGF-Beta, IGF-1, EGF which are concentrated in the content of platelet rich plasma (PRP). Because of this characteristic of PRP, we aimed to evaluate clinically and histopathologically the effect of experimental intraoral wound healing in rats.

Material and Methods: For this study, 42 rats (Wistar hannover) of the same sex, female, 250-350 gr weight, fed with standard feeds were taken. Six rats were assigned to prepare PRP for blood collection. The remaining 36 rats were anesthetized and then incised to 3 cm in diameter on hard palates and disappeared to the periosteum. Rats were randomly divided into 6 groups, to which PRP was administered and which were sacrificed on days 7, 14 and 21 and the control group was sacrificed on days 7, 14 and 21. 0.1 mL of platelet rich plasma (PRP) injection was made on the 1st, 3rd and 5th day of the wound edges of each rats in the PRP group, and no treatment was performed for the control group. On days 7, 14 and 21, 6 rats from the PRP and control groups were sacrificed with high-dose anesthetic and the hard palate was excised for histological examination. Histopathological evaluation; The severity of inflammation, neovascularization (vascular density), fibroblast proliferation, collagen density and epithelization, and each parameter was scored separately and statistically analyzed.

Results: There was no statistically significant difference in the severity of inflammation between days 7 and 14 between experimental PRP group and non-PRP control groups in experimentally-created mouth sores. However in the PRP group on day 21, the severity of inflammation was statistically significant decrease compared to the non-PRP control group. In terms of neovascularization, fibroblast proliferation, collagen density and epithelization, there was no significant difference between the experimental

and control groups on the 7th day, whereas in the PRP group on the 14th and 21st days there was a statistically significant increase compared to the control group.

Conclusion: According to the results of this study, the injuries treated with PRP showed macroscopically and microscopically faster recovery than the control groups but the longer term results of PRP application are needed.

Keywords: Wound Healing, Platelet Rich Plasma, Rat, Intraoral



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yara iyileşmesi moleküler sinyaller tarafından kontrol edilen mediatörlerin ve hücrel olayların birbirleriyle etkileşim içinde olduğu kompleks bir olaydır. Yara iyileşmesindeki moleküler sinyaller, primer olarak sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından verilmektedir. Bu süreçte EGF(Epidermal growth faktör), TGF-Beta (transsforming growth factor beta) , FGF (fibroblast growth faktör), IGF-1(insüline like growth faktör) gibi büyüme faktörleri hücrelerin büyümesini, farklılaşmasını ve yara iyileşme sürecini modüle eder.

Günümüzde yara iyileşmesinde çeşitli tedavi modaliteleri belirlenmiştir. Bunlardan popüler olan ve birçok araştırmaya konu olmuş bir diğer tedavi yöntemi ise Trombositten zengin plazma(PRP)'dir. Trombositlerin, özellikle içerdikleri büyüme faktörlerinin, hemostaz ve iyileşmede, neovaskülarizasyonu ve angiogenezi artırmakta temel rol oynadıkları gösterilmiştir. Biz de çalışmamızda PRP'nin içerdiği bu sitokinler sayesinde iyileşmeyi hızlandırıcı ve arttırıcı etkisinin, deneysel olarak ağız yarası oluşturulmuş ratlarda tedavideki etkinliğini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ORAL KAVİTE ANATOMİSİ

Oral kavite sindirim kanalının girişini oluşturur. Oval şekilde bir yapıya sahip olan oral kavite vestibül ve ağız boşluğu olmak üzere iki ana yapıdan oluşur. Anteriorda dudaklar, lateralde yanak mukozası, inferiorda ağız tabanı, superiorda sert damak ve posteriorda orofarenks ile sınırlanmıştır (1). Orofarenks ve oral kavite posterosuperiorda sert damak ile yumuşak damak bileşkesinden başlayarak, lateralde palatoglossal ark, inferiorda dilin circumvallate papillası ile birbirinden ayrılır (2). Oral kaviteyi oluşturan anatomik yapılar dudaklar, gingiva, retromolar trigon, dişler, sert damak, yanak mukozası, dilin ön 2/3 kısmı ve ağız tabanıdır.

2.1.1. Dudaklar

Dudaklar oral kavitenin anterior sınırını oluşturur. İç tarafta yer alan nemli soluk vermilyon alanı ile dış tarafta yer alan koyu renkli kuru vermilyon alanı kırmızı çizgi ile birbirinden ayrılır. Dudakları hareket ettiren orbikularis oris kası fasyal sinir (KS VII) tarafından innerve edilir. Trigeminal sinirin maksiller bölümünün infraorbital dalı (KS V₂) üst dudağın duysal innervasyonunu sağlarken, trigeminal sinirin mandibular bölümünün bukkal dalı (KS V₃) alt dudağın innervasyonunu sağlar. Fasyal arterin dalları olan superior labial arter ve inferior labial arterden beslenir. Alt ve üst dudağın venöz drenajını anterior fasyal ven sağlar.

2.1.2. Yanak mukozası

Yanak mukozası anteriorda dudak komissürleri, superiorda ve inferiorda vestibül ile sınırlanan muskomembranöz bir yapıdır. Parotis bezi kanalı (Stenon kanalı) buksinatör kasını delerek ilerler ve yanak mukozasını ikinci molar diş hizasında ağız boşluğuna açılır. Arteriyal kanlanması bukkal arter ve fasyal arterin dalları ile olmaktadır. Lenfatikleri submandibular ve submental bölge lenf bezlerine drene olur (1).

2.1.3. Gingiva

Gingiva lateral kenarları yanak mukozasına geçiş sağlayan bir sulkustan oluşmaktadır. Medial üst kenarı sert damak ile komşuluk yaparken medial alt kenarları

ağız tabanı ile komşuluk yapmaktadır. Gingivada minör tükürük bezleri bulunmaz. Gingivanın alt posterior sınırında mandibulanın ramusu bulunurken, gingivanın üst kısmında posterior sınırı pterigopalatin ark yapar (3).

2.1.4. Retromolar üçgen

Retromolar üçgen alt ve üst üçüncü molar dişlerin arkasında yer alan ve mandibula ramusunu örten üçgen şeklinde mukozal yapıdan oluşur. Bu üçgenin tabanı alt üçüncü molar diş tarafından tepesi ise üst molar dişin arkasında yer alan maksiller kabarıklık tarafından sınırlandırılır. Lateral sınırını yanak mukozası medial sınırını palatoglossal ark oluşturur (1).

2.1.5. Sert damak

Sert damak, ağız boşluğu ile burun boşluklarını birbirinden ayırarak ağız boşluğunun tavanını oluşturur. Major palatin sinir ve nazopalatin sinir duyusal innervasyonunu sağlar. Desendan palatin arterin bir dalı olan major palatin arter, major palatin forameninden geçerek sert damağın kanlanması sağlar. Venöz drenajı ise pterigoid pleksus ile internal juguler vene doğrudur. Sert damak mukozasında çok sayıda minör tükürük bezi bulunmaktadır.

2.1.6. Ağız tabanı

Ağız tabanı, ağız boşluğunun inferior sınırını oluşturur. Lateralde gingiva, ventralde dil ile sınırlanmıştır. Mylohyoid ve genioglossus kasları ağız tabanını destekleyen yapılardır. Lingual frenulum ağız tabanını, lateralde iki adet anteriorda bir adet olmak üzere üç bölgeye ayırır. Lateralde kalan alanlar dilin lateral kenarı ve mandibular gingiva ile sınırlanmış olup içerisinde sublingual papillalar bulunur (3). Sublingual bezlerin kanalı submandibular bezin kanalı (Wharton) ile birleşerek sublingual papillanın lingual frenulum komşuluğunda ağız boşluğu içerisinde açılır(1). Ayrıca sublingual bezlerin çok sayıda küçük kanalları da ağız tabanına açılır. Lingual sinir ağız tabanının duyusal innervasyonunu sağlar.

2.1.7. Dil

Dil; sulkus terminalis ile oral dil (anterior 2/3) ve dil kökü (posterior 1/3) olmak üzere iki bölüme ayrılır. Dört ekstrensek ve dört intrensek kas ile hareketi sağlanmaktadır. Dilin dışında başlayıp dile uzanan ekstrensek kaslar; genioglossus,

hyoglossus, styloglossus, palatoglossus, dilin içinden başlayıp dilin içinde sonlanan intrinsik kaslar; superior-inferior longitudinal, transvers, vertikal kaslardır. Lingual kaslar tamamı hypoglossal sinir (KS XII) tarafından innerve edilir. Dilin ön 2/3 kısmının genel duyu innervasyonunu lingual sinir (KS V₃) sağlarken, tat duyusu ise fasyal sinirin duyu dalı olan korda timpani tarafından sağlanır. Dilin arka 1/3 lük kısmının hem duyu hem tat duyusu glossofaringeal (KS IX) sinir tarafından sağlanır. Dilin kanlanmasını eksternal karotis arterin lingual dalı sağlar. Dilin uç kısmının lenfatik drenajı submental bölgeye olurken, lateral kısımları submental ve submandibular bölgeye olurken, medial kısımları submandibular ve üst juguler bölgeyi atlayarak alt derin juguler bölgeye drene olabilir. Dil kökünün lenfatik drenajı genellikle bilateral ve üst juguler lenf nodlarına drene olur (4,5).

2.1.8. Tükürük bezleri

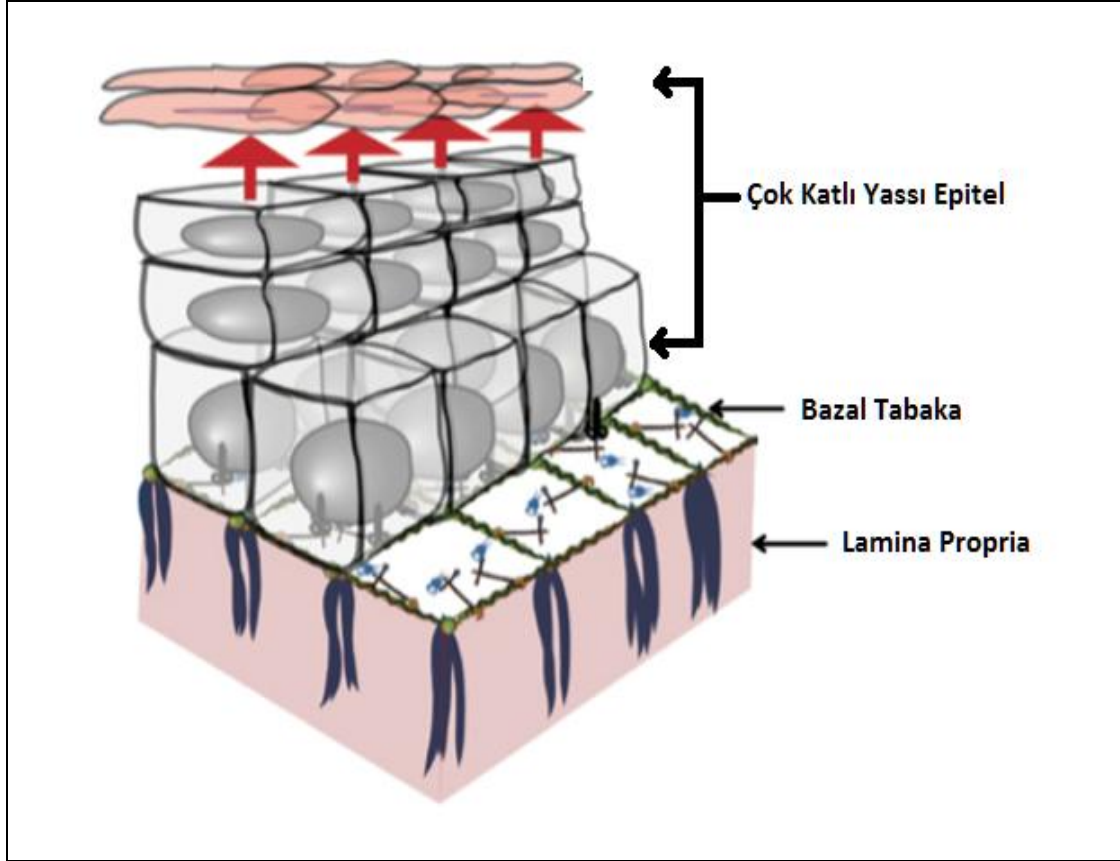
Submandibular, sublingual ve parotis olmak üzere 3 çift major tükürük bezi bulunmaktadır. Sublingual bez en küçüğü olmakla birlikte mylohyoid kasın üzerinde ve mukozanın hemen altında bulunur. Sekresyonları müsinöz ve diğer bezlere göre salgısı daha katıdır. Submandibular bez submandibular bölgede bulunur ve serömüsinöz karakterde salgı yapar. Parotis bezi preauriküler bölgede yerleşir ve en büyük tükürük bezidir. Fasyal sinir parotis bezini yüzeysel ve derin olmak üzere iki parçaya ayırır. Parotis bezi seröz karakterde salgı yapar.

Gingiva ve sert damağın ön kısmı hariç olmak üzere, oral mukoza içerisinde submukozal olarak yerleşmiş çok sayıda minör tükürük bezi bulunmaktadır. Özellikle yumuşak damak ve sert damağın posterolaterinde yerleşim göstermektedir. Minör tükürük bezleri müsinöz karakterde salgı yapar ve tüm tükürük salgısının çok küçük bir kısmını oluşturur

2.2. ORAL KAVİTE HİSTOLOJİSİ

Tüm oral kavite mukozası çok katlı keratinize olmayan skuamöz epitel ile örtülüdür. Oral kavite bölgelerinin fonksiyonuna göre mukozanın kalınlığı değişkenlik gösterir. Oral kavite mukozası; çiğneme (mastikator) mukozası, örtücü (lining) mukoza ve özelleşmiş mukoza olmak üzere üç farklı bölgeye ayrılır. Dişeti ve sert damak çiğneme mukozasıyla; dudak, yanak, vestibül, alveolar mukoza, ağız tabanı ve yumuşak damak örtücü mukozayla; dil sırtı ise özelleşmiş mukozayla örtülüdür. Mastikator

mukoza keratinize veya parakeratinize çok katlı yassı epitelden oluşmaktadır. Örtücü mukoza çok katlı non-keratinize yassı epitelden meydana gelir. Dudaklar, yanak mukozası, vestibül, ağız tabanı ve alveoler çıkıntıları örter. Özelleşmiş mukoza ile örtülü olan dilin yüzeyi lamina propria çıkıntılarının oluşturduğu sirkumvallat, fungiform, foliate, filiform papillardan oluşmaktadır. Bu papillalar dilin tat duyusunu taşırlar.



Şekil 1: Oral mukoza tabakaları

2.3. YARA İYİLEŞMESİ

2.3.1. Yaranın Tarifi ve Yaralanma Tipleri

Yara; çevreyle sürekli ve karşılıklı etkileşim içerisinde olan organizmaya ait dokuların fiziksel, kimyasal, cerrahi ya da mikroskobik nedenlerle, anatomik ve fonksiyonel olarak bütünlüğünün bozulmasıdır.

Yaralanma tiplerinin çeşitliliği nedeniyle sınıflandırma yapabilmek çok kolay değildir.

Yaralar için aşağıdaki gibi bir sınıflandırma yapmak uygun olabilir (6).

2.3.1.1.Yarayı oluşturan etkenlere göre yara tipleri

2.3.1.1.1. Travmatik yaralar

Travmatik yaraları oluşturan etkenler çok farklıdır. Kesi yaraları, laserasyon yaraları, abrasyon yaraları, avulsiyon yaraları, ateşli silah yaralanmaları, kırık fragmanlarının ekspozisyonu ile ortaya çıkan yaralar bu gruba dahil edilebilir (6).

2.3.1.1.2. Vasküler nedenli yaralar

Arterioskleroz, vaskülitler, embolizm ve damar anomalileri sonucu oluşan arteriel yetmezlik ve venöz yetmezlik gibi sebeplerle dolaşımın olumsuz etkilenmesiyle oluşan yaralardır (6).

2.3.1.1.3. Nörojenik yaralar

Bu gruptaki yaralar trofik bozukluklar sonrası, duyu bozuklukları ve nöropatik bozukluklar sonrası gelişen yaralardır (6).

2.3.1.1.4. Basınç yaraları

Basıncın neden olduğu doku bütünlüğündeki bozulmalardır. Püskürtülmüş olan madde niteliğine göre sınıflandırılırlar. Hava veya kimyasal maddeler bu tip yaralanmalara neden olabilir (6). Basıncın yoğunluğu, süresi, dokuların toleransı oluşacak yara genişliğini etkiler.

2.3.1.1.5. Termal yaralar

Yanıklar; vücudun emebileceği enerjiden daha fazla enerjiyi almasıyla küçük kızarıklıklardan, doku yıkımına varan çeşitli yaraların oluşmasıdır. Isı, kimyasal etkenler, elektrik, radyasyon ve soğuk gibi faktörler yanıklara neden olur (6). Derin ve yüzeysel dokuları etkileme miktarına göre sınıflandırılır.

Dondurucu soğuk yaralanmaları donuk olarak adlandırılır. Yüzeysel ve derin olmak üzere iki tipi vardır. Yüzeysel donukta; deri soğuk, soluk, gri, kansız fakat yüzeyin altı esnek ve yumuşaktır. Derin donukta ise yüzey tahta ya da taş gibidir. Donuğun oluşmasında mobilité, rüzgar hızı, nem, soğuğa direnç ve mental durum gibi faktörler etkili olmaktadır (7).

2.3.1.1.6. Hayvan ısırıkları ile oluşan yaralar

Evcil ya da yabani hayvanların saldırısı sonucu meydana gelen yaralardır. Bütün ısırıklar enfekte kabul edilerek antibiyotik verilir. Kuduz ve tetanoz profilaksisine gerek duyulabilir (6).

2.3.1.1.7. Hastalıklar sırasında ortaya çıkan yaralar

Malign tümörler, metabolik hastalıklar, enfeksiyon hastalıkları ve hematolojik hastalıklar nedeniyle oluşan yaralar bu grupta yer alır.

2.3.1.2. Yaranın derinliğine göre yara tipleri

2.3.1.2.1. Yüzeysel yaralar

Deri veya mukozada görülen, genellikle epidermis kaybıyla karakterize yaralardır. Sıklıkla sürtünme sonucu meydana gelirler (6).

2.3.1.2.2. Derin yaralar

Yüzeysel yaralara göre doku kaybı daha ciddidir. Yara kenarları birbirinden uzaklaşmış olabilir. İyileşme süreci daha uzun sürer ve fazla miktarda granülasyon dokusuna ihtiyaç duyulur. Yaranın takibi sırasında olası enfeksiyon durumunda gecikmeksizin yaranın açılarak debritlemesi gerekir (6).

2.3.1.3. Yaranın oluşma zamanına göre yara tipleri

2.3.1.3.1. Akut yaralar

Geçici bir etkenin neden olduğu ve kabul edilebilir bir sürede iyileşen yaralardır. Onarım süreci düzenli ve zamanında gelişir. Anatomik ve fonksiyonel bütünlük kronik yaralara göre daha iyi kazanılır. Travma veya cerrahi sonrası oluşan bu yaralar sınırlı lokal tedavi gerektirirler (6).

2.3.1.3.2. Kronik yaralar

Onarım düzenli ve zamanında olmadığı için, yeterli anatomik ve fonksiyonel düzelmenin olmadığı yaralardır. Kronik yaralar geç veya güç iyileşen ya da hiç iyileşmeyen yaralar olarak bilinir. Genellikle inflamatuvar evrede uzama olur. Kronik yara kapsamında diyabetik ayak yaraları, bası yaraları, venöz ülserler, iskemik ülserler, çeşitli vaskülitlere bağlı yaralar bulunmaktadır. Kronik yaraların ortaya çıkışına obezite,

sigara kullanımı, radyoterapi, kemoterapi, ilerlemiş yaş, malignite, immün sistemi baskılayan ilaç kullanımı, steroid ve anti koagülan kullanımı, yabancı cisim varlığı, yara bölgesinin hareketli olması, enfeksiyon varlığı gibi faktörler sebep olabilir (8). Bu faktörlerin etkisiyle, kronik yaraların büyük bir kısmında ya tam bir iyileşme olmaz ya da iyileşme süreci yıllarca devam eder.

2.3.2. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesinde; doku hasarına yanıt olarak gelişen hücresel ve biyokimyasal olaylar neticesinde, ölmüş veya hasar görmüş hücrelerin rejenerasyonu, replasmanı sağlanır. Yara iyileşmesi yapılan cerrahi işlemin başarısını direk olarak etkiler.

Ağız boşluğundaki yara iyileşmesi; ortamın sıcak ve nemli olması, bol miktarda bakteri bulunması nedeniyle biraz daha farklıdır (9). Bakteriler alınan yiyeceklerle birleşerek biyofilm oluşturabilir. Bu durum devam eden iyileşme sürecini olumsuz etkileyebileceği gibi süper enfeksiyon riskini de artırabilir. Ayrıca konuşma, çiğneme ve yutma gibi fizyolojik fonksiyonlar yumuşak dokularda gerilme ve baskı kuvvetleri oluşturur. Bu kuvvetler yara kenarlarının birbirinden uzaklaşmasına neden olup iyileşmeyi olumsuz etkileyebilir (10). Ağız boşluğundaki bu olumsuz şartların varlığı işlem yapan cerrahın işini biraz daha zorlaştırmaktadır.

Yara iyileşmesi oldukça karışık bir yapıya sahip olup; birbiriyle bağlantılı ve iç içe geçen dört evreden oluşur (11):

1. Koagülasyon ve hemostaz
2. İnflamatuvar evre
3. Proliferasyon evresi
4. Maturasyon evresi (remodeling)

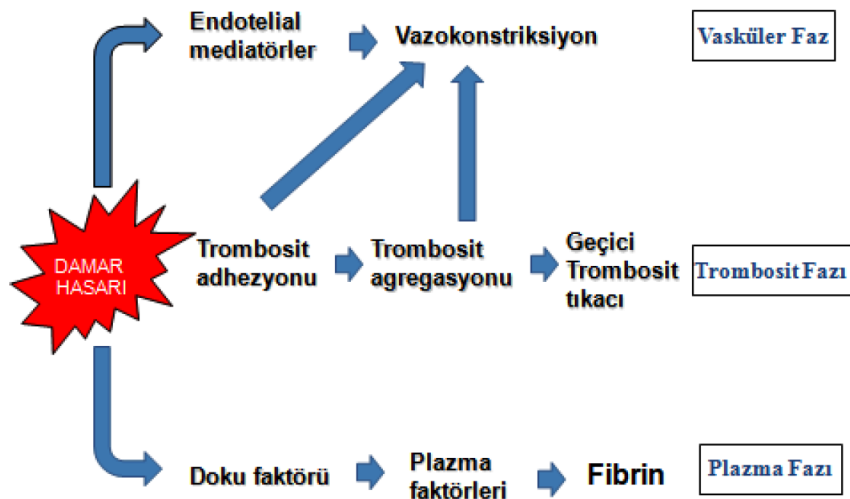
2.3.2.1.Koagülasyon ve Hemostaz

Doku yaralanmasının ardından kan damarlarının yapısının bozulması ile kanama meydana gelir. Yara iyileşmesinin ilk basamağını hemostaz oluşturmaktadır (12). Hemostaz; fibrin pıhtısı ve koagülasyon gelişimini içeren iki önemli olaydan meydana gelir.

Normal hemostaz mekanizmasında temel bir rolü olan trombositler, yaralanmanın ardından görev alan ilk hücrelerdir. Damar yapısında meydana gelen hasarla,

trombositler damar duvarındaki ekstraselüler matriks tarafından aktive edilir. Aktivasyonun ardından trombosit adhezyonu ve agregasyonu meydana gelir. Aynı anda serotonin, adenosin difosfat ve tromboksan A2 gibi kimyasal mediatörler ve fibrinojen, fibronektin, trombospondin, Von Willebrand faktörü gibi adheziv proteinler açığa çıkar. Bu mediatörlerle birlikte lokal olarak üretilen trombin; trombosit agregasyonu, ve sekresyonunu uyarır, trombosit tıkaçı meydana gelir. Trombosit agregasyonu sırasında fibrinojen, trombin tarafından fibrine dönüştürülür. Fibrin pıhtı oluşturarak kanamayı durdurmaya yardımcı olur.

Hemostatik olaylarla birlikte koagülasyon intrinsek ve ekstrinsek yollar aracılığıyla aktive edilir. Trombosit agregasyonu, Hageman faktörü olarak bilinen kandaki spesifik enzimi tetikler. İntrinsek koagülasyon kaskadı başlamış olur ve protrombin trombine dönüşür. Ardından fibrinojenin fibrine dönüşümü gerçekleşir. Hasar gören doku ekstrinsek koagülasyon yolunu aktive eden doku faktörü olarak bilinen bir lipoprotein açığa çıkarır. Bu doku faktörünü ifade eden aktive olmuş monositler ve endotelial hücreler koagülasyona katılır. Trombositler hemostazın kritik işlevlerini yerine getirirken; inflamasyon, reepitelizasyon, fibroplazi ve anjiyogenezis gibi yara iyileşmesinin diğer aşamalarına da katkı sağlar. Trombositler, kemotaktik faktörleri salgılayıp lökosit infiltrasyonuna neden olur ve yara iyileşmesini etkiler (13). Ayrıca; transforming growth factor-alfa (TGF-alfa), TGF-beta ve platelet-derived growth factor (PDGF) gibi yara iyileşmesinde önemli rol oynayan birçok büyüme faktörünü serbest bırakarak yeni doku oluşumunu teşvik eder.



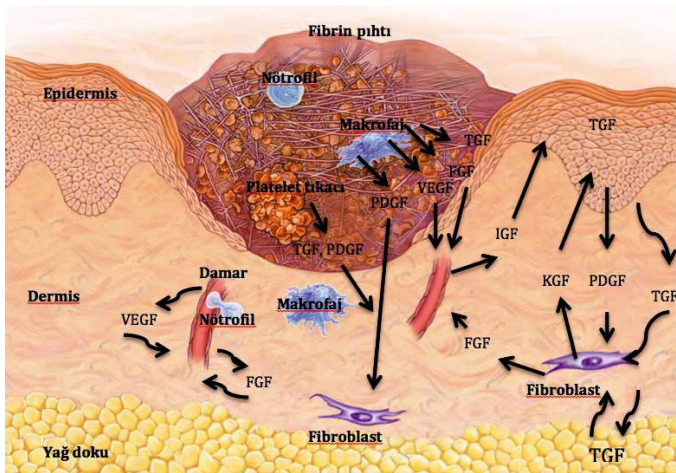
Şekil 2: Hemostaz mekanizmasının şematik olarak gösterimi

2.3.2.2. İnflamatuar Evre

İnflamasyon; yaralanmaya karşı vücudun vermiş olduğu, doku onarımı ve fonksiyonun tekrar kazanılmasına yol açan oldukça etkili bir yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra başlayıp 3-5 gün devam eder. Yaralanmanın erken döneminde, lokal vazodilatasyon, kan ve diğer sıvıların ekstrasvasküler boşluğa geçişi, lenfatik drenaj blokajı gibi çeşitli nedenlerle kızarıklık, şişlik ve sıcaklık gibi iltihabın başlıca belirtileri meydana gelir.

İnflamasyona hücrel yanıt, yaralanmış bölgeye lökositlerin akışı ile karakterizedir. İnflamasyonun erken döneminde, nötrofiller ve monositler yara bölgesindeki baskın hücrelerdir. Yaralanmadan kısa süre sonra, nötrofiller ve monositler yaralı dokuya doğru göçe başlar. Nötrofiller büyük sayılarda bölgeye ulaşan ilk hücrelerdir. İnflamasyonun geç döneminde ise nötrofillerin sayısı düşer; makrofajlar baskın hücreler olur.

Nötrofiller ve monositler hemostaz sırasında mast hücreleri tarafından salınan kemotaktik faktörlerin açığa çıkması ile yara bölgesine alınırlar. Koagülasyon boyunca kallikrein, fibrinojenden salınan fibrinopeptidler gibi kemotaktik faktörler oluşur. Tümör nekroz faktörü (TNF), histamin, proteazlar, lökotrienlerin (LT) ve sitokinler (interlökinler) gibi mast hücreleri tarafından salınan maddeler, lökositler için kemotaktik sinyallerin ek kaynağını oluşturur (14). PDGF ve TGF-beta da lökositler için potansiyel kemotaktik faktörlerdir.



Şekil 3: Yara iyileşmesinin inflammatuar fazı (15, 16)

Nötrofillerin görevi yara bölgesindeki bakterilerin öldürülmesi ve fagositoz işlemlerinin gerçekleştirilmesidir (17). Nötrofil infiltrasyonu, normal olarak birkaç gün boyunca sürer, ancak yara kontaminasyonunda yaradaki nötrofillerin varlığı devam eder ve iyileşme gecikebilir.

Monositler doku boşluklarına göç eder ve büyük fagositik makrofajlar haline dönüşür. İnflamasyonun geç döneminde baskın hücre tipi haline gelir. Makrofajların inflamatuvar reaksiyonun en önemli düzenleyici hücresi olduğu düşünülmektedir. Makrofajların fagositoz, sindirim ve patojenik organizmaların öldürülmesi; doku artıklarının temizlenmesi ve kalan nötrofillerin yok edilmesi gibi önemli görevleri vardır. Bakteriyel, hücrel ve doku fagositozları, biyolojik olarak aktif oksijen ve enzimatik proteinlerin salınımıyla gerçekleştirilir. Monosit / makrofajlar tarafından gerçekleştirilen bu işlemler; anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumunun uyarılmasına izin verir (18). Makrofajlar yara bölgesine fibroblastları çeken fibronektin gibi kemotaktik faktörleri serbest bırakır. Yeni kan damarı oluşumu, hipoksik makrofajlar tarafından anjiyogenik faktörlerin üretimini izler. Makrofajlar; PDGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), TGFbeta ve TGF-alfa gibi büyüme faktörleri için üretim fabrikaları olarak da kabul edilebilir (19). Bu sitokinler, hücre göçü, proliferasyonu ve matris üretiminde önemlidir. Makrofajların inflamasyon ve onarım arasındaki geçişte önemli bir rol oynadıkları görülmektedir.

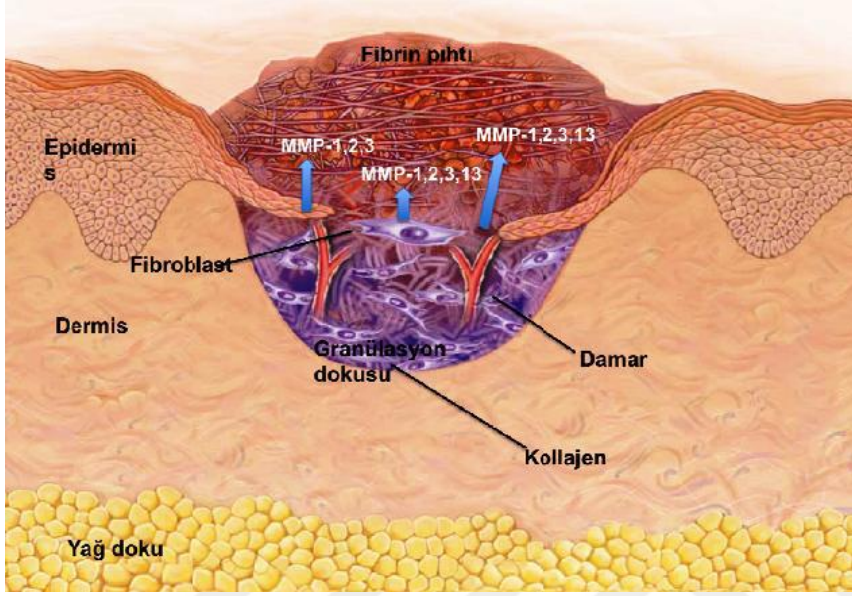
Tablo 1: Akut inflamasyonda görev alan önemli mediyatörler (20)

MEDİYATÖRLER	KEMOTAKSİS	VASKÜLER OLAYLAR			DİĞER ETKİLERİ	ANA KAYNAK
		BÜZÜLME	GENLEŞME	PERMEABİLİTE		
VAZOAKTİFAMİNLER Histamin Serotonin	+		+	+		Trombosit, mast hücreleri, bazofil Trombosit, mast hücreleri
PLAZMA PROTEAZLAR Bradikinin Kompleman	+		+	+	Ağrı	Plazma protein Plazma protein ve makrofaj
PIHTILAŞMA SİSTEMİ Hageman faktör Fibrinopeptidler Faktör XIIIa Heparin Trombosit aktive edici faktör Trombosit mediyatörleri	+			+	Koagülasyon Antikoagulan ve fibrinolitik Koagülasyon	Plazma protein Plazma protein Plazma protein Mast hücreleri Lökosit ve master hücreler Trombositler
ARAŞİDONİKASİT METABOLİTLERİ Prostaglandinler Lökotrienler	+	+	+	+	Ağrı ve ateş	Master hücreler ve membran fosfolipitleri Lökositler ve membran fosfolipitleri
SERBEST RADİKALLER O ₂ metabolitleri Nitrik oksit		+	+	+	Endotel ve doku hasarı Doku hasarı	Lökositler Makrofaj ve endotelyum
SİTOKİNLER İnterlökinler, TNF PDGF, TGF-beta	+					Makrofajlar Trombosit ve makrofajlar

2.3.2.3. Proliferasyon Evresi

Yaralanmaya karşı oluşan ilk inflamatuvar tepkiler, yeni bir fonksiyonel bariyerin oluşumu için gerekli iskelet yapıyı meydana getirir. İyileşmenin bu evresinde, hücreler aktivite baskındır. 3-5. günlerde başlar ve 15-21. günlere kadar devam eder. Yeni damarların oluşumu, kollagen fibrillerin sentezi, fibroblast, epitel ve endotel hücrelerinin çoğalması bu aşamada meydana gelen önemli olaylardır. İnflamatuvar evredeki hücrelerin sayısı azalırken fibroblast, epitel ve endotel hücreleri etkin hale gelir (6). Makrofajlar tarafından salgılanan büyüme faktörlerinin çoğu fibroblast hücrelerin çoğalmasını, anjiyojenez, ve ekstraselüler matris sentezini sağlar. TGF-alfa keratinosit göçü ve reepitelizasyon da önemli bir rol oynar. TGF-beta1, TGF-beta2 ve TGF-beta3 fibroblastlar ve endotel hücrelerinin migrasyonunu teşvik eder. Bu evredeki baskın hücreler fibroblastlar olup ana görevi kollajen sentezidir. Fibroblastlar yarada 48-72 saat sonra görülmeye başlar. 5. ve 7. günler kollajen sentezinin en yoğun olduğu günlerdir. Yeni kan damarlarının oluşumu bu evrede meydana gelmektedir. Anjiogenezi olarak isimlendirilen bu olay endotel hücrelerinin organizasyonu ile meydana gelir. Endotel hücrelerin göçü ve proliferasyonu ile bu göçü uyarıcı kemotaktik faktörler yeni damar oluşumunu sağlar. Vasküler endotelial büyüme faktörü anjiogenezi uyaran en önemli büyüme faktörüdür (21, 22). Yara iyileşmesi esnasında anjiyogenezin meydana

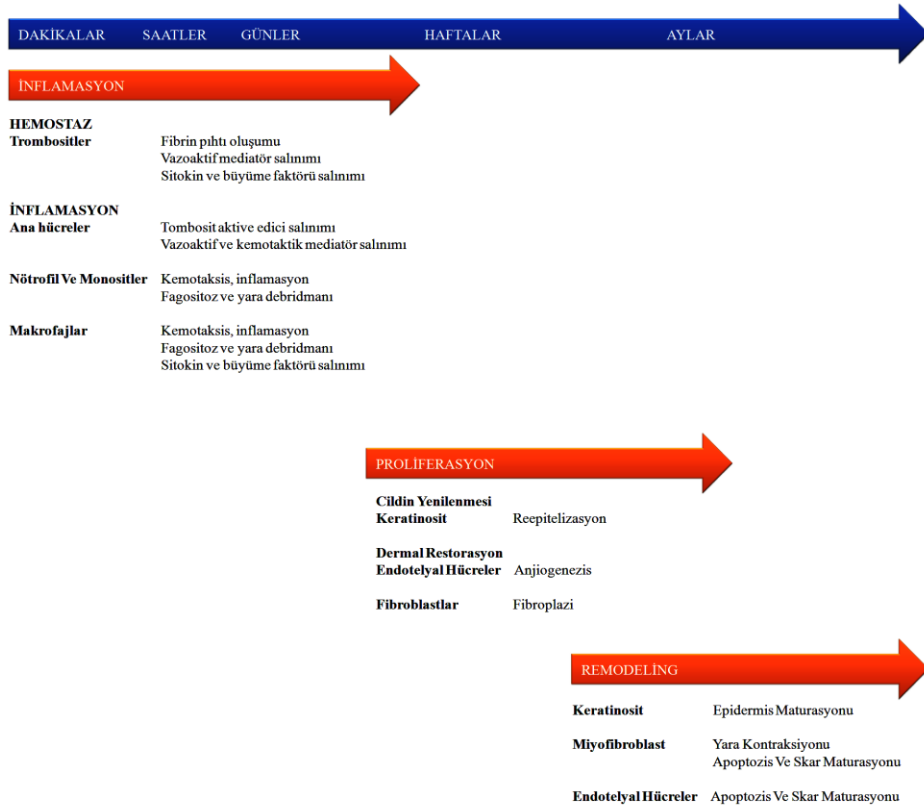
gelmesi için b-FGF, ilk 3 günde etkinlik gösterirken, VEGF 4 ve 7. günler arası görev alır (23). Yara bölgesinde damar dallarını, fibroblastları, makrofajları, lökositleri ve plazma hücrelerini içeren ince kırmızı nodüllerin birleşmesiyle granülasyon dokusu oluşur. Bu oluşumdan sonra yara kenarları kasılır ve hasarlı bölgenin boyutu küçültülür.



Şekil 4: Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı (15, 16)

Proliferasyon evresinin aşamalarından olan reepitelizasyonda keratinositlerin proliferasyonu ve göçü sonucunda granülasyon dokusunun üzeri örtülür. Yaralanmanın ardından yara kenarındaki komşu hücrelerle bağlantı kopar. Durağan haldeki epitelyum hücreleri ortamdaki büyüme faktörlerinin etkisiyle göç eden hücrelere dönüşür. Yara kenarı ve deri eklerindeki epidermal hücrelerin göçüyle epitel oluşumu başlar (6, 15). Epitel oluşumu yaranın tipine göre değişiklik gösterir.

Yara yüzeyinin örtülüp epidermal hücrelerin normal görünümüne kavuşmasıyla epidermis keratinize olmaya başlar. Keratinosit ve fibroblastlar, laminin ve tip IV kollajen salgılayarak bazal membranı oluşturur. Epidermis ile dermis arasında sağlam bir bazal membran oluşumu cilt bütünlüğünün ve fonksiyonunun yeniden kurulması için gereklidir.



Şekil 5: Yara iyileşmesinde görev alan hücreler ve etkileri (20)

2.3.2.4. Maturasyon Evresi (Remodeling)

Yara iyileşmesinin son evresidir ve tamamlanması aylarca sürebilir (24). Kollajen depozisyonu, organizasyonu ve iyi bir şekilde ağ yapısı oluşturmaları bu evrede görülür. Fibroblast ve makrofaj gibi hücreler etkinliklerini kaybederler ve apoptozis yoluyla ortadan kalkarlar. Yoğun hücreli ve vasküleritesi olan doku, daha az hücre ve damarlardan oluşan skar dokusuyla yer değiştirir. Bu evrede iyileşmenin erken döneminde salgılanan organize olmamış ve daha çok jel benzeri yapıda olan tip III kollajen yerini tip I kollajene bırakır. Tip I kollajen içeren kalıcı matriks oldukça sağlam ve dirençlidir. Skar dokusundaki kollajen fibriller, normal dokuyla karşılaştırıldığında daha küçük ve karışık bir düzene sahiptir (25). Granulasyon dokusundan skar oluşurken, kollajen sentezi ve yıkımı arasındaki denge kollajenin yeniden yapılanmasını etkiler. Kollajen yıkımı fibroblastlar, granülositler ve makrofajlarca salgılanan matriks metalloproteinazları (MMP) tarafından sağlanır. Yarada oluşan yeni kollajen lifler, önce kendi aralarında sonra yara çevresindeki eski kollajen liflerle bağlanır. Yara gerginliği,

sağlamlığı ve mekanik etkilere verdiği cevap kollajen miktarı ve niteliğiyle paralellik gösterir. Yara gerilim kuvveti hiçbir zaman normal derinin % 80'ini geçmez (26).

Hastanın yaşı, genetik yapısı, yaranın tipi, lokalizasyonu, inflamasyon süresi ve yoğunluğu gibi faktörler maturasyon evresinin süresini belirler.

Yara iyileşmesinde anlatılan dört safhanın ardından yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi sağlanır ve yara iyileşmesi tamamlanmış olur.

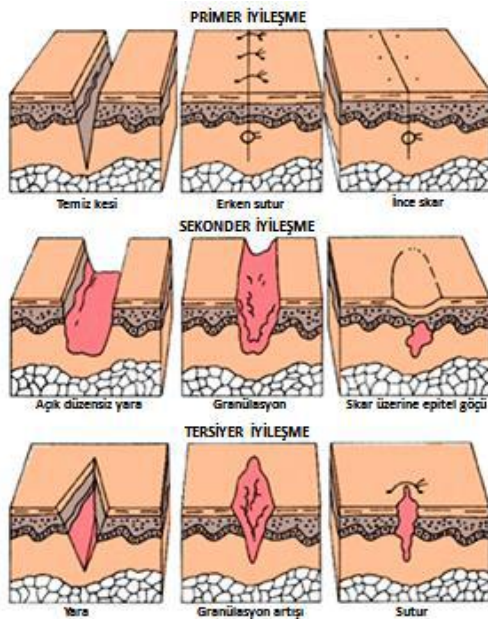
2.3.3.Yara İyileşmesi Tipleri

Yara iyileşmesi mekanizmasına göre 3'e ayrılır (Şekil 6).

2.3.3.1.Primer iyileşme

Belirgin bakteriyel kontaminasyon ve doku kaybının olmadığı durumlarda; yara kenarlarının suturasyon, stapler, strip tape gibi materyaller ile direk yaklaştırılması sonucu meydana gelen iyileşmedir.

Primer yara iyileşmesinde ilk 24 saatte hafif bir eksuda meydana gelir. Yara bölgesinde hafif bir ödem ve hiperemi görülebilir. 2-3 gün içinde çevredeki sağlam dokulardan ince kapillerler çoğalarak yara aralığını kapatırlar ve bu aralıkta bir granülasyon dokusu meydana getirirler.



Şekil 6: Yara iyileşme tipleri (27)

2.3.3.2.Sekonder iyileşme

Doku harabiyetinin fazla olduğu, açık ve enfeksiyona uğramış yaralarda sekonder iyileşme meydana gelir. Primer iyileşmeden farkı, inflamatuvar yanıtın daha şiddetli olması, iyileşme için büyük miktarda granülasyon dokusu gerekmesi ve yara kontraksiyonudur (24, 27).

2.3.3.3.Tersiyer iyileşme

Bakteriyel kontaminasyon gibi sebeplerle sekonder iyileşmeye bırakılan yaranın şartlar uygun hale geldiğinde sütüre edilerek kapatılmasıdır. Yaranın açık bırakılmasıyla inflamatuvar sürece, bakteri konsantrasyonunu en aza indirmek için zaman tanınmış olur. Tersiyer iyileşme sonunda primer kapamada ulaşılan gerilme kuvvetine yakın değerler elde edilir.

2.3.4.Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Başarılı bir yara iyileşmesi için; yeterli miktarda kanın ve besinin hasar gören bölgeye ulaşması gerekir. Hastanın sistemik durumu ve beslenmesi bu sonucu etkiler. Yara iyileşmesinin uzun sürdüğü durumlarda, enfeksiyon riski artar özellikle ağız içinde oluşan yaralarda, hastanın beslenmesine engel bir durum oluşur. Birçok faktör yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyebilir. Bu faktörler lokal ve sistemik olarak kategorize edilebilir.

Tablo 2: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler (28)

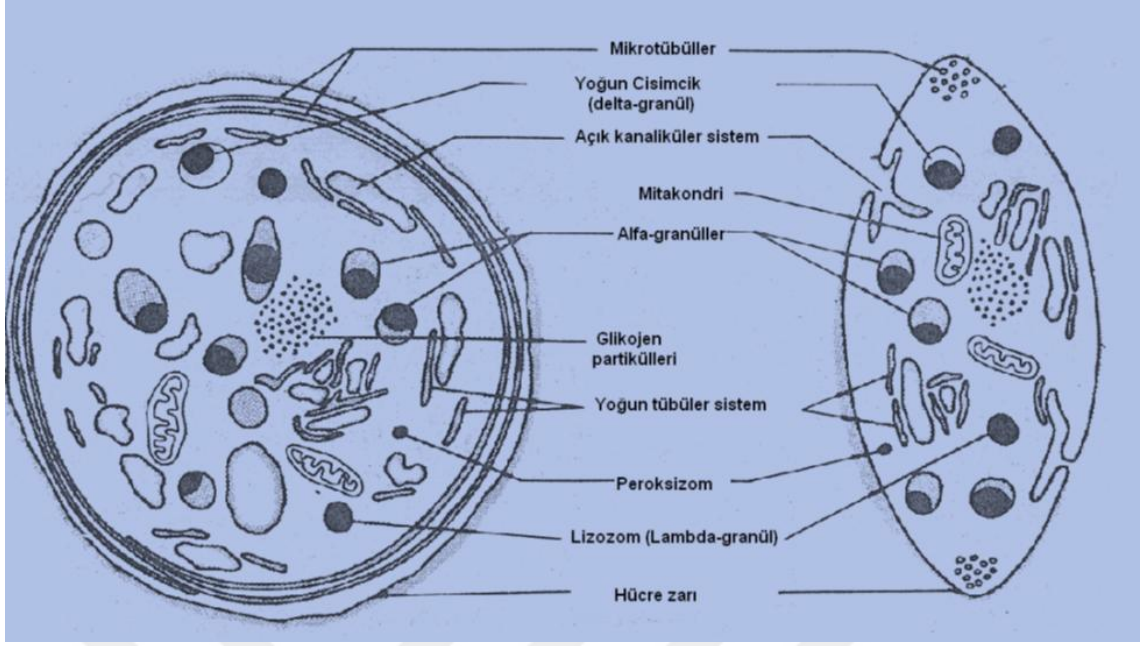
LOKAL FAKTÖRLER	SİSTEMİK FAKTÖRLER
☐ Uygun olmayan cerrahi teknikler ☐ Oksijen seviyesi ☐ Vasküler bozukluklar ve doku iskemisi ☐ Lokalize enfeksiyon ☐ Yabancı cisim ile kontaminasyon ☐ Mekanik stres, ölü boşluklar, suturler ☐ Yara hidrasyonu ☐ Sıcaklık ☐ Hematom, ödem ☐ Yaranın lokalizasyonu ☐ Kanseri, kronik radyasyon ☐ Sigara kullanımı	☐ Beslenme ☐ Dolaşım bozuklukları ☐ Kalıtsal hastalıklar ☐ Hormonlar ☐ Büyüme faktörleri ☐ Yaş, cinsiyet, menapoz, ırk ☐ Kronik hastalıklar ☐ İlaçlar

2.4.TROMBOSITTEN ZENGİN PLAZMA (PRP)

2.4.1. Trombositler

Trombositler, megakaryositlerin sitoplazmik parçalarıdır. Beyaz kan hücreleri olup kemik iliğinde oluşurlar. En küçük kan hücreleridir ve yuvarlak ya da oval şekilli olabilirler. Ortalama çapları 2 µm'dir. Fosfolipid iki tabaka arasında glikoprotein, glikolipit ve kolesterolden oluşan üçüncü bir tabakayı içeren, trilaminar bir hücre zarları vardır. Hücre zarının en dış yüzeyinde glikoprotein, glikolipit ve mukopolisakkaritlerden oluşan ve 'glikokaliks' adı verilen bir yapı mevcuttur. Bu yapı trombosit adezyon ve agregasyonunda rol alır. Sitoplazmalarında mitokondri, mikrotübül, granüller (alfa, delta, lambda) gibi organeller içermelerine karşın, hücre çekirdekleri yoktur. Sitoplazmalarında bulunan glikojen partikülleri, trombosit metabolizması için önem taşır. Trombositlerin hücre zarı, sitoplazma içerisinde parmak şeklinde uzantılardan oluşan ve 'açık kanaliküler sistem' adı verilen bir kanal sistemine sahiptir. Bu sistem, sitoplazmada bulunan aktif moleküllerin dış ortama atılmalarını sağlayan fonksiyonel bir yapıdır. Diğer bir sistem olan 'yoğun tübüler sistem' ise, kapalı bir kanaliküler sistem olup, trombosit aktivasyonu için gereken kalsiyum iyonlarını depolar. Ayrıca tromboksan gibi prostoglandinlerin sentezinde rol alır (Şekil 7) (29, 30, 31).

Trombosit hücre iskeletinin %20-%30 kadarını, hücre zarına yakın yerleşim gösteren aktin mikrofilamanları oluşturur. Trombositler aktive olduklarında, hücre iskeleti yapısında değişiklikler meydana gelir; aktin mikrofilamanları hücre hareketi ve agregasyonu sağlayan, 'filapod' adı verilen yüzey çıkıntılarını oluştururlar. Hücre iskeletinde bulunan bir diğer protein yapı mikrotubullerdir ve aktivasyon sırasında oluşan trombosit şekil değişikliklerinden sorumludurlar (29,30, 31).



Şekil 7: Trombositin şematik yapısı

Trombositlerin sitoplazmalarında, çoğu alfa (α) granül olmak üzere, delta (δ) ve lambda (λ) granüller bulunur. Bu granüllerin içerikleri ve işlevleri birbirlerinden farklıdır. Her bir trombositte, ortalama 50–80 adet α -granül mevcuttur. Alfa granüller 300–500 nm çapında olup, çoğu hemostaz ve doku iyileşmesinde kritik önemi olan, otuzdan fazla biyoaktif protein ve büyüme faktörü içerirler. Delta (δ) granüller, 250–300 nm çapa sahip olup elektron mikroskopta ışığı yoğun olarak absorbe etmeleri nedeniyle dens görünürler ve bu nedenle ‘yoğun cisimler’ olarak da adlandırılırlar. Kalsiyum iyonları, pirofosfat, ATP, ADP gibi protein olmayan moleküllerin yanı sıra, normal plazma konsantrasyonunun 100 katı kadar fazla serotonin içerirler. Lambda (λ) granüller, lizozomlar olup, çapları 175–250 nm arasında değişen ve lizozomal enzimleri içeren veziküllerdir. Bu granüllerin bakterisidal etkilerinin yanı sıra, pıhtılaşma sürecinde oluşan fazla pıhtıyı da eritici rolleri vardır (31). Alfa granüllerinde, önceden sentezlenip depolanmış olan büyüme faktörleri, trombositlerin aktive olmaları sonucu degranülasyon ile ortama salınarak, hedef hücrelerdeki reseptörlerine bağlanıp hücre içine sinyal iletimi ile fonksiyonlarını gerçekleştirirler (29, 30, 32, 33).

Trombositlerin α -granüllerinde bulunan biyoaktif proteinler (29,30): PDGF, TGF, platelet faktör 4 (PF-4), IL-1, trombosit kökenli anjiogenetik faktör (PDAF), VEGF,

EGF, trombosit kökenli endotelial büyüme faktörü (PDEGF), epitelial hücre büyüme faktörü (ECGF), IGF'dir.

Trombositlerin alfa granüllerinde büyüme faktörü olmayan komponentler de vardır. Osteokalsin (Oc), osteonektin (On), vitronektin (Vn), trombospondin-1 (TSP-1), adenozin difosfat (ADP), trombosit aktive edici faktör (PAF), Von Willibrand faktör (VWF), serotonin gibi bu komponentlerin trombosit adezyonu, aktivasyonu ve fibroblast proliferasyonunda çeşitli rolleri vardır (31, 34).

Trombositler dalakta yüksek oranda bulunurlar. Kandaki ortalama değerleri ise, milimetreküpte 140.000 ila 400.000 arasında değişir. Dolaşımda yaklaşık 10 gün kadar kalırlar ve daha sonra retikuloendotelial sistem makrofajları tarafından dolaşımdan temizlenirler (29, 30).

Trombositlerin en önemli fonksiyonları, hemostaz ve yara iyileşmesi üzerinedir. Doku hasar alanında trombositler agrege olup aktive olarak, subendotelial ve kapiller bazal membranındaki kollajene bağlanırlar. ADP ve trombin ile agregasyon artar ve sonuçta trombosit tıkaç meydana gelir. Ekstrensik ve intrensik koagülasyon kaskadı ile kan pıhtısı oluşarak kanamanın durması sağlanır (29, 30).

Yara iyileşmesinde ise, trombosit aktivasyonu sonucu ortama salınan büyüme faktörleri, hücre göçünü, proliferasyonu, farklılaşmayı ve matriks sentezini artırır. Yara iyileşmesinin tüm fazlarında (inflamasyon, proliferasyon, remodelling ve skar dokusu oluşumu) trombositlerin etkileri vardır (29, 30, 33).

Trombositten Zengin Plazma (PRP), bazal değerlerden daha yüksek seviyelerde trombosit içeren otolog plazma kısmıdır (29, 30, 32, 33). Bu küçük miktarlardaki plazmanın içerisinde trombositler, kandaki diğer hücresel elemanlardan ayrılarak konsantre şekilde bulunurlar. PRP, bazal plazma değerlerinden 3 ila 5 kat daha fazla trombosit içermektedir. Normal kan trombosit sayısı milimetreküpte 150.000–400.000'dir. Hazırlanma tekniği ve kullanılan cihazlara göre değişkenlik göstermekle birlikte, PRP için standart istenilen trombosit değeri milimetreküpte 1.000.000'dur (29, 30, 30). PRP içerdiği bu yüksek miktardaki trombosit içeriğine bağlı olarak, pıhtılaşma faktörlerinin tümünü ve büyüme faktörlerini konsantre bir şekilde içerir (30).

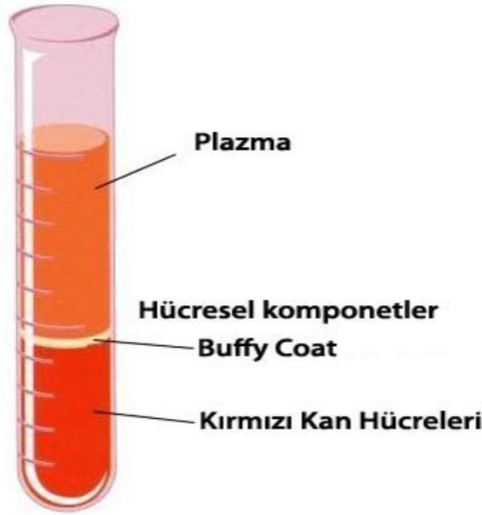
Büyüme faktörü olarak başlıca PDGF, TGF- β , VEGF, EGF ve IGF içermektedir (35, 36, 37). PRP'nın etkisi, içerdiği bu büyüme faktörlerinin sinerjistik bir etkisi şeklinde ortaya çıkmaktadır (34). PRP içerisinde mevcut büyüme faktörü dışındaki bazı maddelerin de, onarım işlevi gören hücreler üzerinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Örneğin, serotonin, fibroblastik hücre bölünmesinde etkiliyken; fibrin ve trombin onarım işlevi gören hücrelerin proliferasyonunu ve migrasyonunu arttırmaktadır (34).

Hayvan çalışmalarında, özellikle küçük hayvanlarda, PRP hazırlamak için gereken kanı aynı hayvandan almak mümkün olamamaktadır; dolayısıyla böyle deneylerde kullanılan PRP, otolog değil homolog hazırlanmaktadır. Bu nedenle oluşabilecek immün reaksiyonlara bağlı olarak, deneylerde yanlış-negatif sonuçlar oluşabilir. Gerçek PRP mutlaka otolog hazırlanmalıdır (33).

Trombositten Zengin Plazma uygun şekilde hazırlanıp antikoagülanlarla muamele edildikten sonra, içerisindeki trombositler 8 saat canlılıklarını koruyabilirler. PRP içerisindeki trombositlerin etkin olabilmeleri için, kullanım esnasında ya da kullanımdan hemen önce aktive edilmeleri gerekir. Bu amaçla en sık kullanılanlar sıgır trombin ve kalsiyumdur (29, 30, 33).

2.4.2. PRP Hazırlanışı:

Antikoagüle edilmiş kan santrifüj edildiğinde 3 tabaka ortaya çıkmaktadır. En altta kırmızı kan hücrelerinden zengin tabaka (dansite 1.09), ortada trombositler ve beyaz kürelerden oluşan tabaka (PRP) (dansite 1.06) ve en üstte plazma (trombositten fakir plazma- TFP) (dansite 1.03) şeklinde katmanlar ayırt edilir (Şekil 8) (29, 30). Santrifüj sırasında trombosit parçalanması önlenmeli ve trombosit zarının bütünlüğü korunmalıdır. Aksi takdirde trombositler aktive olarak büyüme faktörlerini salgırlar ve biyolojik olarak inaktif bir PRP elde edilmiş olur. Standart laboratuvar santrifüj makineleri ile PRP hazırlamak mümkün olmasına karşın, bu teknikte birkaç santrifüj işlemi ve çoklu transfer gerekir ki, bu işlemde trombosit fragmentasyonunu engellemek, steriliteyi sağlamak ve elde edilen plazmadaki trombosit miktarını belirlemek güçtür. PRP hazırlamak için geliştirilmiş ve kullanılmakta olan çeşitli standart hücre ayırıcı aletler mevcuttur (29, 30, 33, 38, 39).



Şekil 8: Santrifüj işlemi sonrası kanın tabakalara ayrılmış görünümü

2.4.3. PRP Çalışma Prensibi

Trombosit α -granüllerindeki önceden sentezlenip depolanmış büyüme faktörleri, trombositlerin aktive olması sonucu degranülasyon ile ortama salınır. Bu salınım işlemi pıhtılaşma sırasında ilk 10 dakika içinde başlar ve ilk 1 saat içinde sentezlenmiş bu büyüme faktörlerinin %95'ten fazlası salınır. Bu ilk deşarj sonrasında, trombositler hayat döngüleri olan 7 gün boyunca ek büyüme faktörü sentezine ve salınımına devam ederler (32, 33).

Büyüme faktörleri, hedef hücrelerdeki (mezenkimal hücreler, fibroblastlar, endotel hücreleri, epidermal hücreler vs.) reseptörlerine bağlanarak hücre içi sinyal iletimi ile fonksiyonlarını gerçekleştirirler. PRP içindeki büyüme faktörleri hücre içine ya da çekirdeğe girmezler. Normal metabolik olayların akışını değiştirmeyip, sadece hızlandırır. PRP direkt hücre farklılaşması yaratmaz, ancak kök hücreler ve öncü hücrelerde hücre farklılaşmasını sağlayan morfogenez faktörlere cevabı artırır (33, 34).

Otojen olarak hazırlandığı için, hastalık geçirme ve reaksiyon oluşturma riski yoktur. Aktive edilmesi için kullanılan sığır trombinine karşı alerji riski olmasına karşın, çok küçük dozlarda kullanıldığı için (yaklaşık 200 ünite), sistemik dolaşıma geçmeden uygulama yerinde tüketilip makrofajlarca artıkları temizlenir. Ayrıca pH'sı (6.5–6.7) normal pıhtınınkinden (7.0–7.2) daha düşük olduğu için bakteriyel kontaminasyona da dirençlidir (33, 34).

2.4.4. PRP Kullanım Alanları

PRP, ilk kez Whitman ve ark.(40) tarafından, osteointegre titanyum implantlar ile yapılan maksillofasiyal rekonstrüksiyon ameliyatlarında kullanılmıştır. Takip eden çalışmalarda özellikle kemik ve yara iyileşmesi üzerindeki etkileri üzerinde durulmuştur.

- **Periodontal, oral cerrahi ve kemik iyileşmesi:** PRP'nın olumlu etkileri ilk olarak kemik rejenerasyonu üzerindeki saptanmış olup, maksillofasiyal ve çene cerrahisi alanlarında klinik kullanıma girmiştir. PRP, in vitro ortamda fetal osteoblast benzeri hücrelerin rejenerasyonunu ve fonksiyonel aktivitelerini arttırmanın yanı sıra, mezenkimal kök hücrelerin bölgeye migrasyonunu da sağlamaktadır. Maksillofasiyal bölgede geniş tümör rezeksiyonlarında, mandibula rekonstrüksiyonlarında, alveolar yarık cerrahi onarımında ve yarık dudak-damak ilişkili oro-nazal fistüllerin onarımında, osseointegre implantların yerleştirilmesinde ve maksiller sinus kaldırma ameliyatlarında başarıyla kullanılmaktadır (40, 41, 42). Ayrıca in vitro çalışmalarda, PRP içerisinde bulunan PDGF ile insan trabeküler kemik hücrelerinde ve osteoblast benzeri hücrelerde proliferasyonun stimüle olduğu gösterilmiştir (43). Robiony ve ark.'nın (44) atrofik mandibulada yaptıkları çalışmada, mandibulanın osteogenez distraksiyonunda kemik greft ile birlikte uygulanan PRP'nın, kemik biçimlenme hızını arttırdığı saptanmış olup, bunu PRP içerisindeki aktive olmuş trombositlerden salınan PDGF ve TGF- β gibi büyüme faktörleri aracılığı ile sağladığı bildirilmiştir. Ek olarak, antikoagülan tedavi almakta olan hastalarda diş çekimi sonrası kanama kontrolü sağlamak amacıyla kullanılmış, hemostazı başarılı bir şekilde sağladığı görülmüştür (45).

- **Plastik ve kozmetik cerrahi:** PRP'nın özellikle adeziv ve hemostatik etkileri göz önüne alınarak, yüz germe operasyonlarında, üst ve alt göz kapağı blefaroplastilerinde, cilt greftlerinde, kemik greft donör alanlarında, kemik rekonstrüksiyonunda ve insizyonların dikişsiz kapatılmasında kullanımı mevcuttur. Lazer ile yüz gençleştirme sonrası biyolojik pansuman olarak kullanıldığında, daha hızlı iyileşme ve eritemde daha hızlı azalma gözlenmiştir. Yağ greftlerine PRP eklendiğinde, emilmeden daha uzun süre kontur revizyonu sağladığı saptanmıştır (46, 47). Jackson'ın (48) yaptığı bir çalışmada, abdominoplasti sonrası flep altlarına PRP enjekte edilmiş ve bu uygulama ile seroma oluşumunda belirgin azalmanın yanı sıra, daha kaliteli ve hızlı yara iyileşmesi elde edilmiştir. Man ve ark. (49) estetik amaçlı cerrahilerde PRP ve

fibrin yapıştırıcısının kombine kullanımı ile operasyon süresinde kısalma, diren gereksiniminin ortadan kalkması, kapalı pansuman ihtiyacının azalması, ameliyat sonrası dönemde ağrı ve ödem şikayetlerinde azalma gibi avantajlar sağladığını bildirmişlerdir.

- **Spinal cerrahi:** Spinal füzyon ameliyatlarında titanyum implantlar etrafına uygulanan PRP ile kemik rejenerasyonunda artış olduğu görülmüştür (50). Lowery ve ark. (51) büyüme faktörlerinden zengin PRP kullanımı ile lomber omurilik bölgesinde kemik füzyonunda erken maturasyon elde etmişlerdir.

- **By-pass cerrahisi:** Del Rossi ve ark. (52), kardiyo-pulmoner by-pass cerrahisi sonrası otolog PRP infüzyonu ile postoperatif dönemde daha kolay kanama kontrolü ve hematolojik parametrelerde düzelme sağlanabileceğini bildirmişlerdir.

- **Yara iyileşmesi:** PRP ile muamele edilen yaralarda epiteliyal diferansiasyon, dermal matrikste organizasyon daha düzgün olmakta ve vasküler büyüme, fibroblast proliferasyonu, kollajen üretimi artarak epitelizasyon daha hızlı gerçekleşmektedir (53,54,55,56). Kimura ve ark. (57), deneysel kutanöz insizyonel yara modelinde PRP kullanımın ile epitelizasyonda hızlanma ile beraber, yara gerilim gücünde de artış olduğu görülmüştür. Kronik yaralarda, özellikle diyabetik yaralarda, yara iyileşmesindeki etkinliği kanıtlanmıştır. Croveti ve ark.'nın (58) kronik yaraları olan 24 hasta ile yaptıkları çalışmalarında, PRP kullanımı ile yara iyileşmesinin tüm fazlarında hızlanma saptamışlardır.

- **Ligaman ve tendon iyileşmesi:** PRP içerisinde bulunan büyüme faktörlerinden PDGF ile yapılan tendon ve ligaman iyileşmesi üzerine çeşitli deneysel çalışmalar mevcuttur ve bu büyüme faktörünün ligaman ve tendon onarımını desteklediği gözlenmiştir. Bu gözlemden yola çıkarak Aspenberg ve ark.'nın (59) sıçanların aşıl tendonlarında yaptıkları çalışmada, aşıl tendon rüptürünün onarımında PRP ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

- **Sinir iyileşmesi:** Sinir iyileşmesi üzerine PRP kullanılarak yapılmış fazla çalışma mevcut değildir. Özellikle PDGF'ün nörotrofik aktivitesi gösterildikten sonra, PRP'nın sinir iyileşmesinde de etkili olabileceği üzerinde durulmaya başlanmıştır. Farrag ve ark.'nın (60) sıçan fasiyal sinir rejenerasyonu modelinde, kesi ve onarım hattına PRP uygulanmış ve takip sonucu PRP uygulanan grupta fonksiyonel sonuçların

daha iyi olduğu gözlenmiştir. Sarıgüney'in tez çalışmasında ise (61), sıçan siyatik sinirin kesilip epinöral onarım yapılan alanına, PRP tek doz şeklinde uygulanmış ve sinir rejenerasyonunun olumlu yönde etkilendiğı saptanmıştır.

2.4.5. PRP İçersinde Bulunan Büyüme Faktörleri

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

Disülfid bağı ile birbirine bağı, 30–32 kDa ağırlığında, A ve B zinciri olarak adlandırılan iki polipeptitten oluşur. A ve B zincirlerinin olgun formları yaklaşık 100 aminoasit içerir ve bu aminoasitlerin 50 kadarı birbiri ile aynıdır. İlk olarak fibroblast ve düz kas hücreleri üzerindeki proliferatif etkisinden dolayı 'trombosit kaynaklı mitojen' olarak tanımlanmıştır. Asıl kaynak trombositler olmasına karşın, makrofajlar, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblastlar ve epidermal keratinositler gibi pek çok farklı hücre tarafından da sentezlenebilir. Özellikle doku hasarı sonrasında aktive olup degranüle olan trombositlerden ortama salınır. A ve B polipeptit zincirlerinin oluşturdukları homo ve heterodimerlere göre, PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB olmak üzere 3 farklı izoformu vardır. İki adet tanımlanmış tirozin kinaz reseptörü vardır; alfa (α) ve beta (β). Reseptörlerden α -reseptör A ve B zincirlerini bağlarken, β -reseptör sadece B zincirini yüksek affinite ile bağlar. Klasik hedef hücreleri, her iki reseptörü de içeren fibroblastlar ve düz kas hücreleri olmasına karşın, glial öncü hücreleri, trombositleri ve endotel hücrelerini de etkiler. İn vivo olarak embriyonik gelişimde, santral sinir sistemi gelişiminde, vasküler sistem gelişiminde, doku homeostazında ve yara iyileşmesinde çeşitli görevleri vardır (62,63). PDGF, fibroblast ve düz kas hücrelerine güçlü mitojenik etkisinin yanı sıra, nötrofil ve makrofajların kemotaksisini artırır. Fibronektin, proteoglikan, hyaluronik asit gibi ekstra-sellüler matriks proteinlerinin üretimini de uyarır (64,65,66).

PDGF, yara iyileşmesine cevapta en erken ortaya çıkan faktördür. Pek çok deneysel çalışmada PDGF ile granülasyon dokusunun, epitelizasyonun ve neovaskularizasyonun arttığı, yara iyileşme sürecinin değişmeksizin, iyileşme hızının arttığı ortaya konmuştur (67,68). Kronik yaralarda, nöropatik ve diyabetik ülserlerde etkinliğı gösterilmiş ve bu alanda FDA onayı almış tek büyüme faktörü preparatıdır (67).

Bağ doku hücrelerinde büyümei düzenleyici, kemotaktik ve proliferatif etkileri olan PDGF, ayrıca nöral krest kökenli hücrelerin gelişiminde de büyümei düzenleyen bir faktör olarak önem taşır. Santral sinir sistemi nöronları PDGF sentezlerler ve hasar sonrası bu nöronlarda PDGF reseptör sayısı artar. PDGF'ün hem in vivo hem de in vitro olarak nöronal düzenlenmede etkili nörotrofik bir faktör olduğu gözlenmiştir (69,70).

Santral sinir sisteminde PDGF etkinliği üzerine yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur (70,71,72,73,74). Ohno ve ark. (71), yeni doğan sıçanlarda beyin iskemisinden sonra PDGF-B miktarının arttığını ve bu artışın nöroprotektif etkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Allomargot ve ark. (72), sıçan beynine tek doz PDGF mikroyenjeksiyonu ile oligodendrositlerin stimülasyonuna bağlı olarak in vivo remiyelinizasyonda artış olduğunu saptamışlardır. Periferik sinir sisteminde de PDGF etkilerini incelemek için yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur. Özellikle sinir hasarı sonrası Schwann hücrelerinde, hem PDGF reseptörleri, hem de PDGF miktarı artmaktadır ve Schwann hücrelerinin yaşayabilirliğini desteklediği, aksonal rejenerasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir (75, 76,77). Oya ve ark. (69), sıçan siyatik sinirinde ezilme tarzı yaralanma ile oluşturdukları periferik sinir hasarında, PDGF-B zincir mRNA'sında hem proksimal hem de distal segmentte artış olduğunu ve bu artışın da Schwann hücre kaynaklı olduğunu saptamışlardır. Schwann hücresi sitoplazmasında artan PDGF miktarının, akson büyümesi ilerledikçe muhtemelen kullanıma bağlı azaldığını ve akson ile Schwann hücresi arasındaki ilişkinin rejenerasyonda çok önemli olduğunu ortaya koymuşlardır.

Transforming Büyüme Faktörü-Beta (TGF- β)

İlk olarak 1983 yılında plasenta kaynaklı elde edilmiş ve kültür ortamında fibroblast proliferasyonunu sağladığı görülmüştür. Asidik yapılı, 25 kDa ağırlığında bir büyüme faktörü olup, orijinal olarak normal hücreleri malign hücelere çevirdiği düşünüldüğü için bu isim konmuştur; ancak daha sonra malign dönüşüm etkisi olmadığı anlaşılmıştır. TGF- β vücutta trombosit, makrofaj, lenfosit, fibroblast, kemik hücreleri ve keratinositler gibi pek çok farklı hücreden sentezlenebilir ve hemen hemen tüm hücrelerin duyarlı oldukları bir faktördür; ancak her hücre tipinin bu faktöre yanıtı farklılık gösterir. Trombositlerin granüllerinde yüksek oranda bulunur ve doku hasarı anında degranülasyon ile ortama salınır. Makrofajlardan kendi salınımını regüle ederken, monositleri FGF, PDGF gibi diğer büyüme faktörlerinin salınımı için uyarır.

Yara iyileşmesinin geç fazı olan güçlenme ve remodeling fazında da etkileri vardır (63,64,65). İnflamatuar hücre kemotaksisini, ekstra-sellüler matriks sentezini, fibroblastlarda fibronektin ve kollajen üretimini stimüle eder. Özellikle yara iyileşmesinde esas görevi olan hücrelerin proliferasyonu, diferansiasyonu ve gen ekspresyonunu etkileyerek, bazı fibrotik hastalıkların da patogeneğinde rol alır. Ekstra-sellüler matrikse mitojenik, kemotaktik ve anabolik etkileri olup, inflammatuar ve immün cevabın hem hücresele hem de hümoral basamaklarında rol alır (63).

Yapılan hayvan çalışmalarında, atların ekstremitelerde distallerinde yerleşik kısmi ya da tam kalınlıklı yaralarda, sıçanlarda timpanik zar perforasyonlarında etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca kronik ülser, hipertrofik skar ve farelerde intestinal mukozal ülserlerin iyileşmesinde olumlu etkileri görülmüştür (63, 66, 68, 78). Sıçan dorsal cilt insizyon modeli ile yapılan başka bir çalışmada ise, PDGF ile sinerjistik etki göstererek yara iyileşmesini hızlandırdığı ve yara gerilim kuvvetini arttırdığı saptanmıştır (78). TGF- β hücre tipine, büyüme koşullarına ve ortamda bulunan diğer büyüme faktörlerine göre, çeşitli hücrelere stimülatör ya da inhibitör etkiler gösterebilir. Bu grup içinden TGF- β 1 ve TGF- β 2'nin, in vitro sıçan Schwann hücreleri için güçlü etkili mitojenik ajanlar olduğu ortaya konmuştur. TGF- β 1, adenilat siklazı uyaran forsokolin ile sinerjistik etki göstererek, Schwann hücrelerindeki mitojenik etkisini ortaya koyar (79).

Sinir hasarından sonra ortama gelen makrofajlar ve Schwann hücrelerinden salınır. Kendi nörotrofik etkisinin yanı sıra, pek çok nörotrofik faktörün, özellikle de motor nöronlar için potent bir nörotrofik faktör olan GDNF'ün, fonksiyonlarını gösterebilmesi için TGF- β 'ya ihtiyaç duyduğu gözlenmiştir. Sulaiman ve ark. (80), kronik denervasyonda dışardan TGF- β verilmesi ile in vivo olarak Schwann hücre proliferasyonunda ölçülebilir bir artış saptamışlardır.

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Tümör anjiogenezi üzerindeki etkisi nedeniyle, 1983 yılında tanımlanmış bir faktördür. Tümör hücrelerince salınan VEGF vasküler endotel hücre geçirgenliğini artırarak, hücreler arası mesafe ve vücut boşluklarında sıvı birikimine neden olmaktadır ve bu nedenle 'vasküler permeabilite faktörü' olarak tanımlanmıştır (81).

Homodimerik yapıda, 34–46 kDa ağırlığına, glikoprotein yapıda bir faktör olup, plasental büyüme faktörü ve PDGF ile yapısal benzerlik gösterir. Endotel hücreleri için,

spesifik mitojenite ve kemoatraktivite ile in vivo güçlü anjiogenik etki gösterir. Endotel hücreleri, tümör hücreleri, makrofaj, perisit, düz kas hücreleri, lenfosit, granülosit, monosit ve megakaryosit gibi pek çok farklı hücrede sentezlenebilir. İnsanlarda, yara ve kırık iyileşmesi sırasında normal olarak salınmaktadır. Direkt VEGF uygulaması ile endotel hücrelerinde permeabilite, büyüme ve migrasyon artar ve yara iyileşmesi sırasında endotel hücrelerinin ekstrasellüler matrikse migrasyonunu uyarak, anjiogenezi önemli ölçüde artırır.

Yaralanma sonrası hasar bölgesinde, VEGF ve VEGF mRNA hızla artar ve bu artıştan birincil olarak nötrofil ve fibroblastlar sorumludur. Yaralanma alanında vasküler zedelenmeye bağlı oksijen miktarı azalır; oluşan hipoksi VEGF mRNA'sını güçlü şekilde stimüle eder. VEGF'ün, tavşan kulağında oluşturulan dermal yaralarda ve sıçan cildinde granülasyon dokusu birikimini ve iyileşmeyi hızlandırdığı gözlenmiştir (63).

Sinir sisteminde de, VEGF'ün beyinin kapillerlerce zengin alanlarındaki nöronlarda ve hipoksi sonrası retina glial hücrelerinde mevcut olduğu gözlenmiştir.

Spinal kord hasarı sonrası, astrositlerde VEGF sentezi artmaktadır. VEGF yüksek affinite ile fetal karaciğer kinaz reseptörlerine (flk-1) bağlanmaktadır ve bu reseptörlerin, nöronlar ile Schwann hücrelerinde de mevcut olduğu gösterilmiştir.

Dolayısıyla VEGF, flk-1 reseptörleri aracılığı ile, sinir sisteminde hasar sonrası çeşitli olumlu etkiler göstermektedir. (82,83). Mariann ve ark.'nın (84) yaptıkları sinir kültürü çalışmasında, ortama VEGF eklenmesi ile aksonal büyümede, Schwann hücre yaşayabilirliği ve diferansiasyonunda artış olduğu gözlenmiştir. Hobson ve ark. (85), sıçan speriferik sinirinde oluşturdukları boşluğa VEGF içeren silikon çember yerleştirmişler ve doz bağımlı olarak VEGF ile vaskularizasyonun ve buna bağlı olarak da sinir rejenerasyonunun hızlandığını gözlemlemişlerdir.

Fibroblast Büyüme Faktörü 1 ve 2 (FGF-1 ve FGF-2)

İlk olarak sıgır hipofiz bezinden elde edilmiştir. Aminoasitleri benzer, ancak izoelektrik potansiyelleri farklı olan iki proteini içerir: FGF-1 asidik fibroblast büyüme faktörü, FGF-2 bazik fibroblast büyüme faktörü. Endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, nöral hücreler ve keratinositler tarafından üretilebilirler ve ikisi de mezoderm

ve nöroektoderm kökenli hücreler için kuvvetli mitojenik etkilidir. Yara iyileşmesinde rolü olan endotel hücreleri, fibroblastlar, keratinositler, epitel hücreleri, kondrositler ve myoblastlar gibi pek çok hücrede, proliferasyonu ve migrasyonu stimüle ederler. Kollajen, fibronektin, proteoglikan sentezini arttırlar (63).

Çeşitli hayvan çalışmalarında, her iki faktörün de hücre migrasyonunu, neovaskularizasyonu, granülasyon dokusu oluşumunu, yara gerilim kuvvetini arttırdığı ve epitelizasyonu hızlandığı görülmüştür (89,90). FGF-2, FGF-1' den 10 kat daha güçlü olacak şekilde anjiogenezi uyarırken; FGF-1'in de periferik sinir rejenerasyonunu desteklediği saptanmıştır (63). FGF-1 ve FGF-2'nin mezodermal ve nöroektodermal dokuların büyüme ve gelişmelerinde, özellikle anjiogenez ve Schwann hücre proliferasyonunda önemli düzenleyici rolleri vardır. Her iki faktör de, nöral dokularda bol miktarda bulunur ve sinir sisteminin gelişiminde, fonksiyonlarında, nöronal büyüme ve farklılaşmada rolleri vardır (86, 87). Davis ve ark.'nın (75) yaptıkları, her iki faktörün de ayrı ayrı kullanıldığı sıçan Schwann hücre kültürü çalışmasında, FGF-2'nin daha güçlü olmakla beraber, her iki faktörün de in vitro olarak Schwann hücre mitozunu arttırdıkları gözlenmiştir. Bu artış, ortama adenilat siklazi aktive eden forsokolin eklenmesi ile daha da belirgin hale gelmektedir.

FGF-1, nöron gövdesinde sentezlenir ve akson boyunca anterograd taşınır, bu nedenle aksotomiden sonra dejenerasyona giden distal güdükte, FGF-1 seviyelerinde ilerleyici bir düşme meydana gelir. FGF-1, santral ve periferik nöronlarda yaşayabilirliği ve diferansiasyonu destekler. İn vivo FGF-1 uygulaması sonrasında hem periferik sinirlerde hem de omurilikte, aksotomi sonrası aksonal rejenerasyonda hızlanma gözlenmiştir (88).

FGF-2, nöral hücreler için güçlü etkili bir nörotrofik faktördür. Santral sinir sistemi ve periferik sinir sisteminin farklı bölgelerinden alınan nöronlardan yapılan hücre kültürlerinde, nöron yaşayabilirliğini ve aksonal tomurcukların uzanımlarını desteklediği gözlenmiştir. Ayrıca bu faktör astrosit, oligodendrosit ve Schwann hücrelerinin de proliferasyonunu uyarıcı etkilere sahiptir. Ekzojen uygulanan FGF-2, Schwann hücre bazal laminaına bağlanır ve bazal lamina boyunca rejenere olan aksonların büyümelerini hızlandırır (89,90).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 ve 2 (IGF-1 ve IGF-2)

Aminoasit dizilimleri insan proinsülinine benzediğinden dolayı bu ismi almışlardır. Somatomedinler olarak da anılırlar. Primer olarak karaciğerde üretilmelerine karşın, otokrin uyarı ile tüm vücut dokularında üretilebilirler. Doku büyümesi, gelişimi ve rejenerasyonunda etkileri vardır. Büyüme hormonu etkisini IGF-1 üzerinden göstermektedir. IGF-1'in hücresele seviyedeki anabolik etkileri, sadece protein sentezini arttırmak değildir; aynı zamanda periferik hücrelerde glikoz içe alımını, glikojen sentezini, nöron yaşayabilirliğini, myelin sentezini arttırır ve kemik iyileşmesinde de olumlu etkileri vardır. Embriyonel gelişimde ise IGF-2 daha etkin olarak rol oynar (63, 66). Deneysel olarak diyabetik hayvanlarda, steroid kullanımı ile inflamatuvar yanıtı baskılanmış hayvanlarda ve yanık yaralarında olumlu etkileri olduğu görülmüştür (63). PDGF ve IGF-1 beraber kullanıldıklarında sinerjistik etki ile yara iyileşmesini desteklemektedirler (93). Santral, periferik ve otonom sinir sistemi gelişiminde önemli rol oynamalarının yanı sıra, sıçanlarda siyatik sinir yaralanma modellerinde, periferik sinir rejenerasyonunu destekleyici etkileri de ortaya konmuştur. Reaktif Schwann hücrelerinin IGF-1 ve IGF-2 için temel kaynak olduğu düşünülmektedir. IGF için spesifik reseptörler (tip 1 IGF reseptörleri), Schwann hücreleri, büyüme konileri ve motor nöron aksonları boyunca bulunmaktadır (92).

IGF-1 sağlıklı sinirlerde düşük düzeylerde bulunmasına karşın, sinir hasarı sonrası 2. haftada Schwann hücrelerinde pik değerlere ulaşmaktadır. Sjalberg ve ark.'nın (93) sıçan siyatik sinir donma hasarı modelinde, lokal IGF-1 infüzyonu ile aksonal tomurcukların büyümelerinin uyarıldığı ve rejenerasyonun hızlandığı gösterilmiştir. Kanje ve ark. (94) ise sıçan siyatik sinir ezilme tarzı yaralanma modelinde, miniozmotik pompalar ile IGF-1 lokal olarak uygulanmış ve sinir rejenerasyonunda artış gözlenmiştir. Bu artış IGF-1'i bloke eden spesifik antikorlar kullanıldığında inhibe olmuştur.

IGF-2 erişkin sıçanlarda beyin ve omurilikte bol miktarda bulunmaktadır. Kaslarda IGF-2 gen ekspresyonu, nöromüsküler sinaps gelişimi ve rejenerasyonla yakın ilişkili olmasının yanı sıra, kültüre nöroblastlarda, duyuşal, sempatik ve motor nöronlarda, aksonal tomurcukların büyümelerini de desteklemektedir. Near ve ark.'nın (95), motor akson rejenerasyonunu inceledikleri sıçan siyatik sinir ezilme tarzı yaralanma modelinde, motor akson rejenerasyonunda artış olduğu saptanmıştır ve bu

artış anti-IGF-2 anti-serumu ile baskılanmıştır. Benzer şekilde Pu ve ark.'nın (96) yaptığı çalışmada, neonatal sıçanlarda siyatik sinire aksotomi yapılmasından sonra IGF-2 uygulandığında, motor nöron ölümü azalırken, bu koruyucu etkinin anti-IGF anti-serumu ile ortadan kalktığı saptanmıştır.

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

İlk kez 1962 yılında Stanley Cohen tarafından erkek fare submandibuler bezinden izole edilmiştir. Birçok memeli türünün doku ve vücut sıvılarında bulunan mitojenik etkili bir polipeptittir. Endotel hücreleri, fibroblastlar ve sinir sistemi destek doku hücreleri için mitojeniktir (63, 97). Primer olarak trombositlerde üretilir, ancak makrofaj ve monositlerde de bulunur. Tükürük bezleri, duodenal bezler, böbreklerde, idrar ve sütte bolca bulunur. Yara iyileşmesinin erken fazında yüksek konsantrasyonlara ulaşır. EGF reseptörlerinin uyarımı ile hücre adezyonu, matriks düzenleyici proteinazların ekspresyonu ve hücre hareketleri artar. EGF, yaraya keratinositlerin migrasyonunu arttırarak epitelizasyonu hızlandırırken, yaranın fazla kontraksiyonunu da engelleyerek skar oluşumunu azaltır. Tavşanlarda oluşturulan tam kalınlıklı cilt defektlerinde EGF kullanılmış ve daha hızlı iyileşme ile beraber nerdeyse normal dermal histolojik yapılanma gözlenmiştir. EGF ayrıca vasküler düz kas hücrelerine de mitojenik etkili olup, anjiogeneziste de rol alır (63). Sinir iyileşmesi sırasında ortamda artan EGF miktarı, bu faktörün sinir iyileşmesinde de etkili olabileceğini göstermektedir. Santral sinir sistemi nöronlarını içeren doku kültüründe, EGF uygulaması ile aksonal rejenerasyonda artış saptanmıştır (98). Sinir rejenerasyonunu destekleyebileceği yönündeki olumlu çalışmaların yanı sıra; Dubuisson ve ark.'nın (99) yaptıkları çalışmada oluşturulan sinir defektine dışardan uygulanan EGF'nin, sinir iyileşmesinde etkisi olmadığı görülmüştür. Tüm bu faktörleri, çeşitli kombinasyonlarda kullanılarak yapılan bazı sinir çalışmaları da mevcuttur. Welch ve ark. (100) IGF-1 ve PDGF kombinasyonunu, sıçan siyatik sinirini kesip ucuca sütüre ettikten sonra tek doz olarak kullanmışlar, ancak 6 haftalık takip sonucunda rejenerasyonda bir artış saptayamamışlardır ve bunu ucuca temas eden sinirlerde trofik etkinin baskılanmasına bağlamışlardır. Buna karşın Oudega ve ark. (101), aynı kombinasyonu sıçan omuriliğinde kullanmışlar ve rejenere olan aksonlarda, aksonal rejenerasyonu etkilemediğini ancak myelinizasyonu arttırdığını tespit etmişlerdir. Wells ve ark.'larının (102) yaptıkları başka bir çalışmada ise, sıçan siyatik sinirinde oluşturulan 8

milimetrelık defekte, yine aynı faktörleri içeren farklı biyolojik yapılar da tüpler yerleştirilmiş ve aksonal rejenerasyonun ölçülebilir şekilde hızlandığı saptanmıştır. Meier ve ark. (103) kesilmiş sıçan siyatik sinirinde yaptıkları çalışmada, Schwann hücrelerinin yaşamlarını ve trofik aktivitelerini devam ettirebilmek için çeşitli büyüme faktörlerine ihtiyaç duyduklarını öne sürmüş; IGF, NT-3 ve PDGFBB desteği ile artış saptadıkları etkinliklerde, bu faktörlerin bloke edilmesi ile akson rejenerasyonu ve Schwann hücre yaşayabilirliğinde ciddi azalma gözlemlemişlerdir.

Hücre dışı matriks proteinleri, rejenerasyon sırasında hücreler arası ilişkinin sağlanabilmesi için gereken glikoproteinlerdir. Fibronektin ve laminin gibi matriks proteinleri Schwann hücrelerinin bazal membran yapısında bulunan ve aksonal tomurcukların oluşumunda ve büyümesinde önemli görevleri olan glikoproteinlerdir. Bu glikoproteinlerin de, deneysel çalışmalarda lokal uygulanmaları sonrasında aksonal büyüme yi destekledikleri bilinmektedir. Rejenere olan aksonların, laminin ve fibronektin içeren bazal laminaya affiniteleri vardır (104, 105,106). Fibronektin ayrıca Schwann hücre adezyonunu ve migrasyonunu uyararak, bu hücrelerin proliferasyonunu da desteklemektedir (107).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışmamız; Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 01.07.2016 tarihli ve 2016/78 numaralı onayı alındıktan sonra Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapıldı. Çalışma için 42 adet sağlıklı Wistar Albino cinsi ve ortalama 275 Gr (250-300) ağırlığında dişi ratlar kullanıldı. Deney hayvanları altışarlı olarak polietilen kafeslerde barındırıldı ve standard laboratuvar yemi ile beslendi. Herhangi bir yem ve sıvı kısıtlaması yapılmadı.

Deneye dahil edilen 42 adet ratın 6 tanesinden kan alınmak üzere ayrıldı. Geriye kalan 36 adet rat rastgele olarak 6 gruba ayrıldı.

Deney Grupları	Hayvan Adedi
Grup 1 (kontrol grubu, damak yarası oluşturuldu, 1. haftada sakrifiye edildi, PRP uygulanmadı)	6
Grup 2 (PRP grubu, damak yarası oluşturuldu, 1. haftada sakrifiye edildi, 1., 3. ve 5. günde PRP uygulandı)	6
Grup 3 (kontrol grubu, damak yarası oluşturuldu, 2. haftada sakrifiye edildi, PRP uygulanmadı)	6
Grup 4 (PRP grubu, damak yarası oluşturuldu, 2. haftada sakrifiye edildi, 1., 3. ve 5. günde PRP uygulandı)	6
Grup 5 (kontrol grubu, damak yarası oluşturuldu, 3. haftada sakrifiye edildi, PRP uygulanmadı)	6
Grup 6 (PRP grubu, damak yarası oluşturuldu, 3. haftada sakrifiye edildi, 1., 3. ve 5. günde PRP uygulandı)	6

3.2. TEDAVİ PROTOKOLÜ

3.2.1.PRP (Trombositten Zengin Plazma) ELDE EDİLMESİ

Trombositten zengin plazma (PRP) hazırlanmasında gerekli olan kanın elde edilmesi için 6 adet rat kullanıldı. Birinci, 3. ve 5. günlerde herbir günde ikişer adet rat 75 mg / kg Ketamin ve 10 mg / kg Xylasine hydrochloride ile sağlanan anestezi altında, intrakardiyak olarak her bir rattan yaklaşık 10cc kan koagülasyonlu tüplere alındı. (Resim 1)



Resim 1: İntrakardiyak kan alınması

Elde edilen kanlar santrifüj cihazında, 22°C derece sıcaklıkta ve 220 g devirde 20 dakika boyunca santrifüj işlemine tabi tutuldu. Bu ilk santrifüj işlemi eritrositlerin tüpün en alt kısmında toplanmasını ve üstte kalan plazma, trombosit ve lökositlerden ayrışmasını sağladı. İlk santrifüj işlemi sonrasında üstte toplanan açık sarı renkli plazma ile en altta biriken eritrositlerin arasında, trombositlerin ve beyaz kürelerin oluşturduğu ince bir ara tabaka (“buffy coat”) izlendi. Üstte biriken plazma mikropipetler kullanılarak ayrı bir tüp içerisine alındı ve trombositleri içeren ara tabaka da bu plazma üzerine eklendi. Bu ayrıştırma işlemi sırasında bir miktar eritrositin de ara tabakaya karışmasına izin verildi. Plazma ile trombositleri içeren bu tüp, ikinci kez 480 g devirde 20 dakika boyunca santrifüj edildi. İkinci santrifüj işlemi ilk ayrıştırma sırasında artı kalan eritrositlerin dibe çökmesini, trombositlerin bu eritrositler üzerinde yeniden ince bir tabaka oluşturmasını ve açık sarı renkli trombositten fakir plazmanın (TFP) en üstte toplanmasını sağladı. İkinci santrifüj sonrasında oluşan trombosit konsantresi ve TFP

mikropipetler ile ayrıştırılarak farklı tüpler içerisinde toplandı. Daha sonra mevcut trombosit konsantrisi üzerine TFP eklenerek PRP elde edildi. Literatürdeki benzer çalışmalarda belirtildiği gibi , bu yöntem ile elde edilen trombosit konsantrisinin, TFP ile seyreltilmesinde yaklaşık $1,5 \times 10^{12}$ trombosit/L oranında trombosit içerdiği tespit edildiğinden, bu çalışmada da belirtilen oranda seyreltilme işlemi yapıldı. Sonuçta PRP içerisinde elde edilen trombosit sayısı, normal kan trombosit sayısından ($0,2-1 \times 10^{12}$ trombosit/L) yaklaşık 2,5 kat fazla idi. Hazırlanan PRP'ye Graft Versus Host reaksiyonunu engellemek için 25 Gy Radyoterapi uygulanarak beyaz küre hücreleri inaktive edildi. PRP'nin aktive edilmesi için sığır kaynaklı trombin preparatı kullanıldı (Thrombin, Sigma-Aldrich, Almanya). 1000 ünite/ml oranında trombin içeren toz ürün, 5 ml % 10'luk kalsiyum klorür ile sulandırılarak 200 ünite/ml oranında trombin solüsyonu oluşturuldu. Elde edilen PRP ve trombin solüsyonundan deney gruplarındaki her bir yara üzerine 0,1 ml PRP ve 5 µml (1 ünite) trombin solüsyonu birlikte enjekte edildi. Böylelikle PRP ve trombin solüsyonunun operasyon sahasında etkileşimleri ve bu sayede trombositlerin kalsiyum iyonları varlığında trombin ile aktive olmaları sağlandı.

3.2.2. CERRAHİ PROSEDÜR

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanlara intra muskuler xylazin hydrochloride (10mg/kg) ve ketamin (75 mg/kg) anestezisi uygulandı. Anestezi sonrası tüm ratların sert damağına 3mm çapında daire şeklinde insizyon yapıp periosta kadar dokular diseke edilip çıkarıldı. (Resim 2)



Resim 2: Sert damakta yara oluşturulması

PRP uygulanacak olan gruplardaki 18 adet ratın herbirinin yara kenarlarına 1.,3. ve 5. günlerde yaklaşık 0,1 ml PRP solüsyonu uygulandı. (Resim 3)



Resim 3: Yara kenarlarına PRP uygulaması

Kontrol gruplarındaki 18 adet sıçanın ise sert damaklarında yara oluşturulduktan sonra herhangi bir işlem yapılmadı. 7. günde birinci ve ikinci gruptaki, 14. günde üçüncü ve dördüncü gruptaki, 21. günde ise beşinci ve altıncı gruptaki sıçanlar yüksek doz anestezi ile sakrifiye edilip histolojik inceleme için sert damakları eksize edildi.

3.3. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Sakrifiye edilen ratların sert damakları enblok olarak çıkarılarak %10'luk tamponlu formaldehid içinde patolojik incelemeye gönderildi. Dokular %10'luk tamponlu formol solüsyonunda 1 gün boyunca fiksede edildi. Rutin doku takip işlemlerinin ardından parafin bloklara gömülerek 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Masson's Trikrom ve Hemotoksilen Eozin (H&E) ile boyama işlemi sonrası preparatlar ışık mikroskopi ile 400 büyütme altında (Olympus BX51) histopatolojik değişiklikleri saptamak amacıyla değerlendirmeye alındı. Histopatolojik değerlendirmede; inflamasyon şiddeti, neovaskülarizasyon (damar yoğunluğu), fibroblast proliferasyonu, kollojen yoğunluğu ve epitelizasyona bakılıp, her parametre ayrı ayrı skorlandırıldı.

İnflamasyon şiddeti: Hooker ve arkadaşlarının yaptığı inflamasyon şiddeti skorlama sistemine göre;

0: inflamasyon yok

1: nadir dağınık lenfosit ve plazma hücreleriyle büyük hücreler

2: artmış lenfosit, nötrofil ve plazma hücreleri

3: çok sayıda mikst inflamasyon hücresi ve mikroabse varlığı değerlendirildi.

Fibroblast proliferasyonu: 4 ayrı kesitte fibroblast yoğunluğunun sayıca en fazla olduğu alan değerlendirildi. Buna göre Fibroblast proliferasyonu;

0: yok

1: hafif

2: orta

3: yoğun

olarak değerlendirildi.

Damar yoğunluğu: rastgele 3/BBA ortalama damar yoğunluğuna göre skorlama yapıldı.

0: yok

1: az

2: orta

3: yoğun

Kollojenizasyon: Masson's Trikrom kollojen boyasının uygulandığı kesitlerde düzenli organize ve çapraz bağlar yapan kollojenin boyanma yoğunluğuna göre skorlama yapıldı. Buna göre kollojenizasyon;

0: yok

1: az

2: orta

3: yoğun

olarak değerlendirildi.

Epitelizasyon:

0: ülsere tam olarak epitelize olmayan kapanmayan yara

1: yara bölgesinde yüzey epitel, ve kemik doku arasındaki (subepitelyal bölgede organize granülasyon doku oranına göre) mesafe 1/3 ise hafif

2: yara bölgesinde yüzey epitel, ve kemik doku arasındaki (subepitelyal bölgede organize granülasyon doku oranına göre) mesafe 2/3 ise orta

3: yara bölgesinde yüzey epitel, ve kemik doku arasındaki (subepitelyal bölgede organize granülasyon doku oranına göre) mesafe 3/3 ise yoğun olarak değerlendirildi.

Ratlardan alınan doku örneklerinin histopatolojik incelemesi, Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarında aynı patolog tarafından denek grupları bilinmeden yapıldı.

3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde mann-whitney u test kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. İNFLAMASYON ŞİDDETİ

PRP uygulanan grupta 1. hafta inflamasyon şiddeti $2,7 \pm 0,5$, 2. hafta $1,8 \pm 0,4$ ve 3. hafta $0,8 \pm 0,4$ idi. Kontrol grubunda 1. hafta inflamasyon şiddeti $3,0 \pm 0,0$, 2. hafta $2,0 \pm 0,6$ ve 3. hafta $1,5 \pm 0,5$ idi.

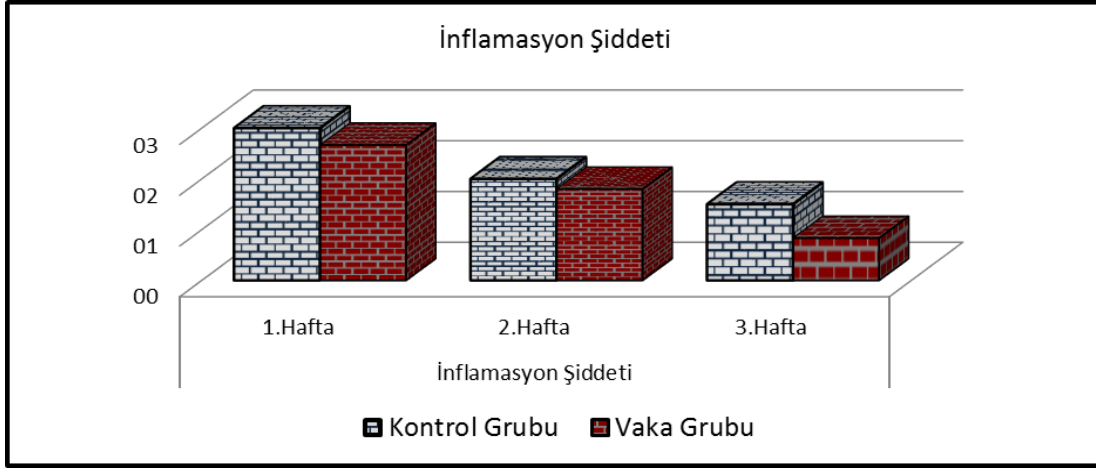
PRP uygulanan grupta inflamasyon şiddetinin kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı azalma vardı ($p < 0,05$). Yine bu grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki değişimindeki azalma da istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$).

Kontrol grubunda inflamasyon şiddetinin kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı azalma vardı ($p < 0,05$). Yine bu grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki değişimindeki azalma da istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$).

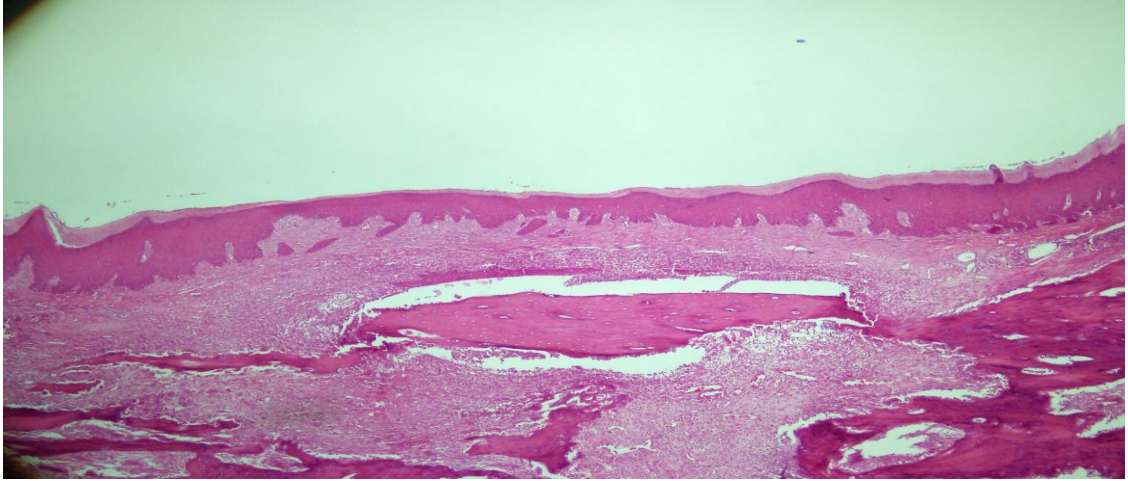
Bulgulara göre PRP ve kontrol grubunda 1. ve 2. haftalarda inflamasyon şiddeti açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Ancak 3. haftada PRP grubunda inflamasyon şiddeti kontrol grubundan anlamlı ($p < 0,05$) olarak daha düşük gözlemlendi. (Tablo 3, Grafik 1, Resim 4)

Tablo 3: PRP ve kontrol grupları arasında inflamasyon şiddetinin haftalık değişiminin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu		Vaka Grubu		p
	Ort.±s.s.	Medyan	Ort.±s.s.	Medyan	
<i>Inflamasyon Şiddeti</i>					
1.Hafta	3.0 ± 0.0	3.0	2.7 ± 0.5	3.0	0.138 ^m
2.Hafta	2.0 ± 0.6	2.0	1.8 ± 0.4	2.0	0.560 ^m
1.-2.Hf.Değişim p	0.006^m		0.002^m		
3.Hafta	1.5 ± 0.5	1.5	0.8 ± 0.4	1.0	0.043^m
1.-3.Hf.Değişim p	0.024^m		0.002^m		



Grafik 1: PRP ve kontrol grupları arasındaki inflamasyon şiddet skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi



Resim 4: PRP uygulanan grupta 3.haftada inflamasyon şiddetinde belirgin azalma gözlenmekte (HEx100)

4.2 DAMAR YOĞUNLUĞU

PRP uygulanan grupta 1. hafta damar yoğunluğu $1,8 \pm 0,4$, 2. hafta $2,4 \pm 0,5$ ve 3. hafta $2,8 \pm 0,4$ idi. Kontrol grubunda 1. hafta damar yoğunluğu $2,3 \pm 0,5$, 2. hafta $1,3 \pm 0,5$ ve 3. hafta $1,8 \pm 0,8$ idi.

PRP uygulanan grupta damar yoğunluğunun kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Ancak bu

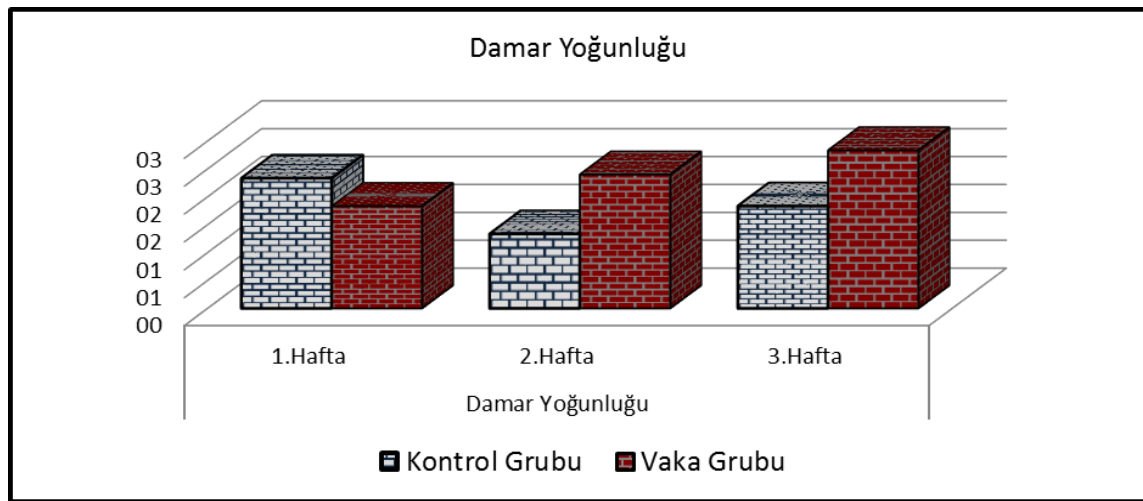
grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki değişimindeki artma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,05$).

Kontrol grubunda damar yoğunluğunun kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı azalma vardı ($p<0,05$). Ancak bu grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki damar yoğunluğu arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

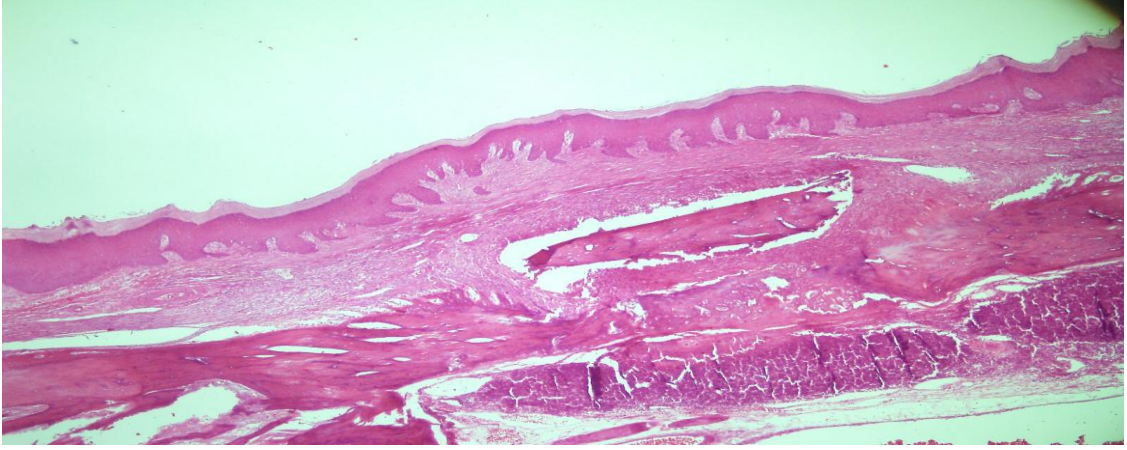
Bulgulara göre; PRP ve kontrol grubunda 1. haftada damar yoğunluğu açısından anlamlı fark gözlenmezken ($p>0,05$), 2. ve 3. haftalarda PRP grubunda damar yoğunluğu kontrol grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti (Tablo 4, Grafik 2, Resim 5).

Tablo 4: PRP ve kontrol grupları arasında damar yoğunluğunun haftalık değişiminin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu		Vaka Grubu		p
	Ort.±s.s.	Medyan	Ort.±s.s.	Medyan	
Damar Yoğunluğu					
1.Hafta	2.3 ± 0.5	2.0	1.8 ± 0.4	2.0	0.092 ^m
2.Hafta	1.3 ± 0.5	1.0	2.4 ± 0.5	2.0	0.018 ^m
1.-2.Hf.Değişim p	0.014 ^m		0.206 ^m		
3.Hafta	1.8 ± 0.8	2.0	2.8 ± 0.4	3.0	0.023 ^m
1.-3.Hf.Değişim p	0.080 ^m		0.006 ^m		



Grafik 2: PRP ve kontrol grupları arasındaki damar yoğunluğu skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi



Resim 5: PRP uygulanan grupta 3.haftada damar yoğunluğundaki artış (HEx100)

4.3 KOLLOJEN YOĞUNLUĞU

PRP uygulanan grupta 1. hafta kollojen yoğunluğu $1,0 \pm 0,0$, 2. hafta $2,4 \pm 0,5$ ve 3. hafta $3,0 \pm 0,0$ idi. Kontrol grubunda 1. hafta kollojen yoğunluğu $1,0 \pm 0,0$, 2. hafta $1,3 \pm 0,5$ ve 3. hafta $2,2 \pm 0,4$ idi.

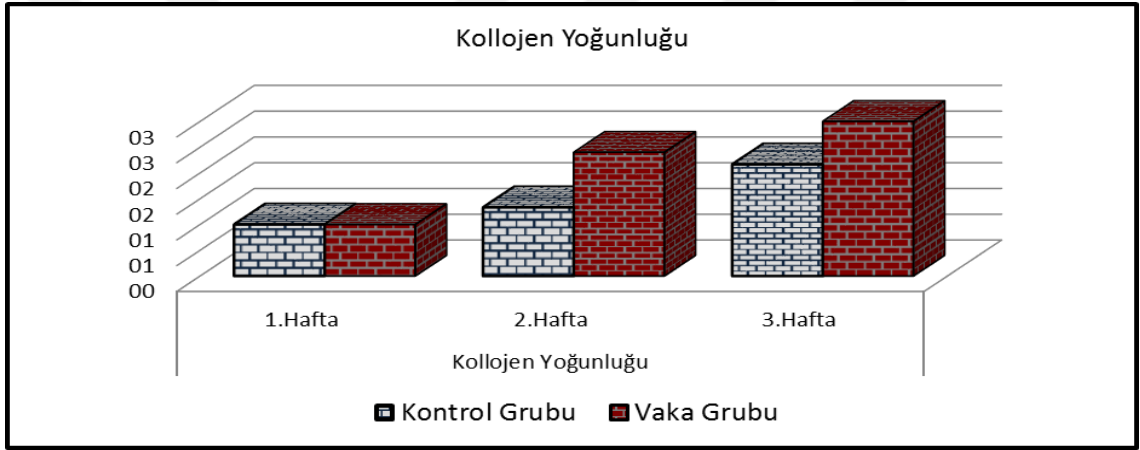
PRP uygulanan grupta kollojen yoğunluğunun kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta değişimindeki artma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi. Yine bu grubun 1. hafta ve 3. hafta değişimindeki artma da istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi.

Kontrol grubunda kollojen yoğunluğunun kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Ancak bu grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki kollojen yoğunluğu değişimindeki artma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi.

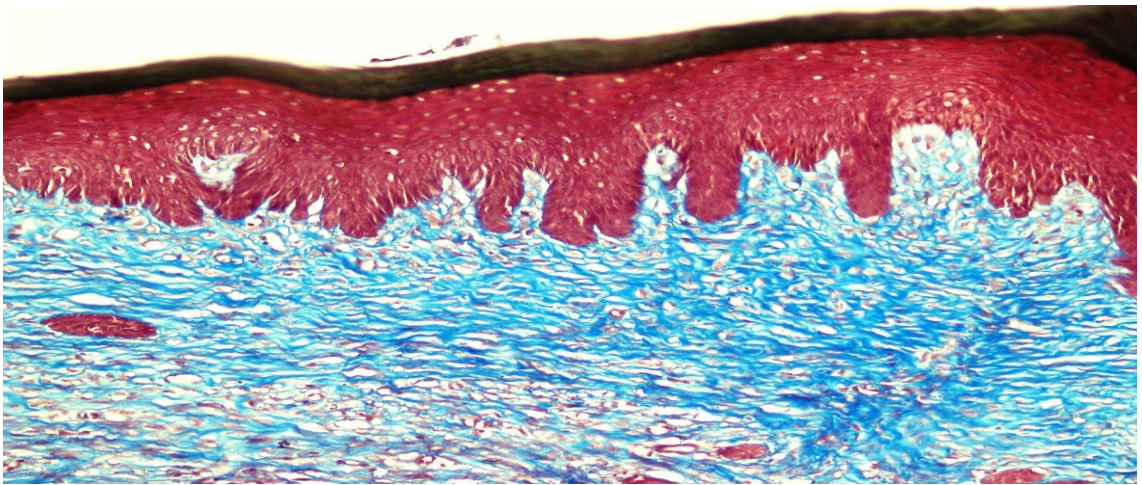
Bulgulara göre; PRP ve kontrol grubunda 1. haftada kollojen yoğunluğu açısından anlamlı fark gözlenmezken ($p > 0,05$), 2. ve 3. haftalarda PRP grubunda kollojen yoğunluğu kontrol grubundan anlamlı ($p < 0,05$) olarak daha yüksek idi (Tablo 5, Grafik 3, Resim6).

Tablo 5: PRP ve kontrol grupları arasında kollojen yoğunluğunun haftalık değişiminin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu		Vaka Grubu		p
	Ort.±s.s.	Medyan	Ort.±s.s.	Medyan	
Kollojen Yoğunluğu					
1.Hafta	1.0 ± 0.0	1.0	1.0 ± 0.0	1.0	1.000 ^m
2.Hafta	1.3 ± 0.5	1.0	2.4 ± 0.5	2.0	0.018 ^m
1.-2.Hf.Değişim p	0.138 ^m		0.001 ^m		
3.Hafta	2.2 ± 0.4	2.0	3.0 ± 0.0	3.0	0.005 ^m
1.-3.Hf.Değişim p	0.002 ^m		0.002 ^m		



Grafik 3: PRP ve kontrol grupları arasındaki kollojen yoğunluğu skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi



Resim 6: PRP uygulanan grupta 3.haftada belirgin yoğunlukta organize ,çaprazlaşan kollojen boyanma yaygınlığı (MTx400)

4.4. FİBROBLAST PROLİFERASYONU

PRP uygulanan grupta fibroblast proliferasyonu 1. hafta $0,0 \pm 0,0$, 2. hafta $2,2 \pm 0,4$ ve 3. hafta $2,8 \pm 0,4$ idi. Kontrol grubunda 1. hafta fibroblast proliferasyonu $0,0 \pm 0,0$, 2. hafta $1,2 \pm 0,4$ ve 3. hafta $2,2 \pm 0,4$ idi.

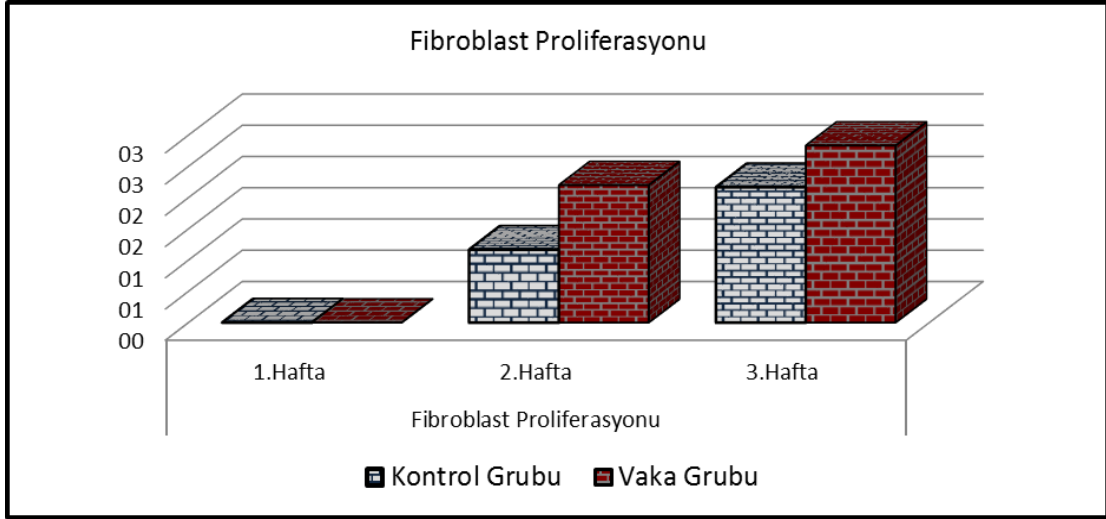
PRP uygulanan grupta fibroblast proliferasyonunun kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişimindeki artma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi. Yine bu grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki değişimindeki artma da istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi.

Kontrol grubunda fibroblast proliferasyonunun kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı artma vardı ($p < 0,05$). Yine bu grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki fibroblast proliferasyonu değişimindeki artma da istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi.

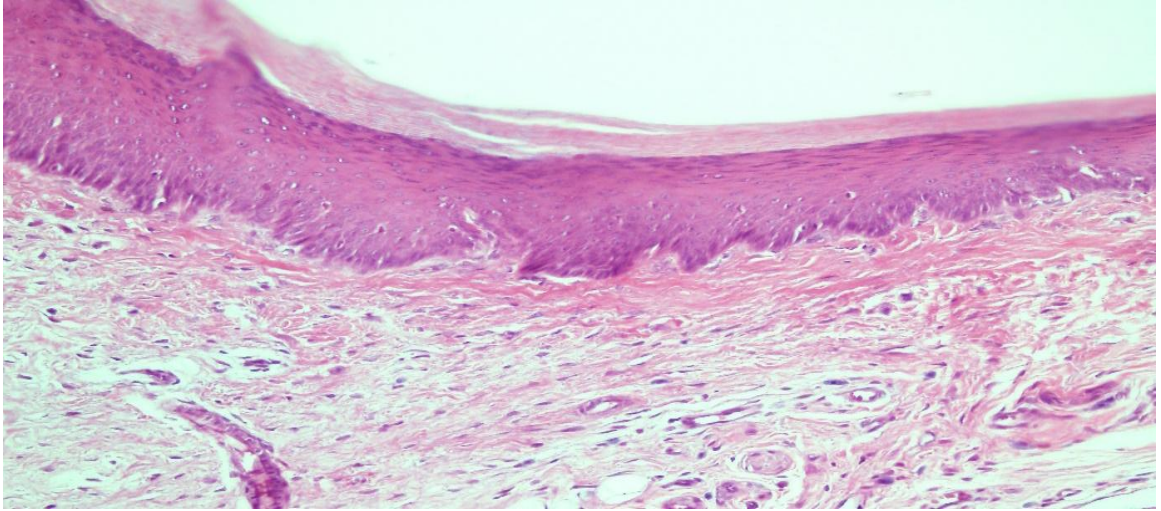
Bulgulara göre; PRP ve kontrol grubunda 1. haftada fibroblast proliferasyonu açısından anlamlı fark gözlenmezken ($p > 0,05$), 2. ve 3. haftalarda PRP grubunda fibroblast proliferasyonu kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek ($p < 0,05$) idi (Tablo 6, Grafik 4, Resim 7).

Tablo 6: PRP ve kontrol grupları arasında fibroblast proliferasyonunun haftalık değişiminin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu		Vaka Grubu		p
	Ort.±s.s.	Medyan	Ort.±s.s.	Medyan	
Fibroblast Proliferasyonu					
1.Hafta	0.0 ± 0.0	0.0	0.0 ± 0.0	0.0	1.000 ^m
2.Hafta	1.2 ± 0.4	1.0	2.2 ± 0.4	2.0	0.009 ^m
1.-2.Hf.Değişim p	0.001 ^m		0.001 ^m		
3.Hafta	2.2 ± 0.4	2.0	2.8 ± 0.4	3.0	0.027 ^m
1.-3.Hf.Değişim p	0.002 ^m		0.001 ^m		



Grafik 4: PRP ve kontrol grupları arasındaki fibroblast proliferasyonu skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi



Resim 7: PRP uygulanan grupta 3.haftada fibroblast proliferasyonundaki artış (HEx400)

4.5. EPİTELİZASYON

PRP uygulanan grupta epitelizasyon 1. hafta $0,2 \pm 0,4$, 2. hafta $0,4 \pm 0,5$ ve 3. hafta $2,5 \pm 0,5$ idi. Kontrol grubunda 1. hafta epitelizasyon $0,0 \pm 0,0$, 2. hafta $0,0 \pm 0,0$ ve 3. hafta $1,3 \pm 0,5$ idi.

PRP uygulanan grupta epitelizasyonun kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişimindeki artma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi. Yine bu grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki değişimindeki artma da istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) idi.

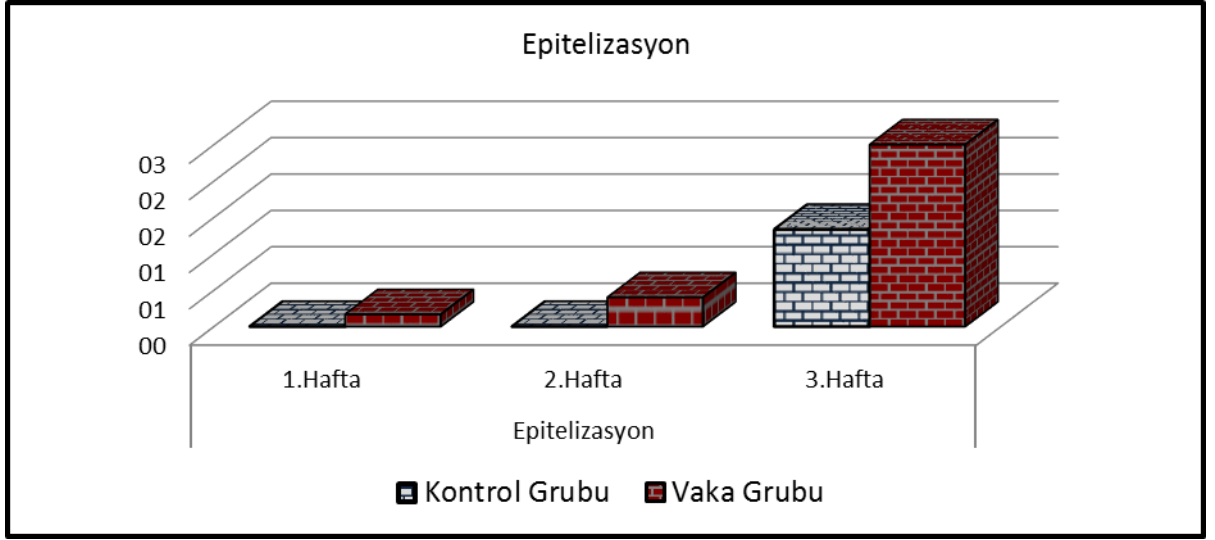
Kontrol grubunda epitelizasyonun kendi içinde 1. hafta ve 2. hafta arasındaki değişiminde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Yine bu grubun 1. hafta ve 3. hafta arasındaki epitelizasyon değişiminde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

Bulgulara göre; PRP ve kontrol grubunda 1. haftada epitelizasyon açısından anlamlı fark gözlenmezken ($p > 0,05$), 2. ve 3. haftalarda PRP grubunda epitelizasyon kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek ($p < 0,05$) idi. (Tablo 7, Grafik 5, Resim 8)

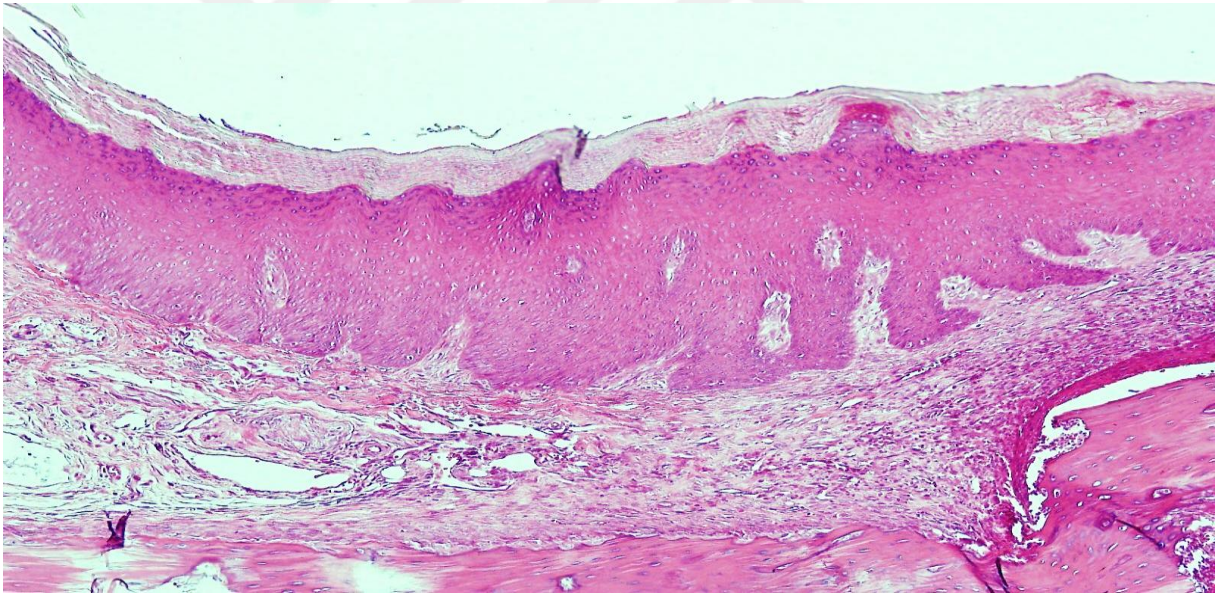
Tablo 7: PRP ve kontrol grupları arasında epitelizasyonun haftalık değişiminin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu		Vaka Grubu		p
	Ort.±s.s.	Medyan	Ort.±s.s.	Medyan	
Epitelizasyon					
1.Hafta	0.0 ± 0.0	0.0	0.2 ± 0.4	0.0	0.317 ^m
2.Hafta	0.0 ± 0.0	0.0	0.4 ± 0.5	0.0	0.102 ^m
1.-2.Hf.Değişim p	1.000 ^m		0.002 ^m		
3.Hafta	1.3 ± 0.5	1.0	2.5 ± 0.5	2.5	0.011 ^m
1.-3.Hf.Değişim p	0.409 ^m		0.002 ^m		

^m Mann-whitney u test



Grafik 5: PRP ve kontrol grupları arasındaki epitelizasyon skorlamasının grafiksel olarak değerlendirilmesi



Resim 8: PRP uygulanan grupta 3.haftada epitelizasyon 3/3 oranda izlenmekte (HEx100)

5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi; hücre göçünü, proliferasyonunu, farklılaşmasını, proteinlerin, enzimlerin ve hücre dışı matriksin üretimini ve yeniden şekillendirmeyi düzenleyen, büyüme faktörleri tarafından aracılık edilen dokunun onarım ve rejenerasyonudur. Bu süreci yavaşlatan birçok etken (diyabet, kortikosteroidler, hepatik bozukluklar, üremi, kemoterapi) olabildiği gibi süreci hızlandıran etkenler de mevcuttur (108). Yara iyileşmesinin kısa sürmesi oluşabilecek komplikasyonların da sıklığını azaltır.

Ağız boşluğundaki yara iyileşmesi ortamın sıcak ve nemli olması ve bol miktarda bakteri bulunması nedeniyle farklıdır (9). Bakteriler alınan yiyeceklerle birleşerek biyofilm oluşturabilir. Bu durum devam eden iyileşme sürecini olumsuz etkileyebileceği gibi süperenfeksiyon riskini de artırabilir. Ayrıca konuşma, çiğneme ve yutma gibi fizyolojik fonksiyonlar yumuşak dokularda gerilme ve baskı kuvvetleri oluşturur. Bu kuvvetler yara kenarlarının birbirinden uzaklaşmasına neden olup iyileşmeyi olumsuz etkileyebilir (10).

Kronik yara veya gecikmiş yara iyileşmesinin tedavisinde birçok ajan denenmektedir. Bu ajanlardan biri de trombositten zengin plazmadır (PRP). PRP'nin yara iyileşmesinde olumlu etkilerinin olduğu klinik ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (109).

PRP, bazal değerlerden daha yüksek seviyelerde trombosit içeren otolog plazma kısmıdır (29, 30, 32, 33). Bu küçük miktarlardaki plazmanın içerisinde trombositler, kandaki diğer hücresel elemanlardan ayrılarak konsantre şekilde bulunur. PRP, bazal plazma değerlerinden 3 ila 5 kat daha fazla trombosit içermektedir. Normal kan trombosit sayısı milimetreküpte 150.000–400.000'dir. Hazırlanma tekniği ve kullanılan cihazlara göre değişkenlik göstermekle birlikte, PRP için standart istenilen trombosit değeri milimetreküpte yaklaşık 1.000.000'dur (29, 30, 30). PRP içerdiği bu yüksek miktardaki trombosit içeriğine bağlı olarak pıhtılaşma faktörlerinin tümünü ve büyüme faktörlerini konsantre bir şekilde içermektedir. (30).

Çeşitli çalışmalarda bildirilen PRP'nin içerisinde yara iyileşmesine katkıda bulunan önemli faktörler, platelet derived growth faktör (PDGF), vasküler endotelial growth faktör (VEGF), fibroblast growth faktör (FGF), insüline like growth faktör

(IGF), epidermal growth faktör (EGF), interlökin-8 (IL-8) ve tümör nekroz faktördür (TNF).

PDGF yara iyileşmesine cevapta en erken ortaya çıkan faktördür. Pek çok deneysel çalışmada PDGF ile granülasyon dokusunun, epitelizasyonun ve neovaskularizasyonun arttığı, yara iyileşme sürecinin değişmeksizin, iyileşme hızının arttığı ortaya konmuştur (67,68). Kronik yaralarda, nöropatik ve diyabetik ülserlerde etkinliği gösterilmiş ve bu alanda FDA onayı almış tek büyüme faktörü preparatıdır (67).

Deneysel olarak diyabetik hayvanlarda, steroid kullanımı ile inflamatuvar yanıtı baskılanmış hayvanlarda ve yanık yaralarında IGF'in olumlu etkileri olduğu görülmüştür (63). PDGF ve IGF-1 beraber kullanıldıklarında sinerjistik etki ile yara iyileşmesini desteklemektedirler (93). Santral, periferik ve otonom sinir sistemi gelişiminde önemli rol oynamalarının yanı sıra, sıçanlarda siyatik sinir yaralanma modellerinde, periferik sinir rejenerasyonunu destekleyici etkileri de ortaya konmuştur.

Yaralanma sonrası hasar bölgesinde, VEGF ve VEGF mRNA hızla artar. Bu artıştan birincil olarak nötrofil ve fibroblastlar sorumludur. Yaralanma alanında vasküler zedelenmeye bağlı oksijen miktarı azalır; oluşan hipoksi VEGF mRNA'sını güçlü şekilde stimüle eder. VEGF'ün, tavşan kulağında oluşturulan dermal yaralarda ve sıçan cildinde granülasyon dokusu birikimini ve iyileşmeyi hızlandırdığı gözlenmiştir (63).

TGF- β trombositlerin granüllerinde yüksek oranda bulunur ve doku hasarı anında degranülasyon ile ortama salınır. Yara iyileşmesinin geç fazı olan güçlenme ve remodeling fazında da etkileri vardır (63,64,65). İnflamatuvar hücre kemotaksisini, ekstrasellüler matriks sentezini, fibroblastlarda fibronektin ve kollajen üretimini stimüle eder. Özellikle yara iyileşmesinde esas görevi olan hücrelerin proliferasyonu, diferansiasyonu ve gen ekspresyonunu etkileyerek, bazı fibrotik hastalıkların da patogeneğinde rol alır. Ekstrasellüler matrikse mitojenik, kemotaktik ve anabolik etkileri olup, inflamatuvar ve immun cevabın hem hücresel hem de humoral basamaklarında rol alır (63). Yapılan hayvan çalışmalarında, atların ekstremitte distallerinde yerleşik kısmi ya da tam kalınlıklı yaralarda, sıçanlarda timpanik zar perforasyonlarında etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca kronik ülser, hipertrofik skar ve

farelerde intestinal mukozal ülserlerin iyileşmesinde olumlu etkileri görülmüştür (63, 66, 68, 78).

EGF, primer olarak trombositlerde üretilir, ancak makrofaj ve monositlerde de bulunur. Yara iyileşmesinin erken fazında yüksek konsantrasyonlara ulaşır. EGF reseptörlerinin uyarımı ile hücre adezyonu, matriks düzenleyici proteinazların ekspresyonu ve hücre hareketleri artar. EGF, yaraya keratinositlerin migrasyonunu artırarak epitelizasyonu hızlandırırken, yaranın fazla kontraksiyonunu da engelleyerek skar oluşumunu azaltır. Tavşanlarda oluşturulan tam kalınlıklı cilt defektlerinde EGF kullanılmış ve daha hızlı iyileşme ile beraber nerdeyse normal dermal histolojik yapılanma gözlenmiştir. EGF ayrıca vasküler düz kas hücrelerine de mitojenik etkili olup, anjiogeneze de rol alır (63).

Yara bölgelerine PRP uygulayarak yapılan çalışmalarda amaç, yara iyileşmesinin başlatıcıları olan büyüme faktörlerini konsantre şekilde yara bölgesine vererek iyileşme sürecini hızlandırmaktır. Ahmad ve arkadaşları yaptığı çalışmada, PRP'nin, doku rejenerasyonunda yer alan hücrelerin farklılaşması yoluyla hücresel düzeyde doku iyileşmesini artırma potansiyeline sahip olduğunu ileri sürmüştür (110). Ayrıca, Gotterbarm ve Al., (2006), PRP'nin otolog büyüme faktörlerinin zengin bir kaynağı olduğu şeklinde rapor etmiştir (111). Öte yandan Shin ve arkadaşları, PRP'nin normal doku rejenerasyonunda etkili olduğunu kanıtladı (112). PRP'nin bu etkilerinden dolayı deneysel olarak ağız yarası oluşturulmuş ratlarda PRP'nin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini klinik ve histopatolojik olarak değerlendirdik.

Hayvan çalışmalarında, özellikle küçük hayvanlarda, PRP hazırlamak için gereken kanı aynı hayvandan almak çoğu zaman mümkün olamamaktadır; dolayısıyla böyle deneylerde kullanılan PRP, otolog değil homolog hazırlanmaktadır. Bu nedenle oluşabilecek immün reaksiyonlara bağlı olarak, deneylerde yanlış-negatif sonuçlar oluşabilir. (33). Biz de oluşabilecek immün reaksiyonları engellemek ve yanlış negatif sonuçlardan kaçınmak için homolog hazırlanan PRP'ye 25 Gy Radyoterapi uyguladık.

PRP uygun şekilde hazırlanıp antikoagülanlarla muamele edildikten sonra, içerisindeki trombositler 8 saat canlılıklarını koruyabilirler. PRP içerisindeki trombositlerin etkin olabilmeleri için, kullanım esnasında ya da kullanımdan hemen önce aktive edilmeleri gerekir. Bu amaçla en sık kullanılanlar sığır trombin ve kalsiyumdur (29, 30, 33). Biz de aktivasyon için çalışmamızda 1000 ünite/ml oranında

trombin içeren toz ürünü, 5 ml % 10'luk kalsiyum klorür ile sulandırarak 200 ünite/ml oranında trombin solüsyonu oluşturduk.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, PRP ile tedavi edilen yaralar kontrol gruplarına göre makroskopik ve mikroskopik olarak daha hızlı iyileşme gösterdi. Bu özellikler, PRP uygulamasının bilinen etkilerinden biri olan hızlandırılmış doku rejenerasyonunu yansıtmaktadır (113). Proliferatif faz, granülasyon oluşumu, anjiyojenez, reepitelizasyon ve kollajen sentezi ile onarım veya rejenerasyon olarak da bilinir. Bu çalışmada yara oluşturulmasından 7, 14 ve 21 gün sonra inflamasyon şiddeti, neovaskülarizasyon (damar yoğunluğu), fibroblast proliferasyonu, kollojen yoğunluğu ve epitelizasyona bakılıp, her parametre ayrı ayrı skorlandırıldı.

İnflamasyon şiddeti PRP'nin anti-inflamatuar etkinliğini araştırmak için değerlendirilmeye alındı. El-Sharkawy ve ark.'nın (114) yaptığı bir çalışmada, PRP'nin anti-inflamatuar etkilerinin olduğunu da saptamıştır. Bundan hareketle yaptığımız çalışmada inflamasyon şiddeti deney ve kontrol grupları arasında 7. ve 14. günlerde anlamlı istatistiksel farklılık göstermezken, 21. günde deney grubunda inflamasyon şiddeti kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük izlendi. PRP'nin bu anti-inflamatuar etkisi inflamatuvar sitokinlerin salınımını suprese etmesiyle olur.

Neovaskülarizasyon, yeni kapiller oluşumu için endotel hücrelerinin harekete geçmesi, göç etmesi ve çoğalmasını gerektiren, normal şartlarda erişkinlerde nadir gözlenmesine rağmen tümör oluşumu, romatoid artrit ve diyabetik retinopati gibi patolojik durumlarda kontrolsüz olarak işleyen biyolojik bir mekanizmadır. Yakın zamanda araştırmacılar bazı büyüme faktörlerinin doğrudan veya dolaylı olarak anjiyogenezi uyardığını saptamışlardır. Bu büyüme faktörleri arasında, FGF, PDGF, TGF- β ve VEGF en iyi bilinen ve üzerinde en çok çalışılanlardır. Bunlar arasında VEGF en güçlü anjiyojenik etki gösterendir ve hipoksinin VEGF salınımını uyardığı saptanmıştır. (115). PRP'nin bu anjiogenetik faktörler yönünden oldukça zengin olduğu düşünülürse, bu ürünün yara iyileşmesini arttırabileceği hipotezi oldukça tutarlıdır. Çalışmamızda neovaskülarizasyon deney ve kontrol grupları arasında 1. haftada anlamlı farklılık göstermezken, 2. ve 3. haftada deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdi. Bu sonuçlar yapılan klinik çalışmalarla uyumlu görüldü.

Fibroblast proliferasyonu ve kollojen yoğunluğu TGF- β , IGF-1, b-FGF gibi PRP içerisinde bulunan büyüme faktörleri tarafından stimüle edildiği çeşitli klinik ve hayvan

alışmalarında bildirilmiştir. Bizim alışmamızda PRP uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında fibroblast proliferasyonu ve kollojen yoğunluğu değeriendirilirken, 1. haftada deney ve kontrol grupları arasında anlamlı istatistiksel fark gözlenmedi. Ancak 2. ve 3. haftalarda PRP uygulanan ve uygulanmayan grup arasında fibroblast proliferasyonu ve kollojen yoğunluğu açısından, PRP uygulanan grupta artış istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi. Bu sonuçlar Kaiikawa' nın ratlarda yaptıkları bir çalışmada zarar görmüş tendona erken dönemde yaptıkları PRP enjeksiyonundan sonra kollajen fiberlerinin ve fibroblastların sayısının arttığını gösteren klinik çalışmayla uyumludur. (116)

Lee ve ark.'nın yaptığı hayvan deneylerinde PRP uygulamasının epitelizasyonu hızlandırıldığını (117) ve inflamatuvar yanıtta daha hızlı bir çözünürlüğü kaydettiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Dahası, Vaterio ve ark., Plastik cerrahisi uygulamalarında hastadan yağ grefti alınması sırasında PRP'yi kullanarak cilt reepitelyalizasyonunda ivme kazanmıştır (118). Bu çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda 2. ve 3. haftalarda PRP uygulanan grupta uygulanmayan gruba göre epitelizasyonun istatistiksel olarak anlamlı arttığı gözlendi.

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları vardır. Öncelikle hayvan sayısı sınırlıydı. Hayvanlardan alınan kan miktarı da az olduğu için trombosit yoğunluğunu istediğimiz kadar yakalayamamış olabiliriz. Elde ettiğimiz PRP içindeki trombosit sayısını da sayısal olarak belirleyememiz çalışmanın eksikliklerindendir

6. SONUÇ

Sistematik inceleme ve histolojik analiz sonuçlarına göre, PRP ile tedavi edilen grubun yara iyileşme süresinin kontrol grubuna göre daha kısa olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, doku onarımı ve deneysel yara iyileşmesi alanlarındaki araştırmacılar için yararlı olabilir. Bu çalışma ratlarda ağız yarası tedavisinde ilk kez uygulanmış olup, sonuçlarının ileriye dönük daha az invazif, az maliyetli ve alternatif fizyolojik temelli bir tedavi metodunun geliştirilmesine katkı sunabileceği düşünülmektedir. PRP'nin yara iyileşmesindeki rolünü belirlemek için daha ileri klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

1. Ballenger JJ, Snow JB. Ballenger's otorhinolaryngology: head and neck surgery. Vol. 1. Pmhp-usa; 2003.
2. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. Ann Surg Oncol. 2010 Jun;17(6):1471-4.
3. Bruch JM, Treister NS. Clinical Oral Medicine and Pathology. Totowa, NJ; 2010.
4. Perez CA, Halperin EC, Brady LW, Wazer DE. Perez & Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology. Lippincott Williams & Wilkins; 2013. 1907 p.
5. Shah JP, Patel SG, Singh B. Jatin Shah's Head and Neck Surgery and Oncology. In Elsevier Health Sciences; 2012. p. 856.
6. Kurt N. Akut Ve Kronik Yara Bakımı. Kurt N. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2003.
7. Hassi J. Frostbite, a common cold injury: challenges in treatment and prevention. Int J Circumpolar Health 2000;59(2):90-1.
8. Aktaş Ş. Kronik Yarada Lokal Faktörler Ve Yardımcı Tedaviler. ANKEM Derg 2012;26(Ek 2):217-22.
9. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. Br Dent J 1992;172(8):305-12.
10. Siervo S. Suturing Techniques In Oral Surgery, 1st Ed. Milano: Quintessence Publishing, 2001: p.11-66.
11. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. J Int Med Res 2009;37(5):1528-42.
12. Kirsner RS, Eaglstein WH. The wound healing process. Dermatol Clin 1993;11(4):629-40.
13. Grinnell F, Billingham RE, Burgess L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. J Invest Dermatol 1981;76(3):181-9.
14. Noli C, Miolo A. The mast cell in wound healing. Vet Dermatol 2001;12(6):303-13.
15. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. N Engl J Med 1999;341(10):738-46.
16. Bozkırlı FBA. Rat İskemik Yara Modelinde Topikal Clinoptilolite Zeolit Kullanımının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. 2012, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıpta Uzmanlık Tezi, 111 sayfa, Ankara, (Prof. Dr. Osman Latifoğlu).

17. Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair a study with antineutrophil serum. *J Clin Invest* 1972;51(8):2009-23.
18. Lewis JS, Lee JA, Underwood JC, Harris AL, Lewis CE. Macrophage responses to hypoxia: relevance to disease mechanisms. *J Leukoc Biol* 1999;66(6):889-900.
19. Falanga V. Growth factors and wound healing. *J Dermatol Surg Oncol* 1993;19(8):711-4.
20. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol* 2007;25(1):9-
21. Brown LF, Detmar M, Claffey K, Nagy JA, Feng D, Dvorak AM, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS* 1997;79:233-69.
22. Senger DR, Claffey KP, Benes JE, Perruzzi CA, Sergiou AP, Detmar M. Angiogenesis promoted by vascular endothelial growth factor: regulation through $\alpha 1\beta 1$ and $\alpha 2\beta 1$ integrins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(25):13612-7.
23. Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol* 1998;152(6):1445-52.
24. Broughton G, 2nd, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2006;117(7 Suppl):12S-34S.
25. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci* 2004;9:283-9.
26. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg* 1998;176(2A Suppl):26S-38S.
27. Altıparmak M. Diabetik Ratlarda Kantaronun Deri Yarası Üzerine Etkisi. 2012, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıpta Uzmanlık Tezi, 69 Sayfa, Kayseri, (Doç. Dr. Teoman Eskitaşçıoğlu).
28. Köklü AHK, Çankal DAU. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler İçerisinde Beslenmenin Yeri. *Atatürk Üniv Dış Hek Fak Derg* 2013;Supplement: 7:135-41.
29. Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: Biology and new technology. *J Craniofac Surg.* 2005;16(6):1043–54.
30. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: A review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118(6):147e-159e.
31. Stenberg PE, Hill RJ. Platelets and megakaryocytes. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, editors. *Wintrobe's clinical hematology*. 10th ed. Egypt, 1999. Volume 1, p: 615–60

32. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225–8.
33. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(4):489–96.
34. Haynesworth S. Platelet-rich plasma stimulates stem cell chemotaxis, proliferation and potentiates osteogenic differentiation. *The Spine Journal.* 2006;2(5):68-72
35. Shenaq SM, Kim JYS. Repair and grafting of peripheral nevre. In: Mathes SJ, editor. *Plastic surgery.* 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006. Volume 1, p: 719–43
36. Lundborg G. Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand.* 1987;58(2):145–69.
37. Shier D, Butler J, Lewis R. Hole's Essentials of human anatomy and physiology. 9th ed. New York: McGraw Hill; 2006. p: 202–42
38. Woodell-May JE, Ridderman DN, Swift MJ, Higgins J. Producing accurate platelet counts for platelet rich plasma: validation of a hematology analyzer and preparation techniques for counting. *J Craniofac Surg.* 2005;16(5):749–56, discussion 757–9.
39. Leitner GC, Gruber R, Neumüller J, Wagner A, Kloimstein P, Höcker P, Körmöcz GF, Buchta C. Platelet content and growth factor release in plateletrich plasma: A comparison of four different systems. *Vox Sang.* 2006;91(2):135–9.
40. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55(11):1294–9.
41. Klongnoi B, Rupprecht S, Kessler P, Thorwarth M, Wiltfang J, Schlegel KA. Influence of platelet-rich plasma on a bioglass and autogenous bone in sinus augmentation. An explorative study. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(3):312–20.
42. Anitua E. Plasma rich in growth factors: Preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999 Jul;14(4):529–35.
43. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andía I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends Biotechnol.* 2006;24(5):227–34.
44. Robiony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and plateletrich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: Preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60(6):630–5.
45. Della Valle A, Sammartino G, Marenzi G, Tia M, Espedito di Lauro A, Ferrari F, Lo Muzio L. Prevention of postoperative bleeding in anticoagulated patients undergoing oral surgery: Use of platelet-rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61(11):1275–8.

46. Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg.* 2002;18(1):27–33.
47. Welsh WJ. Autologous platelet gel-Clinical function and usage in plastic surgery. *Cosmetic Dermatol.* 2000;7(6):13–19
48. Jackson RF. Using platelet-rich plasma to promote healing and prevent seroma formation in abdominoplasty procedures. *Am J Cosmetic Surg.* 2003;20(4):185–94
49. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2001;107(1):229–37.
50. Bose B, Balzarini MA. Bone graft gel: Autologous growth factors used with autograft bone for lumbar spine fusions. *Adv Ther.* 2002;19(4):170–5.
51. Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE. Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. *Bone.* 1999;25(2 Suppl):47S-50S.
52. DelRossi AJ, Cernaianu AC, Vertrees RA, Wacker CJ, Fuller SJ, Cilley JH, Baldino WA. Platelet-rich plasma reduces postoperative blood loss after cardiopulmonary bypass. *J Thorac and Cardiovasc Surg.* 1990;100: 281–286
53. Carter CA, Jolly DG, Worden CE Sr, Hendren DG, Kane CJ. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol.* 2003;74(3):244–55.
54. Henderson JL, Cupp CL, Ross EV, Shick PC, Keefe MA, Wester DC, Hannon T, McConnell D. The effects of autologous platelet gel on wound healing. *Ear Nose Throat J.* 2003;82(8):598–602.
55. Dugrillon A, Klüter H. Topical application of platelets for improved wound healing. *Blood Therapies Med.* 2002; 3(1):21–26
56. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2004;114(6):1502–8
57. Kimura A, Ogata H, Yazawa M, Watanabe N, Mori T, Nakajima T. The effects of platelet-rich plasma on cutaneous incisional wound healing in rats. *J Dermatol Sci.* 2005;40(3):205–8.
58. Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, Moroni M, Carabelli A. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci.* 2004;30(2):145–51.
59. Aspenberg P, Virchenko O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand.* 2004;75(1):93–9.

60. Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Carson KA, Byrne PJ. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope*. 2007;117(1):157–65
61. Sarıgüney Y. Periferik sinir yaralanmalarının onarımında trombosit zengin plazmanın sinir rejenerasyonu üzerine etkisi, Uzmanlık tezi, Ankara, 2006.
62. Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev*. 1999;79(4):1283–316.
63. Grazul-Bilska AT, Johnson ML, Bilski JJ, Redmer DA, Reynolds LP, Abdullah A, Abdullah KM. Wound healing: the role of growth factors. *Drugs Today (Barc)*. 2003;39(10):787–800.
64. Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Griffin GL, Senior RM, Deuel TF. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta enhance tissue repair activities by unique mechanisms. *J Cell Biol*. 1989;109(1):429–40.
65. Rudkin GH, Miller TA. Growth factors in surgery. *Plast Reconstr Surg*. 1996; 97(2): 469–76.
66. Greenhalgh DG. The role of growth factors in wound healing. *J Trauma*. 1996;41(1):159–67.
67. Chan RK, Liu PH, Pietramaggiore G, Ibrahim SI, Hechtman HB, Orgill DP. Effect of recombinant platelet-derived growth factor (Regranex) on wound closure in genetically diabetic mice. *J Burn Care Res*. 2006;27(2):202–5.
68. Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Adv Skin Wound Care*. 2004;17(1):24–35.
69. Oya T, Zhao YL, Takagawa K, Kawaguchi M, Shirakawa K, Yamauchi T, Sasahara M. Platelet-derived growth factor-b expression induced after rat peripheral nerve injuries. *Glia*. 2002;38(4):303–
70. Sasahara M, Fries JW, Raines EW, Gown AM, Westrum LE, Frosch MP, Bonthron DT, Ross R, Collins T. PDGF B-chain in neurons of the central nervous system, posterior pituitary, and in a transgenic model. *Cell*. 1991;64(1):217–27.
71. Ohno M, Sasahara M, Narumiya S, Tanaka N, Yamano T, Shimada M, Hazama F. Expression of platelet-derived growth factor B-chain and beta-receptor in hypoxic/ischemic encephalopathy of neonatal rats. *Neuroscience*. 1999;90(2):643–51
72. Allamargot C, Pouplard-Barthelaix A, Fressinaud C. A single intracerebral microinjection of platelet-derived growth factor (PDGF) accelerates the rate of remyelination in vivo. *Brain Res*. 2001;918(1–2):28–39
73. Smiths A, Kato M, Westermark B, Nistér M, Heldin CH, Funa K. Neurotrophic activity of platelet-derived growth factor (PDGF): Rat neuronal cells possess functional PDGF beta-type receptors and respond to PDGF. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(18):8159–63.

74. Iihara K, Hashimoto N, Tsukahara T, Sakata M, Yanamoto H and Taniguchi T. Platelet-derived growth factor-BB, but not -AA, prevents delayed neuronal death after forebrain ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1997;17:1097–106
75. Davis JB, Stroobant P. Platelet-derived growth factors and fibroblast growth factors are mitogens for rat Schwann cells. *J Cell Biol.* 1990;110(4):1353–60
76. Lobsiger CS, Schweitzer B, Taylor V, Suter U. Platelet-derived growth factor-BB supports the survival of cultured rat Schwann cell precursors in synergy with neurotrophin-3. *Glia.* 2000;30(3):290–300.
77. Eccleston PA, Funa K, Heldin CH. Expression of platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF alpha- and beta-receptors in the peripheral nervous system: an analysis of sciatic nerve and dorsal root ganglia. *Dev Biol.* 1993;155(2):459–70.
78. Carter CA, Jolly DG, Worden CE Sr, Hendren DG, Kane CJ. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol.* 2003;74(3):244–55
79. Ridley AJ, Davis JB, Stroobant P, Land H. Transforming growth factors-beta 1 and beta 2 are mitogens for rat Schwann cells. *J Cell Biol.* 1989;109(6 Pt 2):3419–24
80. Sulaiman OA, Gordon T. Transforming growth factor-beta and forskolin attenuate the adverse effects of long-term Schwann cell denervation on peripheral nerve regeneration in vivo. *Glia.* 2002;37(3):206–18
81. Corral CJ, Siddiqui A, Wu L, Farrell CL, Lyons D, Mustoe TA. Vascular endothelial growth factor is more important than basic fibroblastic growth factor during ischemic wound healing. *Arch Surg.* 1999;134(2):200–5
82. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev.* 1997;18(1):4–25.
83. Storkebaum E, Carmeliet P. VEGF: A critical player in neurodegeneration. *J Clin Invest.* 2004;113(1):14–8.
84. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci.* 1999;19(14):5731–40.
85. Hobson MI, Green CJ, Terenghi G. VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *J Anat.* 2000;197(4):591–605.
86. Rydel RE, Greene LA. Acidic and basic fibroblast growth factors promote stable neurite outgrowth and neuronal differentiation in cultures of PC12 cells. *J Neurosci.* 1987;7(11):3639–53.
87. Engele J, Bohn MC. The neurotrophic effects of fibroblast growth factors on dopaminergic neurons in vitro are mediated by mesencephalic glia. *J Neurosci.* 1991;11(10):3070–8. Erratum in: *J Neurosci* 1992;12(3):685.

88. Cordeiro PG, Seckel BR, Lipton SA, D'Amore PA, Wagner J, Madison R. Acidic fibroblast growth factor enhances peripheral nerve regeneration in vivo. *Plast Reconstr Surg.* 1989;83(6):1013–9
89. Fujimoto E, Mizoguchi A, Hanada K, Yajima M, Ide C. Basic fibroblast growth factor promotes extension of regenerating axons of peripheral nerve. In vivo experiments using a Schwann cell basal lamina tube model. *J Neurocytol.* 1997;26(8):511–28.
90. Aebischer P, Salessiotis AN, Winn SR. Basic fibroblast growth factor released from synthetic guidance channels facilitates peripheral nerve regeneration across long nerve gaps. *J Neurosci Res.* 1989;23(3):282–9.
91. Lynch SE, Nixon JC, Colvin RB, Antoniades HN. Role of platelet-derived growth factor in wound healing: Synergistic effects with other growth factors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(21):7696–700.
92. Lutz BS, Wei FC, Ma SF, Chuang DC. Effects of insulin-like growth factor–1 in motor nerve regeneration after nerve transection and repair vs. nerve crushing injury in the rat. *Acta Neurochir (Wien).* 1999;141(10):1101–6.
93. Sjöberg J, Kanje M. Insulin-like growth factor (IGF–1) as a stimulator of regeneration in the freeze-injured rat sciatic nerve. *Brain Res.* 1989;485(1):102–8.
94. Kanje M, Skottner A, Sjöberg J, Lundborg G. Insulin-like growth factor I (IGF-I) stimulates regeneration of the rat sciatic nerve. *Brain Res.* 1989;486(2):396–8.
95. Near SL, Whalen LR, Miller JA, Ishii DN. Insulin-like growth factor II stimulates motor nerve regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(24):11716–20
96. Pu SF, Zhuang HX, Marsh DJ, Ishii DN. Insulin-like growth factor-II increases and IGF is required for postnatal rat spinal motorneuron survival following sciatic nerve axotomy. *J Neurosci Res.* 1999;55(1):9–16.
97. Şimşek BM. Farklı formlardaki epidermal büyüme faktörü (EGF)'nün yara iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik olarak araştırılması. Doktora tezi, Ankara, 1998
98. Wildering WC, Hermann PM, Bulloch AG. Lymnaea epidermal growth factor promotes axonal regeneration in CNS organ culture. *J Neurosci.* 2001;21(23):9345–54.
99. Dubuisson AS, Beuermann RW, Kline DG. Sciatic nerve regeneration across gaps within collagen chambers: The influence of epidermal growth factor. *J Reconstr Microsurg.* 1993;9(5):341–6
100. Welch JA, Kraus KH, Wells MR, Blunt DG, Weremowitz J. Effect of combined administration of insulin-like growth factor and platelet-derived growth factor on the regeneration of transected and anastomosed sciatic nerve in rats. *Am J Vet Res.* 1997;58(9):1033–7.

101. Oudega M, Xu XM, Guénard V, Kleitman N, Bunge MB. A combination of insulin-like growth factor-I and platelet-derived growth factor enhances myelination but diminishes axonal regeneration into Schwann cell grafts in the adult rat spinal cord. *Glia*. 1997;19(3):247–58.
102. Wells MR, Kraus K, Batter DK, Blunt DG, Weremowitz J, Lynch SE, Antoniadis HN, Hansson HA. Gel matrix vehicles for growth factor application in nerve gap injuries repaired with tubes: A comparison of biomatrix, collagen, and methylcellulose. *Exp Neurol*. 1997;146(2):395–402
103. Meier C, Parmantier E, Brennan A, Mirsky R, Jessen KR. Developing Schwann cells acquire the ability to survive without axons by establishing an autocrine circuit involving insulin-like growth factor, neurotrophin-3, and platelet-derived growth factor-BB. *J Neurosci*. 1999;19(10):3847–59.
104. Lundborg G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg [Am]*. 2000;25(3):391–414.
105. Özgenel GY. Effects of hyaluronic acid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. *Microsurgery*. 2003;23(6):575–81.
106. Özgenel GY, Filiz G. Effects of human amniotic fluid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. *J Neurosurg*. 2003;98(2):371–7.
107. Whitworth IH, Brown RA, Doré CJ, Anand P, Green CJ, Terenghi G. Nerve growth factor enhances nerve regeneration through fibronectin grafts. *J Hand Surg [Br]*. 1996;21(4):514–22.
108. Johnston DE. Wound healing in skin. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1990, 20, 1-25.
109. Carter K. Growth factors: the wound healing therapy of the future. *Br J Community Nurs* 2003, 8, S15-16, S18-19, S22-13.
110. Ahmad Z, Howard D, Brooks RA, Wardale J, Henson FMD, Getgood A, et al. The role of platelet rich plasma in musculoskeletal science. *J Royal Soc Med*. 2012;3(6):40–5.
111. Gotterbarm T, Richter W, Jung M, Berardi S. An in vivo study of a growthfactor enhanced, cell free, twolayered collagen-tricalcium phosphate in deep osteochondral defects. *Biomaterials*. 2006;27:3387–95
112. Shin HS, Oh HY. The effect of platelet rich plasma on wounds of OLETF rats using expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 mRNA. *Arch Plastic Surg*. 2012;39(2):106–12.
113. Smith RG, Gassmann CJ, Campbell MS. Platelet-rich plasma: properties and clinical applications. *J Lancaster Gen Hosp* 2007, 2, 73-78

114. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, et al : Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol* 2007;78:661-9.
115. Gurunluoglu R, Ozer K, Skugor B, Lubiowski P, Carnevale K, Siemionow M. Effect of transfection time on the survival of epigastric skin flaps pretreated with adenovirus encoding the VEGF gene. *Ann Plast Surg*. 2002 Aug;49(2):161 -9
116. Kajikawa Y, Morihara T, Sakamoto H, Matsuda K, Oshima Y, Yoshida A et al. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendon healing. *J Cell Physiol*. 2008; 215:837-45.
117. Lee HW, Reddy SM, Palcanis GK, Jack EL, Rahemtulla FG, Ho KJ, et al. Efficacy of platelet- rich plasma on wound healing in rabbits. *J Periodontol*. 2008;79(4):691 –6.
118. Cervelli V, Gentile P, Scioli MG, Grimaldi M, Casciani CU, Spagnoli LG, et al. Application of platelet-rich plasma in plastic surgery clinical and in vitro evaluation. *Tissue Eng Part C Methods*. 2009;15(4):625–34