

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

ADİPÖZ DOKU KAYNAKLI MEZENŞİMAL KÖK HÜCRELERİN UTERİN
SKARLARIN TEDAVİSİNDEKİ YERİ

Dr. RUKİYE ADA BENDER

UZMANLIK TEZİ

KIRIKKALE

2013

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

ADİPÖZ DOKU KAYNAKLI MEZENŞİMAL KÖK HÜCRELERİN UTERİN
SKARLARIN TEDAVİSİNDEKİ YERİ

Dr. RUKİYE ADA BENDER

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. AYKAN YÜCEL

KIRIKKALE

2013

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

17.06.2013

Prof. Dr. Nevin SAĞSÖZ

Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Kadın Hastalıkları ve Doğum AD. Başkanı

Jüri Başkan

Prof. Dr. Volkan NOYAN

Doç. Dr. Aykan YÜCEL

Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.

Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.

Üye

Üye

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca deneyim ve desteğini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum saygı değer hocam Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nevin SAĞSÖZ'e,

Zorlu uzmanlık eğitimim boyunca her alanda yol gösterici tavrı ile karşılaştığım birçok engeli aşmamı sağlayan, sahip olduğum koşulları önemsemeden daha ileri gitmem konusunda beni cesaretlendiren, hastaya yaklaşım, cerrahi girişimler, hasta takibi gibi mesleki konularda her türlü bilgi, görüş ve beceriyi bizimle paylaşan, hekimliğin ancak bilimsellikle birlikte yürütülebilecek bir zanaat olduğunu anlatıp, uygulatan tez danışmanım sayın hocam Doç. Dr. Aykan Yücel'e,

Bilgi birikimi ve cerrahi girişimlerdeki başarısı ile örnek aldığım, sadece mesleki alanda değil yaşamla ilgili konularda da objektif bakış açısı ile alternatif fikirler üreten ve üretmemi sağlayan, saygı değer hocam Prof. Dr. Volkan NOYAN'a,

Asistanlık eğitimimde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Zeynep Özcan DAĞ'a,

Tanımaktan ve beraber çalışmaktan ayrı bir keyif ve haz duyduğum, bana uzmanlık tezimin hazırlanması süresince her anlamda destek olan, çok değerli ve saygı değer hocalarım Doç. Dr. Aylin GÜRPINAR ve Yard. Doç. Dr. Faruk Metin ÇOMU'ya

Yaşanan, gidilen ve gidilecek tüm şehirlerdeki dost yüzlerim olan Op. Dr. Gülşah USTA ve Uzm. Dr. Çağatay BÖLGEN'e

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, hemşire, personel ve ameliyathane çalışanlarına,

Hayatımın her anında beni destekleyen, koruyan, ayakta tutan, başardığım her işin ardından benim için benden çok mutlu olan ama en büyük teşekkürü hak eden varlığımın tek nedenleri annem ve babama,

Kalabalığın mutluluğuna doğuştan sahip olmamı sağlayan başta abim, kardeşim olmak üzere tüm aileme ve Kuzey'e

ÖZET

BENDER RA., Adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin uterin skarların tedavisindeki yeri, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2013

Uterus hipertrofiye uğrayan, içerdği yoğun düz kas tabakası ile kasılabilen, kanlanması ile gebelik döneminde vücutta dağılan toplam kan hacminden çok büyük pay alan, mezenşim kaynaklı bir organdır. Reprodüktif dönemde ya da öncesinde birçok nedene bağlı olarak geçirilen cerrahi operasyonlara ait uterin skarlar bulunabilir. Bu nedenler arasında en büyük pay sezaryene aittir. Skar dokusunun içeriği sağlam uterus dokusu ile aynı olmayıp skar iyileşmesi sonucu gelişen fibrozis nedeniyle doku gerimi ve sağlamlığı sağlam dokuya göre azalmıştır. Böyle bir doku gebelik döneminde büyüyen ve kasılan uterusda zayıf nokta teşkil edip uterin rüptür olasılığını artırır. Uterin rüptür farklı derecelerde görülüp hem fetus hem de anneye ait morbidite ve mortaliteyi ciddi oranda artırır. Bu risk klinisyen ve hastanın sezaryen sonrası vajinal doğuma olan yaklaşımında endişeye neden olmaktadır. Bunun da ötesinde ilerleyen gebelik haftalarında hastalara elektif sezaryen planlansa dahi spontan rüptürler oluşabilmektedir. Sonuç olarak, uterin skarların iyileşmesini normal dokuya en yakın hale getirmek gebelikteki uterin rüptür riskini önleyecektir. Bu hipotezden yola çıkarak adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücreleri kullanarak yara iyileşmesini artırmayı amaçladık. Çalışmamızda kullandığımız adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücreler yara iyileşmesi döneminde kullanıldığında bu bölgede sağlam dokuda bulunan mezenşim kökenli hücrelere differansiyasyon göstererek iyileşmeyi optimum düzeyde sağlamaktadır. Bildiğimiz kadarıyla şimdiye kadar adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin uterin skar tedavisindeki yerini doku gerimi ve histopatoloji ile değerlendiren çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda ratlar üzerinde histeretomi yapıp primer sütürasyon sonucu yara iyileşmesini doku gerimi ve histopatolojik olarak değerlendirmeyi ve adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin yara iyileşmesindeki olumlu etkilerini belirlemeyi amaçladık. Bu amaçla çalışmada 19 adet Wistar Albino cinsi, eş yaşlı, 250-300 gr ağırlığındaki dişi ratlar kullanıldı. Ratlardan randomize seçilen 3 tanesi ile deneyde kullanılacak

adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücreler hazırlandı. Geriye kalan 16 rat randomize olarak her grupta 8'er adet olmak üzere deney ve kontrol grubu olarak ayrıldı. Kontrol grubunda: soldaki uterin horna histeretomi yapıp sadece primer sütüre edildi. Deney grubunda ise: soldaki uterin horna histeretomi yapıp primer sütürasyon sonrası insizyon hattına adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücreler yerleştirildi.

Kontrol grubunda kesi yapılmış uterin hornların ağırlıkları kesi yapılmamış uterin hornlara göre anlamlı olarak azalmış ($p=0.012$), deney grubunda ise anlamlı olarak artmış ($p=0.012$) olarak bulundu. Doku gerimi değerlendirildiğinde kontrol grubunda kesi yapılmış uterin hornların gerim kuvveti kesi yapılmamış uterin hornlara göre anlamlı olarak azalmışken ($p=0.012$), deney grubunda kesi yapılmamış ve yapılmış uterin hornların gerim kuvveti arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.123$). Deney ve kontrol grubunun kesi yapılmamış uterin hornları birbirleri ile kıyaslandığında ağırlık ve gerim kuvvetleri arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p=0.06$, $p=0.07$). Deney ve kontrol grubunun kesi yapılmış uterin hornları ağırlıkları açısından değerlendirildiğinde anlamlı fark yokken ($p=0.07$), gerim kuvvetleri arasında deney grubu lehine anlamlı fark vardır ($p=0.04$). Patoloji sonuçlarına bakıldığında deney ve kontrol grubunun kesi yapılmamış uterin hornlarında yapılan histomorfolojik skorlama değerleri arasında anlamlı fark izlenmedi. Kesi yapılmış uterin hornlarda ise kontrol grubunda ödem ve mononükleer hücre infiltrasyonu anlamlı olarak daha fazlaydı, anlamlı başka bir fark izlenmedi. Deney grubunda kesi yapılmamış ve yapılmış uterin hornların histomorfolojik bulguları birbirleri ile kıyaslandığında kesi yapılmış uterin hornlarda kanama, ayrılma ve anjiogenez anlamlı olarak artmıştır ($p=0.049$, $p=0.049$, $p=0.048$). Kontrol grubundaki uterin hornlardan kesi yapılmış olanlarda sadece mononükleer hücre infiltrasyonu kesi yapılmış uterin hornlara göre anlamlı olarak daha fazladır. Sonuç olarak, adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücreler yara iyileşmesinde doku gerimini artırıp dokunun iyileşmesi aşamasında anjiogenezi efektif hale getirmiştir, uterin skarların iyileşmesinde operasyon sonrası kullanıldığında aynı uterusda gebelik oluştuğunda görülebilecek uterin rüptürleri önleyebileceği düşünülmüştür. Adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin insan uterusu insizyon hattındaki yara iyileşmesinde kullanımına dair prospektif çalışmalar, uterin rüptür olasılığını ve sezaryen oranlarını azaltmada etkin olan bir korunma yöntemini gündeme getirebilir.

Anahtar kelimeler: Rat, uterus, sezaryen, skar, rüptür, yara iyileşmesi, adipöz doku

ABSTRACT

BENDER RA., The Effect of Adipose Tissue Derived Mesenchymal Stem Cells on Regeneration in Uterine Scars, Kırıkkale University, Faculty Of Medicine, Department Obstetrics and Gynecology, Proficiency Thesis, Kırıkkale 2013.

Uterus is a mesenchymal organ that is able to undergo hypertrophy, contract by the multiple smooth muscle cells involved and use a big ratio of the total blood volume by angiogenesis during pregnancy. Before or during the reproductive period, operative uterine scars can be seen by many indications that cesarean section is the most common one. Scar is consisted of fibrosis, different to the healthy areas of uterus, that reduces the responsibility and tissue tensile strength of the scar tissue comparing to the normal uterine tissue. Such a tissue like this in an enlarged and sometimes contracting pregnant uterus, forms a weak point leading to rupture. Uterine rupture shows different degrees of severity inducing the risk of morbidity and mortality for both mother and fetus. This risk causes an anxiety on either clinician or the woman laboring for a vaginal birth after cesarean. Further to that, even if elective cesarean is planned for the patients, at later weeks of pregnancy spontaneous rupture can occur. As a result, healing the uterine scars and make the histomorphology most similar to the normal tissue, will reduce the risk for uterine rupture in pregnancy. Based on this hypothesis, we aimed to augment wound healing by using adipose tissue derived mesenchymal stem cells. These stem cells, when used at the healing period of wound, differentiate to the normal mesenchymal cells of this anatomic region finally, they help forward wound healing. According to our knowledge, there has been no study about the role of adipose tissue derived mesenchymal stem cells in the treatment

of uterine scar, evaluating with tissue tensile strength and histopathology. In our study, by making uterine incision in rats, our object was considering the primarily sutured wound healing in terms of tissue tensile strength and histopathology and identify the positive impacts of adipose tissue derived mesenchymal stem cells on wound healing. For this purpose, we used 19 female Wistar Albino rats, at the same age and weighted between 250- 300 grams in the study. Randomly selected 3 of the individuals were used for producing adipose tissue derived mesenchymal stem cells. The rest 16 rats were randomly divided into two groups as study group and control group, each group involving 8 rats.

In the control group, left uterine horn was incised and then only primarily sutured. In the study group, left uterine horn was incised, primarily sutured and subsequently adipose tissue derived mesenchymal stem cells were put into the incision area. Weights of the incised horns were significantly lower comparing to the intact horns in control group ($p=0.012$); in the study group, weights were significantly high ($p=0.012$). Evaluating the tissue tensile strength, incised horns had significantly reduced tensile strength in comparison with not-incised horns ($p=0.012$); but in study group, no difference was observed between the incised and not-incised horns ($p=0.123$).

Making a comparison between the not-incised horns of the study and control group, there was no significant difference in terms of weight and tissue tensile strength ($p=0.06$, $p=0.07$, respectively). Although we found no significant weight difference between the incised horns of study and control group ($p=0.07$); in terms of strength, study group had higher value ($p=0.04$).

Considering the pathologic results, histopathologic scoring values were not significantly different between the study and control group. Investigating the incised horns, control group had significantly higher amount of edema and mononuclear cell infiltration and there was no other significant difference. In the study group, comparing the histomorphologic results of the incised and not-incised horns, amount of hemorrhage, dehiscence and angiogenesis is significantly induced in the incised horns ($p=0.049$, $p=0.049$, $p=0.048$, respectively). In control group, incised horns only had significantly more mononuclear cell infiltration than not-incised horns.

As a result, adipose tissue derived mesenchymal stem cells, during the wound healing, induces the tissue tensile strength and made angiogenesis more effective; when used just after the suture, these cells may prevent the uterine rupture in the subsequent pregnancy. Prospective

studies about the use of adipose tissue derived mesenchymal stem cells for wound healing, may lower uterin rupture frequencies and bring up a method protection that decreases cesarien ratios.

Key words: Rat, uterus, cesarean, scar, rupture, wound healing, adipose tissue derived mesenchymal stem cells.

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xiii
TABLolar LİSTESİ	xvi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvii
RESİM LİSTESİ	xviii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Uterus	2
2.1.1. Uterusun Embriyolojisi	2
2.1.2. Uterusun Anatomisi	3
2.1.3. Uterusun Histolojisi	6

2.1.4. Sıçanlarda Uterus Anatomisi Ve Histolojisi	7
2.2. Yara İyileşmesi	9
2.2.1. Hemostaz	9
2.2.2. İnflamasyon	10
2.2.3. Proliferasyon	12
2.2.4. Matürasyon	15
	sayfa
2.3. Mezenşimal Kök Hücreler	17
2.3.1. Kök Hücre Tanımı Ve Kök Hücre Tipleri	17
2.3.2. Mezenşimal Kök Hücreler	17
2.3.3. Mezenşimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu	19
2.3.4. Mezenşimal Kök Hücre Kaynakları	21
2.3.5. Yağ Dokusu Mezenşimal Kök Hücreleri	22
2.4. Sezaryen	23
2.4.1. Sezaryen Tanımı	23
2.4.2. Sezaryenin Sıklığı	23
2.4.3. Sezaryen Endikasyonları	24
2.4.3.1. Fetusa Ait Endikasyonlar	2 4
2.4.3.2. Anneye Ait Endikasyonlar	2 4

2.4.3.3. Plasenta ve Eklerine Ait Endikasyonlar	2
	5
2.4.3.4. Sosyal Endikasyonlar	25
2.4.4. Sezaryen Kontrendikasyonları	26
2.5. Doğum Eylemi Denemesi İle Sezaryen Tekrarının Karşılaştırılması	26
2.5.1. İlişkili Riskler	26
2.5.1.1. Fetal Riskler	26
	sayfa
2.5.1.2. Maternal Riskler	26
2.5.2. Hastanın Tercihi	27
2.5.3. Doğum Eylemi Denemesi Adayları	27
2.5.4. Servikal Olgunlaşma Ve Doğum Eyleminin Uyarılması	29
2.6. Uterus Rüptürü	29
2.6.1. Uterus Rüptürünün Sınıflandırılması	29
2.6.2. Uterus Rüptürünün Tanısı	29
2.6.3. Uterus Rüptürünün Prognozu	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31

3.1. Ratların Temin Ve Bakımı	31
3.2. Rat Adipöz Doku Kaynaklı Mezenşimal Kök Hücrelerin Basit Teknikle İzolasyon, Kültür ve Karakterizasyonu	31
3.2.1. Hücre İzolasyonu Ve Kültürü	31
3.2.2. Hücre Karakterizasyonu	32
3.2.3. Hücre İzolasyon Ve Kültür Sonuçları	33
	sayfa
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	35
3.4. Ratlarda Histeretomi İle Uterin Skar Modelilinin Yapılması	36
3.5. Deneyin Sonlandırılması	37
3.6. Doku Germe Testleri	37
3.7. Histopatolojik İncelemeler	39
3.8. İstatistiksel Analiz Gruplarının Oluşturulması	39
3.8.1. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR	41
5. TARTIŞMA	52

6. SONUÇLAR	59
7. KAYNAKLAR	60

KISALTMALAR

Sayfa

ALCAM	Aktive Edici Lökosit Hücre Adezyon Molekülü
BGF	Kemik Büyüme Faktörü
C3a	Kompleman 3a
C5a	Kompleman 5a
CD	Cluster Of Differentiation
CTGF	Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil Sülfoksit

EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
EK	Embriyonik Kök Hücre
FBS	Fetal Bovine Serum
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
flk-3L	Fms-Benzeri Tirozin Kinaz-3 Ligand
GCSF	Granulosit Koloni-Uyarıcı Faktör
GM-CSF	Granulosit-Makrofaj Koloni-Uyarıcı Faktör
hCG	Human Koryonik Gonadotropin
HE	Hematoksilen ve Eozin
HIF	Hipoksi Tetikleyici Faktör
HLA	Human Lökosit Antijen
ICAM	İntersellüler Adezyon Molekülü
IFN	İnterferon
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL	İnterlökin
IPS	İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücre
ISCT	International Society for Cellular Therapy
İPKH	İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücre
LIF	Lökemia İnhibitör Faktör

M-CSF	Makrofaj Koloni-Uyarıcı Faktör
MHC	Major Histocompatibility Complex
MKH	Mezenşimal Kök Hücre
MMP	Matriksmetalloproteinazlar
MNH	Mononükleer Hücre
m-RNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
SSVD	Sezaryen Sonrası Vajinal Doğum
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktörü- β
TNF-α	Tümör Nekroz Faktörü- α
VCAM	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

TABLÖLAR LİSTESİ

	sayfa
Tablo 2.1. Mezenşimal kök hücrelerde yaygın olarak ifade edilen yüzey işaretleyicileri	20
Tablo 3.1. Uterus kesitlerinin histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan skorlama skalası.	39
Tablo 4.1. Deney ve kontrol grubuna ilişkin “sağlam” ve “kesi yapılmış” uterus ağırlıkları (kg).	41
Tablo 4.2. Deney ve kontrol grubuna ilişkin “sağlam” ve “kesi yapılmış” uterus gerimi (kg)	42
Tablo 4.3. Deney ve kontrol grupları arasında ağırlık ve gerim değerleri	43
Tablo 4.4. Kontrol grubuna ilişkin sağlam ve kesi yapılmış uterus değerleri	44
Tablo 4.5. Deney grubuna ilişkin sağlam ve kesi yapılmış uterus değerleri	45
Tablo 4.6. Sağlam uterusların deney ve kontrol grubunda yer alma ile patoloji sonucunda elde edilen değerleri gösteren ki kare testi sonuçları	46
Tablo 4.7. Kesi yapılmış uterusların deney ve kontrol grubunda yer alma ile patoloji sonucunda elde edilen değerleri gösteren ki kare testi sonuçları	47
Tablo 4.8. Deney ve kontrol gruplarında yer alan sağlam ve kesi yapılmış uteruslara ait patoloji verileri istatistiği	49

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1.2. Uterus, Vajina, Tubalar, Overler ve Ligamentler	4
Şekil 2.1.4. İnsan ve rat uterusu	8
Şekil 2.2.1. Trombositlerin degranülasyonu ve tromboplastik doku elemanlarının ortaya çıkışı ile hemostazın oluşumu	10
Şekil 2.2.2.1. İlk 24 saat içinde nötrofillerin yoğunlaşması	11
Şekil 2.2.2.2. 2-3 günde makrofajların yoğunluğu	12
Şekil 2.2.3. Fibroblastların protein ve büyüme faktörü sentezi ve keratinositlerin yara komşuluğundan migrasyonu	15
Şekil 2.2.4. Skar matürasyonu	16

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa
Resim 3.1. Adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin kültürlerinin 18. saatinde morfolojik olarak görünümü . a) x10 ve b)x20.	33
Resim 3.2. Mezenşimal kök hücrelerin a) 7 gün kültürleri sonrası, b)kültür plağının incelenen farklı kesişme bölgeleri.	33
Resim 3.3. İlk pasaj sonrası kültüre edilmiş hücrelerin görünümü a)x10 ve b)x20. Eritrositler tamamen uzaklaştırılmış	34
Resim 3.4. İkinci pasajdan sonra kesişen hücrelerin morfolojik görünümleri a)x20 b)x10	35
Resim 3.5. İmmünfloresan boyamadan sonra hücrelerin morfolojik görünümleri a) CD13 ile boyama x20 b) CD29 ile boyama x10	35
Resim 3.6. Kontrol grubu uteruslarda iyileşme dönemi sonrası	36
Resim 3.7. Deney grubu uteruslarda iyileşme dönemi sonrası	36
Resim 3.8. Kontrol ve deney grubundaki kesi yapılmış uterusların hacimsel farklılıkları	37
Resim 3.9. Doku germe sistemi	38

Resim 3.10. Transduser uçlarına yerleştirilmiş, gerim testi için hazır uterus	38
Resim 4.1. Kesi yapılmış uteruslarda kontrol grubunda deney grubuna göre daha fazla izlenen hücresel boyutta ödem bulgusu a) HEX40 b) HEX100	48
Resim 4.2. Lümeneye yakın alanda daha net izlenen mononükleer hücre infiltrasyonu, kontrol grubunda kesi yapılmış uteruslarda daha fazla izlenmektedir a) HEX40 b) HEX100	48
Resim 4.3. Deney grubunda kesi yapılmış uteruslarda daha fazla izlenen kanama bulguları a) HEX40 b) HEX100	50
Resim 4.4. Uterus dokusundaki ayrılma deney grubunda kesi yapılmış uteruslarda, sağlam uteruslara göre daha sık izlenmekte a) HEX40 b) HEX100	50
Resim 4.5. Yara iyileşmesinin pozitif göstergelerinden olan anjiogenez deney grubunda kesi yapılmış ve kök hücre uygulanmış uteruslarda daha sık görülmektedir a)HEX40 b)HEX100	51

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yetişkin dokuların fizyolojik rejenerasyonu ve cerrahi sonrası yenilenmeleri kök hücrelerin bu dokulara differansiye olmasıyla sağlanır. Mezenşimal kök hücreler (MKH), hematopoietik grup dışında kemik, kıkırdak, yağ, ligament ve tendon hücrelerine farklılaşabilme yeteneğine sahip multipotent özellikte hücrelerdir (1). Mezenşimal kök hücreler göç edebilme özellikleri ve dokuda hasarlı hücre ile füzyon yeteneği, çoğunlukla non-immunojenik özellikte olmaları ve salgıladıkları çeşitli faktörler sayesinde transplante edildiklerinde uygulama bölgesinde hasarlı dokunun iyileşmesine katkıda bulunmaktadır (1). Mezenşimal kök hücrelerin hasarlı organların tamirinde kullanılabilme olasılığı vardır (2).

Yağ dokusu kolayca elde edilebilir ve bir seferde fazla miktarda doku toplanabilir (3). İnsan yağ dokusu kök hücreleri, *in vitro* koşullarda adipojenik, osteojenik, kondrojenik, nörojenik ve miyojenik dokuya farklılaşabilir ve bol miktarda elde edilebilir. Bu nedenle prelinik çalışmalarda tedaviye yönelik çalışmalar yapılmaktadır (4). Yağ dokusu kök hücrelerinin immun cevap oluşturma olasılığı daha düşüktür ve kültür koşullarında kemik iliği kök hücreleri ile kıyaslandığında genetik olarak çok daha stabildir (5). Yağ dokusu mezenşimal kök hücreleri güvenilirliği ve etkinliği ile klinikte uygulanabilir özelliktedir (6).

Reprodüktif dönemde ya da öncesinde geçirilen cerrahi operasyonlara bağlı uterin skarlar görülebilir. En sık neden olan sezaryen de en çok geçirilmiş sezaryene bağlıdır. Skar dokusunun içeriği sağlam uterus dokusu ile aynı olmayıp skar iyileşmesi sonucu gelişen fibrozis nedeniyle doku gerimi ve sağlamlığı sağlam dokuya göre azalmıştır (7). Böyle bir doku gebelik döneminde büyüyen ve kasılan uterusda zayıf nokta oluşturup uterin rüptür olasılığını artırır. Uterin rüptür hem fetüs hem de anneye ait morbidite ve mortaliteyi artırır (8).

Literatürde adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin uterin skarların tedavisindeki

yerini doku gerimi ve histopatolojik olarak değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı, adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin uterin skarların tedavisindekini yerini ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus

2.1.1. Uterusun Embriyolojisi

Embriyonun kromozomal ve genetik cinsiyeti, fertilizasyon sırasında belirlenir ancak erkek ve dişi yapısal özellikleri embriyonik 7. haftadan sonra ayırt edilebilir. Genital sistem erken dönemde her iki cinsten de birbirine benzer, bu nedenle genital sistem gelişiminin başlangıç evresi ‘farklanmamış evre’ olarak adlandırılır (9).

Genital sistem mezoderm kökenlidir. Dişi ve erkek embriyoda mezonefrik ve paramezonefrik kanallar olmak üzere iki çift kanal vardır. Embriyolar gelişimin 5. - 6. haftalarında genital sistem farklılaşmamıştır ve genital kanalların her ikisi de hem dişi hem erkek embriyoda bulunur (10).

Dişi embriyolarda testosteron bulunmadığından mezonefrik kanallar gerilerken Müller baskılayıcı madde yokluğu nedeniyle paramezonefrik kanallar 7. haftadan sonra dişi genital sistemi oluşturmak üzere farklılaşırlar (11).

Paramezonefrik kanal ürogenital kabarıklığın ön - yan yüzeyinde sölom epitelinin uzunlamasına bir girintisi şeklinde belirir. Kanal, kraniyal uçtan sölom boşluğu içine huni şeklinde bir yapıyla açılır. Önce mezonefrik kanalın lateralindedir, onu aprazladıktan sonra kaudomedial yönde gelişir. Orta hatta paramezonefrik kanala ters yönde yaklaşır. Bir septumla birbirinden ayrılmış olan bu iki kanal daha sonra birleşerek uterus kanalını meydana getirir. Birleşmiş olan kanalların kaudal ucu, ürogenital sinusun arka duvarına doğru ilerleyerek paramezonefrik ya da müllerian tüberkül denilen küçük bir şişkinlik oluşturur. Mezonefrik kanallar ise ürogenital sinusa müllerian tüberkülün her iki yanından açılırlar (10,12). Paramezonefrik kanallar dişide esas genital kanalları oluştururlar (10).

Başlangıçta her bir paramezonefrik kanalda üç bölüm tanımlanır (13).

1. Kölom boşluğuna açılan kranial vertikal bölüm
2. Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal bölüm
3. Karşı taraftaki eşiyle birleşen kaudal vertikal bölüm

İlk iki bölümden tuba uterinalar gelişir. Kaudal bölümlerin birleşmesiyle uterus kanalı oluşur. Paramezonefrik kanalın ikinci bölümü mediokaudal hareketiyle ürogenital kabarıklıklar transvers bir düzleme gelirler. Kanallar orta hatta birleştikten sonra geniş bir transvers pelvik katlantı oluştururlar. Birleşmiş paramezonefrik kanalların lateralinden, pelvis duvarına kadar uzanan katlantıya ‘uterusun sınırlayıcı ligament’i’ (ligamentum rotundum) denir (14).

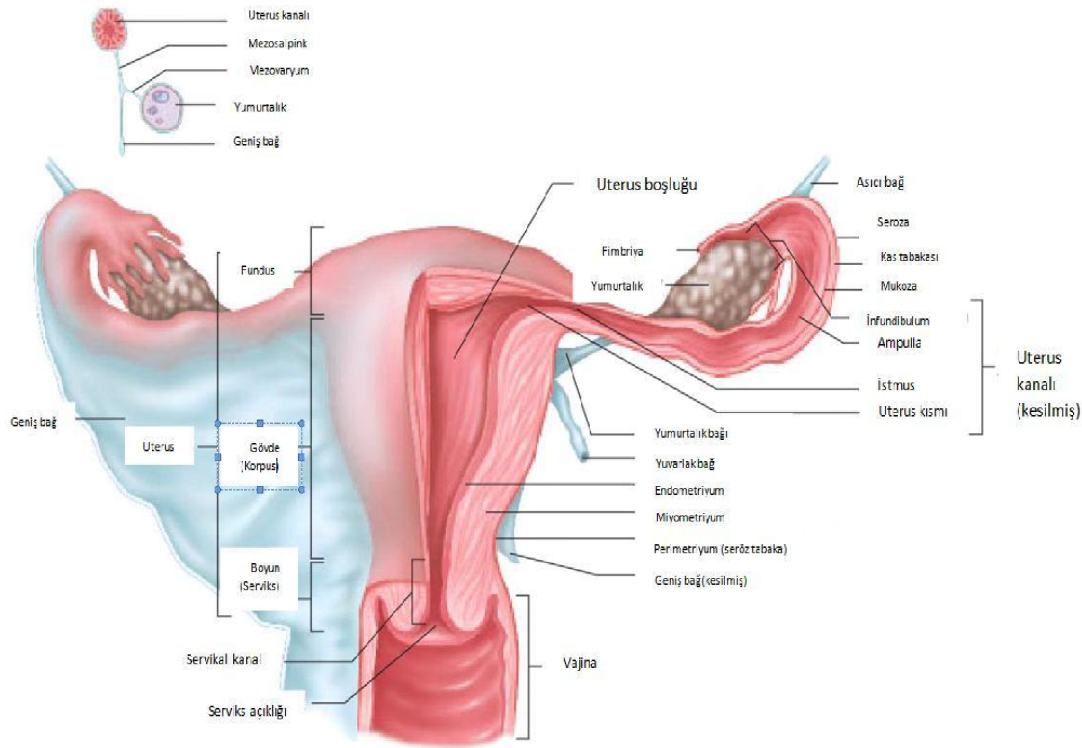
Bu ligamentin üst sınırında uterus tüpleri, arka yüzünde ise ovaryumlar yer alır. Uterus ve sınırlayıcı ligamentler pelvisi uterorektal ve uterovezikal boşluklar olarak ikiye ayırır. Birleşen paramezonefrik kanallardan uterusun korpus ve serviks bölümleri gelişir. Korpus ve serviks, miyometriyum ve perimetriyum oluşturan bir mezenşim tabakasıyla sarılmış haldedir (15).

2.1.2. Uterusun Anatomisi

Uterus pelvis boşluğunda önde mesane, arkada rektum ve altta vajina arasında yer alan kalın duvarlı, kastan yapılmış ve içi boş gebelik organıdır. Uterusun abdominal bölümü tuba uterina ile pelvik bölümü ise vajina ile birleşir (16,17).

Yaklaşık olarak uzunluğu 8 cm, genişliği 5 cm, kalınlığı 2,5 cm’ dir. Ağırlığı doğum yapmış ve yapmamış kadınlarda farklı olmak üzere 50- 80 gr arasındadır. Armut şeklinde olan uterusun gövdesinin ön yüzeyi neredeyse tamamen düz olmasına karşın, arka yüzeyi belirgin bir şekilde konvektir (17).

Şekil 2.1.2. Uterus, Vajina, Tubalar, Overler ve Ligamentler (Kaynak 18'den alınmıştır).



Uterus anatomik olarak 3 bölgeye ayrılır.

1. Gövde (Korpus uteri): Tuba uterina'ların giriş yaptığı yerlerin altında kalan, uterusun geniş üst bölümüdür. Bu kısmın ön yüzü düz, arka yüzü ise konvektir (16). Korpus uterinin duvarı seroza ve müsküler mukoza katmanlarından oluşur (17).
2. Fundus: Korpus uterinin tuba uterinalara bağlandığı yerin yukarısında kalan yuvarlak kısımdır
3. Serviks (Cervix uteri): Uterusun isthmus uteri ile vajina arasında kalan bölümüdür. Yaklaşık 2 cm uzunluğunda olan bu bölüm, uterusun 1/3 'ünü oluşturur ve alt kısmı vajina içerisine doğru sokulmuş durumdadır. Serviks uterinin vajina içerisine giren bu bölümüne serviksin portio vaginalisi, yukarısında kalan bölümüne ise serviksin portio supravajinalisi denir.

Servikal kanalın uterus tarafındaki ağzına internal os (iç delik), vajina tarafında ki ağzına external os (dış delik) adı verilir. Serviks esas olarak kollagen ve elastik dokular ile kan damarlarından oluşur ve az miktarda düz kas lifi içerir (19).

Uterusun geniş, yuvarlak ve utero sakral bağları vardır. Bu bağların tümü çifttir. Ligamentum Teres Uteri (Yuvarlak Bağ) düz kas hücreleri ve bağ dokusundan yapılmıştır. Uterustan başlar canalis inguinalis'te seyreder ve lifleri labium majusta gevşek bağ dokusuna karışır (20,21). Ligamentum Latum Uteri (Geniş Bağ) uterusun yan kenarlarında pelvik duvara doğru uzanır (17).

Yuvarlak bağ tarafındaki ucunun vertikal kesiti üçgendir ve uterin damarlar bu bağın geniş tabanında yayılırlar. Alt kısmı büyük oranda serviksle yan yana duran bağ dokusuna bağlanmıştır ve parametrium olarak adlandırılır. Üst kısmı tuba uterinaları örten üç kıvrımdan oluşur (17).

Utero sakral bağlar ise rectum ile uterus arasında uzanırlar ve bağ dokusundan yapılmışlardır. Bağ dokusu bir miktar kas dokusu içerir ve periton ile kaplıdır (16,17).

Korpus uteri, önde ekskavyo vezikouterina ve mesanenin üst yüzü ile komşudur. Arkada douglas çıkmazı (excovatio rectouterina) içindeki colon sigmoideum ve ileum ansları ile temas eder (18).

Uterusun beslenmesini sağlayan en önemli kaynak arteria iliaca internanın bir dalı olan arteria uterinadır. Ligamentum latum uterinin tabanından iç yana doğru seyreden bu arter üreteri üstten dik açı ile çaprazlar ve orifisyum internum düzeyinde serviks uteriye ulaşır. Daha sonra ligamentum latum uteri içinde uterusun yan kenarında yükselen arter, sonunda arteria ovarika ile anastomoz yapar. Arteria ovarika da uterus beslenmesine katkıda bulunur. Diğer yandan arteria uterina, cerviks uteri ile vajinayı besleyen bir dal verir (18).

Uterusun venleri kalındır ve arterleri izleyerek ligamentum latum uteri içine girerler. Serviks uterinin yanlarında plexus venosus uterinus'u oluştururlar. Buradan çıkan venler (vena uterinae) vena iliaca internaya açılır (16,21).

Uterus sinirleri plexus hypogastricus inferior'dan ve büyük ölçüde de plexus utero vaginalis'in ön ve orta bölümlerinden gelir (18).

2.1.3. Uterusun Histolojisi

Kalın olan uterus duvarı ve dıştan içe doğru 3 tabakadan oluşur.

- Perimetrium (tunika seroza)
- Myometrium (tunika muskularis)
- Endometrium (tunika mukoza)

En dış tabaka olan perimetrium mezotel ve altında bulunan ince gevşek bağ dokusundan oluşur. Perimetrium peritonun visseral yaprağıdır. Bu dış kat peritonsuz bölgede 'tunika adventisya'dır. Perimetrium ön yüzün sadece bir kısmını örterken arka yüzün tamamını örter.

Myometrium fundus ve korpusun orta bölümlerinde kalın, tuba uterina'nın açılış yerinde ise daha incedir (22)

Uterusun en kalın katmanı olan myometrium bağ dokusu ile ayrılmış düz kas lif demetlerinden oluşur. Düz kas demetleri pek belirgin olmayan üç tabaka oluşturur. İç ve dış kas tabakası uzunlamasına uzanan ince düz kas lifleri içerir (23,24) Enlemesine ve uzunlamasına uzanan düz kaslardan oluşan orta kas tabakası büyük arterler, lenf damarları ve venöz pleksuslar içerir (16,22)

Gebelik sırasında myometrium düz kas hücrelerinin sayısının artması (hiperplazi) ve düz kas hücrelerin büyüklüklerinin artması (hipertrofi) sonucu bir büyüme evresine girer (23). Gebelik sırasında birçok düz kas hücresi protein salgısı yapan hücrelerin ince yapı özelliklerini gösterir ve aktif olarak kollajen sentezler. Böylece uterusun kollajen içeriği önemli derecede artmış olur (24).

Gebelik sonrasında bazı düz kas hücrelerinde harabiyet, diğerlerinin boyutlarında azalma ve kollajenin enzimatik yıkımı meydana gelir. Böylece uterusun boyutları gebelik öncesindeki yakın değerlere iner (24).

Endometrium, uterusun en iç katmanı ve mukozasıdır. Epitel ve basit tübüler bezler içeren

lamina propria'dan oluşur. Yüzey epiteli tek katlı prizmatiktir. Silyalı ve mikrovilluslu sekretuar hücreler olmak üzere iki tip hücre izlenir (24,25). Uterus bezlerinin epiteli, yüzey epiteline benzemesine karşın silyalı hücreler nadirdir. Yüzey epitelinde olduğu gibi tek katlı prizmatik salgı yapan hücrelerden oluşurlar. Bezler miyometriyuma yakın alt bölümlerinde bazen dallı tübüler yapı gösterirler (21).

Lamina propria yoğun, düzensiz, kollajen lifler içeren bol hücreli, gevşek bağ dokusudur. Lamina propria bağ dokusu hücreleri, lökositler, makrofajlar, ve çok sayıda kollajen lifler içerir (26,27).

Endometriyum işlevsel olarak iki katmandan oluşmuştur. Endometriyumun 2/3 üst bölgesinde bezlerin boyun ve gövde bölümlerini içeren, menstruasyon sırasında dökülen yüzeyel endometriyum fonksiyonel tabakası bulunur. Endometriyumun 1/3 ünü oluşturan, uterus bezlerinin son bölümlerini yapan ve myometriyuma komşu olan bazal tabaka adını alır. Bu katman menstruasyon sırasında atılmaz, fonksiyonel tabakanın yenilenmesi için kaynak oluşturur (23,24).

Endometriyum'un fonksiyonel tabakası gebelik ve sekresyon evresinde iki kattan oluşur. Bezlerin daralıp kapanmış boyun bölgelerini içeren 2/3 üst bölümü sıkı yapıdadır ve kompakt tabaka adını alır. Süngerimsi yapıda olan 1/3 alt bölüm ise spongiöz tabaka olarak adlandırılır (24).

2.1.4. Sıçanlarda Uterus Anatomisi Ve Histolojisi

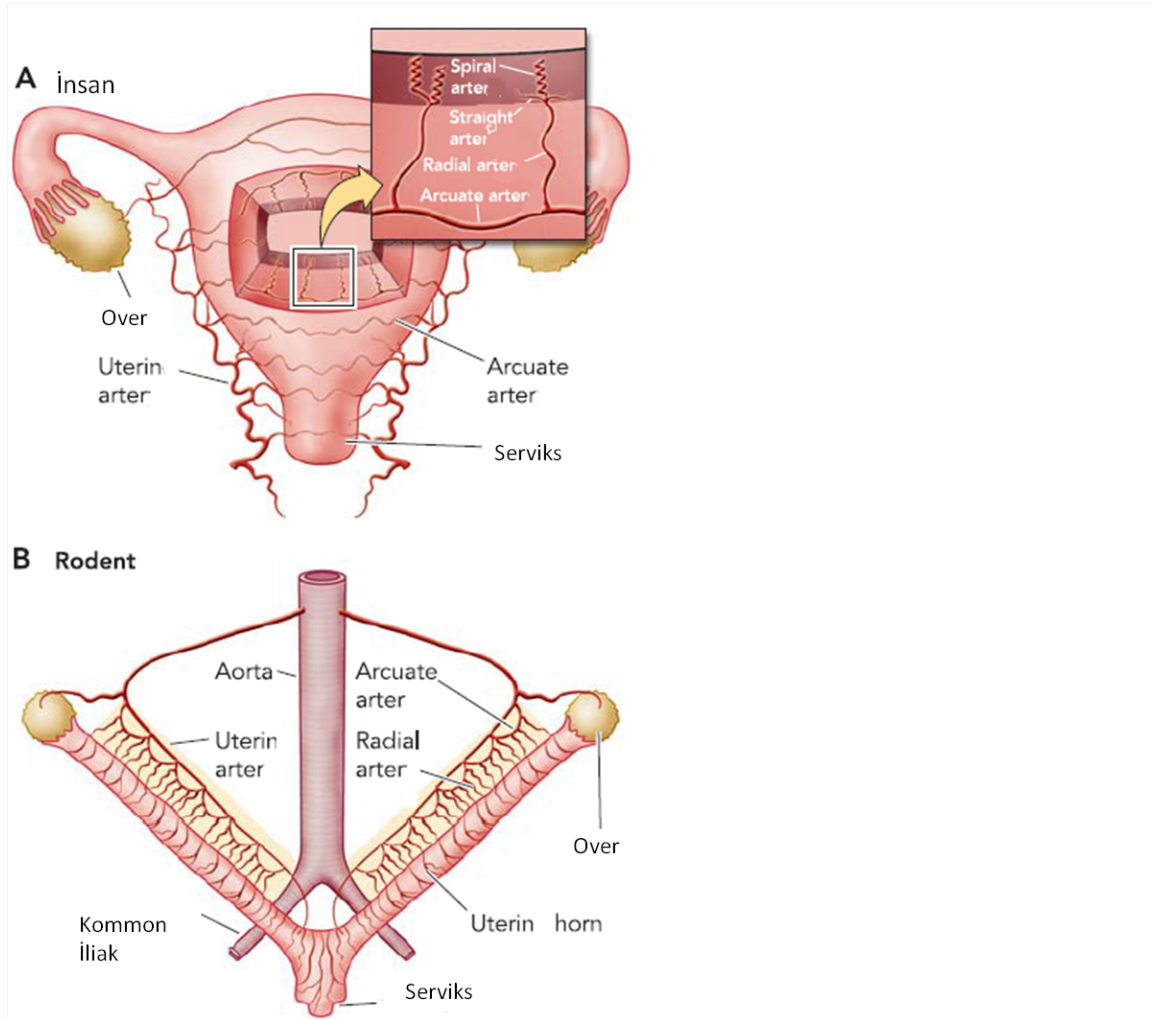
Rat vaginası 2 cm uzunluğunda 3-5 mm çapında dar lümenli bir tüptür. Vagina duvarı mukoza, muskularis ve adventisya olmak üzere üç bölümden meydana gelir. Müköz membran değişik sayıda longitudinal katlantılardan ve bezlerden meydana gelir ve üzeri ovarian sıklusa göre değişen stratiye skuamoz epitel ya da kolumnar epitel ile çevrilidir (28) .

Rat uterusu diğer kemirgenlerde olduğu gibi Y şeklinde bikornuattır (29) (Şekil 2.1.4.). İki kısımdan oluşur, birinci kısım iki boynuzsu uzantının olduğu kısımdır. İkinci kısım ise bu boynuzsu uzantılar ile vagina arasında bulunan kısımdır. Boynuz kısımları 4,5-5 cm uzunluğunda olup 2-3 mm çapındadırlar (30). Her boynuzun posterior kısmında uterusun damarlarını ve sinirlerini bulunduran mezenter vardır. Uterin boynuzlar mukoza (endometrium), muskularis (myometrium) ve seroza

(perimetrium) olmak üzere 3 tabakadan meydana gelir. Endometrium tek katlı kolumnar veya küboidal epitel ile döşeli olup, yer yer glandüler yapılar içerir. Myometrium tabakası içte sirküler ve dışta longitudinaldır (31). Myometriumun dış yüzü kollajen lifler ve mezotelden oluşan ince bir zar ile örtülüdür.

Ratların uterusu şekil olarak olmasa da, histolojik olarak insan uterusuna büyük benzerlikler göstermektedir. Bu nedenle de deneylerde en çok tercih edilen hayvanlardan biri olmaktadır (32).

Şekil 2.1.4. İnsan ve rat uterusu (Kaynak 33'den alınmıştır)



2.2. Yara İyileşmesi

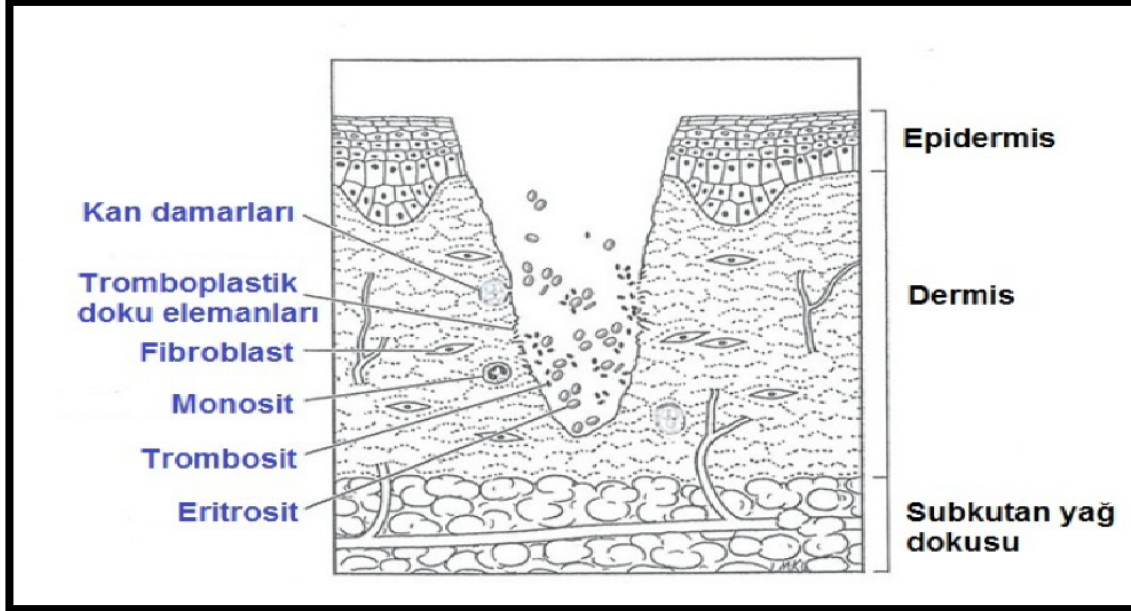
Yara iyileşmesi, birçok özelleşmiş hücrenin görev aldığı, birbiri içine geçen ama biyolojik olarak ayrı 4 evreden oluşur (34).

1. Hemostaz
2. İnflamasyon
3. Proliferasyon
4. Matürasyon

2.2.1. Hemostaz

Kanamayı kontrol altına almak için yaralanmadan sonra hemostaz mekanizmaları devreye girer. Yaklaşık 5-10 dakika sonra vazokonstriksiyon ile kan akımı yavaşlar. Açığa çıkan tromboplastik doku ürünleri trombositleri aktive eder. Trombositlerin agregasyonu sonucu hemostatik plak oluşur. İntrensek ve ekstrinsek koagülasyon yollarının aktivasyonu ile protrombinden trombin oluşur. Trombin ise fibrinojeni fibrine dönüştürerek stabil plak oluşturur ve yara yerinde hemostaz sağlanmış olur (35). Trombositlerin alfa granülleri içinde yer alan trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi birçok büyüme faktörü çevre dokulara salınır (Şekil 2.2.1.) (36) TGF- β ve PDGF nötrofil ve makrofajlar için kemotaktiktir. PDGF aynı zamanda fibroblastların yara yerine gelmesini sağlar ve fibroblastlardan sentezlenen ve ekstrasellüler matriks onarımı için önemli olan glikozaminoglikan ve kollajen sentezinde rol oynar. Büyüme faktörlerinin fazla salgılanması anormal yara iyileşmesi ile sonuçlanır (35).

Şekil 2.2.1. Trombositlerin degranülasyonu ve tromboplastik doku elemanlarının ortaya çıkışı ile hemostazın oluşumu (Kaynak 37’den alınmıştır)

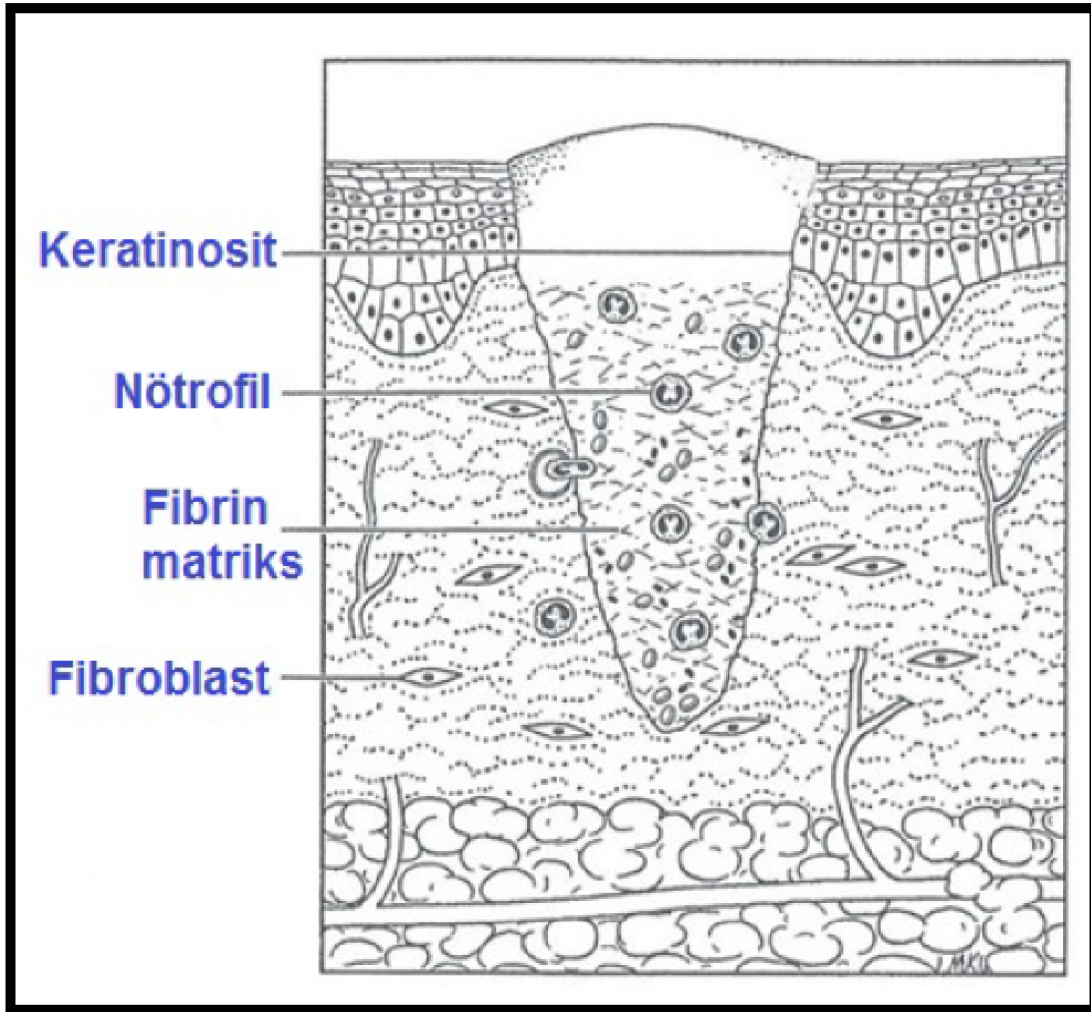


2.2.2. İnflamasyon

Yara iyileşmesinin 2. evresi olan inflamasyon yaralanmadan sonra 24 saat içinde başlar (38). Hemostaz sonrası koagülasyon ve kompleman zincirinden ortaya çıkan bradikinin, kompleman 3a ve 5a (C3a ve C5a) vazodilatasyon ve damar duvar permeabilitesinde artışa neden olarak nötrofil ve monositlerin yara yerine ulaşmasını sağlar (39). Kompleman elemanları aynı zamanda mast hücrelerinden histamin, lökotrien C₄ ve D₄ salınımını stimüle eder (37). Vazoaktif aminlerin ve histaminin artması klinikte kızarıklık ve sıcaklık artışı olarak kendini gösterir. Damar permeabilitesinde artış sonucu damar içerisinden interstisyel alana geçen sıvı ise kliniğe şişlik olarak yansır ve

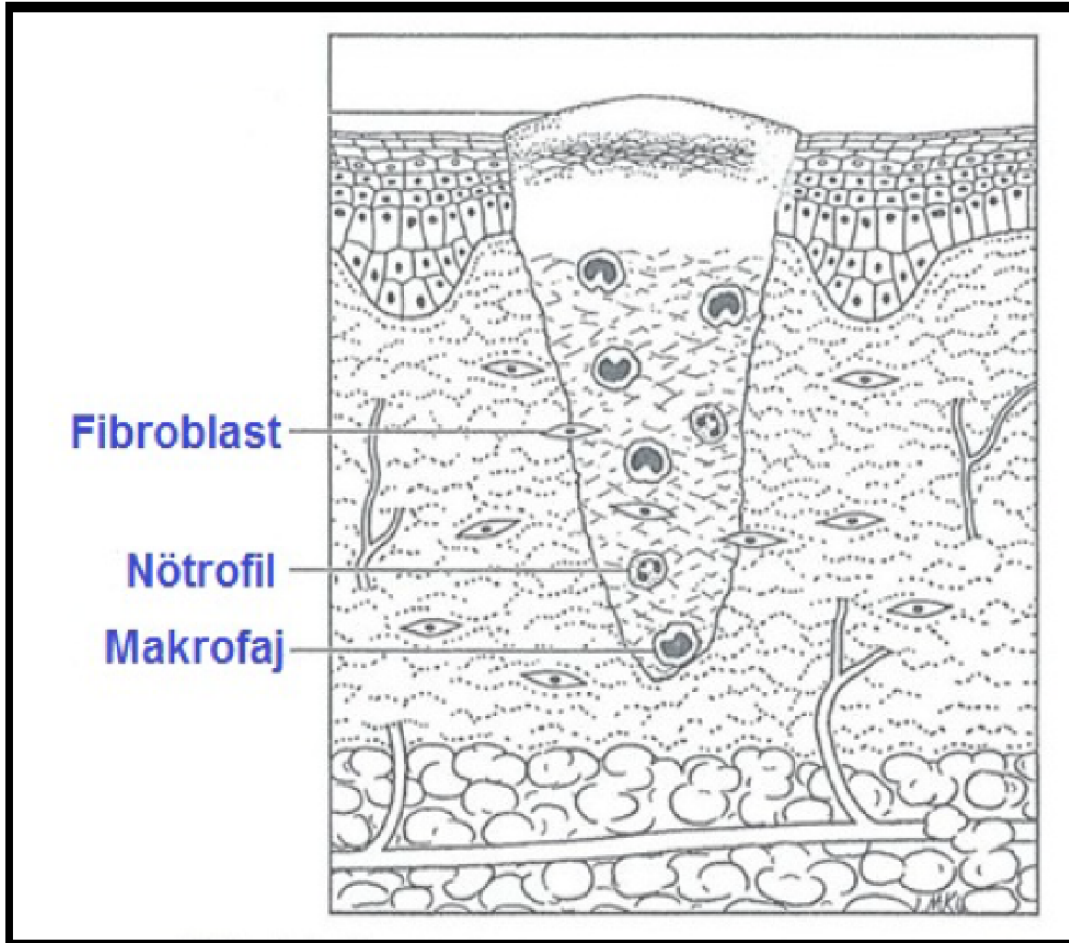
oluşturduğu basınç ağrıya neden olur (35).

şekil 2.2.2.1. İlk 24 saat içinde nötrofillerin yoğunlaşması (Kaynak 37'den alınmıştır)



İlk olarak yara yerinde görülen hücreler nötrofillerdir (Şekil 2.2.2.1.). Nötrofiller ortamdaki yabancı maddeleri ve hücreleri temizlediği gibi kompleman aktivasyonu ile bakterileri opsonizasyon yoluyla ortadan kaldırır (40). Monosit hücreleri 2-3 gün içinde yara yerinde baskın hale geçer (41). Monositler makrofajlara differansiye olurlar (Şekil 2.2.2.2.). Makrofajlar fagositoz yolu ile bakterileri ve doku artıklarını ortadan kaldırır ve aynı zamanda endotel hücreleri, keratinositler ve fibroblastlara etki edecek 20'den fazla sitokin ve büyüme hormonu salgırlar (42). Bunlardan başlıcaları PDGF, TGF- β , IGF-1, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), fibroblast büyüme faktörü (FGF), interlökin-6 (IL-6), bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'dür (37).

Şekil 2.2.2.2. 2-3 günde makrofajların yoğunluğu (Kaynak 37'den alınmıştır)



2.2.3. Proliferasyon

Yaralanmanın 3-4. gününde başlayan proliferasyon fazı fibroplazi, granülasyon, kontraksiyon ve epitelizasyon ile karakterizedir ve yaranın durumuna göre 2-4. haftada sona erer (36,37,43). Proliferasyon döneminde stabil ekstrasellüler matriks oluşturmak amacıyla fibroblastların proliferasyonu ve kollajen üretimi izlenir (Şekil 2.2.3.). Yeni matriks kollajen, proteoglikan ve fibronektinden oluşur. Bu dönemde ayrıca anjiogenezis gözlenmektedir (44).

Trombosit ve makrofajlardan salınan mediatörler sonucu fibroblastların yara yerine migrasyonu olur. Fibroblastların aktivitesi genel olarak PDGF ve TGF- β sayesinde izlenir. PDGF, trombosit ve makrofajlar tarafından salınır ve fibroblastların proliferasyonu, kemotaksisi ve kollajen ekspresyonunda önemli rol oynar (45).

TGF- β 'nın 3 izoformu bulunmaktadır. TGF- β fibrozisi artırdığı halde diğer izoformları TGF- β 2 ve TGF- β 3 ters etki göstererek fibrozis ve skarı azaltıcı etkisi vardır (35).

Fibronectin ve hyaluronik asit yara matriksinin ilk komponentleridir. Fibroblast hücre yüzeyindeki integrinler, matriks yapısındaki glikozaminoglikan ve glikoproteinlere tutunurlar. Fibronectin ve glikozaminoglikanlar ayrıca sentezlenen kollajen için zemin oluştururlar (37).

Kollajen üç adet polipeptid zincirin oluşturduğu heliks yapısındadır (46). Çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler kollajen sentezi için gen transkripsiyonunu tetikler. Gen transkripsiyonu sonucu oluşan pre-prokollajen hücre içinde mesajcı ribonükleik asit (m-RNA) ile endoplazmik retikulumla taşınır (47). Sinyal peptidaz enzimi sayesinde m- RNA'dan ayrılan prokollajen molekülleri posttranslasyonel modifikasyona uğrar. Prokollajen moleküllerinin yapısındaki lizin ve prolin aminoasitleri lizin hidroksilaz ve prolin hidroksilaz enzimleri sayesinde hidroksilasyonu gerçekleşir (48). Bu enzimler için askorbik asit, demir ve moleküler oksijen gerekmektedir. Oluşan hidroksilizin ve hidroksiprolin yapılarına transferaz enzimleri sayesinde glukoz ve galaktoz eklenir (49). Golgi cisimciğine iletilen prokollajen trimerleri ekstrasellüler matrikse salınır. Çinko bağımlı proteinaz enzimi ile polipeptid zincirler kovalan bağlarla birbirleri ile bağlanarak tropokollajen yapısı oluşur. Tropokollajen molekülleri birleşerek kollajen filamentlerini, bu filamentler fibrilleri, fibriller de demetleri meydana getirir (50,51). Kollajen yapısına göre tiplere ayrılır. Yara iyileşmesinin erken

döneminde Tip 3 kollajen miktarı fazla olmasına rağmen matür skar dokusunda hiçbir zaman Tip 1 kollajen miktarını geçemez (43).

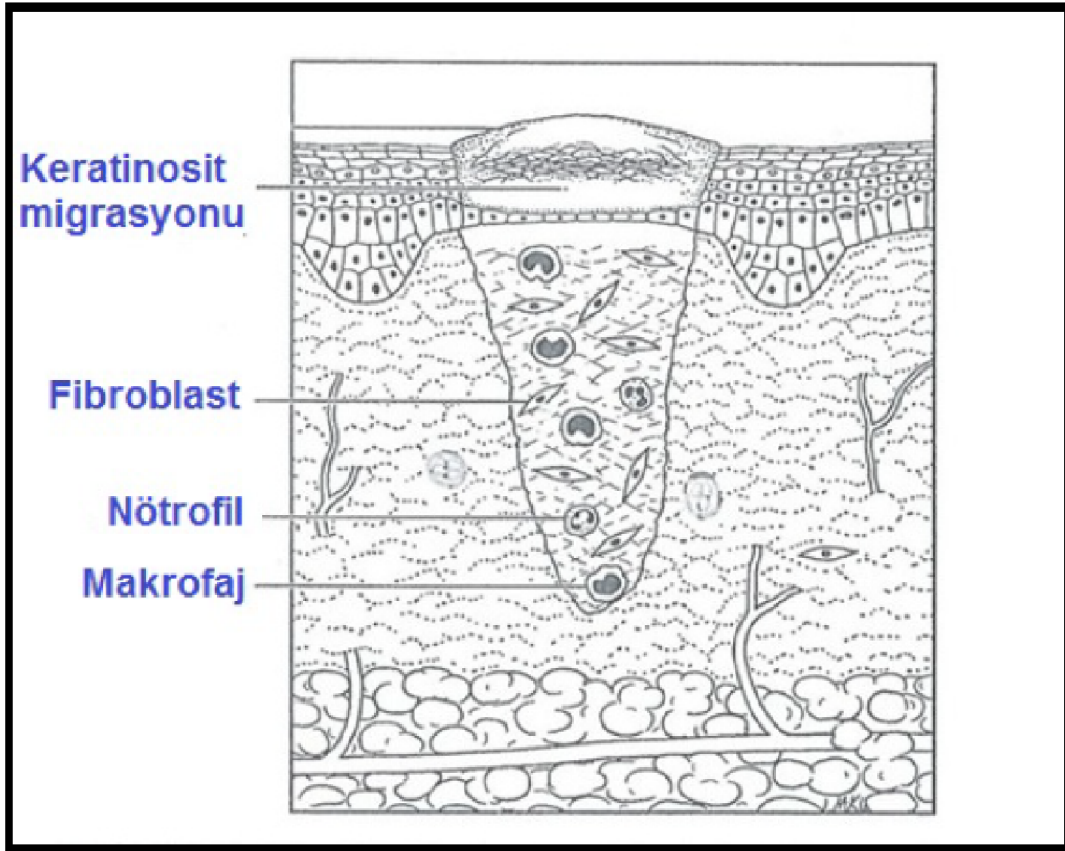
Endotel hücreleri TNF- α ve temel FGF (β FGF) sayesinde anjiogenezis için aktive edilmektedir. Anjiogeneziste ayrıca lokal uyarı faktörleri olan VEGF ile anjiostatin, endostatin, trombospondin ve pigment epitel bezeri büyüme faktörü gibi antianjiogenik faktörler rol almaktadır (52). Oksijen basıncı ve pH düşüklüğü, laktat yüksekliği anjiogenezi tetikleyen lokal faktörlerdir. Kapiller endotel hücreleri çevresinde oksijen seviyesi azalınca, hücre içinde hipoksi tetikleyici faktör (HIF) DNA üzerinde spesifik dizisine bağlanarak anjiogenezis için VEGF transkripsiyonunu artırmaktadır (53).

Granülasyon dokusu kapiller damar ağları, fibroblast ve makrofajlardan oluşan hücre toplulukları ve organize kollajen liflerinden meydana gelmektedir ve skar oluşuncaya kadar dermis için dolgu oluşturmaktadır (54). Yaranın iyileşmesi amacıyla hücre migrasyonlarının ve protein sentezlerinin geliştiği granülasyon dokusunun metabolik aktivitesi normal dermisten çok daha fazladır (35).

Yarayı çevreleyen deride çevresel olarak yara alanını azaltacak şekilde kontraksiyon izlenir. Açık yaralarda gözlenen bu olaydan sitoplazmasında mikrofilament ve α -aktin bulunan myofibroblastlar sorumludur. Bu fenomen primer yara iyileşmesi olarak adlandırılan sütüre edilmiş cerrahi insizyonların iyileşmesi sırasında görülmez (55).

Yaralanmadan birkaç saat sonra yara komşuluğundaki epidermis hücreleri ve bazal tabakadaki hücreler yaraya doğru ilerler. Yeni epitel hücrelerinin asıl kaynağı yara komşuluğundaki bazal membrandır (56). Tenasin ve fibronektin gibi hücre adezyon glikoproteinleri keratinositlerin yara matriksi üzerine migrasyonunda yol göstericidir (57). Epitel hücrelerin göçü, diğer yönlerden gelen epitel hücreleri ile karşı karşıya gelinceye kadar devam eder (58). Yeni epitel katmanını oluşunca bazal membranı oluşturmak amacıyla fibroblast ve keratinositlerden laminin ve Tip 4 kollajen salgılır. Keratinositler kolumnar şekle dönüşerek yeni epitel bariyerini oluştururlar (Şekil 2.2.3.) (37)

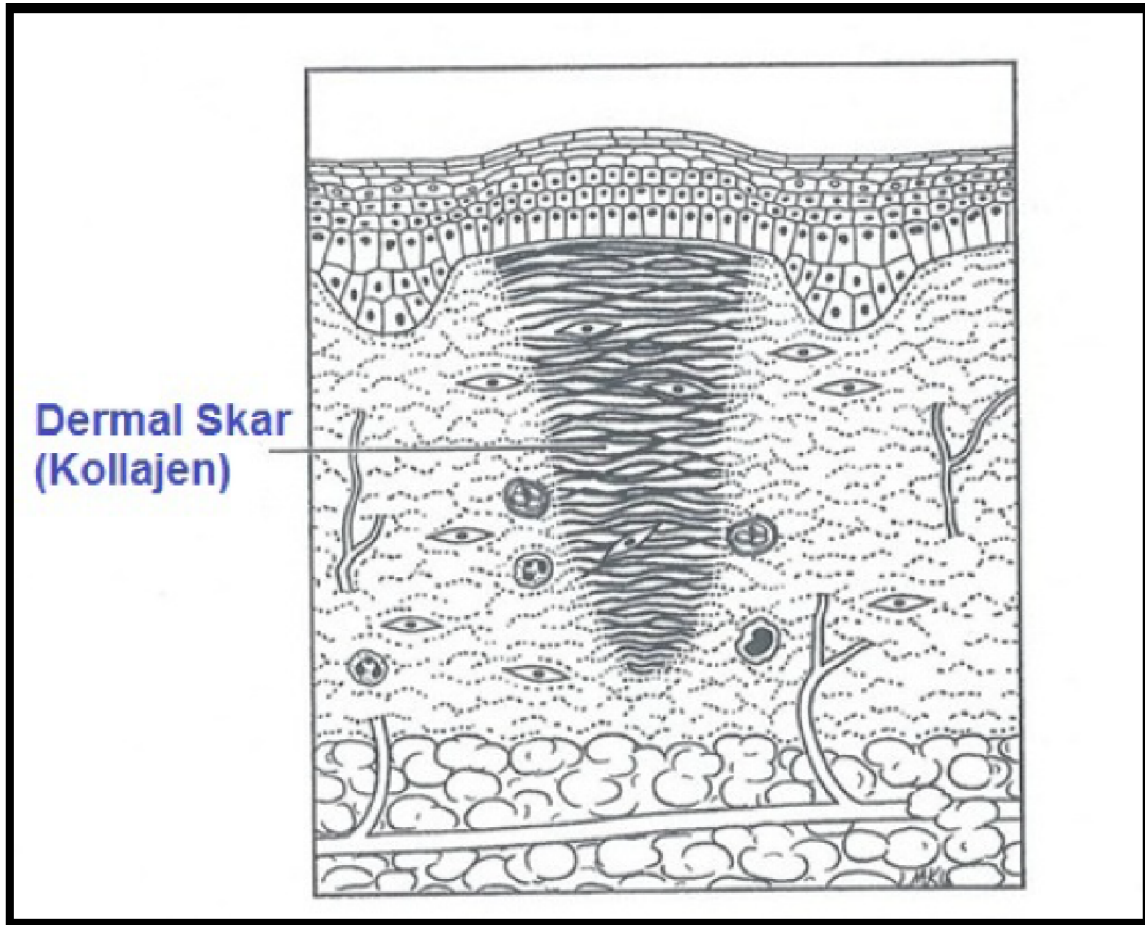
Şekil 2.2.3. Fibroblastların protein ve büyüme faktörü sentezi ve keratinositlerin yara komşuluğundan migrasyonu (Kaynak 37’den alınmıştır)



2.2.4. Matürasyon

Granülasyon dokusunun matür skar dokusuna dönüştüğü fazdır. Küçük kapillerlerin geniş damarlara yönelmesi ile yarada bulunan su miktarı, hücre yoğunluğu ve metabolik aktivite azalır (59). Ekstrasellüler matrikste fibroblastlar tarafından salgılanan lizil-oksidaz enzimi sayesinde kollajen liflerinin çapraz bağlantısı artar (60) (Şekil 2.2.4.).

Şekil 2.2.4. Skar matürasyonu (Kaynak 37’den alınmıştır)



Matriks metalloproteinazlar (MMP), çinko bağımlı ekstrasellüler endopeptidazlardır ve epitel hücrelerinin migrasyonu, anjiogenezis ve skar matürasyonuna neden olan ekstrasellüler matriks proteinlerinin salınımını kontrol eder (61). Keloid gibi patolojik yara iyileşmesinde MMP-1 ve MMP-2 miktarları yüksek bulunmuştur (37).

Skar matürasyonu aylar veya yıllar boyunca devam eder. Kapiller damar ağları nedeniyle erken dönemde kırmızı renkte izlenen skar matürasyonla beraber hipopigmente görünüm alır (37).

Yaranın açılmasına neden olan kuvvete ‘breaking strength’ (kopma kuvveti) denir (62). Bir yarada birim alana düşen yük kapasitesi ise ‘tensile strength’ (yara gerim kuvveti) olarak adlandırılır (54). Yara gerim kuvveti tüm yaralarda 14-21.günde artar. Matürasyon sonunda yara gerim kuvveti normal dokunun %80’ine kadar ulaşır (43,63).

2.3. Mezenşimal Kök Hücreler

2.3.1. Kök Hücre Tanımı Ve Kök Hücre Tipleri

Kök hücreler, henüz farklılaşmamış hücreler olup kendi kendilerini yenileme yeteneğine sahiptir. Köken aldıkları dokulara farklılaşabildikleri gibi, bulundukları ortama ve aldıkları biyolojik uyarılara göre diğer başka dokulara da farklılaşabilirler (64).

Bütün hücelere farklılaşarak tek başına tüm organizmayı oluşturabilme yeteneğine sahip hücreye **totipotent** hücre denir (65). Ör: zigot. Zigot “totipotent” özellikte bir hücre olup, tüm organizmayı ve plasenta gibi embriyo dışı destek dokularını da oluşturabilme özelliğine sahiptir. Bu hücreler sınırsız farklılaşma yeteneğine sahip kök hücrelerdir (66). Bütün hücelere farklılaşabilme yeteneğine sahip olmasına karşın tek başına tüm organizmayı oluşturamayan hücelere **pluripotent** hücre denir (67). Ör: blastosistin iç hücre kitlesi. Blastosistin iç hücre kitlesi farklılaşarak plasenta gibi embriyo dışı destek dokuları dışında organizmadaki tüm diğer hücelere farklılaşabilirler. Organizmada doğal olarak bulunmayan ancak *in vitro* şartlarda uyarı sonucu meydana getirilen ve pluripotent özellik kazanan hücelere **indüklenmiş pluripotent kök hücre** (Induced pluripotent stem cell) (IPS) denir (68). Sadece birkaç tip hücreye farklılaşabilme yeteneğine sahip ancak tüm hücelere farklılaşamayan hücelere **multipotent** hücre denir (69). Ör: yetişkin kök hücreler. Yetişkin

kök hücreler tipik olarak yer aldıkları dokunun hücre tiplerini üretirler ve vücudun çoğu dokusunu tamir yeteneğine sahiptirler. Tek tip hücreye farklılaşabilme yeteneğine sahip hücreye **unipotent** hücre denir (70). Ör: myoblast. Myoblastlar kendi kendini çoğaltabilen ve sadece myositlere farklılaşabilen hücrelerdir.

2.3.2. Mezenşimal Kök Hücreler

Mezenşimal kök hücreler (MKH), hematopoietik grup dışında kemik, kıkırdak, yağ, ligament ve tendon hücrelerine farklılaşabilme yeteneğine sahip multipotent özellikte hücrelerdir (71). Mezenşimal hücreler, nonhematopoietik stromal hücreler olup bağ doku kökenli olmaları nedeniyle başta bağ doku kökenli hücreler (kemik, kıkırdak, yağ, ligament ve tendon) olmak üzere, birçok farklı tipte hücreye (kalp, karaciğer, pankreas, sinir sistemi hücreleri) farklılaşabilme yeteneğine sahiptir (72). Mezenşimal kök hücreler göç edebilme özellikleri ve dokuda hasarlı hücre ile füzyon yeteneği, çoğunlukla non-immunojenik özellikte olmaları, ve salgıladıkları çeşitli faktörler sayesinde transplante edildiklerinde uygulama bölgesinde hasarlı dokunun iyileşmesine katkıda bulunmaktadır (73). Bu özellikleri, mezenşimal kök hücrelerin hasarlı organların tamirinde kullanılabilirliği için ümit vericidir (74,75).

Yaklaşık 40 yıl önce Friedenstein kemik iliğindeki stromal hücreleri ince uzun şekilli ve koloni oluşturmaya meyilli proliferatif yeteneği olan hücreler olarak tanımlamıştır (76). Bu hücrelerin, *in vitro* koşullarda plastik kültür yüzeylerine tutunabildiği, osteoblast, kondroblast ve adiposit gibi hücre tiplerine farklılaşabildiği de ifade edilmiştir (77). Daha sonra kemik iliğinde elde edilen bu hücreler “mezenşimal kök hücreler” ya da “mezenşimal stromal hücreler” olarak tanımlanmıştır. Günümüzde bu hücrelerin kemik iliği dışında da farklı dokularda olduğu gösterilmiştir (78). Mezenşimal kök hücreler, yaşam boyu yetişkin bir bireyde hasarlı doku ve organların yenilenmesinde ve tamirinde rol oynar (79). Bu yenilenme süreci ve hızı türler arasında farklılık göstermekle birlikte, temel mekanizma hücresel düzeyde benzerdir. Dokunun tipine bağlı olmaksızın bu sürecin devam edebilmesi için sürekli olarak prolifere olan ve farklılaşma gösteren bir hücre kaynağının olması gerekmektedir (80). İlk olarak 1867 yılında Alman patolog Julius Cohnheim, memeli dokularının tamirinde kan dolaşımından göç eden hücrelerin görev aldığını ifade etmiştir (78). Bu hipotez bir süre unutulmuş olmasına rağmen, sonuçta bugün kemik iliğinden dolaşıma geçen hücrelerin kalp dokusu dahil hasar görmüş olan

dokuların yenilenmesinde rol oynadığı kesinlikle çok iyi bilinen bir gerçektir (81).

Yetişkin bir bireyde hücrenin tam olgunlaşması; hücre proliferasyonu, göçü ve farklılaşması aşamalarını içerir (82). Bu zincirde kök hücreler ilk basamakta yer alır. Çok uzun yıllar kök hücrelerin sınırlı sayıda hücre tipine farklılaşabildiği düşünülmekteydi. Ancak günümüzde kök hücrelerin çok farklı hücre tipine dönüşebildiği bilinmektedir (83). Örneğin mezenşimal gruptaki kök hücreler, mezenşimal olan ve olmayan dokulara farklılaşabildiği gibi, hematopoietik gruptaki kök hücreler de kan hücreleri dışında karaciğer hücreleri gibi hücre tiplerine farklılaşabilirler (84). Mezenşimal kök hücrelerinin bu özelliği “plastisite” olarak ifade edilir (85). Gerek hematopoietik, gerekse mezenşimal kök hücreler kendi nişlerinden ayrıldıktan sonra farklılaşma programlarını devam ettirebilmek için uygun mikroçevreye gereksinim duyarlar (86). Bir çalışmada insan kemik iliği kökenli mezenşimal kök hücreleri, gebeliğin erken döneminde koyun fetusunda kan dolaşımına enjekte edilmiş ve transplantasyondan sonra 13 ay boyunca takip edilmiştir. Sonuçta hücrelerin farklı dokulara göç edebildikleri ve bulundukları ortama göre de kondrosit, adiposit, miyosit, kardiyomiyosit, kemik iliği stromal hücreleri ve timik hücreler gibi hücre tiplerine farklılaştıkları gösterilmiştir (78).

2.3.3. Mezenşimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu

Çeşitli kaynaklardan izole edilen mezenşimal kök hücrelerin karakterize edilmesi için farklı tipte hücre yüzey işaretleyicileri kullanılmakla birlikte bu hücrelerin karakterizasyonunda hala tam olarak bir fikir birliğine varılabilmiş değildir. Ancak bu konu ile ilgili olarak uluslararası komiteler, araştırmacılar arasında fikir birliğine varılabilmesi için temel bazı kriterler oluşturmaktadır (87).

Bu noktada kabul gören üç temel kriter vardır: (88) Mezenşimal kök hücreler,

1. Plastik kültür yüzeylerine tutunabilmeli;
2. CD105, CD73 ve CD90 (+), ancak CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19 ve HLA-DR (-) olmalı ve

3. *In vitro* koşullarda osteoblast, kondroblast ve adipositlere farklılaşabilmelidir.

Yüzey antijenleri mezenşimal hücrelerin karışık hücre popülasyonundan ve hematopoietik gruptan ayrılması için önemlidir. Bununla birlikte, sitokin ve çeşitli büyüme faktörleri reseptörleri ile ekstrasellüler matriks reseptörleri de bu hücrelerin karakterizasyonunda ve elbetteki işlevinde son

derece önemlidir (84,89). Mezenşimal kök hücreler tarafından üretilen sitokinler ve büyüme faktörleri bu hücreler için düzenleyici sinyalleri oluşturur ve kemik iliğinin dinamik mikroçevresinin oluşturulmasını sağlar (90). Kollajen, fibronektin, laminin ve proteoglikanlar gibi ekstrasellüler matriks elemanları da mezenşimal kök hücreleri üzerindeki özgül reseptörlerine bağlanır (91). Bu şekilde hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matriks bağlantıları meydana getirilir. Örneğin CD44, hyaluronon ve osteopontin gibi ligandlar için reseptör işlevi görür ve kemik iliğinde ekstrasellüler matriks organizasyonunu sağlar (92). Yaygın olarak mezenşimal kök hücrelerde yüzey antijenleri, sitokin, büyüme faktörü ve ekstrasellüler matriks reseptörleri Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Mezenşimal kök hücrelerde yaygın olarak ifade edilen yüzey işaretleyicileri (93)

Yüzey işaretleyici tipi	Örnek
Yüzey antijenleri	CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, Stro-1, Sco-1
Sitokin reseptörleri	IL-1R, IL-3R, IL-4R, IL-6R, IL-7R
Ekstrasellüler matriks reseptörleri	ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1, ALCAM, endoglin, hyaluranon, integrinler: $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \alpha_A, \alpha_V, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$
Büyüme faktörü reseptörleri	BGF-R, PDGF-R
Diğer reseptörler	Thy-1, IFN-γR, TGF-βR, TNF-R

Mezenşimal kök hücreler, IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14, IL-15, lökemia inhibitör faktör (LIF), granulosit koloni-uyarıcı faktör (G-CSF), granulosit-makrofaj koloni-uyarıcı faktör (GM-CSF), kök hücre faktörü, makrofaj koloni-uyarıcı faktör (M-CSF), fms-benzeri tirozin kinaz-3 ligand (flk-3L) gibi sitokinler, kimokinler ve büyüme faktörlerini üretir (94). Ayrıca, IL-1R, IL-3R,

IL-4R, IL-6R, IL-7R sitokin reseptörlerini ifade eder. Sitokinler tarafından uyarılmış olan mezenşimal kök hücreler, CXCL9, CXCL10 ve CXCL11 gibi lökosit kimokinlerini yüksek düzeyde ifade eder (95). Bu örneklerden de anlaşılacağı gibi, mezenşimal kök hücreler kendilerine özgü antijenleri ifade ettikleri gibi aynı zamanda diğer bazı hücre tiplerine ait ortak yüzey antijenlerine sahiptir (96). Doku yenilenmesi ya da doku hasarının tamir edilmesi sırasında hasarlı bölgeye mezenşimal hücrelerin göç etmesi sırasında CCR1, CCR4, CCR7, CXCR5 ve CCR10 gibi bazı kimokin reseptörlerinin rol oynadığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (89).

Mezenşimal kök hücrelerin bulundukları dokuda çözünebilir faktörler ve diğer hücrelerin katılımıyla bir mikroçevre oluşturulur. Bu mikroçevreye “niş” adı verilir (97). Mezenşimal kök hücrelerin kendilerini yenileyebilme özellikleri yani farklılaşmadan birçok kere bölünebilmeleri ve çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilmeleri içinde bulundukları bu mikroçevreye bağlıdır (98). Bu mikroçevre içinde kök hücrelerin ve bunların salgıladıkları çeşitli faktörler, kök hücre olmayan diğer hücreler ve ekstrasellüler matriks ile olan etkileşimleri mezenşimal kök hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşmasını düzenler (99).

Burada, interlökin, kimokin ve interferonların içinde bulunduğu sitokinler, büyüme faktörleri gibi çözünebilir faktörlerin yanı sıra hücrelerarası etkileşimler de rol oynar. Böylece mezenşimal kök hücrelerin bulundukları dokuya göre de davranışları değişiklik gösterir (89).

2.3.4. Mezenşimal Kök Hücre Kaynakları

Embriyonik Kök Hücre (EK) ve İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler (İPKH) *in vitro* ve *in vivo* olarak neredeyse sınırsız farklılaşma potansiyeline sahip olmasına rağmen, hem elde edilme zorluğu ve klinik uygulamalardaki etkinlik ve güvenilirlik problemleri, hem de etik, yasal ve hatta politik nedenlerden dolayı çok sınırlı bir kullanıma sahiptir (100). Bu nedenle dokuya özgü yetişkin kök hücrelerin tedavi amaçlı olarak kullanılması bir alternatif olarak görülmektedir.

İlk kök hücre tanımı 1963 yılında Becker ve arkadaşları tarafından hematopoietik kök hücrelerin tanımlanmasıyla yapılmış olup bu hücreler, kemik iliğinde bulunan, kendilerini yenileyebilme kapasitesine sahip, ayrıca karaciğer hücresi gibi bir hücreye çapraz farklılaşma yeteneğine sahip olan ve rejenaratif tıp için ümit vaat eden bir hücre grubu olarak tanımlanmıştır (101). Ancak günümüzde bu ümit, mezenşimal kök hücreler ve hatta yağ dokusu mezenşimal kök hücreleri üzerinde

yoğunlaşmaktadır.

1968 yılında, Friedenstein ve arkadaşları, sıçan kemik iliğinden iğ şeklinde hücreleri izole etmişlerdir ve bu hücrelerin kemik ve kırıldak hücrelerine farklılaştıklarını göstermişlerdir (102). Kemik iliği hücrelerinin bu potansiyeli, 1980 yıllarında özellikle Pierasma ve arkadaşları ve Owen ve arkadaşları tarafından ayrıntılı olarak çalışılmış, 1990'lı yılların başında da Caplan ve arkadaşları bu hücreler üzerinde yoğunlaşmıştır (103). Ancak bazı araştırmacılar bu hücrelerin hala klinik için uygun hücreler olmadıklarını düşünmektedirler. "Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the International Society for Cellular Therapy (ISCT)" 2000'li yılların ortalarında bir hücrenin mezenşimal hücre olabilmesi için, kendini yenileyebilme ve farklılaşabilme gibi kriterleri olması gerektiğini yayımlamıştır (87). Bu şekilde kök hücreler için ilk yasal özellik tanımlaması yapılmış ve bu iki özelliğe bu hücrelerin plastik kültür kaplarının yüzeyine tutunabilmesi özelliği de eklenmiş; bu hücreler multipotent mezenşimal kök hücre olarak tanımlanmıştır (104).

Mezenşimal kök hücreler, farklılaşma potansiyellerinin yanı sıra, plastisite özelliği de gösterirler. Günümüze kadar, dokuya özgü kök hücrelerinin sadece kendi fenotipine dönüşebildikleri düşünülmekle birlikte, bugün artık bu hücrelerin kendisinden farklı bir germ tabakasına ait hücrelere de farklılaşabildikleri bilinmektedir (105). Özetle, MKH'ler bir bireyde farklı dokuların yeniden yapılandırılmasında bir kaynak teşkil etmektedir.

2.3.5. Yağ Dokusu Mezenşimal Kök Hücreleri

Kök hücrelerin tedavi amaçlı olarak kullanılabilmesi için, büyük miktarlarda elde edilme gerekliliği bulunmaktadır (106). Yetişkin kök hücreler, embriyonik kök hücreler (EK) ve indüklenmiş pluripotent kök hücreler (İPKH) ile kıyaslandıklarında daha düşük farklılaşma kapasitesine sahip olmakla birlikte, elde edilme ve dolayısıyla da etik açıdan düşünüldüğünde EK ve İPKH'den çok daha avantajlıdır (107). Günümüzden 40 yıl önce kemik iliğinde de çok fazla hücre tipine farklılaşabilme yeteneğine sahip kök hücrelerin olduğunun anlaşılmasından beri, kemik iliği mezenşimal hücreleri, elde edilme kolaylığı da göz önüne alındığında rejeneratif tıpta büyük ilgi çekmektedir (108). Bununla birlikte kemik iliği aspirasyon yöntemi ile kemik iliğinin toplanması acı verici bir işlem ve sonuçta elde edilen hücre miktarı ise çoğunlukla yeterli düzeyde değildir. Bu nedenle, yağ dokusu elde edilme kolaylığı ve bir seferde toplanan dokunun fazla miktarda olmasından

dolayı oldukça ilgi çekici görülmektedir. İnsan yağ dokusu kök hücreleri, *in vitro* koşullarda adipojenik, osteojenik, kondrojenik, nörojenik ve miyojenik farklılaşma yeteneği ve bol miktarlarda kolay elde edilebilme özelliği nedeniyle pre-klinik çalışmalarda tedavi edici amaçlarda kullanım için ümit vericidir (109). Ayrıca yağ dokusu kök hücrelerin immun cevap oluşturma olasılığı daha düşük ve uzun dönemde kültür koşullarında kemik iliği kök hücreleri ile kıyaslandığında genetik olarak çok daha stabildir (110).

Güvenirliliği ve etkinliği yağ dokusu mezenşimal kök hücrelerinin klinik olarak uygulanabilirliğini mümkün kılmaktadır. “clinicaltrials.gov” tarafından 2010 yılı Mayıs ayı verilerinden yağ dokusu kökenli mezenşimal kök hücrelerin, farklı ülkelerde çeşitli amaçlar ile kullanıldığı belirtilmektedir (108). Ayrıca, bu hücrelerin graft-versus-host hastalığında, romatoid artrit, Chron’s hastalığı, multiple sclerosis tedavisinde, yumuşak ve sert doku hasarlarının tamirinde de uygulama için pre-klinik çalışmalar yapılmakta, hatta Tampere Üniversitesi Regera Enstitüsü’nde 23 hastada kemik doku hasarının tamirinde otolog klinik uygulama yapılmıştır (111). Herşeye rağmen yağ dokusu kök hücrelerinin klinik olarak güvenle ve daha yaygın olarak kullanılabilmesi bu hücrelerin *in vitro* olarak çok iyi karakterize edilebilmelerine bağlıdır (112).

Kemik iliği kök hücreleri ve yağ dokusu kök hücreleri yüzey özellikleri bakımından çok fazla benzerlik gösterir (113). Her iki hücre tipi de ISCT’nin belirlediği ortak yüzey antijenlerini ifade ederler. Ancak bazı özellikleri bakımından çok ufak farklılık gösterirler. Kemik iliği kök hücreleri CD49d’yi çok az CD106’yı daha fazla ifade ederken, yağ dokusu kök hücreleri tarafından ise CD49d çok daha fazla miktarda ifade edilirken CD106 çok az ifade edilir (114). Bu ters ifade oranı ilginçtir. Çünkü CD106 CD49d’nin reseptörüdür ve her iki molekül de hematopoietik kök hücreler tarafından ifade edilir ve kemik iliği progenitör hücrelerinin yerleşimi ve mobilizasyonundan sorumludur (114). Yağ dokusu kök hücreleri, CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD73, CD105, CD166 and MHC Class I pozitif özellik gösterir. Ayrıca, CD31, CD45 ve CD133’ü de çok zayıf miktarda yüzeylerinde ifade edebilirler. CD34 ve MHC Class II için ise negatif özellik gösterirler (100).

2.4. Sezaryen

2.4.1. Sezaryen Tanımı

Sezaryen ile doğum batının açılması (laparotomi) ve uterus duvarının bir insizyonla (histerotomi) açılmasını kapsar.

2.4.2. Sezaryen Sıklığı

Sezaryen oranındaki artış nedeniyle, Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği Sezaryen Doğum Oranları Grubu (2000) (115) 2010 yılı için hedef olarak tekil baş geliş 37 hafta veya üstündeki nulliparlarda %15,5 sezaryen doğum hızı belirlemiştir.

Sezaryen hızındaki devam eden artışın nedenleri tam olarak anlaşılmamıştır, fakat bazı açıklamalar şu şekildedir:

1. Doğum yapanların büyük kısmının, sezaryen riski yüksek olan nulliparlar olması
2. Ortalama maternal yaşın artması
3. Elektronik fetal monitörizasyon yaygın olarak kullanılması
4. Özellikle nulliparlarda artan doğum indüksiyonu oranları
5. Obezitenin yaygınlaşması
6. Preeklampsi kadınlarda doğum indüksiyonu oranının azalması
7. Sezaryen sonrası vajinal doğum (SSVD) 1996'da %26'dan 2007 yılında %8,5'e düşmesi
8. Elektif sezaryen doğum
9. Malpraktis davaları

2.4.3. Sezaryen Endikasyonları

Doğumun daha fazla geciktirilmesinin anneyi, fetusu ya da her ikisini birden tehlikeye atacağı düşünülen; fakat vajinal doğumun güvenli olarak gerçekleştirilmesinin olanaklı olmadığı durumlar sezaryen için endikasyon oluşturmaktadır (116). Bu endikasyonları 4 ana grupta inceleyebiliriz:

2.4.3.1. Fetusa Ait Endikasyonlar

- Situs ve Prezantasyon Anomalileri:
- Fetal Distress
- Postterm Gebelik
- İri Bebek
- Çoğul Gebelik

2. Anneye Ait Endikasyonlar

- Önceki Sezaryen Öyküsü

1970 ile 2007 arasında Birleşik Devletlerde ki sezaryen doğumun toplam doğumlar içindeki payı %4.5'ten %31.8'e yükselmiştir (117,118). Primer sezaryen oranlarının artması nedeniyle SSVD'a olan ilgi artmıştır. Uzun yıllar boyunca, uterus rüptürü korkusuyla skarlı uterusun doğum eylemi için kontrendikasyon oluşturduğuna inanıldı. 1916'da Cragin ünlü açıklamasını yaptı: "Bir kez sezaryen, her zaman sezaryen" (119). Cragin'in bu açıklamayı yaptığı yıllarda klasik vertikal insizyonun neredeyse evrensel olarak kullanıldığını hatırlamalıyız. Buna rağmen, bazı meslektaşları, Cragin'in görüşlerini tamamen paylaşmamışlardır. Önde gelen obstetrik klinikleri, klasik sezaryen insizyonlarında ciddi uterin rüptür olguların en az %4 geliştiğini, transvers insizyonda rüptür olgularının ise yalnızca %0.5 geliştiğini bildirmişlerdir (120).

- Uterin Kontraksiyon Yetersizliği
- Eylemi Engelleyecek Hastalık
- Sefalopelvik Uyumsuzluk
- Doğum Yolunun Neoplastik Hastalıkları
- Doğum Yolu İle İlgili Geçirilmiş Operasyonlar- Histerotomi, Myomektomi, Vajinal Operasyonlar
- Doğum Kanalını Tıkayan Tümörler - Myoma Previa
- Aktif Herpes Genitalis

2.4.3.3. Plasenta Ve Eklerine Ait Endikasyonlar

- Kordon Komplikasyonları; Kordon Prezantasyonu, Kordon Sarkması
- Plasenta İnsersiyon Anomalileri; Vasa Previa
- Ablatio Plasenta

- Plasenta Previa

2.4.3.4. Sosyal Endikasyonlar

- İleri Anne Yaşı
- Kıymetli Bebek

Gelişmiş ülkelerde sezaryenlerin %80'den fazlası 4 ana endikasyonla yapılmaktadır(121).

- Önceki sezaryen öyküsü
- İlerlemeyen eylem
- Makat prezentasyonu
- Fetal distress

4. Sezaryen Kontrendikasyonları

En önemli kontrendikasyon uygun bir endikasyonun olmayışıdır. Karın duvarının piyojenik enfeksiyonları, anormal ya da ölü fetus, uygun koşulların bulunmayışı da diğer kontrendikasyonları oluşturur(122)

2.5. Doğum Eylemi Denemesi İle Sezaryen Tekrarının Karşılaştırılması

2.5.1. İlişkili Riskler

1998 ve 1999'da, Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği SSVD'ü destekleyen fakat dikkatli yaklaşılması gerektiğini de vurgulayan bültenler yayınlamıştır. Bu süreçte uterin rüptür, perinatal morbidite ve mortalitede artış endişesiyle SSVD olgularının sayısı azalmış (2007'de Amerika'da, %8.5 oranında azalmış) ve toplam sezaryen oranında artış izlenmiştir (117).

2.5.1.1. Fetal Riskler

Uterus rüptürü ve ilgili komplikasyonlar, doğum eylemi denemesiyle artar. Ölü doğum ve hipoksik iskemik ensefalopati oranları ise eylemin denendiği grupta anlamlı şekilde daha yüksek

bildirilmiştir (123).

Doğum eylemi denemesinin ardından uterus rüptürü gelişirse bunun sonucu olarak fetal ölüm veya yaralanmanın kesin riski 1000'de 1'dir (124).

2.5.1.2. Maternal Riskler

Çalışmaların çoğunda, doğum eylemi denenen ve elektif tekrar sezaryen uygulanan gebeler karşılaştırıldığında maternal mortalitenin anlamlı derecede değişmediği gösterilmiştir (125).

SSVD ile elektif tekrar sezaryen yapılanlar karşılaştırıldığında, maternal morbiditeye neden olan majör komplikasyonların —histerektomi, uterus rüptürü veya operatif yaralanma— SSVD'de daha fazladır. Eylemin başarısız olduğu gebelerde başarılı olanlara göre majör komplikasyon riski daha fazladır. Doğum denemesinin başarısız olduğu gebelerde aynı zamanda koryoamniyonit ve kanama oranı da daha fazladır (126).

2.5.2. Hastanın Tercihi

Vajinal doğumla kıyaslandığında sezaryen doğumda risk daha fazladır. Bunlar, anestezi komplikasyonları, kanama, mesane ve diğer organ yaralanmaları, pelvik infeksiyon ve adezyon oluşumudur. Ayrıca, sezaryen sayısı arttıkça bu riskler de progresif olarak artar (127).

Bu risk artışına rağmen, elektif tekrar sezaryen doğum, çoğu gebe tarafından tercih edilmektedir (128,129). En sık nedeni, planlanmış doğuma göre uzamış ve potansiyel olarak tehlikeli bir doğum eylemi korkusudur (130).

2.5.3. Doğum Eylemi Denemesi Adayları

Sezaryen Sonrası Vajinal Doğum (SSVD) Adaylarının Seçimini Etkileyen Faktörler:

- Bir önceki alt-transvers sezaryen doğum
- Klinik olarak yeterli pelvis

- Başka uterin skar veya rüptür öyküsünün olmaması
- Aktif doğum eylemi boyunca eylemi izleyebilecek ve acil sezaryen uygulayabilecek klinisyenin bulunması
- Acil sezaryen için anestezi ve personelin bulunması (131)

Uterin rüptür olasılığı artıran nedenler sıralandığında önceki uterin insizyonun tipi en önemlileri arasında yer almaktadır (132). Klasik insizyonla kıyaslandığında bugün için Sezaryende daha sık kullanılan alt segment insizyon skarının uterin rüptür riski daha azdır (120,131). Bununla birlikte daha önceden uterin rüptür öyküsü olan hastalarda klasik ya da T insizyon uygulanmışsa doğum eylemi denenmesi kontrendikedir (133). Açılan insizyonun kapatılış şekli ile ilgili ise net bir risk hesabı bulunmamaktadır.

Doğumlar arasında geçen süre değerlendirildiğinde uterus involüsyonun tamamlanması ve anatominin düzelmesinin en az 6 ay süreceği manyetik rezonans görüntüleme kullanılarak gösterilmiştir (134).

SSVD denenecek olgularda en önemli prognostik faktör, daha önce vajinal doğum yapmış olmaktır. Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği (2004), daha önce iki alt-transvers sezaryen geçirmiş olan gebeler için, ancak daha önce vajinal doğum yapmış olmak koşulu ile, spontan doğum eylemi denemesinin düşünülebileceği yönünde görüş bildirmiştir (131).

Olguların daha önceki sezaryen endikasyonları SSVD başarısını öngörmeye faydalıdır. Önceki doğum makat geliş ya da fetal distress nedeniyle sezaryenle yapılmışsa sonraki vajinal doğum denemesinin başarı şansı yüksek iken, önceki doğumdan 500 gr ve daha iri fetüs ya da distosi nedeniyle sezaryen yapılmışsa başarı şansı yarı yarıya azalır (135).

Uterin rüptür riski fetüs büyüklüğü ile doğru orantılı olarak artar öyle ki preterm fetüslerde rüptür daha az izlenmektedir (136,137). İkiz gebeliklerde ise rüptür riskinde anlamlı bir artış görülmektedir (138).

Maternal obezite vajinal doğum başarı şansını vücut kitle indeksi arttıkça düşürür (139).

Elektif sezaryen tekrarı planlanıyorsa, fetusun matür olması zorunludur. Tamamlanmış 39 haftadan önce yaptırılan elektif doğumlarla ilişkili olarak anlamlı olarak neonatal morbidite artar.

2.5.4. Servikal Olgunlaşma ve Doğum Eyleminin Uyarılması

Servikal olgunlaşma doğum indüksiyonu veya augmentasyonu için yapılacak tüm işlemlerin, doğum eylemi denemesi yapılan gebede uterus rüptürü riskini arttırdığı gösterilmiştir (140).

Oksitosin kullanılarak yapılan doğum indüksiyonu veya augmentasyonunun SSVD denenen gebelerde uterin rüptür oranlarını arttırdığı belirtilmiştir. Oksitosin dozuna bağlı olarak bu gebelerde rüptür riski de artar (141).

Tek başına intravajinal prostaglandin kullanımı ya da mizoprostol uterus rüptürü riskinde artışa neden olur (142). Önemli olarak, oksitosinle birlikte ardışık prostaglandin kullanımı, spontan doğum eylemi ile karşılaştırıldığında rüptür riskinde çok daha fazla artışa neden olmaktadır (143).

2.6. Uterus Rüptürü

2.6.1. Uterus Rüptürü Sınıflandırması

Uterus rüptürü, tipik olarak; (a) komplet (uterus duvarının tüm katları ayrılmış) veya (b) inkomplet (uterus kasları ayrılmış, fakat viseral periton intakt) olarak sınıflandırılmaktadır. İnkomplet rüptür, aynı zamanda uterin dehisans (ayrılma) olarak da adlandırılır. Günümüzde komplet veya inkomplet rüptür için en büyük risk faktörü, daha önceki sezaryen doğumdur (144).

2.6.2. Uterus Rüptürü Tanısı

Uterus rüptürünün en sık bulgusu, geç deselerasyonlar, bradikardi ve fetal ölümü kapsayabilen değişken fetal kalp hızı deselerasyonlarıyla birlikte güven vermeyen bir fetal kalp hızıdır (145). Az sayıda gebede uterin kontraksiyonlar rüptür sonrası durur (146). Rüptüre uterustan kaynaklanan hemoperitoneum, diyafragma irritasyonu nedeniyle göğse yayılan ağrıya neden olabilir, bu uterus rüptürü yerine pulmoner veya amnios sıvısı embolisi olasılığını düşündürebilir (145).

Bazı gebelerde, uterus rüptürünün görünümü plasenta dekolmanından farksızdır (147). Ancak, olguların çoğunda, belirgin ağrı ve uterus duyarlılığında artış, daha azdır. Ancak, eylemdeki çoğu gebe, narkotik veya epidural analjezi aldığından ağrı ve duyarlılık artışı kolayca görülmeyebilir. Rüptür, genellikle fetal distres ve bazen gizli kanama sonucu oluşan hipovolemi bulguları nedeniyle fark edilir (148).

Fetusun gelen kısmının pelvise girdiği olgularda, pelvik muayene ile gelen kısmın düzeyinin kaybolması saptanabilir (149). Fetus, rüptür alanından kısmen veya tamamen dışarı atılmışsa, pelvik girimden uzaklaşmış olan gelen kısmın belirlenmesinde, abdominal palpasyon veya vajinal muayene yararlı olabilir (150). Bazen, fetusun yanında sert kontrakte uterus hissedilebilir (151).

2.6.3. Uterus Rüptürü Prognozu

Rüptür ile birlikte fetus periton boşluğuna atıldığında fetal sağ kalım şansı kötüdür ve %50 ile 75 arasında mortalite oranları bildirilmektedir (152). Fetal durum dakikalar içinde değişebilir ve plasental implantasyonun intakt kalma derecesine bağlıdır (153). Fetus, rüptür zamanında canlı ise, tek hayatta kalma şansı acil girişimlidir. Aksi takdirde, hem plasental ayrılma hem de maternal hipovolemi nedeniyle hipoksi kaçınılmazdır (154). Rüptür, plasentanın tamamen ayrılması ile birlikteyse, fetus çok nadir olarak kurtarılabilir (155). Fetusde hipoksik iskemik ensefalopati ya da fetal ölüm gelişebilirken maternal ölüm nadirdir (156).

Uterin rüptür gelişen olgulara histerektomi ya da sütürlerle onarım yapılabilir. Ancak onarılan olgularda gebelik geliştiğinde rüptürün tekrarlama riski yüksektir (157-159).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma için Kırıkkale Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'na başvurularak 16.02.2012 tarih, 12/2 sayılı toplantı ve karar numarası ile onay alınmış ve çalışma etik kurallara uygun olarak yapılmıştır.

3.1. Ratların Temini Ve Bakımı

Çalışmaya Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. (Ankara)'dan elde edilen 36 adet Wistar albino cinsi, 16 haftalık, 250–300 gr. ağırlığındaki dişi ratlar dahil edildi. Hayvanlar, her grupta 8 rat olmak üzere toplam 2 gruba ayrıldılar ve paslanmaz çelik kafeslerde, sessiz, sıcaklığın 17 ± 2 °C ve nemin % 60-65 arasında kontrol altında tutulduğu, ayrıca 12 saat ışık, 12 saat karanlık ışık döngüsünün sağlandığı bir odada barındırıldılar. Standart pellet yem ve içme suyu ile beslendiler.

3.2. Rat Adipöz Doku Kaynaklı Mezenşimal Kök Hücrelerin Basit Teknikle İzolasyon, Kültür Ve Karakterizasyonu

Bu çalışmada kullanılan adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücreler basit teknikle Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Biyoloji Bölümünde hazırlandı (106).

3.2.1. Hücre İzolasyonu Ve Kültürü

Bu çalışmadaki MKH'ler 3 adet ratın flank bölgesinden adipöz dokudan izole edildi (Wistar

albino, dişi, 250-300gr). Xylazine (Richter Pharma AG, Avusturya) (10 mg/kg) ve ketamine (Richter Pharma AG) (50 mg/kg) ile anestezi uygulanan ratların steril şartlarda flank bölgelerindeki adipöz dokuları toplandı. İzolasyon prosedürü 3 kez tekrarlandı ve rat başına ortalama 0.62 gr adipöz doku toplandı ($n = 3$; $n_1 = 0.72$ gr, $n_2 = 0.57$ gr, $n_3 = 0.57$ gr). Adipöz doku transportunda medium olarak içeriğinde %10 (v/v) FBS (Biochrom, Almanya) ve %0.4 (v/v) penisilin-streptomisin (Sigma Kimyasal, ABD) bulunan DMEM/F12 (Biochrom, Almanya) kullanılıp daha sonra petri kutusuna yerleştirilip 4-5 mm kalınlığında parçalara ayrıldı. Doku parçaları içeriğinde %20 (v/v) FBS ve %0.4 (v/v) penisilin-streptomisin olan esas mediumda (DMEM/F12) 6 yuvalı kültür kabının içinde standart koşullarda (nemlendirilmiş %95 hava ve %5 CO içeren atmosferde 37 °C’de) inkübe edildi. Kültür mediumu her gün yenilenerek MKH’lerin üzerine sitokinlerin olası farklı ve çeşitli etkileri önlenir. Hücrelerin pasajında standart tripsinizasyon metodu kullanılarak tripan blue ile işaretlenen hücrelerin sayıları hesaplandı. (Sigma Kimyasal). Tripan blue ölü hücreleri tespit eder. Canlı ve proliferatif hücreler intakt membranları nedeniyle tripan blue’yu absorbe etmez ve boyanmazlar. Kültür mediumu çıkarıldı ve eklenen hücreler tripsin/EDTA (%0.05/0.02) solüsyonu (Biochrom) ile elde edildi. Hücre süspansiyonu santrifüj tüplerine konulup 800 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice çıkarıldı ve hücreler DMEM/F12 içeren %10 (v/v) FBS ve %0.2 (v/v) penisilin-streptomisinde inkübe edildi. MKH’ler 4 kez pasaj edildi ve gelecekteki kullanımları için donduruldu. Tripsin /EDTA solüsyonu ile hücreler kültür kabı yüzeyinden çıkarılarak dondurulma için hazırlandı. Hücre süspansiyonu hızlıca %50 (v/v) FBS, %40 DMEM/F12 ve %10 (v/v) DMSO (Sigma Kimyasal) içeren soğutma mediumuna kriyojenik tüp içine aktarıldı. Cryo tüpleri -80 °C’ de 48 saat saklandı daha sonra donmuş tüpler -196 °C sıvı nitrojen içeren kaplara uzun süre saklanmak üzere transfer edildi. Gelecekteki kullanımlar için hücre konsantrasyonunu standardize etmek amacıyla tüm hücreler 6 yuvalı kültür kaplarından toplanıp 1 kriyojenik tüpe aktarıldı. Hücre morfolojisi ve büyümesi invert mikroskopta incelendi. (1x70, Olympus, Japan)

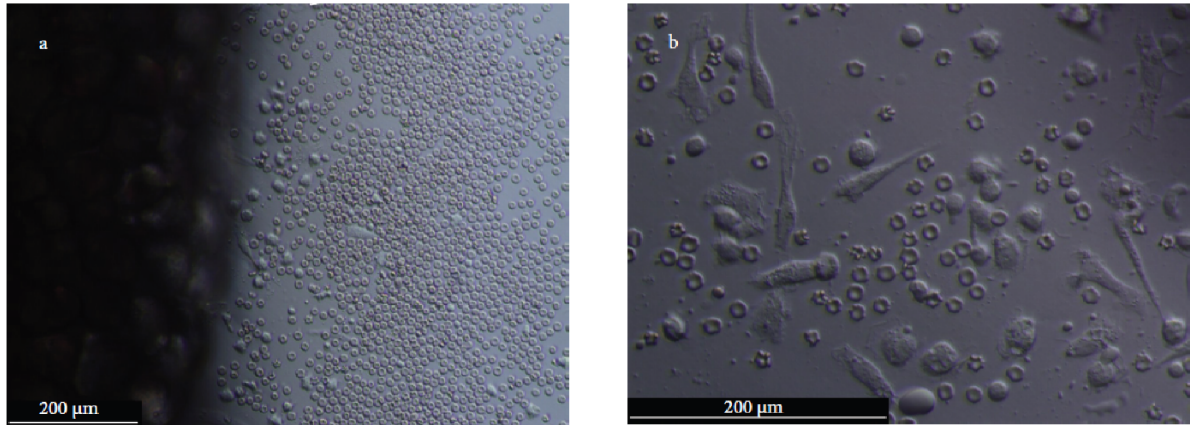
3.2.2. Hücre Karakterizasyonu

Mezenşimal kök hücrelerin karakterizasyonu için CD13 ve CD29 molekülleri (Santa Cruz Biyoteknoloji, ABD) ile işaretleme yöntemi kullanıldı. İmmün işaretleme için yetişkin hücreler kültür kaplarında PBS (Biochrom) ile yıkandı ve 5 dakika metanol içinde -10 °C’ de fikse edildi.

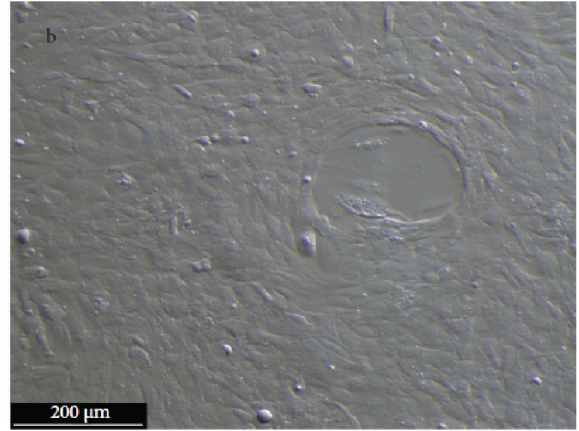
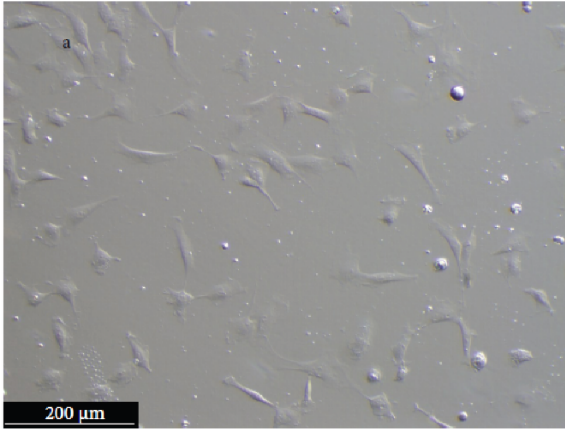
Fikasasyonun ardından, metanol uzaklaştırılıp, kurutuldu. Bloklama için hücreler 20 dakika bloklama serumunda (normal goat serumu) bekletildi. Bloklamının ardından bloklama serumu uzaklaştırılıp hücreler 3 kez PBS içinde yıkandı ve sonra 1 saat boyunca primer CD13 ve CD29 moleküllerinin antikorları ile inkübe edildi. PBS ile 5 dakika yıkamanın ardından hücreler 45 dakika sekonder antikorlarda (eşek antigoat Ig-TR) ve 3 kez PBS ile yıkandı. Yıkamadan sonra hücreler incelenecekleri yüzeye yerleştirilip floresan mikroskopta (BH2-RFL-T3 model floresan cihaz, Olympus) incelendi. Flow sitometri çalışması mezenşimal kök hücrelerin karakterizasyonu için CD29, CD90, CD54, MHC Class 1, CD45, CD106 ve MHC Class 2'ye karşı yapıldı.

3.2.3. Hücre İzolasyon ve Kültür Sonuçları

Bu çalışmada hücre izolasyonu için primer explant kültür tekniği kullanıldı. Enzimatik olmayan sindirim metodu tercih edildi. Adipöz dokuya ait doku fragmanları direkt olarak 6 yuvalı kültür kaplarına yerleştirildi. Kültürün 18. saatinden sonra fibroblastik hücre morfolojisindeki hücreler ortaya çıktı ve aralarında eritrositler identifiye edildi (Resim 3.1.a. ve 3.1.b.).



Resim 3.1. Adipöz doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin kültürlerinin 18. saatinde morfolojik olarak görünümü . a) x10 ve b)x20. Beyaz ok ertrositleri ve siyah ok ise mezenşimal kök hücreleri gösteriyor.



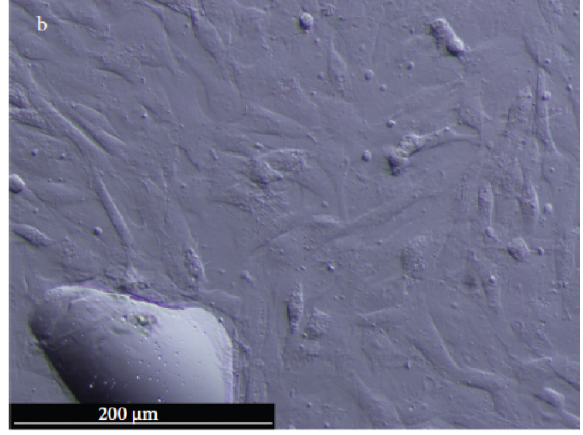
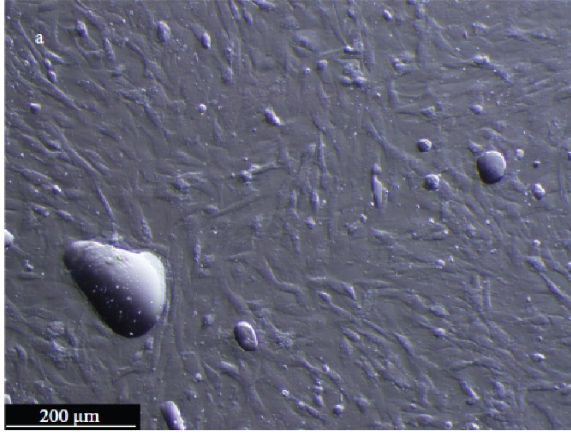
Resim 3.2. Mezenşimal kök hücrelerin a) 7 gün kültürleri sonrası, b) kültür plağının incelenen farklı kesişme bölgeleri

7 gün sonra fibroblastik morfolojideki hücrelerin sayısı arttı ve kültür plağının farklı parçalarındaki kesişme incelendi (Resim 3.2.a. ve 3.2.b.). Birçok eritrosit kültür mediumunun değiştirilmesi ile uzaklaştırıldı ve ilk pasajdan önce kırmızı kan hücreleri tamamen kaybolmuş oldu (Resim 3.3.a. ve 3.3.b.).

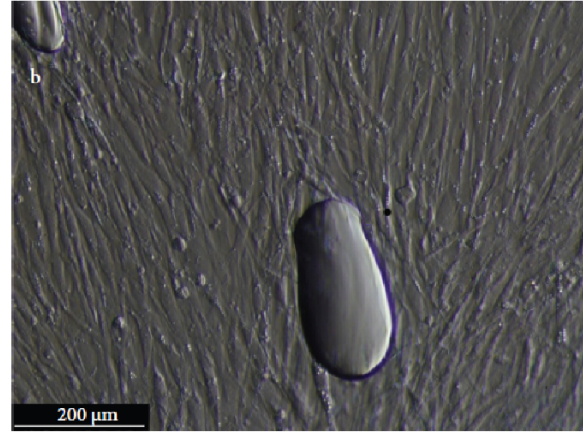
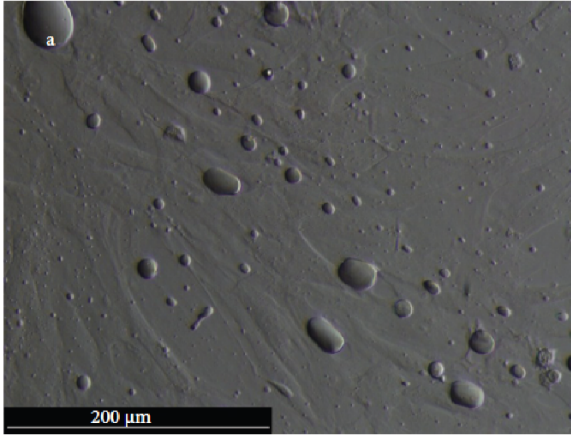
Hücreler tam olarak kesişmese de primer kültürün 7. Gününde pasajlandılar. 6 yuvalı kültür kabındaki ilk pasaj başlangıcında hücre sayısı yaklaşık olarak 600,000 hücre/ml idi ($n = 3$; $n_1 = 400,000$ hücre/ml, $n_2 = 640,000$ hücre/ml, $n_3 = 750,000$ hücre/ml). İlk pasajdan sonra hücre sayıları primer hücrelere göre çok hızlı arttı. Hücre sayısı ilk pasajın 4. gününde yaklaşık olarak 900,000 hücre/ml'yi buldu ($n = 3$; $n_1 = 1,320,000$ hücre/ml, $n_2 = 760,000$ hücre/ml, $n_3 = 600,000$ hücre/ml).

Hücreler kesişirse haftada 2 kez pasajlandılar. Kültüre devam edildiği sürece hücrelerin yarısı kadarı her pasajda dondurulup ileri kullanım için saklandı. Hücre çoğaltma prosedürüne 3 hafta devam edildi. Bu periyotun sonunda totalde her rattan 300, 000, 000 hücre elde edildi (3 rattan 900,000,000 hücre).

Fibroblastik hücre morfolojisi dondurup saklama prosedürünün ardından uygulanan ve stimülasyon yapılmayan subkültür koşullarında da sürdürüldü (Resim 3.4.a. ve 3.4.b.).

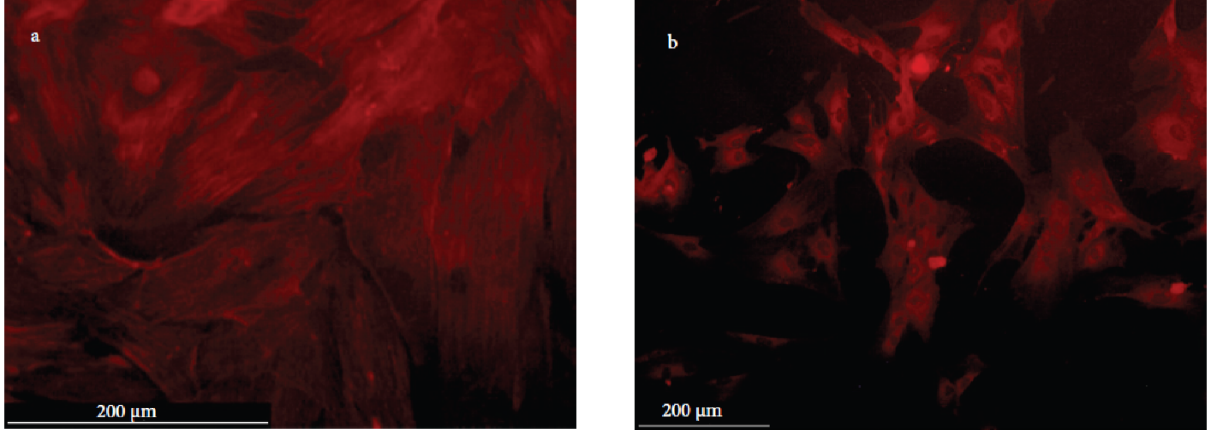


Resim 3.3. İlk pasaj sonrası kültüre edilmiş hücrelerin görünümü a)x10 ve b)x20. Eritrositler tamamen uzaklaştırılmış.



Resim 3.4. İkinci pasajdan sonra kesişen hücrelerin morfolojik görünimleri a)x20 b)x10

Bu çalışmada CD13 ve CD29 ekspresyonu MKH'lerin identifikasyonunda kullanıldı. İmmünfloresan yöntemlerin sonucuna göre kültürleri yapılan hücrelerin karakterizasyonları CD13 ve CD29 pozitif olduklarını gösterilerek yapıldı (Resim 3.5.a. ve 3.5.b.).



Resim 3.5. İmmünfloresan boyamadan sonra hücrelerin morfolojik görünüşleri a) CD13 ile boyama x20 b) CD29 ile boyama x10

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Adpöz doku eldesi için kullanılan 3 rat dışındaki ratlar (n=16) randomize olarak her grupta 8'er rat olmak üzere 2 gruba ayrıldı:

Grup I (Kontrol grubu): Soldaki uterin horna histeretomi uygulanıp sadece primer suture edilen, 1 ay sonra bilateral histerektomi yapılan grup

Grup II (Deney grubu): Soldaki uterin horna histeretomi uygulanıp primer suture edildikten sonra aynı seansta insizyon hattına sponge'a emdirilmiş MKH yerleştirilen, 1 ay sonra bilateral histerektomi yapılan grup

3.4. Ratlarda Histeretomi İle Uterin Skar Modelinin Yapılması

Ratlar 10 mg/kg xylazin hidroklorür (Rompun®, Bayer-İstanbul) ve 70 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar®, 500 mg 10 ml flakon Pfizer, İstanbul) kas içine uygulanarak anestezi sağlandıktan sonra dorsal yatay pozisyona getirildi. Opere edilecek alan povidon iyot ile temizlendi ve

boyandı. 2,5–3 cm’lik transvers laparotomi insizyonu uygulandı. Uterusa ait iki horndan soldaki horna 1.5-2 cm’lik vertikal ve endometrial kaviteye kadar ulaşacak kesi uygulandı. Ardından kesi alanı 4.0 rapid vickrylle tek tek suture edildi. Deney grubundaki ratların uterusdaki insizyon hatları üzerine 1cmx1cm’lik sponge’a emdirilmiş MKH’ler yerleştirildi. Her iki grupta da batın insizyonu 4.0 rapid vickrylle kapatıldı. İlk işlemten 1 ay sonra ratlara aynı anestezi ve aynı insizyondan laparotomi yapılarak her iki horn da doku germe testi ve histopatolojik değerlendirme için cerrahi olarak çıkartıldı. Ardından ratlar yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi.

3.5. Deneyin Sonlandırılması

Her iki grupta da uterin hornlar hassas terazi ile tartılıp, doku elastisitesini ve sağlamlığını korumak amacıyla histerektomiden en geç 1 saat sonra gerim uygulandı. Germe işleminden sonra kalan dokular histopatolojik analizler için %10’luk fosfat tamponlu formalin içinde saklandı.

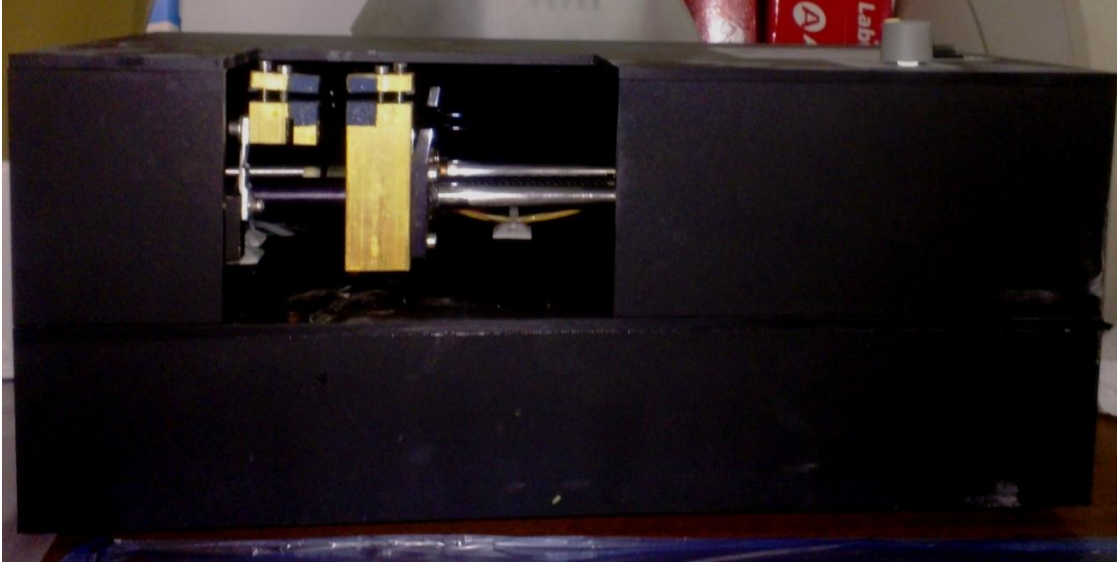


Resim 3.8. Kontrol ve deney grubundaki kesi yapılmış uterin hornların hacimsel farklılıkları (üstteki kontrol, alttaki deney grubuna ait kesi yapılmış uterin horn)

3.6. Doku Germe Testleri

Her iki grupta uterin hornlara ayrı ayrı gerim uygulandı. Doku germe testinde Doku Germe Sistemi (Commat LTD, Türkiye) ve entegre olduğu Doku Germe Kayıt Sistemi (MP30) kullanıldı. Doku germe kayıtları Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında, normal oda sıcaklığında ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$), dış etkenlere karşı izole edilmiş bir odada alındı. Alınan kayıtlar MP30 sistemi ile analiz edildi.

Doku örnekleri uterusu yapılan insizyona paralel olarak transduser'ın uçlarına yerleştirildi. Kuvvet iki uça eşit olacak şekilde bu yönde uygulandı. Eş zamanlı alınan kayıtlarda dokunun kopma noktası tespit edilip dokunun maksimum dayandığı gerim kg cinsinden hesaplandı.



Resim 3.9. Doku germe sistemi



Resim 3.10. Transduser uçlarına yerleştirilmiş, gerim testi için hazır uterus

3.7. Histopatolojik İncelemeler

Uygulama sonrası alınan uterin horn doku örnekleri % 10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespit edilen dokular, sırasıyla dereceli alkol, ksilol ve parafinizasyon işlemlerinden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom (Leica

RM 2025 Model-Almanya) ile 5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoxilen ve eozin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Carl Zeiss marka-Almanya) x40, x100 ve x400 büyütme ile incelendi. Uterin horn kesitlerinin histopatolojik değerlendirilmesinde ayrılma, kanama, ödem, mononükleer lökosit infiltrasyonu, anjiogenez olmak üzere beş kategoride semi-kantitatif skorlanarak değerlendirildi. Ayrıca gerekli görülen olgulardan mikroskopik görüntüler dijital ortama aktarıldı.

Tablo 3.1. Uterin horn kesitlerinin histopatolojik değerlendirilmesinde kullanılan skora skalası (160).

Bulguların şiddetine göre;

0 = yok

1 = hafif

2 = orta

3 = şiddetli olarak değerlendirildi.

3.8. İstatistiksel Analiz Gruplarının Oluşturulması

Çalışma grupları oluşturulduktan sonra elde edilen veriler doğrultusunda her bir grup sağlam ve kesi yapılmış uterusları içerecek şekilde ikiye ayrılarak ayrıldı ve istatistiksel analiz bu iki değişkenle bu gruplarda önce ağırlık sonra gerim arasında ve en son olarak histolojik inceleme için ayrılma, kanama, ödem, mononükleer lökosit infiltrasyonu ve anjiogenez değişkenlerine göre ayrı ayrı yapıldı.

3.8.1. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi için IBM SPSS Statistics 20.00 ve Power-G 3.00 paket programı kullanıldı. Veriler analiz edilmeden önce denek sayısı az olacağından karşılaştırmalı (compromise) güç analizi yapılarak denek sayısı ve istatistiksel güç hesaplandı. Sürekli değişkenlerin gruplara ilişkin dağılımı grafik yoluyla gösterildi. Gruplar için sağlam ve kesi yapılmış ağırlık ve gerim değerlerindeki farkın anlamlı olup olmadığına grup sayısındaki bireyler çok az olduğundan nonparametrik bir test olan ***Wilcoxon İşaretli Sıralar*** testiyle bakılmıştır. Ayrıca deney ve kontrol grupları arasında ağırlık ve gerim değerleri açısından bir fark olup olmadığı ise Mann Withney U testi yapılarak incelenmiştir. Pataloji sonuçları incelenirken sağlamlık ve kesi yapıma durumuna göre deney ve kontrol grubuna ilişkin ayrılma, kanama, ödem, mononükleer lökosit infiltrasyonu ve anjiogenez değişkenleri arasında bir fark olup olmadığına bu değişkenler sınıflama düzeyinde olduğu için ki kare bağımsızlık testi yapılarak bakılmıştır. Deney ve kontrol gruplarında yer alanların sağlam ve kesi yapılmış değerleri arasında fark olup olmadığına nonparametrik testlerden biri olan Friedman testi ile bakılmıştır. Sonuçlar $p < 0,05$ için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bir çalışmanın, belirli bir büyüklükteki gerçek etkiyi saptayabilme gücünü belirlemede güç analizi yapılır. Bu araştırmada ulaşılabilecek denek sayısı az olacağından karşılaştırmalı (compromise) güç analizi yapılmıştır. Analizde “Power-G 3.00” programı kullanılmıştır. Analiz sonucunda $\beta/\alpha=0,05$ düzeyinde ve etki büyüklüğü 0,20 olduğunda kontrol ve deney grubunda olmak üzere toplam 16 deneğin kullanılmasının araştırmadaki birey sayısı açısından yaklaşık %70 güce sahip olacağı belirlenmiştir.

Tablo 4.1. Deney ve kontrol grubuna ilişkin “kesi yapılmamış” uterin hornların ve “kesi yapılmış” uterin hornların ağırlıkları (kg).

¥:Grafik incelendiğinde kontrol grubunda kesi yapılmamış uterin hornların kesi yapılmış uterin hornlara göre daha ağır olduğu ($p=0.012$), deney grubunda ise kesi yapılmış uterin hornların kesi yapılmamış uterin hornlara göre daha ağır olduğu görülmektedir ($p=0.012$).

İki grupta da kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornların ağırlık değerlerindeki farkın anlamlı olup olmadığına grup sayısındaki bireyler çok az olduğundan parametrik bir test olan ilişkili örneklem t testi yerine nonparametrik bir test olan *Wilcoxon İşaretli Sıralar* testiyle bakılmıştır. Analiz sonucunda kontrol grubunda kesi yapılmamış uterin hornların ağırlıkları kesi yapılmış uterin hornların ağırlıklarından anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($z=2,52$, $p=0,012$). Deney grubunda ise kesi yapılmış uterin hornların ağırlıkları kesi yapılmamış uterin hornların ağırlıklarından anlamlı farkla daha ağır bulunmuştur ($z=2,527$ $p=0,012$).

Tablo 4.2. Deney ve kontrol grubuna ilişkin “kesi yapılmamış” ve “kesi yapılmış” uterin hornların gerimi (kg)

¶:Grafik incelendiğinde kontrol grubunda kesi yapılmamış uterin hornların kesi yapılmış uterin hornlara göre gerime daha fazla dayandığı ($p=0.012$) görülürken, deney grubunda kesi yapılmış uterin hornların kesi yapılmamış uterin hornlara göre gerime daha fazla dayandığı ($p=0.123$) ancak bu farkın istatistiki olarak anlamlı olmadığı göze çarpmaktadır.

Kontrol grubunda kesi yapılmamış uterin hornların gerim testinde gerime kesi yapılmış uterin hornlara göre daha fazla dayandığı gözlenmiştir. Bununla birlikte deney grubunda ise kesi yapılmış uterin hornların gerim testinde gerime kesi yapılmamış uterin hornlara göre daha fazla dayandığı izlenmiştir. İki grupta da kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornlarda gerim değerlerindeki farkın anlamlı olup olmadığına nonparametrik bir test olan **Wilcoxon İşaretli Sıralar** testiyle bakılmıştır. Analiz sonucunda kontrol grubunda kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornlarda gerim değerlerinde anlamlı fark bulunmuştur ($z=2,51$ $p=0,012$). Ancak deney grubunda kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornlarda gerim değerlerinde anlamlı fark bulunmamıştır ($z=1,540$ $p=0,123$).

Deney ve kontrol grupları arasında ağırlık ve gerim değerleri açısından bir fark olup olmadığı ise Mann Withney U testi yapılarak incelenmiştir. Analiz sonuçları tabloda özetlenmiştir.

Tablo 4.3. Deney ve kontrol grupları arasında ağırlık ve gerim değerleri

	Grup	N	Sıra toplamı	Sıra ortalaması	U	Z	p
Kesi yapılmamış_ağırlık	deney	8	6,31	50,5	14,5	-1,839	0,06
	kontrol	8	10,69	85,5			
	Total	16					
Kesi yapılmış_ağırlık	deney	8	10,63	85	15	-1,787	0,07
	kontrol	8	6,38	51			
	Total	16					
Kesi yapılmamış_gerim	deney	8	10,63	85	15	-1,785	0,07
	kontrol	8	6,38	51			
	Total	16					
Kesi yapılmış_gerim	deney	8	10,88	49	13	-1,995	0,04*
	kontrol	8	6,13	87			
	Total	16					

*p<0,05						
---------	--	--	--	--	--	--

¶:Tablo incelendiğinde deney ve kontrol grupları arasında kesi yapılmamış uterin hornların ağırlık değerleri arasında anlamlı bir fark yoktur ($U=14,5$ $p>0,05$). Benzer şekilde kesi yapılmış uterin hornların ağırlık değerleri arasında da anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir ($U=15$, $p>0,05$). Kesi yapılmamış uterin hornların gerim değerleri arasında anlamlı fark yoktur ($U=15$, $p>0,05$). Kesi yapılmış uterin hornların gerime dayanıklılıkları deney ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında deney grubunun gerim değerleri anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($U=13,0$ $p<0,05$).

Deney ve kontrol grupları arasında kesi yapılmamış uterin hornların ağırlık değerleri arasında anlamlı bir fark yoktur ($U=14,5$ $p>0,05$). Benzer şekilde kesi yapılmış uterin hornların ağırlık değerleri arasında da anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir ($U=15$, $p>0,05$).

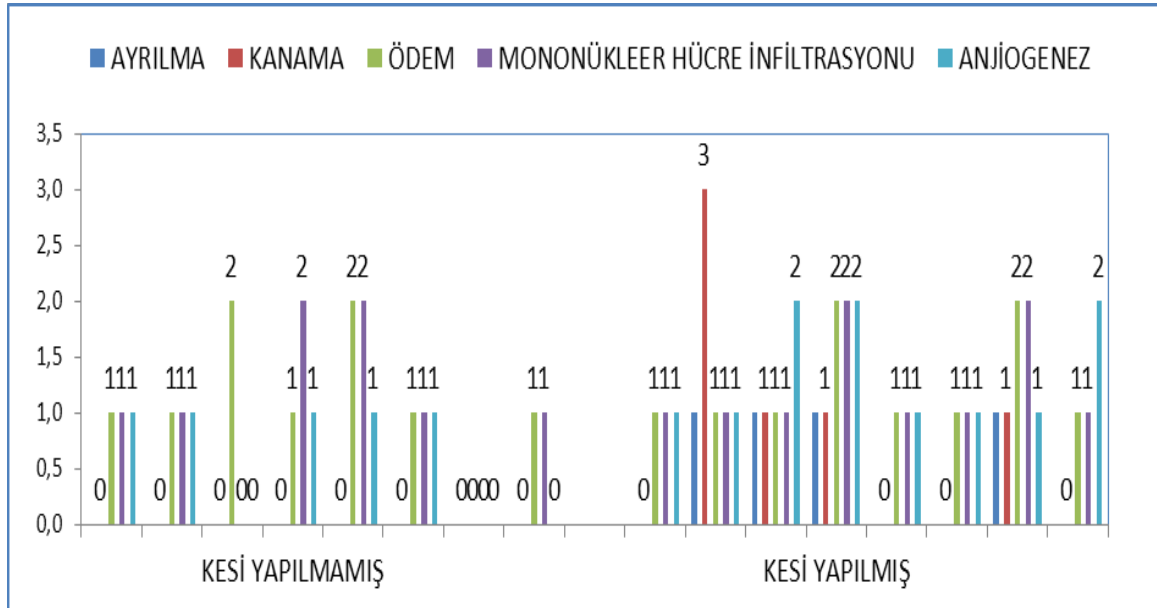
Analiz sonucunda elde edilen diğer bir bulgu; deney ve kontrol grubu arasında kesi yapılmamış uterin hornların gerim değerleri arasında bir fark olmadığı ($U=15,0$, $p>0,05$) ancak kesi yapılmış uterin hornların gerime dayanıklılığının kontrol grubunda deney grubuna göre daha fazla olduğu ve aradaki farkın anlamlı olduğudur ($U=13,0$ $p<0,05$).

Histopatolojik inceleme sonucu kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornların dahil olduğu deney ve kontrol grubunda ayrılma, kanama, ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu ve anjiogenez skorlama sonrası değerleriyle grafik halinde sunulmuştur.

Tablo 4.4. Kontrol grubuna ilişkin kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornların patolojik değerlendirme sonuçları

¶:Grafik incelendiğinde kontrol grubundan kesi yapılmamış uterin hornlarda izlenen patoloji değerlerinin (ayrılma, kanama, ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu, anjiogenez) kesi yapılmış uterin hornlarda arttığı görülmektedir. Özellikle ayrılma ve kanama gözlenme durumu kesi yapılmış uterin hornlarda artmıştır ($p<0,05$).

Tablo 4.5. Deney grubuna ilişkin kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornlara ait patolojik değerlendirme sonuçları



¥:Grafik incelendiğinde deney grubu kesi yapılmamış uterin hornlarda izlenen patoloji değerlerinin (ayrılma, kanama, ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu, anjiogenez) kesi yapılmış uterin hornlarda arttığı görülmektedir. Deney grubunda özellikle kanama gözlenme durumu kesi yapılmış uterin hornlarda artmıştır ($p<0.05$).

Patoloji sonuçları incelenirken kesi yapılmış ve yapılmamış olması durumuna göre deney ve kontrol grubuna ilişkin ayrılma, kanama, ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu, anjiogenez değerleri arasında bir fark olup olmadığına bu değerler sınıflama düzeyinde olduğu için ki kare bağımsızlık testi yapılarak bakılmıştır. Analiz sonuçları Tablo 4.6. ve 4.7. de verilmiştir.

Tablo 4.6. Kesi yapılmamış uterin hornların deney ve kontrol grubunda yer alma ile patoloji sonucunda elde edilen değerleri gösteren ki kare testi sonuçları

	Görülme Sıklık Düzeyi	Deney Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	Ki kare (χ^2)	df	P	
AYRILMA_KESİ YAPILMAMIŞ	0	Sayı	8	7	15	1,067	1	0,302
		%	53,3	46,7	100,0			
	1+	Sayı	0	1	1			
		%	0,0	100,0	100,0			
KANAMA_KESİ YAPILMAMIŞ	0	Sayı	8	7	15	1,067	1	0,302
		%	53,3	46,7	100,0			
	1+	Sayı	0	1	1			
		%	0,0	100,0	100,0			
ÖDEM_KESİ YAPILMAMIŞ	0	Sayı	1	1	2	0,311	2	0,856
		%	50,0	50,0	100,0			
	1+	Sayı	5	4	9			
		%	55,6	44,4	100,0			
	2+	Sayı	2	3	5			
		%	40,0	60,0	100,0			
MNH İNFİLTRASYONU_KESİ YAPILMAMIŞ	0	Sayı	2	3	5	0,343	2	0,842
		%	40,0	60,0	100,0			
	1+	Sayı	4	3	7			
		%	57,1	42,9	100,0			
	2+	Sayı	2	2	4			
		%	50,0	50,0	100,0			

ANJİOGENEZ_KESİ YAPILMAMIŞ	0	Sayı	3	1	4	3,000	2	0,223
		%	75,0	25,0	100,0			
	1+	Sayı	5	5	10			
		%	50,0	50,0	100,0			
	2+	Sayı	0	2	2			
		%	0,0	100,0	100,0			

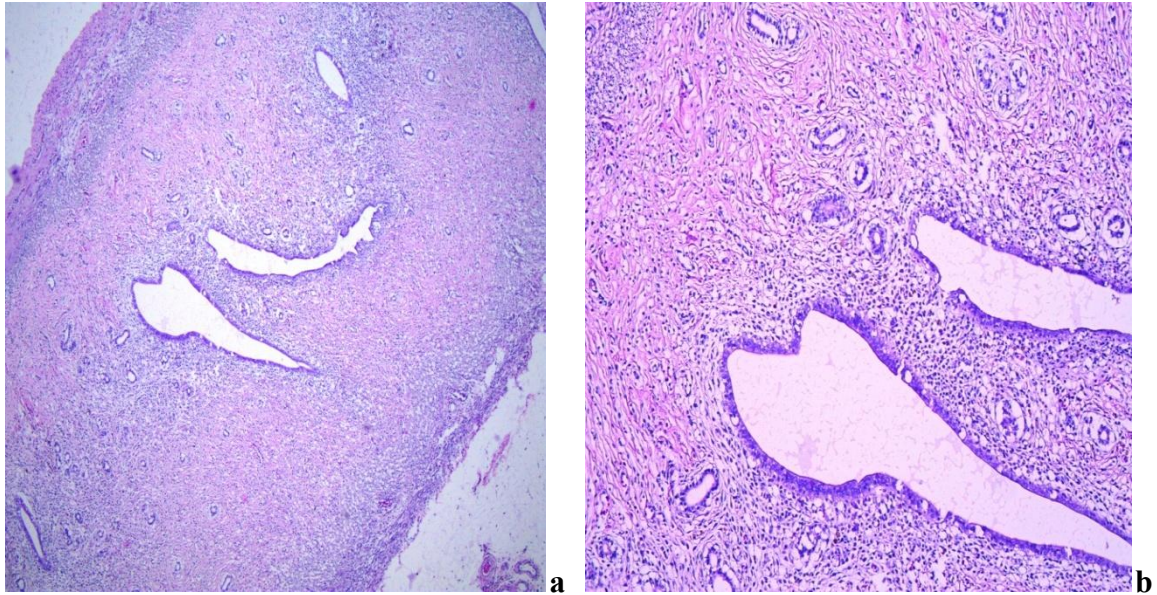
¥:Analiz sonucunda kesi yapılmamış uterin hornlara sahip olan deney ve kontrol gruplarının ayrılma, kanama, ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu, anjiogenez değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.($p<0.05$).

Tablo 4.7. Kesi yapılmış uterin hornlara ait ayrılma, kanama, ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu, anjiogenez değerlerinin deney ve kontrol grubunda karşılaştırılmasını gösteren ki kare testi sonuçları

	Gör ülm e Sıkl ık Düz eyi	Deney Grubu	Kontro l Grubu	Toplam	Ki kare (²s)	sd	p.	
AYRILMA_KESİ YAPILMIŞ	0	Sayı	4	5	9	3,911	2	0,141
		%	44,4	55,6	100,0			
	1+	Sayı	4	1	5			
		%	80,0	20,0	100,0			
	2+	Sayı	0	2	2			
		%	0,0	100,0	100,0			
KANAMA_KESİ YAPILMIŞ	0	Sayı	4	3	7	1,643	2	0,440
		%	57,1	42,9	100,0			
	1+	Sayı	3	5	8			

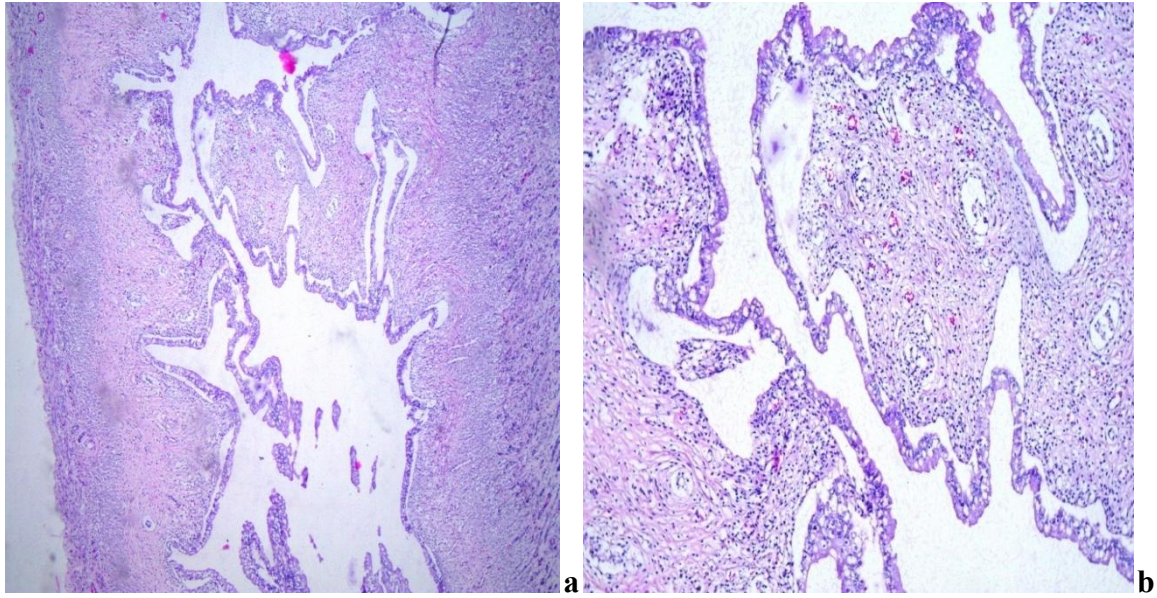
		%	37,5	62,5	100,0			
	3+	Sayı	1	0	1			
		%	100,0	0,0	100,0			
ÖDEM_KESİ YAPILMIŞ	1+	Sayı	6	1	7	6,571	2	0,037*
		%	85,7	14,3	100,0			
	2+	Sayı	2	6	8			
		%	25,0	75,0	100,0			
	3+	Sayı	0	1	1			
		%	0,0	100,0	100,0			
MNH İNFİLTRASYONU_KESİ YAPILMIŞ	1+	Sayı	6	1	7	6,349	1	0,012*
		%	85,7	14,3	100,0			
	2+	Sayı	2	7	9			
		%	22,2	77,8	100,0			
ANJİOGENEZ_KESİ YAPILMIŞ	1+	Sayı	5	3	8	1,000	1	0,317
		%	62,5	37,5	100,0			
	2+	Sayı	3	5	8			
		%	37,5	62,5	100,0			

¥:Kesi yapılmış uterin hornlarda deney ve kontrol gruplarında olma durumuna göre “ödem” görülme sıklığında ($\chi^2_{(2)} = 6,571$; $p < 0,05$) ve “mononükleer hücre infiltrasyonu” sıklığında ($\chi^2_{(1)} = 6,349$; $p < 0,05$) kontrol grubunda artış olup aradaki fark anlamlı bulunmuştur. Diğer durumlar için anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$).



Resim 4.1. Kesi yapılmış uterin hornlarda kontrol grubunda deney grubuna göre daha fazla izlenen

hücresel boyutta ödem bulgusu ($p=0.037$) a) HEX40 b) HEX100



Resim 4.2. Lümeneye yakın alanda daha net izlenen mononükleer hücre infiltrasyonu, kontrol grubunda kesi yapılmış uteruslarda daha fazla izlenmektedir ($p=0.012$) a) HEX40 b) HEX100

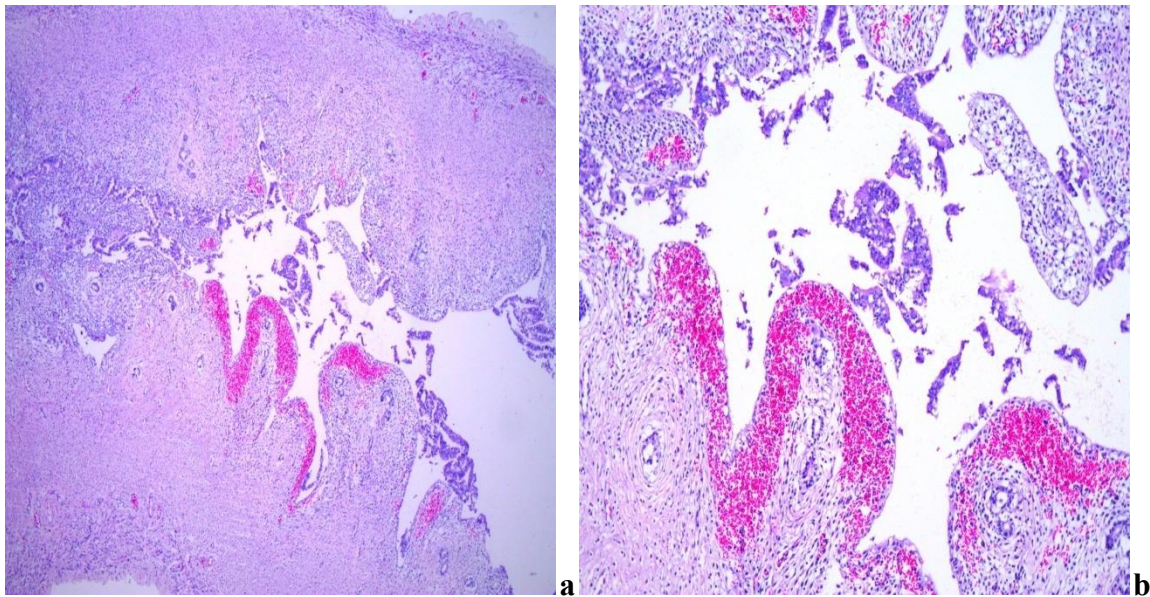
Deney ve kontrol gruplarında yer alan kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornlara ait patoloji verileri arasında fark olup olmadığına nonparametrik testlerden biri olan Friedman testi ile bakılmıştır. Analiz sonuçları tablo 4.8. de özetlenmiştir.

Tablo 4.8. Deney ve kontrol gruplarında yer alan kesi yapılmamış ve kesi yapılmış uterin hornlara ait patoloji verileri istatistiği

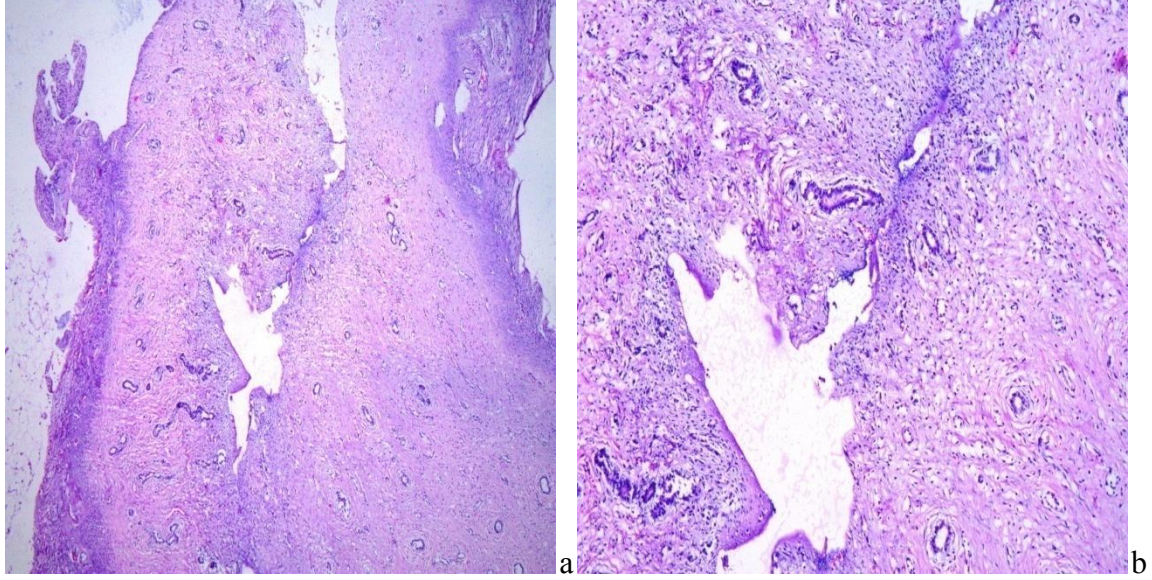
Grup		Sıralar ortalaması	N	FriedmanTesti Ki kare	df	p
deney	KANAMA_KESİ YAPILMAMIŞ	1,25	8	4,00	1	0,049*
	KANAMA_KESİ YAPILMIŞ	1,75				
kontrol	KANAMA_KESİ YAPILMAMIŞ	1,25	8	2,67	1	0,10
	KANAMA_KESİ YAPILMIŞ	1,75				
deney	AYRILMA_KESİ YAPILMAMIŞ	1,25	8	4,00	1	0,049*
	AYRILMA_KESİ YAPILMIŞ	1,75				
kontrol	AYRILMA_KESİ YAPILMAMIŞ	1,31	8	3,00	1	0,08
	AYRILMA_KESİ YAPILMIŞ	1,69				

deney	ÖDEM_KESİ YAPILMAMIŞ	1,50	8	0,00	1	1,00
	ÖDEM_KESİ YAPILMIŞ	1,50				
kontrol	ÖDEM_KESİ YAPILMAMIŞ	1,25	8	2,67	1	0,10
	ÖDEM_KESİ YAPILMIŞ	1,75				
deney	MNH_İNİLTRASYONU_KESİ YAPILMAMIŞ	1,44	8	0,33	1	0,56
	MNH_İNİLTRASYONU_KESİ YAPILMIŞ	1,56				
kontrol	MNH_İNİLTRASYONU_KESİ YAPILMAMIŞ	1,19	8	5,00	1	0,02*
	MNH_İNİLTRASYONU_KESİ YAPILMIŞ	1,81				
deney	ANJİOGENEZ_KESİ YAPILMAMIŞ	1,25	8	4,00	1	0,048*
	ANJİOGENEZ_KESİ YAPILMIŞ	1,75				
kontrol	ANJİOGENEZ_KESİ YAPILMAMIŞ	1,31	8	3,00	1	0,08
	ANJİOGENEZ_KESİ YAPILMIŞ	1,69				

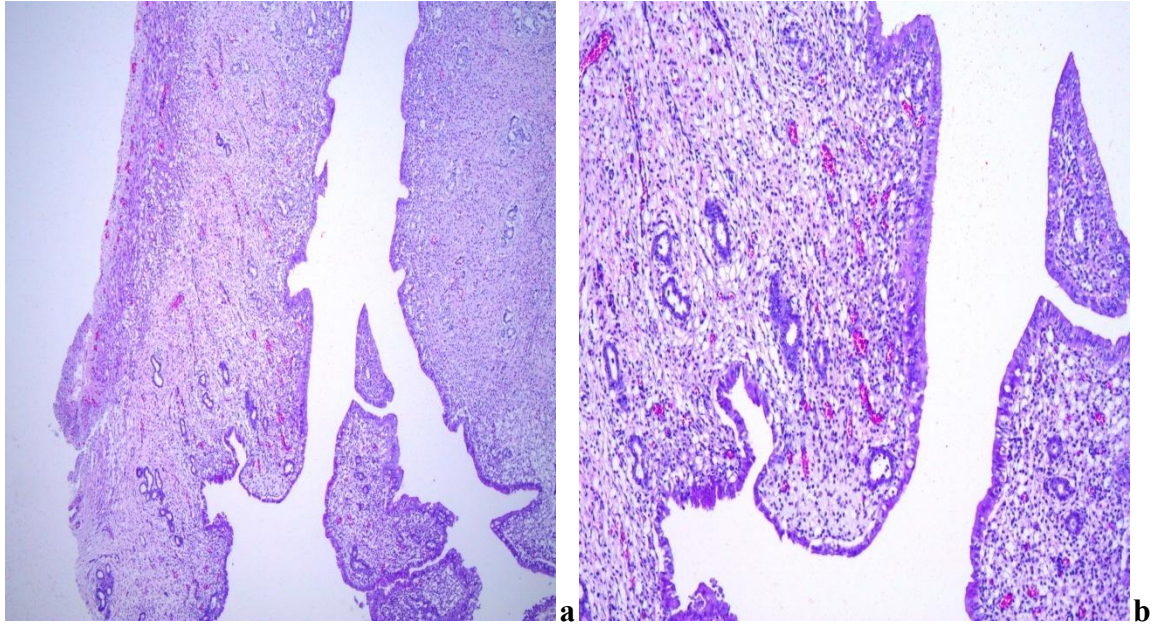
¥:Analiz sonucunda deney grubunda kesi yapılmış uterin hornlarda kanama ($\chi^2_{(1)} = 4,00$; $p < 0,05$), ayrılma ($\chi^2_{(2)} = 4,00$; $p < 0,05$) ve anjiogenezin ($\chi^2_{(1)} = 4,00$; $p < 0,05$) kesi yapılmamış uterin hornlara göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Kontrol grubunda kesi yapılmış uterin hornlarda sadece mononükleer hücre infiltrasyonu görülme sıklığında kesi yapılmamış uterin hornlara göre anlamlı bir fark bulunmuştur ($\chi^2_{(1)} = 5,00$; $p < 0,05$).



Resim 4.3. Deney grubunda kesi yapılmış uterin hornlarda daha fazla izlenen kanama bulguları (p=0.049) a) HEX40 b) HEX100



Resim 4.4. Uterus dokusundaki ayrılma deney grubunda kesi yapılmış uterin hornlarda, kesi yapılmamış uterin hornlara göre daha sık izlenmekte (p=0.049) a) HEX40 b) HEX100



Resim 4.5. Yara iyileşmesinin pozitif göstergelerinden olan anjiogenez deney grubunda kesi yapılmış

ve kök hücre uygulanmış uterin hornlarda daha sık görülmektedir. (p=0.048) a)HEX40 b)HEX100

Ki kare testi tek grupta farklı kategoriler arasındaki farka bakılırken kullanılır. Friedman testi ise ikiden çok ve aynı gruba ait tekrarlı ölçümler birlikte karşılaştırıldığında kullanılır. Yani ki kare testinde sadece deney ve kontrol gruplarının kesi yapılmış ve yapılmamış olma durumları ayrı ayrı bakılırken friedman testinde hem deney hem kontrol hem de kesi yapılmış ve yapılmamış olma durumu birlikte analiz edilebildiğinden patoloji sonuçları değerlendirilirken her iki test de kullanıldı.

5.TARTIŞMA

Uterin rüptür sık görülmemekle birlikte obstetrik acil cerrahinin ciddi bir sebebidir. Günümüzde komplet veya inkomplet rüptür için en büyük risk faktörü, daha önceki sezaryen doğumdur (144).

İsveç Doğum Kayıtları kullanılarak yapılan bir çalışmada, uterus rüptürü sonrası yenidoğan ölüm riskinin %5 olduğunu saptamışlardır, uterus rüptürüyle komplike olmayan gebelerle karşılaştırıldığında ölüm riski 60 kat artmıştır (153). Başka bir çalışmada, doğum eylemi denemesiyle ilişkili 114 uterus rüptürünün 7'si (%6) hipoksik iskemik ensefalopati gelişimiyle komplikeydi (154).

Uterin rüptürleri önlemenin etkin yollarından birisi de insizyon bölgesinde yara iyileşmesini optimum düzeyde sağlamaktır. Yara iyileşmesinin tüm dokularda optimal düzeyde olması fibrotik skar gelişimini en aza indirerek doku gerimin normale yakın tutar (161). Bu konuda yapılan çalışmaların bir çoğunda yara iyileşmesi histolojik, ve fonksiyonel parametrelerle değerlendirilmiş.

Histolojik kriterlerden ödem, inflamasyon, kanama, anjiogenez, fibrozis, kollajen dizilimi değerlendirilmiştir (162). Bu parametrelerden yeni fibrotik skar dokusu uterusda zayıf nokta yaratıp

doku mekanizmasını bozarak uterin rüptür olasılığını artırırken, inflamasyon ve anjiogenez yara iyileşmesini remodelling fazında artırarak optimal düzeyde yara gerimi sağlar (163). Fonksiyonel parametrelerden doku gerim kuvvetinin değerlendirilmesi ile yara iyileşmesi ve iyileşme sonrası normal dokuya olan benzerlik hakkında sayısal değerler elde edilebilmiştir (164).

Cerrahi sonrası uterusdaki iyileşme bir takım büyüme faktörlerinin salınımı ile başlayıp devam eden bir kaskad olup bu faktörlerin aşırı salınımı patolojik yeni doku oluşumuna ve ilerleyen dönemde uterus içindeki basıncın artışıyla uterin dehissense neden olur (165). Bu faktörlerden VEGF anjiogenezde majör rol oynayan faktör olup kan akımını artırarak inflamatuvar hücrelerin bu bölgeye gelmesini de sağlar (166,167). TNF- α 'nın uterusda myometrial dokuda anjiogenez ve inflamasyonda rol oynadığı gösterilmiştir (166-168). PDGF öncü kemotaktik ajan olarak görev alıp bu bölgeye fibroblast göçünü sağlayıp ekstrasellüler matrixin oluşumunu sağlar (166). Dolayısıyla bu bölgede yara iyileşmesi artırılmak istendiğinde bu mediyatörlerin salınımının da sağlanması gerekmektedir. Buna yönelik tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Bowers ve ark. hayvan modelinde bu bölgede yara iyileşmesini artırmak için büyüme faktörleri kullanmışlar ve doku kalınlığının ve doku gerim kuvvetinin arttığını, hücre miktarının azaldığını göstermişlerdir (169).

Skar gelişmiş uteruslara yönelik uygulanan tedavilerden biri de Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) olup rat uterin hornlarının rejenerasyon fazındaki olumlu etkileri gösterilmiştir (170). Kollajen bağımlı VEGF ile Nancheng ve ark. tarafından uygulanan uterin skar tedavisinin, remodelling fazında uterusun endometrial ve müküler rejenerasyonunu ve de vaskülarizasyonu artırdığı, gebelik elde etme sonuçlarını olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (171).

Koyunlarda yapılan bir çalışmada insizyon hattında myometrial iyileşmeyi artırmak için domuz barsak submukozasından elde edilen greftler kullanılmış, doku kalınlığının ve neoanjiogenezin arttığı buna karşılık adenomyozis ve inflamasyonun artmadığı gösterilmiştir (172). Doku gerim testinde ise greft uygulanmış ve uygulanmamış grup arasında fark görülmemiş.

Yara iyileşmesini sağlamak amacıyla farklı pre-klinik çalışmalarda farklı dokularda adipöz doku kaynaklı MKH'ler kullanılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (173,174). Gimble ve ark. adipöz doku kaynaklı MKH'lerin hasarlı dokuda salgıladıkları sitokinler ve büyüme faktörleri ile parakrin yolakları nasıl aktive ettiğini göstermiştir. Bu çalışmada aynı zamanda adipöz doku kaynaklı MKH'lerin yara iyileşmesinde pozitif etki sağlayan, antioksidanlar, serbest radikal çöpcüleri, şaperonlar ve ısı şok proteinlerinin iskemik alandaki varlığını artırdıkları vurgulanmıştır (175). Lokal olarak yaralı bölgeye transplante edilen adipöz doku kaynaklı MKH'ler Yoo ve ark. tarafından

yapılan çalışmada kolonik anastomoz hattında kullanılmış ve anjiogenezi ve buna bağlı olarak iyileşmeyi artırdıkları gözlenmiş (176).

Jun ve ark. kas kaynaklı kök hücreleri uterus düz kas iyileşmesinde ratlarda geliştirilen insizyon modelinde kullanmış olup iyileşmenin arttığını izlemişler buradan yola çıkarak myomektomi sonrası gebelik sürecinde bu tedavi ile uterin rüptür oranının azalacağını öngörmüşlerdir (177).

Kemik iliği kökenli otolog kök hücrelerin rat uterusundaki skar dokusundaki iyileşme üzerine etkileri ışık mikroskopunda incelenmiş olup anjiogenezi artırdığı gözlenmiş (178).

Adipöz doku kaynaklı MKH'lerin elde edilmesi ile ilgili bir çok yöntem mevcuttur. Literatürde adipöz dokudan MKH'lerin izolasyonu için çoğunlukla enzimatik yöntemleri içeren farklı teknikler bulunmaktadır. Örneğin; Zuk ve ark. adipöz doku kaynaklı MKH'leri bu yolla insan gevşek yağ dokusundan elde etmişler. Bu yöntemde yağ doku aspiratları steril phosphate-buffared saline (PBS) ile yıkanarak kontamine debris ve kırmızı kan hücreleri uzaklaştırılmış. Yıkanmış aspiratlara %0,075 kollejenazla (Tip1) PBS içinde 30 dakika 37 °C'de hafifçe çalkalanmış. Kollegenaz inaktive edilmiş, hücresel pellet 10 dakika santrifüj edilmiş tekrar kültür medyumuna konulup ve 100-µM'lik filtreden geçirilerek son kalan debrisler uzaklaştırılmış daha sonra hücreler kültüre edilmiş (179). Bir başka çalışmada Yeni Zellenda beyaz tavşanının karın subkütanöz dokusundan elde edilen yağ doku kullanılmış. Yağ doku küçük parçalara ayırdıktan sonra albümin ilave edilmiş kollegenaz ve tripsin ile sindirilmek üzere 2.5 saat 37 °C su banyosunda hafifçe karıştırılmış. Hücreler 1500 x g 'da 10 dakika santrifüj edildikten sonra hüce pelleti yıkanmış ve kültüre edilmiş (180). Cao ve ark. insan gevşek yağ dokusundan MKH elde etmek için enzimatik sindirim için %0.2'lik kollejenaz kullanmışlar (181). Katz ve ark. insan subkütanöz yağ dokusundan MKH'leri izole ederken enzimatik solüsyonları kullanmışlar (182). Bu çalışma diğerlerinden debrislerin uzaklaştırılması için doku filtreden geçirilmesi ve kalan hücre süspansiyonun santrifüj edilmesi ile ayrılmış. Eritrositlerin lizizi için hücre süspansiyonu ozmotik bir tampona maruz bırakılmış. Son çalışmaların büyük kısmında MKH'ler kollejenaz sindirimi kullanılarak izole edilmiş olup kırmızı kan hücreleri liziz tamponu ile uzaklaştırılmış (183,184).

Bunlara karşın bizim çalışmamızda hücre izolasyon ve kültür tekniğinde ne enzimatik sindirimlerden biri ne de filtreleme ve ozmotik tamponla kırmızı kan hücrelerinin uzaklaştırılması kullanıldı. MKH'ler direkt olarak explant kültür metoduyla izole edildi. Bu nedenle bu çalışmanın önemli avantajlarından biri kolay, ucuz olup aynı zamanda enzimatik metod kullanılmamasına göre

güvenli olmasıdır.

Adipöz doku kaynaklı MKH'ler kemik iliği MKH'leri gibi spesifik hücre yüzey proteinleri eksprese ederler. Hücre popülasyonlarının hızlı identifikasyonu için yüzey proteini ekspresyon analizi genellikle kullanılır (175,179).

MKH'lerin karakterizasyon markerları olan CD13 ve CD29 molekülleridir (185,186). Bu moleküller sadece markerlar olmayıp aynı zamanda angiogeneze rol oynayan reseptörlerdir (187).

MKH'ler bazı sitokin reseptörlerini, ekstrasellüler matrix komponentlerini ve adezyon, migrasyon, proliferasyon ve diferansiyasyon için gerekli growth faktörleri eksprese etmek zorundadır. Flow sitometri ile belirlenen bu moleküllerden MKH'lerde CD29, CD90, CD54 ve MHC Class 1 pozitif iken, CD45, CD106 ve MHC Class 2 negatiftir. Basit teknikle hazırlanan adipöz doku kaynaklı MKH'lerin minimum homojenitesi %98,68'dir. CD29 (integrin β_1) MKH'lerin adezyonu ve migrasyonunda rol oynar (188). CD90 (Thy-1) glikofosfolipidilinozitol (GPI) ile hücre yüzey proteinine bağlıdır. Bu protein immüngobülin süperfamilyasının bir üyesi olup hücrenin adezyon, ekstraselüler migrasyon ve migrasyonunda görev alır. CD90 MKH'lerin sıklıkla pozitif bir markerıdır (189). CD54 intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) olarak bilinir. Hücrede sinyal iletimi, hücre-hücre adezyonu ve transmigrasyonda rol oynar. CD54 MKH'lerin transmigrasyonunda önemlidir (190). Adipöz dokudan elde edilen MKH'ler yüksek düzeyde CD54 eksprese ederler (191). MHC Class 2 molekülleri sadece antijen sunan hücrelerde ve lenfositlerde bulunur (192). MKH'ler MHC Class 2 eksprese etmediklerinden hipoinmünojeniktirler. Buna karşın MKH'ler MHC Class 1 eksprese ederler. MKH'lerdeki yüksek düzeyde HLA-1 ekspresyonuna rağmen NK'lar tarafından yakalanıp lizise uğratılabilirler. MHC Class-1 NK'ların inhibitör ligandı gibi davranır aynı zamanda MKH'ler NK'ların proliferasyonunu suprese ederler ve IL-2 ile stimüle olan NK'ların IFN- γ üretimini azaltırlar. CD45 proliferasyon ve diferansiyasyonu sağlayan protein olup hematopoetik hücre markerıdır ve MKH'de bulunmaz (193). CD106 vasküler hücre adezyon molekülüdür (VCAM-1) ve lenfosit, monosit, eozinofil ve bazofillerin vasküler endotele tutunmasını sağlar. CD106 hematopoetik ve endotel hücre markerı olup MKH'de bulunmaz (194).

Geçirilmiş uterin cerrahi sonrası gelişen gebeliklerde uterin rüptür olasılığını ortadan kaldırmak amacıyla bu bölgedeki yara iyileşmesini optimal düzeyde sağlayarak normal dokuya en yakın yeni doku oluşumunu sağlayacak koruyucu yaklaşımlar faydalı olabilir. Uterusun histolojik yapısı ve

embriyonik kökeni göz önünde bulundurularak bu konuda yapılmış sınırlı sayıda çalışmada MKH'lere ait yüzey markerları ile uterus arasında benzerlikler saptanmış ve diferensiyasyon kabiliyetine sahip bu hücrelerle uterusda normal dokuya benzer nitelikte ve daha az fibrotik doku içeren yeni doku oluşumu gözlenmiştir (177,178). Bu amaçla kullanılacak MKH'lerden uygulanabilirliği ve elde edilmesi kolay olan adipöz doku kaynaklı MKH'ler, şimdiye kadar birçok çalışmada denenmiş yöntemlerden farklı bir yöntemle hazırlanıp, bizim çalışmamızda rat uterusunda deneysel uterin skar modelinde kullanıldı.

Bizim çalışmamızda deney grubu rat uterin hornlarına insizyon açılarak sütüre edildikten sonra kök hücreler yerleştirildi. Daha önce ratlarda uterin skar modeli denenilen diğer çalışmalar referans gösterilerek iyileşme süresi 1 ay olarak belirlendi (177,178). Bir aylık iyileşme süresi sonrasında değerlendirildiler. Değerlendirmeler için önceki çalışmalarda kullanılan parametreler göz önünde bulunduruldu ve hem histolojik hem de fonksiyonel parametreler kullanıldı (163-178).

Daha önceki çalışmalara bakıldığında histopatolojik bulguların daha sıklıkla anjiogenez ve inflamatuvar hücre yanıtı şeklinde değerlendirildiğini görüyoruz. Biz, çalışmamızda yara iyileşmesi açısından, söz konusu parametreleri ayrılma, kanama, ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu ve anjiogenez olarak revize ettik ve yara iyileşmesini geciktirici faktörlerin eklenmesinin daha anlamlı bir değerlendirme sağlayacağını düşündük. Özellikle ödem varlığına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptadık ($p<0.05$).

Anjiogenezin artmış olması daha önce de belirtildiği gibi dokuya artan kan akımı ile birlikte inflamatuvar hücre göçünü artırır. Bizim çalışmamızda adipöz doku kaynaklı MKH'lerin uterin skar tedavisinde olumlu etkilerini gösterir nitelikte olarak anjiogenez deney grubuna ait kesi yapılmış uteruslarda daha sık izlenmekle birlikte fark anlamlı değildi. Bu sonuçtan yola çıkarak adipöz doku kaynaklı MKH'lerin yara iyileşmesinde bu fazda etkin olmadığı öne sürülebilir. Ancak iki grup da incelendiğinde kesi yapılmış uterin hornlarda anjiogenezin izlenme sıklığının benzer olmasıyla damar oluşumunu tetikleyen VEGF salınımı açısından adipöz doku kaynaklı MKH'lerin kontrollü bir kaskad oluşturduğu da öngörülebilir. Daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi kontrolsüz anjiogenez ve inflamatuvar hücre göçü aberran skar dokusu oluşumu ve yara gerim kuvvetinin azalmasıyla karakterize olabilir(166-168,171).

Yara iyileşmesini geciktirici etkisi olan ve optimal iyileşme olmadığının bir göstergesi sayılabilecek ödem ise kontrol grubuna ait uterin hornlarda deney grubu kesi yapılmış uterin hornlara kıyasla anlamlı olarak daha fazla izlendi ($p<0.05$). Yara iyileşmesini geciktirici diğer faktörler arasında

anlamli bir fark izlenmedi.

Yapılan literatür taramasında MKH kullanılarak uterusdaki yara iyileşmesinin değerlendirildiği daha önceki çalışmalarda iyileşmenin hem histolojik hem de fonksiyonel olarak değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda rat uterusları insizyon sonrası 1 aylık iyileşme döneminin ardından histolojik olarak önemli iyileşme belirteçleri ile değerlendirilmiş olup aynı zamanda dokunun iyileşme dönemi sonrası dayanıklılığını gözlemlemek amacıyla doku germe testine tabi tutuldu. Germe testi öncesi tüm uterin hornlar ayrı ayrı tartıldı.

Kontrol grubunda kesi yapılmamış uterin horn ağırlıklarının kesi yapılmış uterin horn ağırlıklarından istatistiksel olarak anlamlı olarak fazla olduğu görülmüştür ($p=0.012$). Bu veri bize insizyon yapılan uterin hornlarda doku iyileşmesinin tamamlanmasına rağmen uterin hornlarda doku kaybının olduğunu gösterir. Deney grubunda ise tam tersi olarak sağlam uterin horn ağırlıkları kesi yapılmış uterin horn ağırlıklarından istatistiksel olarak anlamlı olarak az bulunmuştur ($p=0.012$). Deney grubunda insizyon hattına yerleştirilen adipöz doku kaynaklı MKH'ler nedeniyle kesi yapılan hornlarda doku kendini yenilemiş, zaman içinde travmaya maruz kalmasa dahi atrofiye uğrayan uterin horn dokusu yerine, doku kalınlığı artmış daha genç bir uterin horn dokusu gelmiştir. Bu nedenle sağlam ancak MKH uygulanmamış zaman içinde atrofiye uğramış hornla kıyaslandığında kesi yapılmış deney grubuna ait hornlarda ağırlık daha fazla olarak ölçülmüştür.

Daha önceden yapılmış, ratlara yönelik yara iyileşmesi ile ilgili birçok çalışmada doku germe testi skar dokusunun dayanıklılığını ölçmek ve uygulanan tedavilere yanıtla normal dokuya ne kadar yaklaştığını sayısal bir değerle objektif olarak göstermek amacıyla kullanılmış (164,169,172). Bizim çalışmamızda da doku germe testinden faydalanıldı. Her iki grupta da kesi yapılmış ve yapılmamış uterin horn gerim değerleri arasındaki farkın anlamlı olup olmadığına bakıldı. Kontrol grubunda kesi yapılmamış hornların gerime olan dayanıklılığı kesi yapılmış hornlardan istatistiksel olarak anlamlı olarak fazla olup bu göstermektedir ki, travmaya maruz kalmış uterus dokusunda rüptür olasılığı aynı dokunun natür haline göre artmıştır. Deney grubunda ise kesi yapılmış ve yapılmamış uterin hornların gerime dayanıklılıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. Bu sonuç kontrol grubunda elde edilen verilerle birleştirildiğinde rüptür olasılığını artıran skar dokusundaki yara iyileşmesinin niteliği olup adipöz doku kaynaklı MKH'ler kullanılarak doku yara iyileşmesi fazında etkilenip mekanik olarak normal dokuya en yakın hale getirilebilir ve bu da skarlı uterus dokusunun en korkulan sonuçlarından olan rüptür olasılığını azaltır.

Kesi yapılmış ve yapılmamış uterin hornların ağırlık değerleri deney ve kontrol grubu arasında

kıyaslandı. Deney ve kontrol grupları arasında kesi yapılmamış uterin horn ağırlık değerleri arasında anlamlı bir fark yoktur. Benzer şekilde kesi yapılmış uterin horn ağırlık değerleri arasında da anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. Analiz sonucunda elde edilen diğer bir bulgu; deney ve kontrol grubu arasında kesi yapılmamış uterin horn gerim değerleri arasında bir fark olmadığı ancak kesi yapılmış uterin horn gerim değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğudur ($p<0.05$). Bu veriler bize, çalışmamızda kullanılan ratların uterin skar modeli geliştirilmeden önce uterin hornlarının tahmini büyüklükleri ve mekanik etkiye dayanıklılıklarının benzer olduğuna dair bir fikir verebilir. Bununla birlikte kesi yapılmış uterin hornların gerime deney grubunda kontrol grubuna göre daha fazla dayanması adipöz doku kaynaklı MKH'lerin yara iyileşmesini olumlu yönde etkileyerek uterin rüptür olasılığını azaltabileceğine dair bize yön göstermektedir.

Uterin skarlar ve bunlara bağlı uterin rüptür riski reproduktif dönemdeki kadınlarda korkulan komplikasyonlardan olup bu kadınlarda gelişen gebeliklerde hem anne hem de fetüste morbidite ve mortaliteyi artırır. Bu risk göz önünde bulundurularak klinisyenlerin çok büyük bir kısmı ve hasta tarafından doğum yöntemi olarak sezaryen tercih edilmektedir. Tekrarlayan sezaryenler ile hasta mükerrer operasyonlar geçirip bunun getirdiği riskler ile karşı karşıya kalır. Tekrarlayan sezaryenin maliyeti maddi olarak da değerlendirildiğinde ekonomiye ciddi bir yük oluşturmaktadır. Bu nedenle geçirilen uterin cerrahi sonrası skar dokusunda optimal yara iyileşmesini sağlayacak kolay elde edilebilir, son zamanlarda popülaritesi giderek artan, adipöz doku kaynaklı MKH'ler gibi koruyucu yaklaşımların etkinliklerinin prospektif çalışmalarla desteklenmesi ve daha detaylı incelenmesi, sezaryen insidansında ciddi bir azalmayı gündeme getirebilir.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda rat uterusunda insizyon sonucunda deneysel olarak oluşturulan yara dokusu modelinde adipöz doku kaynaklı MKH' lerin yara iyileşmesi üzerine olan etkileri araştırılmıştır.
2. Çalışmamızda kontrol grubunda kesi yapılmış hornda yara iyileşmesini geciktirici lokal faktörlerden ödemin varlığı bu bölgede yara iyileşmesi fazında uygulanabilecek lokal koruyucu yöntemleri gündeme getirebilir.
3. Kontrol grubu kesi yapılmış hornda uterus ağırlığının ve doku gerim kuvvetinin kesi yapılmamış uterin horna göre azalması, skar dokusunun zayıf nokta teşkil ederek rüptür olasılığını artırdığı sonucuna varılmasına neden olabilir. Buradan yola çıkarak yara iyileşmesindeki defektif fazın giderilmesinde hasarlı dokunun rejenerasyonunun normal dokuya en yakın hale getirilerek sağlanması gerektiği fikri oluşturulabilir.
4. Deney grubunda adipöz doku kaynaklı MKH' ler kullanılarak kesi yapılmış hornların kesi yapılmamış hornlardan daha ağır olarak kaydedilmesi, lokal etki amaçlı kullanılan MKH' lerin bu hornda uterus dokusunun tamamının üzerinde rejenerasyon sağlayıcı bir etki oluşturarak dokuyu geçen zamanın getirdiği atrofik değişikliklere karşı da koruduğu fikrini akla getirmiştir. Ancak bizim çalışmamızda bu teoriyi destekler bir değerlendirilmeye gidilmemiş olup ileride bununla ilgili çalışmalar yapılabilir.
5. Deney grubunda kesi yapılmış hornlarda kesi yapılmamış hornlardan daha fazla doku gerim

kuvveti değerlerinin kaydedilmesi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması adipöz doku kaynaklı MKH' lerin kullanımı ile en az normal dokuya yakın doku dayanıklılığının elde edileceğini gösterir. Bu bölgede differansiyasyon ile oluşan yeni dokunun daha genç olması nedeniyle aynı yaştaki horna göre daha dayanıklı dahi olabileceğini göstermiştir. Bu veriler ışığında adipöz doku kaynaklı MKH' lerin rat uterusunda yara iyileşmesi üzerine olumlu etki göstererek skar oluşumunu önlediği söylenebilir.

6. Adipöz doku kaynaklı MKH' lerin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin prospektif çalışmalarla desteklenmesi ve daha detaylı olarak incelenmesi, uterin skar oluşumunu önlemede yeni koruyucu tedavi modalitelerini gündeme getirebilir.

7.KAYNAKLAR

1. G. Chamberlain, J. Fox, B. Ashton, J. Middleton, Mesenchymal stem cells: Their phenotype, differentiation, capacity, immunological features and potential for homing, Stem Cells, 25: 2739-2749, 2007.
2. D. Uçkan Çetinkaya, Mezenşimal kök hücrelerin klinikte kullanımı, Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar, TÜBA Yayınları, 53-62, 2011
3. Meric A, Yenigun A, Yenigun VB, Dogan R, Ozturan O. Comparison of Chondrocytes Produced from Adipose Tissue-Derived Stem Cells and Cartilage Tissue. J Craniofac Surg. 2013 May;24(3):830-833.
4. Jung S, Panchalingam KM, Wuerth RD, Rosenberg L, Behie LA. Large-scale production of human mesenchymal stem cells for clinical applications. Biotechnol Appl Biochem. 2012 Mar;59(2):106-20. doi: 10.1002/bab.1006.
5. Hoogduijn MJ, Popp F, Verbeek R, Masoodi M, Nicolaou A, Baan C, et al. The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their use for immunotherapy. Int Immunopharmacol 2010;10:1496–500.
6. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. Tissue Eng 2001;7:211–28.

7. Lydon-Rochelle M, Holt VL, Easterling TR, Martin DP. Risk of uterine rupture during labor among women with a prior cesarean delivery. *N Engl J Med* 2001; 345(1):3-8.
8. Bujold E, Gauthier RJ. Neonatal morbidity associated with uterine rupture: what are the risk factors? *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186(2):311-4.
9. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Dalçık H, Yıldırım M (Çev), 8. İngilizce baskıdan çeviri, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009. s. 263-71.
10. Sadler TW. Longman's Medical Embriyoloji. 7. Baskı Ankara: Palme Yayıncılık; 1996. s. 272-85.
11. Behringer.R.R., Cate.R.L., Froelick.G.J., Palmiter.R.D. and Brinster,R.L. Abnormal sexual development in transgenic mice chronically expressing Mullerian inhibiting substance. *Nature*,1990 345, 167-170.
12. Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. 3. Baskı. Ankara: Tıp & Teknik Yayıncılık; 1998.
13. Gruenwald,P. The relation of the growing Mullerian duct to the Wolffian duct and its importance for the genesis of malformations. *Anat. Rec.* 1941 81, 1-19.
14. Acie'n P Embryological observations on the female genital tract. *Hum Reprod* 1992 7,437-445.
15. Marshall,F.F. and Beisel.D.S. The association of uterine and renal anomalies. *Obstet. Gynecol.* 1978 51, 559-562
16. Ross HM, Kaye IG. Histology, A Text and Atlas. 4 th ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins; 2003
17. Cunningham GF, Gant FN, Leveno JK, Gilstrap CL, Hauth CJ, Wenstram DK. Williams Obstetrics. 21. st ed. North America: Medical Publishing Division, Mc Graw-Hill Companies; 2001. p. 39-83.
18. Standring S. Gray's Anatomy, The Anatomical Basis of Clinical Practice, 39th edition, Elsevier Churchill Livingstone 2005; 39: 134-137.
19. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. I. cilt. Ankara: Güneş Kitabevi; 1995. s. 428-437.
20. Banister, Berry, Collins, Dyson, Dussek, Ferguson. Gray's Anatomy. 38. Edition. England: Churchill Livingstone; 1995
21. Sancak B, Cumhuri M. Fonksiyonel Anatomi, Baş Boyun ve İç Organlar. 1. Baskı. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.; 1999. s. 333-338.

- 22.** Erdoğan D, Hatiboğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel Histoloji. 1. Baskı. Ankara: SBAD Yayınları; 1996. s. 179-186
- 23.** Abraham L, Kierszenbaum. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006. s. 578-581
- 24.** Junqueira CL, Carneiro J. Basic Histology. 11 th Edition. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009. s. 444-451
- 25.** Tekelioğlu M. Özel Histoloji İnce Yapı ve Geliştirme. Ankara: Antıp Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları; 2002
- 26.** Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of Histology. 3 rd Edition. Baltimore: W.B.Saunders Company; 2007. p. 463-489
- 27.** Eroschenko VP. diFiore Histoloji Atlası Fonksiyonel ilişkileriyle. 10. Baskıdan Çeviri. Ankara: Palme Yayıncılık; 2008. s. 391-397
- 28.** Simmons, K. Rat Reproductive System. Retrieved December 17, 2008, from <http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/16labman05/lb8pg8.htm> 2005, February 21.
- 29.** Suckow, M., Weisbroth, S., & Franklin, C. (2005). The Laboratory Rat, Second Edition (American College of Laboratory Animal Medicine). Toronto: Academic Press.
- 30.** Yavru N., Yavru S. Deney Hayvanları. Güneş Yayınevi. Konya. 1996. s: 186-205
- 31.** Dohr.G. and Tarmann.T. (1984) Contacts between Wolffian and Mullerian cells at the tip of the outgrowing Mullerian duct in rat embryos. Acta Anal. 120, 123-128
- 32.** Anisimov VN, Nikonov AA, Tumors of the vagina, uterus and oviduct. In: Turusov US, Mohr U editors. Pathology of tumours in laboratory animals (Vol 1-2nd ed), Oxford University Press; 1990, 445-46
- 33.** George Osol and Maurizio Mandala, Maternal uterine vascular remodeling during pregnancy. Physiology; 2009, 24: 58–71
- 34.** Choi JS, Joo CK. Wakayama symposium: new therapies for modulation of epithelialization in corneal wound healing. Ocul Surf. 2013 Jan;11(1):16-8. doi: 10.1016/j.jtos.2012.08.006. Epub 2012 Sep 10.
- 35.** Goldberg SR, Diegelmann RF. Wound healing primer. Surg Clin North Am. 2010;90(6):1133-46
- 36.** Mast BA, Cohen KI. Normal wound healing. In: Achauer BM, Erikssn E (eds). Plastic Surgery Indications, Operations and Outcomes Volume1. 1st ed. St.Louis: Mosby Inc.,

2000:37-52

- 37.** Lorenz HP, Longaker MT. Wound healing. Repair biology and wound and scar treatment. In: Mathes SJ (ed). Mathes Plastic Surgery Volume1. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Inc., 2006:209-34
- 38.** Odland G., Ross R. Human wound repair. I. Epidermal regeneration. J Cell Biol. 1968; 39 (1) :135
- 39.** Ross R, Everett NB, Tyler R Wound healing and collagen formation. VI. The origin of the wound fibroblast studied in parabiosis. J Cell Biol. 1970;44(3):645.
- 40.** Artlett CM. Inflammasomes in wound healing and fibrosis. J Pathol 2013; 229: 157–167.
- 41.** Diegelmann RF, Evans MC Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Front Biosci. 2004;9:283.
- 42.** Leibovich SJ, Ross R The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. Am J Pathol. 1975;78(1):71
- 43.** Rohrich RJ, Roninson JB. Wound healing. Selected Readings in Plastic Surgery 1999;9(3):1-39
- 44.** Gibran NS, Boyce S, Greenhalgh DG. Cutaneous wound healing. J Burn Care Res 2007; 28: 577–579.
- 45.** McKay IA, Leigh IM Epidermal cytokines and their roles in cutaneous wound healing British journal of Dermatology (1991) 124, 513-518.
- 46.** M. van der Rest, R. Garrone, Collagen family of proteins, FASEB J. 5 (1991) 2814– 2823.
- 47.** J.F. Bateman, S.R. Lamande, J.A.M. Ramshaw, Collagen superfamily, in: W.D. Comper (Ed.), Extracellular Matrix, Harwood Academic Press, Melbourne, 1996, pp. 22– 67.
- 48.** K. von der Mark, Structure, biosynthesis and gene regulation of collagens in cartilage and bone, Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism, Academic Press, Orlando, 1999, pp. 3– 29.
- 49.** J. Rossert, B. de Crombrughe, Type I collagen: structure, synthesis and regulation, in: J.P. Bilezikian, L.G. Raisz, G.A. Rodan (Eds.), Principles in Bone Biology, Academic Press, Orlando, 2002, pp. 189–210.
- 50.** Kim WS, Park BS, Sung JH. The wound-healing and antioxidant effects of adipose-derived stem cells. Expert Opin Biol Ther. 2009;9(7):879-87
- 51.** Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens structure, function, and biosynthesis. Adv Drug

Deliv Rev. 2003 28;55(12):1531-46

52. Distler JH, Hirth A, Kurowska-Stolarska M, Gay RE, Gay S, Distler O. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q J Nucl Med*. 2003 Sep;47(3):149-61.
53. Linden T, Katschinski DM, Eckhardt K, Scheid A, Pagel H, Wenger RH. The antimycotic ciclopirox olamine induces HIF-1 α stability, VEGF expression, and angiogenesis. *FASEB J*. 2003 Apr;17(6):761-3. Epub 2003 Feb 19
54. Doillon CJ, Dunn MG, Bender E, Silver FH Collagen fiber formation in repair tissue: development of strength and toughness. *Coll Relat Res*. 1985;5(6):481.
55. Kakudo N, Kushida S, Suzuki K, Ogura T, Notodihardjo PV, Hara T, Kusumoto K. Effects of transforming growth factor-beta1 on cell motility, collagen gel contraction, myofibroblastic differentiation, and extracellular matrix expression of human adipose-derived stem cell. *Hum Cell*. 2012 Dec;25(4):87-95. doi: 10.1007/s13577-012-0049-0. Epub 2012 Dec 16.
56. O'Toole EA. Extracellular matrix and keratinocyte migration. *Clin Exp Dermatol* 2001;26(6):525–30.
57. Trebault A, Chan EK, Midwood KS. Regulation of fibroblast migration by tenascin-C. *Biochem Soc Trans*. 2007 Aug;35(Pt 4):695-7.
58. Attinger CE, Steinberg JS, Meyr AJ. Debridement of the Diabetic Foot Wound. In: *Clinical Care of the Diabetic Foot*, Second Edition, Armstrong DG, Lavery LA. (Eds), American Diabetes Association, Alexandria 2010. p.49.
59. Clore JN, Cohen IK, Diegelmann RF. Quantitation of collagen types I and III during wound healing in rat skin. *Proc Soc Exp Biol Med* 1979;161(3):337–40.
60. Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S, et al. Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen* 1999;7(6):442–52.
61. Vaalamo M, Leivo T, Saarialho-Kere U. Differential expression of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1, -2, -3, and -4) in normal and aberrant wound healing. *Hum Pathol* 1999;30(7):795–802.
62. Dodson MK, Magann EF, Meeks GR A randomized comparison of secondary closure and secondary intention in patients with superficial wound dehiscence. *Obstet Gynecol*. 1992;80(3 Pt 1):321.

- 63.** Tibbs M. K. Wound healing following radiation therapy: A review. *Radiother. Oncol.* 1997;42: 99-106
- 64.** Evans, M.J., and Kaufman, M.H. (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292, 154–156.
- 65.** Surani MA, Durcova-Hills G, Hajkova P, Hayashi K, Tee WW. Germ line, stem cells, and epigenetic reprogramming. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2008;73:9-15. doi: 10.1101/sqb.2008.73.015. Epub 2008 Nov 6.
- 66.** Yamagata K, Ueda J. Long-term live-cell imaging of mammalian preimplantation development and derivation process of pluripotent stem cells from the embryos. *Dev Growth Differ.* 2013 Mar 18. doi: 10.1111/dgd.12048.
- 67.** Galan A, Diaz-Gimeno P, Poo ME, Valbuena D, Sanchez E, Ruiz V, Dopazo J, Montaner D, Conesa A, Simon C. Defining the Genomic Signature of Totipotency and Pluripotency during Early Human Development. *PLoS One.* 2013 Apr 17;8(4):e62135. doi: 10.1371/journal.pone.0062135. Print 2013.
- 68.** Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006 Aug 25;126(4):663-76. Epub 2006 Aug 10.
- 69.** Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabé-Heider F, Sadikot A, Kaplan DR, Miller FD. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol.* 2001 Sep;3(9):778-84.
- 70.** Lim JJ, Kim HJ, Kim KS, Hong JY, Lee DR. In vitro culture-induced pluripotency of human spermatogonial stem cells. *Biomed Res Int.* 2013;2013:143028. doi: 10.1155/2013/143028. Epub 2012 Dec 24.
- 71.** Reyes M, Verfaillie CM. Turning marrow into brain: Generation of glial and neuronal cells from adult bone marrow mesenchymal stem cells. *Blood* 94:10(S1):377a, 1999.
- 72.** Dennis JE, Merriam A, Awadallah A, Yoo JU, Johnstone B, Caplan AI. A quadripotential mesenchymal progenitor cell isolated from the marrow of an adult mouse. *J Bone Miner Res* 14:700–709, 1999.
- 73.** Khosrotehrani K Mesenchymal stem cell therapy in skin: why and what for? *Exp Dermatol.* 2013 May;22(5):307-10. doi: 10.1111/exd.12141
- 74.** G. Chamberlain, J. Fox, B. Ashton, J. Middleton, Mesenchymal stem cells: Their

phenotype, differentiation, capacity, immunological features and potential for homing, *Stem Cells*, 25: 2739-2749, 2007.

- 75.**D. Uçkan Çetinkaya, Mezenşimal kök hücrelerin klinikte kullanımı, *Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar*, TÜBA Yayınları, 53-62, 2011
- 76.**Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation*. 1974 Apr;17(4):331-40.
- 77.**Owen M, Friedenstein AJ. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Found Symp*. 1988;136:42-60.
- 78.**H.K. Vaananen, Mesenchymal stem cells, *Annals of Medicine*, 37: 469-479, 2005
- 79.**Gregory CA, Ylostalo J, Prockop DJ. Adult bone marrow stem/progenitor cells (MSCs) are preconditioned by microenvironmental “niches” in culture: A two-stage hypothesis for regulation of MSC fate. *Sci STKE* 2005;2005:pe37.
- 80.**Mauney JR, Volloch V, Kaplan DL. Role of adult mesenchymal stem cells in bone tissue engineering applications; current status and future prospects. *Tissue Eng*.2005;11:787–802.
- 81.**Cohnheim J. Ueber Entzündung und Eiterung. (In German.) *Pathol Anat Physiol Klin Med*. (Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin). 1867;40:1–79
- 82.**Crillo, Hermes C. M.D. Origin of Fibroblasts in Wound Healing: An Autoradiographic Study of Inhibition of Cellular Proliferation by Local X-Irradiation *Annals of Surgery*: March 1963 - Volume 157 - Issue 3 - ppg 453-467
- 83.**PhinneyDG, ProckopDJ,Concisereview: mesenchymal stem/multipotent stromal cells:the state of transdifferentiation and modes oftissue repair current views. *Stem Cells*. 2007 Nov;25(11):2896-902. Epub 2007 Sep 27.
- 84.**J.J. Minguell, A. Erices, P. Conget, Minireview: Mesenchymal stem cells, *Experimental Biology and Medicine*, 226(6): 507-520, 2001

- 85.** Mackenzie TC, Flake AW. Human mesenchymal stem cells persist demonstrate site-specific multipotential differentiation, and are present in sites of wound healing and tissue regeneration after transplantation into fetal sheep. *Blood Cells Mol Dis.* 2001 May-Jun;27(3):601-4.
- 86.** Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, Di Cesare S, Piersanti S, Saggio I, Tagliafico E, Ferrari S, Robey PG, Riminucci M, Bianco P. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell.* 2007 Oct 19;131(2):324-36.
- 87.** M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller, I. Slaper-Cortenbach, F.C. Marini, D.S. Krause, R.J. Deans, A. Keating, D.J. Prockop and E.M. Horwitz, Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement, *Cytotherapy*, 8(4): 315-317, 2006
- 88.** E.M. Horwitz, K. Le Blanc, M. Dominici, I. Mueller, I. Slaper-Cortenbach, F.C. Marini, R.J. Deans, D.S. Krause and A. Keating, Clarification of nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement, *Cytotherapy*, 7(5): 393-395, 2005
- 89.** J.A. Kode, S. Mukherjee, M.V. Joglekar, A.A. Hardikar, Mesenchymal stem cells: immunology and immunomodulation and tissue regeneration, *Cytotherapy*, 11(4): 377-391, 2009
- 90.** Nagamatsu G, Suda T. Conversion of Primordial Germ Cells to Pluripotent Stem Cells: Methods for Cell Tracking and Culture Conditions. *Methods Mol Biol.* 2013 May 3.
- 91.** Chatakun P, Núñez-Toldrà R, Díaz López EJ, Gil-Recio C, Martínez-Sarrà E, Hernández-Alfaro F, Ferrés-Padró E, Giner-Tarrida L, Atari M. The effect of five proteins on stem cells used for osteoblast differentiation and proliferation: a current review of

the literature. *Cell Mol Life Sci.* 2013 Apr 9

- 92.** Solis MA, Chen YH, Wong TY, Bittencourt VZ, Lin YC, Huang LL. Hyaluronan regulates cell behavior: a potential niche matrix for stem cells. *Biochem Res Int.* 2012;2012:346972. doi: 10.1155/2012/346972. Epub 2012 Feb 12.
- 93.** Tan SL, Ahmad TS, Selvaratnam L, Kamarul T. Isolation, characterization and the multi-lineage differentiation potential of rabbit bone marrow derived mesenchymal stem cells. *J Anat.* 2013 Apr; 222(4):437-50. doi:10.1111/joa.12032.
- 94.** Ramasamy R, Fazekasova H, Lam EW, Soeiro I, Lombardi G, Dazzi F. Mesenchymal stem cells inhibit dendritic cell differentiation and function by preventing entry into the cell cycle. *Transplantation.* 2007 Jan 15;83(1):71-6.
- 95.** Chamberlain G, Smith H, Rainger GE, Middleton J. Chamberlain G, Smith H, Rainger GE, Middleton J. Mesenchymal stem cells exhibit firm adhesion, crawling, spreading and transmigration across aortic endothelial cells: effects of chemokines and shear. *PLoS One.* 2011;6(9):e25663. doi: 10.1371/journal.pone.0025663. Epub 2011 Sep 28.
- 96.** Sasaki M, Abe R, Fujita Y, Ando S, Inokuma D, Shimizu H Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type *J Immunol.* 2008 Feb 15;180(4):2581-7.
- 97.** Macqueen L, Sun Y, Simmons CA. Mesenchymal stem cell mechanobiology and experimental platforms *J R Soc Interface.* 2013 May 1;10(84):20130179. doi: 10.1098/rsif.2013.0179. Print 2013.
- 98.** Patel DM, Shah J, Srivastava AS. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Stem Cells Int.* 2013;2013:496218. doi: 10.1155/2013/496218. Epub 2013 Mar 19.
- 99.** Becerra J, Santos-Ruiz L, Andrades JA, Marí-Beffa M. The stem cell niche should be a key issue for cell therapy in regenerative medicine. *Stem Cell Rev.* 2011 Jun;7(2):248-55. doi: 10.1007/s12015-010-9195-5.
- 100.** B. Lindroos, R. Suuronen, S. Meittinen, The potential of adipose stem cells in regenerative medicine, *Stem Cell Rev and Rep*, 7: 269-291, 2011
- 101.** Becker AJ, McCulloch EA, Till JE Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature.* 1963;197: 452-454.

- 102.** Fridenshtein Ala, Petrakova KV, Kuralesova AI, Frolova GI. Precursor cells for osteogenic and hemopoietic tissues. Analysis of heterotopic transplants of bone marrow Tsitologiya. 1968 May;10(5):557-67.
- 103.** Solter D. From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research. *Nat Rev Genet.* 2006 Apr;7(4):319-27.
- 104.** De Schauwer C, Meyer E, Van de Walle GR, Van Soom A. Markers of stemness in equine mesenchymal stem cells: a plea for uniformity. *Theriogenology.* 2011 May;75(8):1431-43. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.11.008. Epub 2010 Dec 31.
- 105.** Asumda FZ, Chase PB. Age-related changes in rat bone-marrow mesenchymal stem cell plasticity. *BMC Cell Biol.* 2011 Oct 12;12:44. doi: 10.1186/1471-2121-12-44.
- 106.** Niyaz M, Gürpınar Ö.A, Günaydın S, Onur M. A. Isolation, culturing and characterization of rat adipose tissue derived mesenchymal stem cells: a simple technique *Turk J Biol* 36 (2012) 658-664c TUBİTAK doi:10.3906/biy-1109-31
- 107.** Chen YS, Pelekanos RA, Ellis RL, Horne R, Wolvetang EJ, Fisk NM. Small molecule mesengenic induction of human induced pluripotent stem cells to generate mesenchymal stem/stromal cells. *Stem Cells Transl Med.* 2012 Feb;1(2):83-95. doi: 10.5966/sctm.2011-0022. Epub 2012 Feb 7.
- 108.** Lindroos B, Boucher S, Chase L, Kuokkanen H, Huhtala H, Haataja R, Vemuri M, Suuronen R, Miettinen S. Serum-free, xeno-free culture media maintain the proliferation rate and multipotentiality of adipose stem cells in vitro. *Cytotherapy.* 2009;11(7):958-72. doi: 10.3109/14653240903233081.
- 109.** Gimble JM, Bunnell BA, Frazier T, Rowan B, Shah F, Thomas-Porch C, Wu X. Adipose-derived stromal/stem cells: A primer. *Organogenesis.* 2013 Jan 1;9(1).
- 110.** Ivanova-Todorova E, Bochev I, Dimitrov R, Belemezova K, Mourdjeva M, Kyurkchiev S, Kinov P, Altankova I, Kyurkchiev D. Conditioned medium from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells induces CD4+FOXP3+ cells and increases IL-10 secretion. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:295167. doi: 10.1155/2012/295167. Epub 2012 Nov 20.
- 111.** Sándor GK, Suuronen R. Combining adipose-derived stem cells, resorbable scaffolds and growth factors: an overview of tissue engineering. *J Can Dent Assoc.* 2008 Mar;74(2):167-70

112. Arrigoni E, de Girolamo L, Di Giancamillo A, Stanco D, Dellavia C, Carnelli D, Campagnol M, Domeneghini C, Brini AT. Adipose-derived stem cells and rabbit bone regeneration histomorphometric, immunohistochemical and mechanical characterizaion. *J Orthop Sci.* 2013 Mar;18(2):331-9. doi: 10.1007/s00776-012-0349-y. Epub 2013 Jan 24.
113. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, Redl H, Rubin JP, Yoshimura K, Gimble JM. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics (IFATS) and Science and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy.* 2013 Apr 6. pii: S1465-3249(13)00387-3. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.02.006.
114. De Ugarte DA, Alfonso Z, Zuk PA et al. Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi- lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immuno Lett* 89: 267-70, 2003.
115. American College of Obstetricians and Gynecologists, Task Force on Cesarean Delivery Rates: Evaluation of cesarean delivery. June 2000
116. Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF. Cesarean delivery and Cesarean Hysterectomy. (eds.)/ Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ. *Williams Obstetrics* 20th Edition. Connecticut: Appleton and Lange, 1997: 509-531
117. Hamilton BE, Martin JA, Ventura SJ: Births: Preliminary Data for 2007. *National Vital Statistics Reports*, Vol 57, No 12. Hyattsville, Md, National Center for Health Statistics, 2009
118. MacDorman MF, Menacker F, Declercq E: Cesarean birth in the United States: Epidemiology, trends, and outeomes. *Clin Perinatol* 35(2):293, 2008
119. Cragin E: Conservatism in obstetrics. *NY Med J* 104:1, 1916
120. American College of Obstetricians and Gynecologists: Vaginal birth after previous cesarean delivery. *Practice Bulletin No. 5*, July 1999
121. Statford RS, Sullivan SD, Gardner LB. Trends in cesarean section use in California

1983 to 1990. Am J Obstet Gynecol 1993;168: 1297-302

- 122.** De Chemey AH, Nathan L. Cesarean section In: Current Obstetric and Gynecologic Diagnosis and Treatment 2003; 518-529
- 123.** Landon MB, Hauth JC, Leveno KJ, et al: Maternal and perinatal outcomes associated with a trial of labor after prior cesarean delivery. N Engl J Med 351:2581, 2004
- 124.** Smith GC, Pell JP, Cameron AD, et al: Risk of perinatal death associated with labor after previous cesarean delivery in uncomplicated term pregnancies. JAMA 287:2684, 2002
- 125.** Mozurkewich EL, Hutton EK: Elective repeat cesarean delivery versus trial of labor: A meta-analysis of the literature from 1989 to 1999. Am J Obstet Gynecol 183:1187, 2000
- 126.** El-Sayed YY, Watkins MM, Fix M, et al: Perinatal outcomes after successful and failed trials of labor after cesarean delivery. Am J Obstet Gynecol 196:583.el, 2007
- 127.** Silver RM, Landon MB, Rouse DJ, et al: Maternal morbidity associated with multiple repeat cesarean deliveries. Obstet Gynecol 207:1226, 2006
- 128.** J. Melnikow, P. Romano, W.M. Gilbert et al. Vaginal birth after Cesarean in California Obstet Gynecol, 98 (2001), pp. 421–426
- 129.** Abitbol MM, Castillo I, Taylor UB, et al: Vaginal birth after cesarean section: The patient's point of view. Am Fam Physician 47:129, 1993
- 130.** Clemenson N. Promoting vaginal birth after cesarean section. Am Fam Physician. 1993 Jan;47(1):139-44.
- 131.** American College of Obstetricians and Gynecologists: Vaginal birth after previous cesarean delivery. Practice Bulletin No. 54, July 2004
- 132.** Shipp TD, Repke JT, et al: Outcomes of trial of labor following previous cesarean delivery among women with fetuses weighing >4000 g. Am J Obstet Gynecol 185:903, 2001
- 133.** Coleman VH, Erickson K, Schulkin J, et al: Vaginal birth after cesarean delivery J Reprod Med 50:261, 2005
- 134.** Dicle O, Küçükler C, Pirnar T: Magnetic resonance imaging evaluation of incision healing after cesarean sections. Eur Radiol 7:31, 1997
- 135.** Zelop CM, Shipp TD, Repke JT, et al: Outcomes of trial of labor following previous cesarean delivery among women with fetuses weighing >4000 g. Am J Obstet Gynecol 185:903, 2001

136. Durnwald CP, Rouse DJ, Leveno KJ, et al: The Maternal-Fetal Medicine Units Cesarean Registry: Safety and efficacy of a trial of labor in preterm pregnancy after a prior cesarean delivery. *Am J Obstet Gynecol* 195:1119, 2006
137. Quinones JN, Stamilio DM, Pare E, et al: The effect of prematurity on vaginal birth after cesarean delivery: Success and maternal morbidity. *Obstet Gynecol* 105:519, 2005
138. Ford AA, Bateman BT, Simpson LL: Vaginal birth after cesarean delivery in twin gestations: A large, nationwide sample of deliveries. *Am J Obstet Gynecol* 195:1138, 2006
139. Hibbard JU, Gilbert S, Landon MB, et al: Trial of labor or repeat cesarean delivery in women with morbid obesity and previous cesarean delivery. *Obstet Gynecol* 108:125, 2006
140. Zelop CM, Shipp TD, Repke JT, et al: Uterine rupture during induced or augmented labor in gravid women with one prior cesarean delivery. *Am J Obstet Gynecol* 181:882, 1999
141. Cahill AG- Waterman BM, Stamilio DM, et al: Higher maximum doses of oxytocin are associated with an unacceptably high risk for uterine rupture in patients attempting vaginal birth after cesarean delivery. *Am J Obstet Gynecol* 199:32.e1, 2008
142. Kayan i SI, Alfievic Z: Uterine rupture after induction of labour in women with previous caesarean section. *BJOG* 112:451, 2005
143. Macones GA, Peipert J, Nelson DB, et al: Maternal complications with vaginal birth after cesarean delivery: A multicenter study. *Am J Obstet Gynecol* 193:1656, 2005
144. Kieser KE, Baskett TF: A 10-year population-based study of uterine rupture. *Obstet Gynecol* 100:749, 2002
145. American Academy of Pediatrics and the American College of Obstetricians and Gynecologists: Guidelines for Perinatal Care, 6th ed., 2007
146. Rodriguez MH, Masaki DI, Phelan JP, et al: Uterine rupture: Are intrauterine pressure catheters useful in the diagnosis? *Am J Obstet Gynecol* 161:666, 1989
147. Parant O. Uterine rupture: prediction, diagnosis et management *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2012 Dec;41(8):803-16. doi: 10.1016/j.jgyn.2012.09.036. Epub 2012 Nov 1
148. Shreve RW and Russo JN.: Rupture of the Uterus. *Sciarra Gynecology and Obstetrics* 1985 Vol. 2 Chapter: 80,1/9

- 149.** Kurdoğlu M. Uterus Rüptürü Perinatoloji Dergisi 2011;19(Suppl 1): S32-S35
- 150.** George AM, Alison C, Emmanuelle P, David MS, Sarah R, Erika S, et al. Obstetric outcomes in women with two prior cesarean deliveries: Is vaginal birth after cesarean delivery aviable option? Am J Obstet Gynecol 2005;192:1223-1229.
- 151.** Karaca M, Yıldırım C, Göçmen A Spontaneous Uterus Rupture Due To The Classical Caesarean In The Previous Pregnancy Eylül 2004 4:3 Türkiye Acil Tıp Dergisi
- 152.** Acog Today: OB Team Stat improves emergency response. August 2008, p 11
- 153.** Kaczmańczyk M, Sparen P, Terry P, et al: Risk factors for uterine rupture and neonatal consequences of uterine rupture: A population-based study of suc-cessive pregnancies in Sweden. BJOG 114:1208, 2007
- 154.** Spong CY, Landon MB, Gilbert S, et al: Risk of uterine rupture and adverse perinatal outcome at term after cesarean delivery. Obstet Gynecol 110:801, 2007
- 155.** Yap OW, Kim ES, Laros RK Jr. Maternal and neonatal outcomes after uterus rupture in labor. Am J Obstet Gynecol 2001;184:1576- 81
- 156.** Wen SW, Huang L, Liston R, et al: Severe maternal morbidity in Canada, 1991-2001
- 157.** Sheth SS: Results of treatment of rupture of the uterus by suturing. J Obstet Gynaecol Br Commonw 75:55, 1968
- 158.** Usta IM, Hobeika EM, Abu-Musa AA, et al: Placenta previa-accreta: Risk factors and complications
- 159.** Chaterjee SR., Bhaduri S: Clinical analysis of 40 cases of uterine rupture at Durgapur Subdivisional Hospital: An observational study. J Indian Med Assoc 105:510, 2007
- 160.** Galeano M, Altavilla D, Cucinotta D, Russo GT, et al. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse. Diabetes. 2004;53(9):2509-17.
- 161.** Darby IA, Hewitson TD: Fibroblast differentiation in wound healing and fibrosis. Int Rev Cytol 2007, 257:143–179
- 162.** Hilary A. Roeder, Stewart F. Cramer and Phyllis C. Leppert : Reproductive Sciences 2012 19: 463 originally published online 16 February 2012
- 163.** Martin P. Wound healing: aiming for perfect skin regeneration. Science

1997;276:75-81.

- 164.** Buhimschi CS, Zhao G, Sora N, Madri JA, Buhimschi IA. : Myometrial wound healing post-Cesarean delivery in the MRL/MpJ mouse model of uterine scarring. *Am J Pathol*. 2010 Jul;177(1):197-207.
- 165.** Nakonieczny Z Conduction of labor following cesarean section *Ginek Pol*, 33 (1962), pp. 251–258
- 166.** Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70.
- 167.** Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999;341:738-46.
- 168.** Steenfos HH. Growth factors and wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1994;28:95-105.
- 169.** Bowers D, McKenzie D, Dutta D, Wheelless CR, Cohen WR. Growth hormone treatment after cesarean delivery in rats increases the strength of the uterine scar. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:614-7.
- 170.** Li X, Sun H, Lin N, Hou X, Wang J, Zhou B, et al. Regeneration of uterine horns in rats by collagen scaffolds loaded with collagen-binding human basic fibroblast growth factor. *Biomaterials* 2011;32:8172e81
- 171.** Lin N, Li X, Song T, Wang J, Meng K, Yang J, Hou X, Dai J, Hu Y. The effect of collagen-binding vascular endothelial growth factor on the remodeling of scarred rat uterus following full-thickness injury. *Biomaterials*. 2012 Feb; 33(6): 1801- .
- 172.** O'Brien JM, Whetham D, Fecteau C, Jansen J, Hiles M. Augmenting myometrial healing after cesarean delivery: use of an adjuvant biologic graft placement in an ovine model. *Am J Perinatol*. 2011 Aug;28(7):543-50
- 173.** Nambu M, Ishihara M, Nakamura S, et al.: Enhanced healing of mitomycin C-treated wounds in rats using inbred adipose tissue-derived stromal cells within an atelocollagen matrix. *Wound Repair Regen* 2007; 15: 505-510.
- 174.** Nambu M, Kishimoto S, Nakamura S, et al.: Accelerate wound healing in healing-impaired db/db mice by autologous adipose tissue-derived stromal cells combined with atelocollagen matrix. *Ann Plast Surg* 2009; 62: 317-321.

175. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA: Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 2007; 100: 1249-1260
176. Yoo JH, Shin JH, An MS, Ha TK, Kim KH, Bae KB, Kim TH, Choi CS, Hong KH, Kim J, Jung SJ, Kim SH, Rho KH, Kim JT, Yang YI. Adipose-tissue-derived Stem Cells Enhance the Healing of Ischemic Colonic Anastomoses: An Experimental Study in Rats. *J Korean Soc Coloproctol*. 2012 Jun;28(3):132-9.
177. Jun CR, Lee JY, Cho HH. Muscle-derived stem cells and smooth muscle healing in a rat model of uterine injury. *Int J Gynaecol Obstet*. 2012 Mar;116(3):265-6.
178. Maiborodin IV, Yakimova NV, Matveyeva VA, Pekarev OG, Maiborodina EI, Pekareva EO. Angiogenesis in rat uterine cicatrix after injection of autologous bone marrow mesenchymal stem cells. *Bull Exp Biol Med*. 2011 Apr;150(6):756-61.
179. Zuk AP, Zhu M, Ashjian P et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 13: 4279-95, 2002
180. Rangappa S, Fen C, Lee H et al. Transformation of adult mesenchymal stem cells isolated from the fatty tissue into cardiomyocytes. *Ann Thorac Surg* 75: 775-79, 2003.
181. Cao Y, Sun Z, Liao L et al. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo. *Biochem Biophys Res Com* 332: 370-79, 2005
182. Katz AJ, Tholpady A, Tholpady SS et al. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells. *Stem Cells* 23: 412-23, 2005
183. Francis MP, Sachs PC, Elmore LW et al. Isolating adipose- derived mesenchymal stem cells from lipoaspirate blood and saline fraction. *Organogenesis* 6: 11-14, 2010.
184. Baglioni S, Francalanci M, Squecco R et al. Characterization of human adult stem-cell populations isolated from visceral and subcutaneous adipose tissue. *FASEB J* 23: 3494-505, 2009.
185. Kode JA, Mukherjee S, Joglekar MV et al. Mesenchymal stem cells: immunobiology and role in immunomodulation and tissue regeneration. *Cytotherapy* 11: 377-91, 2009.

- 186.** Ko MS, Jung JY, Shin IS et al. Effects of expanded human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on the viability of cryopreserved fat grafts in the nude mouse. *Inter J Med Sci* 8: 231-38, 2011
- 187.** Strem BM, Hicok KC, Zhu M et al. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 54: 133-41, 2005.
- 188.** Ode A, Kopf J, Kurtz A et al. CD73 and CD29 concurrently mediate the mechanically induced decrease of migratory capacity of mesenchymal stromal cells. *Euro Cells Mater* 22: 26-42, 2011.
- 189.** Wiesmann A, Bühring HJ, Mentrup C et al. Decreased CD90 expression in human mesenchymal stem cells by applying mechanical stimulation. *Head Face Med* 2: 1-6, 2006.
- 190.** Gonzales MA, Gonzales-Rey E, Rico L et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells alleviate experimental colitis by inhibiting inflammatory and autoimmune responses. *Gastro* 136: 978-89, 2009.
- 191.** Spath C, Schlegel F, Leontyev S, Mohr FW, Dhein S. Inverse Relationship between Tumor Proliferation Markers and Connexin Expression in a Malignant Cardiac Tumor Originating from Mesenchymal Stem Cell Engineered Tissue in a Rat in vivo Model. *Front Pharmacol*. 2013 Apr 17;4:42. doi: 10.3389/fphar.2013.00042. Print 2013.
- 192.** Ode A, Kopf J, Kurtz A et al. CD73 and CD29 concurrently mediate the mechanically induced decrease of migratory capacity of mesenchymal stromal cells. *Euro Cells Mater* 22: 26-42, 2011.
- 193.** Wiesmann A, Bühring HJ, Mentrup C et al. Decreased CD90 expression in human mesenchymal stem cells by applying mechanical stimulation. *Head Face Med* 2: 1-6, 2006.
- 194.** Yang XF, He X, Zhang LH et al. High efficient isolation and systematic identification of human adipose-tissue derived mesenchymal stem cells. *J Biomed Sci* 18: 1-9, 2011

