

**T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE  
ESTETİK CERRAHİ  
ANABİLİM DALI**

**STROMAL VASKULER FRAKSİYON'UN YARA  
İYİLEŞMESİ VE SKAR MATURASYONU  
ÜZERİNE ETKİSİ:  
TAVŞANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA**

**Dr. REŞAT ALTUĞ AKTAŞ**

**UZMANLIK TEZİ**

**İZMİR-2010**

**T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE  
ESTETİK CERRAHİ  
ANABİLİM DALI**

**STROMAL VASKULER FRAKSİYON'UN YARA  
İYİLEŞMESİ VE SKAR MATURASYONU  
ÜZERİNE ETKİSİ:  
TAVŞANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. REŞAT ALTUĞ AKTAŞ**

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2010.KB.SAG.024 sayı ile desteklenmiştir

## İÇİNDEKİLER

<b>1-TABLO LİSTESİ.....</b>	<b>IV</b>
<b>2-ŞEKİL LİSTESİ.....</b>	<b>VI</b>
<b>3-RESİM LİSTESİ.....</b>	<b>VII</b>
<b>4-KISALTMALARI.....</b>	<b>X</b>

1-ÖZE.....	1
2-ABSTRACT .....	2
3-GİRİŞ.....	3
• Amaç.....	3
4-GENEL BİLGİLER .....	4
• Tarihçe .....	4
• Yara İyileşmesi .....	5
○ <i>Hemostaz</i> .....	6
○ <i>İnflamasyon</i> .....	7
○ <i>Proliferasyon</i> .....	8
○ <i>Yeniden şekillenme</i> .....	13
• Proliferatif Skarlaşma.....	15
○ <i>Enflamasyon ve aşırı skarlaşma ilişkisi</i> .....	20
○ <i>TGF-<math>\beta</math> ve aşırı skarlaşma ilişkisi</i> .....	21
○ <i>MMP ve skar maturasyonu ilişkisi</i> .....	22
• Kök Hücreler.....	22
○ <i>Tanımı</i> .....	22
○ <i>SVF'un yara iyileşmesi ve skar maturasyonu üzerine etkisi</i> .....	25
5-GEREÇ VE YÖNTEM .....	29
• Yönteme Ait Ayrıntılar .....	29
○ <i>Hipertrofik skar oluşturulması</i> .....	29
○ <i>Ciltaltı yağ dokusunun elde edilmesi</i> .....	32
○ <i>Yağ greftinin elde edilmesi</i> .....	34

○	<i>Yağ dokusundan SVF elde edilmesi</i> .....	36
●	<b>Gruplar</b> .....	42
○	<i>Grup 1</i> .....	42
○	<i>Grup 2</i> .....	42
○	<i>Grup 3</i> .....	42
○	<i>Histopatolojik Metodoloji</i> .....	44
	<b>6-BULGULAR</b> .....	47
●	<b>Makroskobik Değerlendirme</b> .....	47
○	<i>Grup 1</i> .....	47
○	<i>Grup 2</i> .....	48
○	<i>Grup 3</i> .....	51
●	<b>Mikroskobik Değerlendirme</b> .....	54
○	<i>Grup 1</i> .....	54
○	<i>Grup 2</i> .....	59
○	<i>Grup 3</i> .....	61
●	<b>İstatistiksel Değerlendirme</b> .....	62
	<b>7-TARTIŞMA</b> .....	66
●	<b>Cerrahi Tedavi</b> .....	69
●	<b>Cerrahi Olmayan Tedaviler</b> .....	70
○	<i>Kortikosteroidler</i> .....	70
○	<i>Basınç Tedavisi</i> .....	71
○	<i>Topikal Silikon Jel/Tabaka</i> .....	71
○	<i>Radyasyon</i> .....	72
○	<i>Radyofrekans</i> .....	72
○	<i>Lazer</i> .....	73
○	<i>Kriyoterapi</i> .....	73
○	<i>5-Fluorourasil</i> .....	74
○	<i>Bleomisin</i> .....	74
○	<i>İnterferon</i> .....	74

○	<i>Mitomisin-C</i> .....	75
○	<i>Verapamil</i> .....	75
○	<i>Extractum Cepae</i> .....	75
○	<i>Centrella Asiatica Ekstresi</i> .....	76
○	<i>Quersetin</i> .....	76
○	<i>Masaj</i> .....	76
	8-SONUÇ VE ÖNERİLER .....	79
	9-KAYNAKLAR .....	80

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1- Değişik kollajen tiplerinin vücutta dağılımını gösteren tablo.....	10-11
Tablo 2 - Hipertrofik skar ile keloidin klinik farklılıkları.....	16
Tablo 3 - Klinik gözlemlere dayanarak oluşturulan uluslararası skar sınıflandırma şeması ....	17
Tablo 4 – Birinci grupta bulunan tavşanların lezyonlarının gün olarak epitelizasyon süreleri .....	23-24
Tablo 5 – Birinci grup birinci ve ikinci tavşanların 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi değerlendirmesi.....	62-63
Tablo 6 - Birinci grup üçüncü ve dördüncü tavşanların 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi değerlendirmesi.....	48
Tablo 7 - İkinci grupta bulunan tavşanların lezyonlarının gün olarak epitelizasyon süreleri. ...	49
Tablo 8 - İkinci grup birinci tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve lezyon boyutlarını gösteren tablo.....	49
Tablo 9 - İkinci grup ikinci tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve lezyon boyutlarını gösteren tablo.....	50
Tablo 10 - İkinci grup üçüncü tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve lezyon boyutlarını gösteren tablo.....	50
Tablo 11 - İkinci grup dördüncü tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve lezyon boyutlarını gösteren tablo .....	50
Tablo 12 - Üçüncü grupta bulunan tavşanların lezyonlarının gün olarak epitelizasyon süreleri.....	52
Tablo 13 - Üçüncü grup birinci tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve lezyon boyutlarını gösteren tablo.....	52
Tablo 14 - Üçüncü grup ikinci tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve lezyon boyutlarını gösteren tablo.....	52
Tablo 15 - Üçüncü grup üçüncü tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve lezyon boyutlarını gösteren tablo .....	53
Tablo 16 - Üçüncü grup dördüncü tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve lezyon boyutlarını gösteren tablo .....	53
Tablo 17 - Grupların SEİ'ni gösteren tablo .....	63
Tablo 18 - Grupların vaskülerite skorlarını gösteren tablo.....	64

Tablo 19 - Grupların dermal selüerite sayılarını gösteren tablo .....	64
Tablo 20 - Grupların inflamasyon skorlarını gösteren tablo.....	64
Tablo 21 - Grupların TGF- $\beta$ 1 antikor tutulumlarını gösteren tablo .....	64
Tablo 22 - Grupların MMP-2 antikor tutulumlarını gösteren tablo.....	65

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 - Edwin-Smith Papirüsü.....	4
Şekil 2 - Akut yara iyileşmesi basamaklarının şematik gösterimi.....	5
Şekil 3 - Ekstresek yol ile pıhtılaşma mekanizmasının başlaması .....	6
Şekil 4 - Fibrinojenin fibrine dönüşümünü gösteren şema .....	7
Şekil 5 - Kollajenin moleküler ve fibriler yapısı .....	9
Şekil 6 - Vücut minimal gerginlik hatlarının gösterildiği insan çizimi .....	18
Şekil 7 - Deney gruplarının görsel anlatımı .....	43
Şekil 8- SEİ ölçümünü gösteren çizim.....	45



## RESİM LİSTESİ

Resim 1 - Ameliyat öncesi çizim yapıldıktan sonra her iki kulak betadin solüsyon ile temizlenerek steril ortam oluşturulur .....	30
Resim 2 - Cilt flebi kaldırılır .....	30
Resim 3 - Perikondrium 3x büyütme altında kaldırılır .....	31
Resim 4 - Her iki defekt oluşturulduktan sonra Tegaderm® ile yara kapatılır .....	31
Resim 5 - U şeklinde yapılan insizyonun ardından cilt flebi kaldırılmıştır .....	32
Resim 6 - Her iki kasık bölgesinde bulunan yağ dokusu bütün halinde greft olarak kullanılmıştır .....	33
Resim 7 - Bütün olarak eksize edilmiş yağ dokusu .....	33
Resim 8 - Alman yağ grefti makas ile enjekte edilebilecek boyutlara gelene kadar kıyılmıştır .....	34
Resim 9 - Yağ grefti insülin enjektörüne çekilerek enjeksiyona hazır hale getirilmiştir .....	34
Resim 10 - Branül, iğnesi ile birlikte skar dokusunun altına yerleştirildikten sonra iğnesi çıkartılarak insülin enjektörü yerleştirilmiştir .....	35
Resim 11 - 0,02 ml yağ grefti skar dokusunun altına enjekte edilmiştir .....	35
Resim 12 - Enjeksiyondan sonraki görünüm .....	35
Resim 13 - Steril %0,9 NaCl solüsyonu içerisinde laboratuara getirilen yağ dokusu .....	37
Resim 14 - Petri kabındaki yağ dokusu makas ile küçük parçalara kıyılmıştır .....	37
Resim 15 - Yirmi ml antibiyotikli HBSS solüsyonu içerisinde askıda kalan yağ dokusu .....	38
Resim 16 - Kollajenaz ile muamele edilmek üzere yağ dokusu kültür kabına Yerleştirilmiştir .....	38
Resim 17 - Kollajenaz ile 150 dakika karıştırılan yağ dokusu beyaz renkli krema kıvamına gelmiştir .....	39
Resim 18 - On dakika santrifujdan sonra tabanda biriken hücre pelleti görülmektedir .....	39
Resim 19 - Kırk ve 100 µm çapa sahip süzgeçlerden geçirildikten sonra Ependorf tüp içerisinde 5 dakika 5000 rpm hızında santrifuj edilen sıvının tabanında hücre pelleti görülmektedir .....	40

Resim 20 - Skar dokusu ile kıkırdak arasını disseke etmek amacı ile 20 gauge branül skar dokusunun 5 mm distalinden normal ciltten ilerletilir .....	40
Resim 21 - Mikropipet, branülün açtığı yoldan skar dokusunun altına ilerletildikten sonra SVF enjekte edilir .....	41
Resim 22 - Her iki skar dokusuna SVF enjekte edilmiştir .....	41
Resim 23 - Grup bir 10. hafta fotoğrafı. Sol kulakta iki adet hipertrofik skar dokusu görülmektedir.....	48
Resim 24 - Grup iki 10. hafta fotoğrafı. Hiperemisi azalan hipertrofik skar dokusu görülmektedir.....	51
Resim 25 - Grup üç 10. hafta fotoğrafı. Skar dokusunun hiperemisi azalmış ancak görünür durumdadır .....	54
Resim 26 - H&E boyalı normal cilt dokusu 20x büyütme görüntüsü .....	55
Resim 27 - Grup bir dördüncü hafta H&E boyalı preparatın 4x büyütme görüntüsü.....	55
Resim 28 - Grup bir 10. hafta 10x büyütme altında H&E boyalı preparat .....	56
Resim 29 - Normal dermis dokusunun 20x büyütme altında MMP-2 antikor tutulumu görülmektedir.....	57
Resim 30 - Grup bir dördüncü hafta sol kulak 20x büyütme altında MMP-2 antikor tutulumu görülmektedir.....	57
Resim 31 - Grup bir 10. hafta sol kulak 20x büyütme altında MMP-2 antikor tutulumundaki azalma görülmektedir.....	57
Resim 32 - Normal dermis TGF- $\beta_1$ tutulumunun 20x büyütme altındaki görüntüsü .....	58
Resim 33 - Grup bir dördüncü hafta sol kulak 20x büyütme altında TGF- $\beta_1$ tutulumu .....	58
Resim 34 - Grup bir 10. hafta sol kulak 20x büyütme altındaki fotoğrafı. TGF- $\beta_1$ tutulumundaki azalma görülmektedir .....	58
Resim 35 - Grup iki 10. hafta sağ kulak 10x büyütme altındaki fotoğrafı.....	59
Resim 36 - Grup iki 10. hafta sağ kulak 20x büyütme altındaki fotoğrafı. MMP-2 antikor ile boyanan hücre sayısındaki azalma görülmektedir .....	59
Resim 37 - Grup iki 10. hafta sağ kulak 20x büyütme altındaki fotoğrafı. TGF- $\beta_1$ antikor ile boyanan hücre sayısındaki azalma görülmektedir .....	60

Resim 38 - Grup iki 10. hafta sol kulak 10x büyütme altındaki fotoğrafı. Kıkırdağın üzerinde dokuya nüfuz etmiş ve kısmen rezorbe olmuş yağ hücreleri görülmektedir.....	60
Resim 39 - Grup iki sol kulak 10. hafta MMP-2 antikor ile boyanmış spesimen fotoğrafı .....	60
Resim 40 - Grup iki 10. hafta sol kulak 20x büyütme altındaki TGF- $\beta_1$ antikor ile boyanmış spesimen fotoğrafı.....	60
Resim 41 - Grup üç 10. hafta sağ kulak 20x büyütme altında fotoğrafı .....	61
Resim 42- Grup üç 10. hafta sağ kulak. 20x büyütme altında MMP-2 antikor ile boyalı fotoğrafı .....	61
Resim 43 - Grup üç 10. hafta sağ kulak. 20x büyütme altında TGF- $\beta_1$ antikor ile boyalı fotoğrafı.....	62
Resim 44 - Grup üç 10. hafta sol kulak 20x büyütme altında fotoğrafı... ..	62
Resim 45 - Grup üç 10. hafta sol kulak. 20x büyütme altında MMP-2 antikor ile boyalı fotoğrafı .....	62
Resim 46 - Grup üç 10. hafta sol kulak. 20x büyütme altında TGF- $\beta_1$ antikor ile boyalı fotoğrafı.....	62

## KISALTMALAR

• Mezenşimal Kök Hücre	MKH
• Stromal Vaskular Fraksiyon	SVF
• Düz Kas Aktini	SMA
• Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü	PDGF
• Tümör Büyüme Faktörü	TGF
• Fibroblast Büyüme faktörü	FGF
• Temel Fibroblast Büyüme Faktörü	bFGF
• Endotelyal Büyüme Faktörü	EGF
• İnterlökin	IL
• Tümör Nekroz Faktörü	TNF
• Vaskuler Endotelyal Büyüme Faktörü	VEGF
• Nitrik Oksit	NO
• Glukozaminoglikan	GAG
• Keratinosit Büyüme Faktörü	KGF
• İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü	IGF
• Matriks Metalloproteinaz	MMP
• İmmünglobulin	Ig
• Kemik Morfojenik Proteini	BMP
• Bağ Dokusu Büyüme Faktörü	CTGF
• Doku Metalloproteinaz İnhibitörü	TIMP
• Erişkin Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre	ADAS
• Hanks' Balanced Salt Solution	HBSS
• İşlenmiş Lipoaspirat	PLA

## **ÖZET**

Skar maturasyonu, yara iyileşmesinin en az anlaşılan dönemidir. Bu dönemde bazı skarlar maturasyonunu normal süreçte tamamlarken, bazıları hipertrofiye olmaktadır. Hipertrofik skar tedavisinde birçok medikal ve cerrahi yöntemler tanımlanmış ancak kesin tedavi bulunamamıştır. Bu çalışma ile yağ grefti ve stromal vasküler fraksiyonun (SVF) yara iyileşmesi ve hipertrofiye olan skarın maturasyonu üzerine etkisini tespit etmeyi planlamıştır.

Bu amaçla literatürde en sık kullanılan hipertrofik skar modeli kullanılarak, 12 adet tavşanın 20 kulağında toplam 40 adet yara oluşturulmuştur. Birinci grubun sol kulağında ikişer, iki ve üçüncü grup tavşanların her iki kulağında iki adet yedi mm'lik yara oluşturulmuştur. Birinci grup kontrol grubu, ikinci grup yağ grefti grubu, üçüncü grup SVF grubu olarak oluşturulmuştur. Yağ grefti ve SVF'un etkileri, kendi içinde ve normal iyileşen hipertrofik skar dokusu ile karşılaştırılmıştır. Dermal selülarite, skar elevasyon indeksi kantitatif olarak, vaskülarite, inflamasyon, MMP-2 ve TGF- $\beta$ 1 antikor tutulumu semikantitatif olarak değerlendirilmiştir.

Çalışma sonucunda yağ grefti ve SVF gruplarında dermal selülarite, vaskülarizasyon, skar elevasyon indeksinde artış gelişmiştir. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. TGF- $\beta$ 1 antikor tutulumu, MMP-2 antikor tutulumuna göre minimal fazla olmuştur. İnflamasyon, dermal selülarite ve skar elevasyon indeksi artışının TGF-  $\beta$ 1'e bağlı olduğu düşünülmüştür. Kollajen dizilimi kontrol grubuna göre deney gruplarından daha düzenli olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak yağ grefti ve SVF, dermal selülariteyi, dermal kalınlığı ve kollajen miktarını artırmaktadır. Aynı zamanda skar fibroblastlardan sentezlenen kollajeni yeniden organize ederek skar maturasyona katkıda bulunurken, kollajen miktarını artırması ise dezavantajdır.

## **ABSTRACT**

Scar maturation is fewest known phase of wound healing. Usually scar tissue complete this period normally but some of them hypertrophied. Medical or surgical many treatment protocols have been reported, but exact treatment has not been defined yet. By this study we planned to find the effect of fat graft and stromal vascular fraction (SVF) on wound healing and scar maturation.

So we decide to use the most common hypertrophic scar animal model reported in the literature. Fourty wounds were made at 20 ears of 12 rabbits. Two wounds, each wound was 7 mm diameter, were made at left ear of group 1 (control group) rabbits and 2 wound for both of the ears of group 2 (fat graft group) and 3 (SVF group). The effects of fat graft and SVF on scar maturation were compared with control group. Dermal cellularity and scar elevation index (SEI) had quantitatively; vascularity, inflammation, MMP-2 and TGF- $\beta$ 1 antibody staining had semi-quantitatively evaluated.

After fat graft and SVF application, the quantity of dermal cellularity, vascularization, scar elevation index had increased. But statistically, this increase is not significant. TGF- $\beta$ 1 antibody staining was minimally better than MMP-2 antibody staining. We thought that this increase of inflamation, dermal cellularity and SEI was according to TGF- $\beta$ 1. Collagen alignment was better at study groups than control group.

The result of the study is fat graft and SVF contribute to dermal cellularity, increase dermal thickness and collagen volume. Fat graft and SVF contribute to reorganize and correct the alignment of collagen synthesized from fibroblasts, but the main disadvantage is increase at dermal thickness and collagen volume .

## GİRİŞ

Hipertrofik skar dermal hasarlanma sonrası normal yara iyileşmesi sürecinin anormal skar oluşumu ile sonuçlanmasıdır. Normal skar matürasyonu 6-12 ay içerisinde gerçekleşmesi gerekirken, hipertrofik skar dokusunun regresyonu yıllar alır. Bu sürecin sonunda kötü görünümlü, geniş ve bazen fonksiyonel kısıtlılığa yol açan bir skar dokusu ortaya çıkar. Skar maturasyonuna müdahale ederek hipertrofiye gitmemesine katkıda bulunan birçok yöntem vardır. Bu yöntemler cerrahi ile birlikte veya cerrahi sonrası uygulanırlar. En sık uygulanan medikal yöntemler skatrizan jel ile masaj, kortikosteroid enjeksiyonları, silikon tabaka ile basınç tedavisi, radyoterapi, 5-fluorourasil (5-FU) uygulaması, kriyoterapi ve lazerdir. Cerrahi eksizyon yönteminin amacı ise hipertrofik skar dokusunun yol açtığı fonksiyonel kısıtlılığı ortadan kaldırmaktır.

Tüm bu tedavi yöntemlerine rağmen hipertrofik skarın tedavisinde tatmin edici sonuç ulaşılamamıştır ve plastik cerrahi yeni tedavi yöntemleri arayışı içerisinde. Zuk<sup>2</sup> ve ark.ları tarafından 2001 yılında yağ dokusu kaynaklı yetişkin mezenşimal kök hücrelerin (MKH), yara iyileşmesi ve skar formasyonu üzerine olumlu etkilerinin olduğu son zamanlarda yapılan klinik çalışmalarda bildirilmiş ancak herhangi bir deneysel çalışma henüz yapılmamıştır.<sup>3,4</sup> Rigotti<sup>3</sup> ve ark. yaptıkları çalışmada mastektomi sonrası uygulanan radyoterapinin cilt üzerindeki komplikasyonlarını gidermek amacı ile kontraktür ve skar olan meme bölgesine lipoaspirat enjekte etmişlerdir. Hastaların skar dokusunda meydana gelen yumuşama ve kontraktürde meydana gelen gerileme, bize yağ dokusu içerisinde bulunan MKH'lerin skar maturasyonu üzerine etkilerinin olabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle tavşan kulağında oluşturulan hipertrofik skar modelinde yağ dokusu kaynaklı erişkin MKH'lerin yara iyileşmesi ve skar maturasyonu üzerine etkisini incelemeye karar verdik.

## AMAÇ

Tavşan kulağında oluşturulacak hipertrofik skar modelinde, tavşan kasık bölgesinden alınan yağ dokusundan elde edilecek olan yağ grefti ve stromal vasküler fraksiyonun (SVF), skarın altına enjekte edilerek skar matürasyonu üzerine etkisini göstermek. Bu sayede plastik cerrahinin en önemli problemlerinden biri olan skar formasyonunun tedavisine bir yenilik getirilmesi amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### TARİHÇE

**Skatriks** kelimesinin kökeni eski Yunanca *eschara*, yani yangın yeri ya da şömineden gelmektedir. Eski Yunanda şömine evin ortasında yer almış. Çocukların bu ateş nedeni ile yaralanmasına ikincil yanıklar ve sonucunda skar meydana gelirmiş. Kelime İtalya'ya *cicatrix* olarak nakledilmiştir. İtalya'dan Fransa'ya *eschare* olarak geçmiştir. Britanya Adalarında bu kelime Sakson kökenli *scaur* ile karışmıştır ve günümüze **skar** olarak gelmiştir. Skar dokusunun normal matürasyon süresi içerisinde iyileşmeyerek kabarmasına ise **hipertrofik skar** denir.<sup>1</sup> **Keloid** ise hipertrofik skar dokusundan farklı olarak travmadan sonra direkt olarak veya skar dokusunun matürasyonundan sonra ortaya çıkabilir. Keloid deyimi tarihte ilk olarak Mısır'da M.Ö. 1700 yıllarında yazılmış olan Edwin-Smith Papirüsü'nde tanımlanmıştır (Şekil.1). Retz<sup>5</sup> 1790'da "*dartre de graisse*" yani yağ hernisi deyimini kullanmıştır. 1806 yılında Alibert<sup>1</sup> bu keloidi kansere benzeterek *cancroid* deyimini kullanmıştır, ama daha sonra bu terim *cheloide* deyimine dönüşmüştür. Bu kelime eski Yunanca *chele* yani yengeç kıskacından türetilmiştir ve kitlenin laterale doğru hareketini ifade eder. 1962 yılında Mancini ve 1970 yılında Peacock hipertrofik skar ve keloidi birbirinden ayırmışlardır.<sup>6</sup> Eğer lezyon kendi sınırlarının ilerisine taşmadan büyüyorsa hipertrofik skar, kendi sınırlarını aşıyorsa keloid demişlerdir. 1990 yılında Muir<sup>6</sup> ve ark. 3. bir skar türünü tanımlamışlardır. Bu skar hipertrofik skar gibi kendi sınırlarını aşmadan büyümesine rağmen keloid gibi davranmaktadır. Spontan regresyon göstermezler ve cerrahi sonrası nüks ederler.



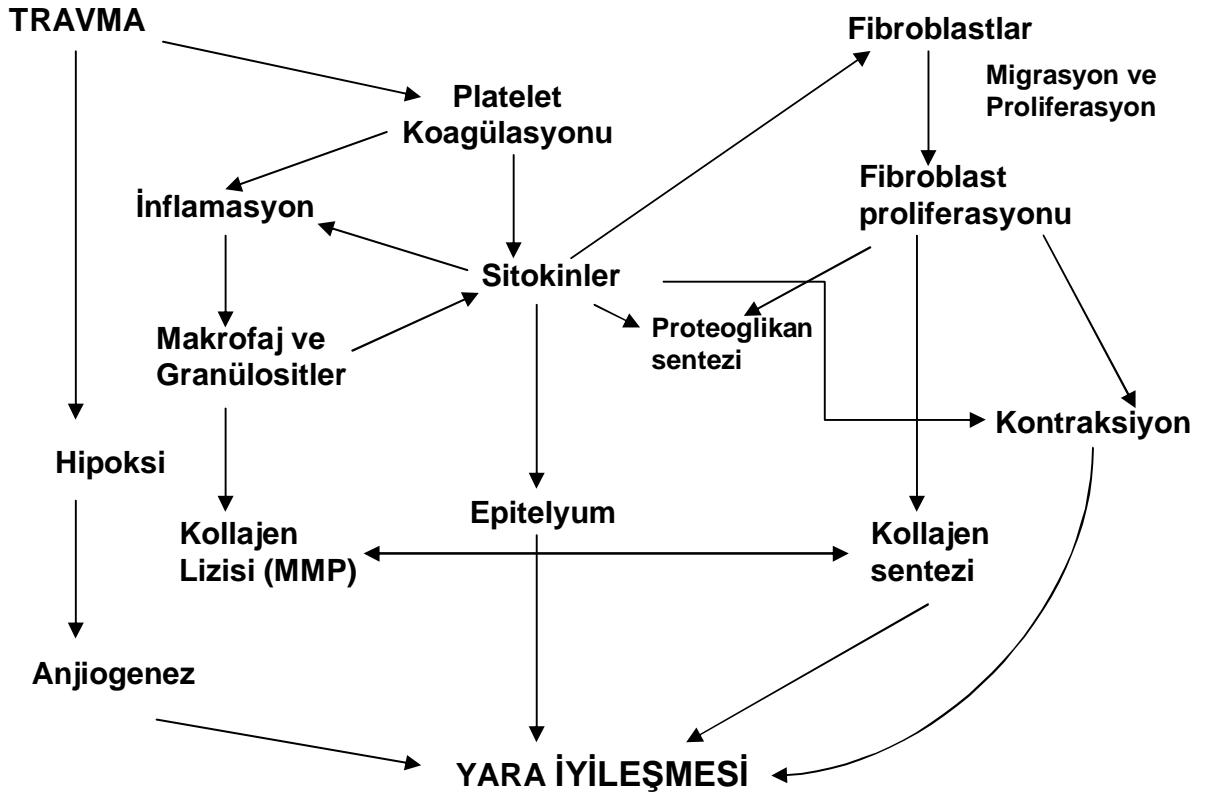
Şekil-1. Edwin-Smith Papirüsü



## YARA İYİLEŞMESİ

Yara iyileşmesi esas olarak 4 ana evreden oluşmaktadır. Olaylar ardışık bir düzen içinde değil, birbiri içerisinde sınırları tam olarak ayırt edilemeyecek özelliktedir. Bu evreler:

- 1) Hemostaz
- 2) İnflamasyon
- 3) Proliferasyon
- 4) Skar maturasyonu fazı.<sup>12</sup>

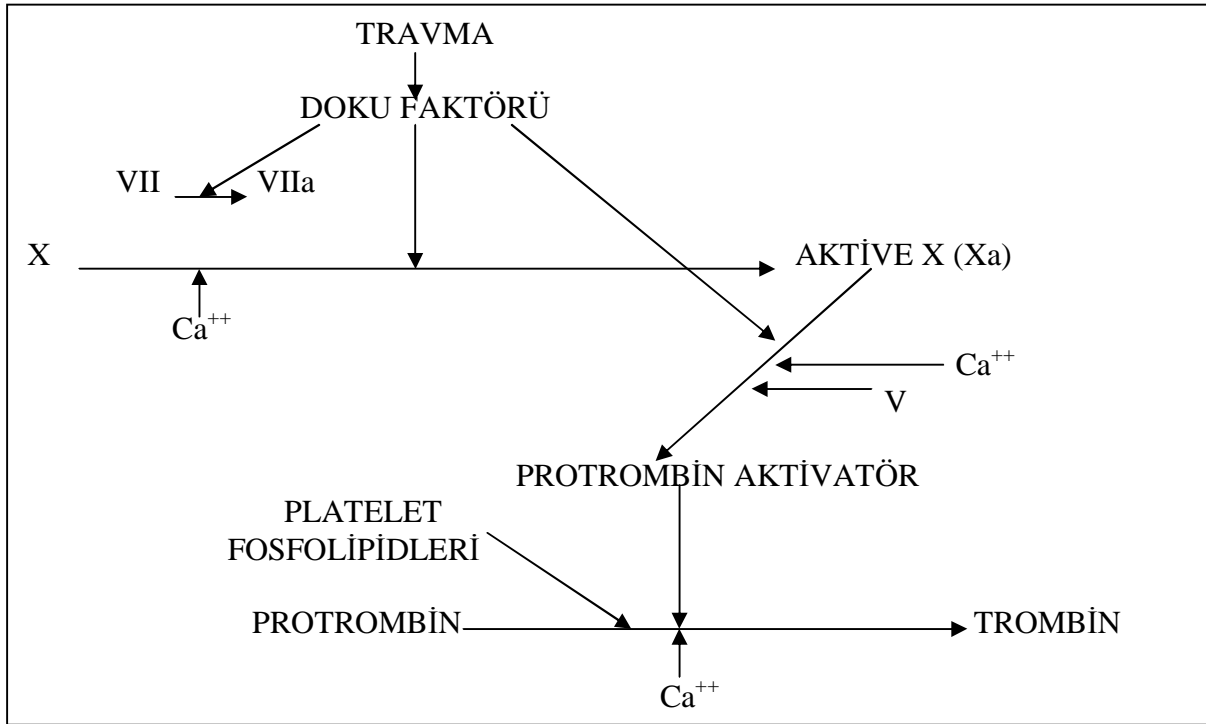


Şekil-2. Akut yara iyileşmesi basamaklarının şematik gösterimi. (Monaco JL, Lawrence WT. "Acute wound healing: An overview" Clin Plastic Surg Vol 30, No 1,2003'den alınmıştır)

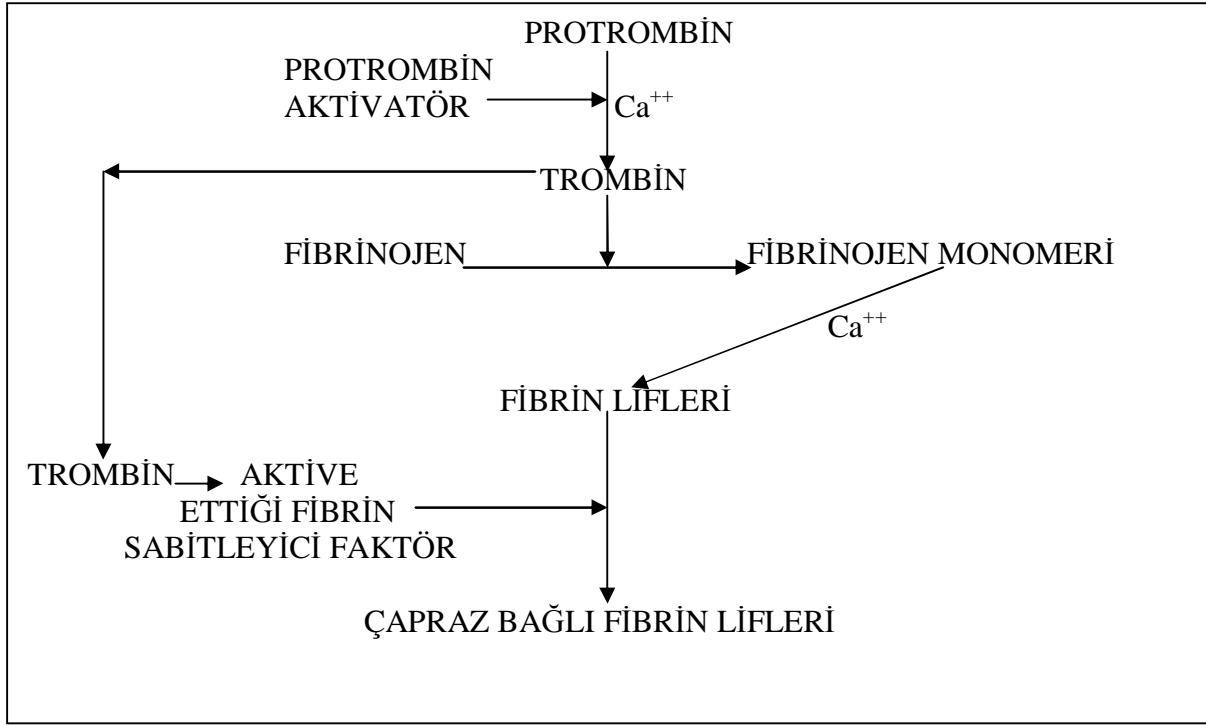
## Hemostaz

Cilt bütünlüğünü bozan bir travmadan sonra oluşan vasküler hasar, hemostaz için gerekli olan moleküler ve hücrese cevapı doğurur. İyileşme basamakları hemostaz olmadan başlamaz.

Birinci adım vazokonstriksiyondur. Dermis bütünlüğü bozulduğu zaman periferik dolaşımdan gelen adrenalin ile sempatik aktivasyona bağlı salınan lokal noradrenalin en önemli vazoaaktif aminlerdir. Ayrıca yara yerinde bulunan hücrelerden salınan prostoglandinlerin de etkisi vardır. Bunu platelet agregasyonu takip eder. Platelet agregasyonu hasarlanmış hücrelerden salınan doku faktörü ile uyarılır. Bu esnada platelet sitoplazmalarında bulunan alfa granüller, yoğun cisimcikler ve lizozomlar, içlerinde bulundukları enzim, sitokin ve büyüme faktörlerini dokuya salarlar. Alfa granülleri albumin, fibrinojen, fibronektin, IgG, Faktör V ve VIII, Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü  $\alpha$  ve  $\beta$  (TGF- $\alpha$  ve  $\beta$ ), fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2), platelet kaynaklı epidermal büyüme faktörleri (EGF) ve endotelial büyüme faktörleri içerir.<sup>15</sup> Yoğun cisimcikler ise pıhtılaşma mekanizması için gerekli kofaktörler içerirler. Bunlar kalsiyum, serotonin, adenzin difosfat ve trifosfattır (ADP ve ATP).<sup>8,9</sup>



Şekil-3. Ekstresek yol ile pıhtılaşma mekanizmasının başlaması. (Guyton CA, Hall JE. Textbook of Medical Physiology 11.Baskı. Bölüm 36 sayfa 461'den alınmıştır)



Şekil-4. Fibrinojenin fibrine dönüşümünü gösteren şema. (Guyton CA, Hall JE. Textbook of Medical Physiology 11.Baskı. Bölüm 36 sayfa 459'dan alınmıştır)

Koagülasyon basamakları intrinsek ve ekstrinsek bileşenlerden oluşmuştur. İntrinsek yol, normal yara iyileşmesi için şart değilken ekstrinsek yol gereklidir. Ekstrinsek yol doku faktörünün faktör VII veya VIIa ile birleşmesi ile başlar.<sup>10</sup> Doku faktörü damar dışı alanlarda, özellikle de adventisyal fibroblastlarda bulunur. Sonuçta trombin oluşur. Trombinde fibrinojeni fibrine çevirir (Şekil 3 ve 4).

Fibrin platelet tıkaçının çevresini sararak sağlamlaştırır.<sup>11</sup> Fibrin ise vitronektin tarafından kaplanır. Bu sayede fibronektinlerin yapışması kolaylaşır. Fibrin ve fibronektin erken yara matriksini oluştururlar. Yetersiz fibrin oluşumu bozulmuş yara iyileşmesi ile sonuçlanır ve fibrini yaradan uzaklaştıracak herhangi bir olayda yara iyileşmesini geciktirir.

## **İnflamasyon**

Yaralanmanın erken dönemlerinde gelişen vazokonstriksiyon 10-15 dakika içinde son bulur ve vazodilatasyon gelişir. Bu olay kendisini yara çevresinde kırmızı-kızıl bir hale şeklinde gösterir. Plateletlerden salınan faktörler, pıhtılaşma zincirinde açığa çıkan bradikinin

gibi ürünler ve doku hasarı sonucu gelişen nekrozdan kaynaklanan faktörler, yaralanma çevresinde endotel geçirgenliğini değiştirerek damar dışı alana plazma geçişine ve ödeme neden olmaktadır. Vazodilatasyon endotel veya mast hücresi kaynaklı lökotrienler, prostoglandinler ve özellikle histamin kaynaklıdır. Trombin, kinin ve C3a/C5a da geçirgenliği artırıcı kuvvetli ajanlardır.<sup>12,13</sup>

Doku içine sistemik dolaşımdan ilk geçen hücre grubu nötrofillerdir. Nötrofil infiltrasyonunun esas görevi ortamda bulunan debris, bakteri ve yabancı cisim gibi materyallerin ortamdan uzaklaştırılmasıdır.<sup>14</sup> Kollajen, elastin yıkım ürünleri, kompleman faktörleri, TGF- $\beta$ , tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin-1 (IL-1), PDGF, lökotrien B4 ve platelet faktör IV gibi immünmodülatörler, lökositler için güçlü kemoatraktan maddelerdir. Bu sayede lökositlerin sistemik dolaşımdan yara yerine geçişi kolaylaşır. İnflamasyonun ikinci ve üçüncü günlerinde, yara yerinde sistemik dolaşımdan gelen monositler görülmeye başlar. Monositler yara yerinde makrofajlara dönüşürler. Makrofajlar yara iyileşmesinin en önemli hücre grubunu oluştururlar. Sadece ortamda bulunan bakteri ve debrisin fagositozunu değil aynı zamanda ortama saldıkları vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), FGF, TNF- $\alpha$ , EGF, PDGF, IL-1 ve nitrik oksit (NO) gibi enzim, sitokin ve büyüme faktörleri ile anjiogenez, fibroblast migrasyonu, proliferasyonu ile kollajen üretimi ve muhtemelen de yara kontraksiyonunu koordine eder.<sup>15,16</sup> T lenfositler de yara iyileşmesi için önemli hücre gruplarından. IL-2 ve diğer immünmodülatörlerin etkisiyle özellikle CD4+ ve CD8+ T lenfositler 5-7. günler arasında yara yerinde en yüksek sayısal değere ulaşırlar.<sup>18</sup>

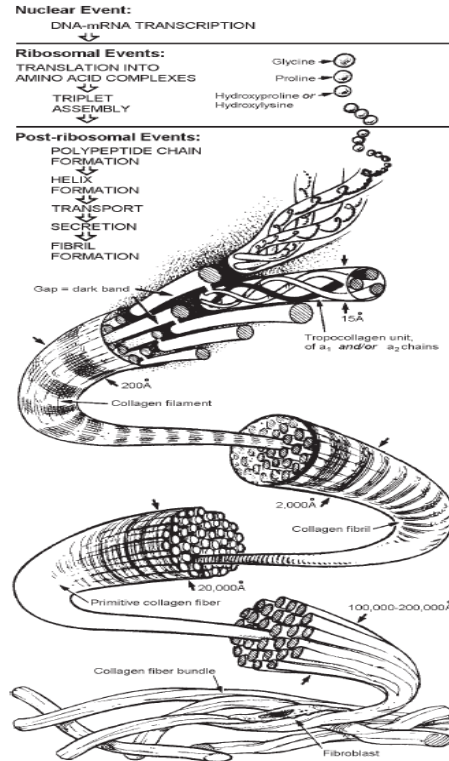
### **Proliferasyon**

Yara iyileşmesinin erken dönemlerinde fibrince zengin bir matriks içerisinde inflamatuvar hücreler baskınken, temiz yaralarda üç-beşinci günden itibaren makrofajlar tarafından salınan PDGF, TGF- $\beta$  gibi sitokinler tarafından fibroblastlar aktive edilir ve bölünerek çoğalmaya yönlendirilir. Bu dönemden itibaren, fibroblastlar yara ortamındaki baskın hücre haline gelmektedir.<sup>12</sup>

Fibroblastların tek kaynağı çoğalma değildir.<sup>17</sup> Bunun yanında çevre dokudaki fibroblastlar, PDGF, TGF- $\beta$ , EGF ve fibronektin tarafından aktive edilerek erken yara matriksi içinde ilerlemesi sağlanır. Mezenşim kökenli kök hücrelerden ortam uyaranlarına bağlı olarak fibroblastta farklılaşma da diğer bir kaynaktır.<sup>12,18</sup>

Fibroblastlar glukozaminoglikanlardan (GAG), fibriller kollajene kadar yara iyileşmesi için gerekli birçok molekül üretirler. GAG'lar protein çekirdek etrafında birbirini tekrarlayan disakkarit üniteleridir. GAG'lardan ilk olarak hyalüronik asit sentezlenir, bunu kondroitin-4 sülfat, dermatan sülfat ve heparan sülfat takip eder. Fibroblastlar tarafından üretilen bu moleküller amorf jel-*ground substance*- içerisinde hidrate edilirler ve kollajen liflerinin agregasyonu için zemin oluştururlar.<sup>13,18</sup>

Kollajen yumuşak dokunun temel taşıdır. Vücudun total protein miktarının 1/3'ünü oluşturur. Aminoasitlerden glisin, prolin, hidrosilizin ve hidroksiprolin içerir. Karmaşık moleküler yapısı vardır. Polipeptid zinciri sol el heliks yönünde kendi üzerine dönen ve üç zincir bir araya gelerek sağ el yönünde dönerek temel kollajen ünitesini oluşturduğu, üç polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Polipeptid zincirleri kovalan bağlarla birbirleri ile bağlanırlar. Bu yapıya tropokollajen denir. Tropokollajen molekülleri kollajen filamentlerini oluştururlar. Bu filamentler fibrilleri, fibrillerde demetleri meydana getirirler (Şekil-5).<sup>13,19,20</sup>



Şekil-5. Kollajenin moleküler ve fibriller yapısı. (Rohrich RJ, Robinson JB. Wound healing; wound closure; abnormal scars; tattoos; envenomation injuries and extravasation injuries. Selected Readings in Plastic Surgery 1999;vol 9(3):7'den alınmıştır)

Tip	Moleküler içerik	Gen Yerleşim Yeri	Doku Dağılımı
<b>Fibrin oluşturan kollajenler</b>			
I	$[\alpha 1(I)]_2 \alpha 2(I)$	COL1A1 (17q21.31-q22) COL1A2 (7q22.1)	Deri, dermis, tendon, ligamentler, kornea
II	$[\alpha 1(II)]_3$	COL2A1 (12q13.11-q13.2)	Kıkırdak, vitröz cisim, nükleus pulpozus
III	$[\alpha 1(III)]_3$	COL3A1 (2q31)	Deri, damar duvarı, (akciğer, karaciğer, dalak vs gibi organların retiküler fibrilleri)
V	$\alpha 1(V), \alpha 2(V), \alpha 3(V)$	COL5A1 (9q34.2-q34.3) COL5A2 (2q31) COL5A3 (19p13.2)	Akciğer, kornea, kemik, fetal membranlar; tip I kollajen ile birlikte
XI	$\alpha 1(XI) \alpha 2(XI) \alpha 3(XI)$	COL11A1 (1p21) COL11A2 (6p21.3) COL11A3=COL2A1	Kıkırdak, vitröz cisim
<b>Bazal Membran Kollajenleri</b>			
IV	$[\alpha 1(IV)]_2 \alpha 2(IV); \alpha 1-\alpha 6$	COL4A1 (13q34) COL4A2 (13q34) COL4A3 (2q36-q37) COL4A4 (2q36-q37) COL4A5 (Xq22.3) COL4A6 (Xp22.3)	Bazal Membranlar
<b>Mikrofibriler Kollajen</b>			
VI	$\alpha 1(VI), \alpha 2(VI), \alpha 3(VI)$	COL6A1 (21q22.3) COL6A2 (21q22.3) COL&A3 (2q37)	Dermis, plasenta, kıkırdak, akciğerler, damar duvarı, intervertebral diskler
<b>Bağlayıcı fibriller</b>			
VII	$[\alpha 1(VII)]_3$	COL7A1 (3p21.3)	Deri, dermoepidermal bileşmeler; oral mukoza, serviks
<b>Hegzagonal ağ oluşturan kollajenler</b>			
VIII	$[\alpha 1(VIII)]_2 \alpha 2(VIII)$	COL8A1 (3q12-q13.1) COL8A2 (1p34.3-p32.3)	Endotelial hücreler, Descemet membranı
X	$[\alpha 3(X)]_3$	COL10A1 (6q21-q22.3)	Hipertrofik kıkırdak

Tip	Moleküler İçerik	Gen yerleşim yeri	Doku Dağılımı
FACIT kollajenler			
IX	$\alpha 1(\text{IX})\alpha 2(\text{IX})\alpha 3(\text{IX})$	COL9A1 (6q13) COL9A2 (1p33-p32.2)	Kıkırdak, vitröz sıvı, kornea
Tip	Moleküler içerik	Gen yerleşim yeri	Doku Dağılımı
XII	$[\alpha 1(\text{XII})]_3$	COL12A1 (6q12-q13)	Perikondrium, ligamentler, tendon
XIV	$[\alpha 1(\text{XIV})]_3$	COL9A1 (8q23)	Dermis, tendon, damar duvarı, plasenta, akciğerler, karaciğer
XIX	$[\alpha 1(\text{XIX})]_3$	COL19A1 (6q12-q14)	İnsan rabdomyosarkomu
XX	$[\alpha 1(\text{XX})]_3$		Korneal epitelyum, embriyonik cilt, sternal kıkırdak, tendon
XXI	$[\alpha 1(\text{XXI})]_3$	COL21A1 (6p12.3-11.2)	Kan damar duvarı
Transmembran kollajenler			
XIII	$[\alpha 1(\text{XIII})]_3$	COL13A1 (10q22)	Epidermis, saç follikülü, endomisyum, barsak, kondrositler, akciğerler, karaciğer
XVII	$[\alpha 1(\text{XVII})]_3$	COL17A1 (10q24.3)	Dermo-epidermal bileşke
Multipleksinler			
XV	$[\alpha 1(\text{XV})]_3$	COL15A1 (9q21-q22)	Fibroblastlar, düz kas hücreleri, böbrek, pankreas
XVI	$[\alpha 1(\text{XVI})]_3$	COL16A1 (1p34)	Fibroblastlar, amniyon, keratinositler
XVIII	$[\alpha 1(\text{XVIII})]_3$	COL18A1 (21q22.3)	Akciğerler, karaciğer

Tablo-1: Değişik kollajen tiplerinin vücutta dağılımını gösteren tablo. (Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens-structure, functions, and biosynthesis. Advanced Drug Delivery Reviews 2003;55: 1531– 1546'dan alınmıştır)

Tespit edilmiş 30'a yakın kollajen tipi vardır. Her biri değişik özelliklere ve yerleşim yerine sahiptirler (Tablo-1).

Tip I kollajen özellikle deri, tendon ve kemikte bulunur. Bu dokular, tüm vücuttaki toplam kollajenin %90'ına sahiptirler. Normal deri dokusunda tip I/III kollajen oranı 4/1 iken, bu oran granülasyon dokusunda, hipertrofik skar ve immatür skar dokusunda 2/1'e kadar düşmektedir.<sup>15</sup>

Anjiogenez, doku hasarından 2 gün sonra aktif hale gelir. Yara yeri pH'sının asidik olması, yüksek laktat seviyesi, düşük oksijen basıncı anjiogeneze katkıda bulunan yara yeri özellikleridir. Ayrıca anjiogenin, TGF- $\beta$ , EGF, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , keratinosit büyüme faktörü (KGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), FGF, PDGF, IL-1 $\alpha$ , IL-6 gibi sitokin ve hormonlar da VEGF salınımını artırarak anjiogenezi artırır.<sup>21-25</sup> Anjiogenez sırasında endotel hücreler intakt kapillerlerden yaraya doğru göç etmeye ve çoğalmaya başlarlar. Bu göç esnasında hücreler belirli bir kavis çizerler ve böylece lümen yapısını oluştururlar. Bu tomurcuklanma başka kapiller tomurcuklar ile bir araya gelerek yeni kapiller ağ meydana getirirler.<sup>12</sup> Yukarıda da belirtildiği üzere anjiogenez çeşitli sitokinler ile düzenlenir. En önemli iki faktör, FGF-2 ve VEGF'dir. Sitokin konsantrasyonları yara yeri revaskülarize olduktan sonra düşmeye başlar ve değişim vasküler sistemin olgunlaşmasını kolaylaştırır.

Epitelizasyon akut yaralanmayı takiben derinin bariyer fonksiyonunun geri döndürülmesi açısından gereklidir. Yaralanan epitelyum dokusunun rekonstrüksiyonu yaralanmadan hemen sonra başlar. Cerrahi kesiler yaralanmadan 24-48 saat içerisinde epitelize olurken daha geniş yaraların epitelizasyonu günler, bazen aylar sürebilir.

Yaralanmadan sonraki ilk 24 saatte epidermis bazal tabakasında bulunan hücreler yara yerine doğru hareketlenmeye ve göç etmeye başlarlar. Eğer mevcut yaralanma kıl follikülü ve ter bezleri gibi deri eklerine zarar vermemiş ise, bu yapılar epitelizasyon sürecinin hızlanmasına yardımcı olurlar. Bu hücreler yara bölgesine tek tabaka halinde göç ederler. Göçün başlangıcından yaklaşık 24 saat sonra yara kenarında ve deri eklerinde bulunan bazal hücreler çoğalmaya başlarlar ve bu tek katlı epitelyum tabakasına katkıda bulunurlar. Epitelial hücrelerin göçü diğer yönlerden gelen epitelyum hücreleri ile karşı karşıya gelene kadar devam eder. Epitelizasyon aşaması EGF, TGF- $\alpha$ , platelet kaynaklı EGF ve KGF (FGF-7 olarak da bilinir) gibi çeşitli sitokinlerin kontrolü altındadır. Bu sitokinlerin bir kısmı inflamatuvar hücreler tarafından, kalanı epitelyal hücrelerin kendisi tarafından üretilir. Eğer epidermal bazal membran sağlam ise hücreler kolayca bazal membran üzerinde ilerlerler. Ancak bazal membran hasarlanmışsa epitelyal hücrelerin fibrin-fibronektin matriksi üzerinde ilerlemesi gerekir. Bu göç esnasında epitelyal hücreler kendilerine yeni bazal membran tabası oluştururlar. Göç eden epitelyal hücrelerin altında yeni bazal membran oluşumu tenasin, vitronektin, tip I ve tip V kollajen sekresyonu ile mümkündür. Değişik yönlerden epitelyal hücrelerin karşılaşması ile kontakt inhibisyon meydana gelir. Epitelial hücreler ve bazal membran arasında bulunan hemidesmozomlar yeniden oluşur. Tenasin ve vitronektin



sekresyonu azalır. Hücreler daha bazaloid hale gelirler ve sonraki hücrel çoğalma, keratin ile kaplı çok katlı yeni epidermisi oluşturur. Yeni epidermis eskisi gibidir, ancak daha ince, bazal membranı düz ve rete pegler yoktur.<sup>12</sup>

Protein sentezi ve depolanması ile yara kontraksiyonu, yaranın oluşmasından dört-beş gün sonra baskın hale gelmeye başlar. İyileşmenin bu fazında depolanan matriksin kalitesi ve miktarı, skarın gerim kuvvetini etkilemektedir.<sup>26</sup> Kollajen skar dokusundaki toplam protein miktarının %50'sini oluşturur ve üretimi yara iyileşmesi için hayattır. Fibroblastlar kollajen ve diğer proteinlerin sentezinden sorumlu hücredir. Kollajen sentezi TGF- $\beta$ , PDGF, ve EGF tarafından stimüle edilir.<sup>28</sup> Kollajen sentezi ayrıca hastanın yaşı, yaranın gerginliği, uygulanan basınç, stres ve yaraya ait özelliklerden de etkilenmektedir. Kollajen sentezi iki-dört hafta arasında maksimum düzeydedir, daha sonra kademeli olarak düşmeye başlar.

Yara kontraksiyonu da yaralanmadan dört-beş gün sonra başlar ve etkin olarak yaklaşık iki hafta devam eder. Eğer yara bu iki haftalık dönem sonunda kapanmamış ise kontraksiyon devam eder. Açık bir yarada yara kenarlarının birbirine doğru çekildiğini rahatlıkla görebiliriz. İnsizyonel bir yarada skar kontraksiyonu skarın boyunu kısaltır. Kontraksiyon oranı anatomik bölgeye göre değişmekle birlikte ortalama 0.6-0.7 mm/gündür. Skalp veya pretibial bölgede bulunan bir yaranın kontraksiyonu uyluk bölgesindeki bir yaradan daha az olmaktadır. Yaranın şeklide, kontraksiyon oranını etkilemektedir. Kare şeklindeki yaralar dairesel yaralardan daha kolay kontrakte olmaktadır. Yara kontraksiyonu yara çevresinde myofibroblastların baskın olması ile karakterizedir. Myofibroblastlar, yara yerinde bulunan fibroblastlardan dönüşerek meydana gelirler.<sup>28</sup> Sitoplazmalarında bulunan aktin-zengin mikroflamanlar ( $\alpha$ -SMA, düz kas aktini) sayesinde kontraksiyonu gerçekleştirirler. Bu protein, gerim kuvvetinin oluşturulmasında önemli bir role sahiptir.<sup>29</sup> Myofibroblastlar ayrıca "SM-miyozin ağır zincir" ve demsin gibi diğer kontraktıl proteinler içerir. Myofibroblastlar yarada ilk olarak dört-altıncı. günler arasında görülürler ve takip eden iki-üç hafta boyunca yarada kalırlar.<sup>30</sup> Myofibroblastlarca oluşturulan izometrik gerim, düz kas hücrelerindeki farklıdır. Düz kas hücrelerinin kontraksiyonu geri dönüşümlü iken, myofibroblastlarınki geri dönüşümsüzdür.<sup>31</sup>

### **Skar Maturasyonu fazı**

Bu faz yaralanmayı takiben yaklaşık üç hafta sonra görülmeye başlar.<sup>12</sup> Klinik olarak en önemli fazdır. Histolojik olarak ana görüntü kollajenin organize şekilde depolanmasıdır.

Eğer hastanın matriks oluşumunu engelleyen veya bozan bir hastalığı var ise (diyabet, diyet gibi), yara gerim kuvveti ciddi şekilde bozulur. Eğer aşırı kollajen sentezi var ise bu seferde hipertrofik skar veya keloid oluşumu meydana gelir.

Yara matriksinin oluşumu belli bir yol izler. Başlangıçta matriks fibrin-fibrinojenden ibarettir. Ardından fibroblastlar tarafından GAG'lar, proteoglikanlar ve diğer proteinler (SPARC-secreted protein acidic rich in cysteine) sentezlenir.<sup>32</sup> Bu gelişigüzel ve dezorganize glikan birikintisi yeni matriks için öncülük eder ve kollajenden oluşan güçlü ve organize bir matriks ile yer değiştirir. Normal dermiste tipI/III kollajen oranı 4/1 iken bu oran granülasyon dokusunda 2/1'e düşmektedir. Matür skar dokusunda bu oran yine 4/1'e yükselmektedir.<sup>33</sup> Tip III kollajenin yara yerinde ortaya çıkması fibronektin ile aynı zamanlara rastlamaktadır. Denature kollajenin fibronektin ile kaplanması fagositozu kolaylaştırdığı düşünülmektedir.<sup>34</sup> Tip III kollajenin yaranın gerim kuvveti üzerine etkisi olmamasına rağmen, yara iyileşmesinin erken döneminde bu denli yüksek oranda üretilmesinin sebebi net olarak anlaşılamamıştır. Matriks metalloproteinazlar (MMPs) TGF- $\beta$ , PDGF, IL-1 ve EGF'nin konsantrasyonundaki değişiklikler doğrultusunda etki gösterirler. MMP etkinliği, bu proteinazların spesifik doku inhibitörleri tarafından ortadan kaldırılır. Bu inhibitörler TGF- $\beta$  ve IL-6 uyarısı ile fibroblastlar tarafından sentezlenir.<sup>35</sup> Yara iyileşmesinin erken dönemlerinde matriks ince ve yumuşaktır, fibroblastların, nötrofillerin, lenfositlerin ve makrofajların içerisinde rahatça hareket etmesini sağlar.<sup>36</sup> Kollajen liflerinin oranı arttıkça matriks sertleşir ve lökositlerin ve fibroblastların hareketi zorlaşır. Fibroblastların değişen mekanik kuvvetlere bağlı olarak geliştirdiği uyarlanabilir cevap yeteneği vardır. İzometrik gerim gelişmeden önce yumuşak matriksin yeniden düzenlenmesi, matriks proteinlerinin proteolizine ve hücre migrasyonuna bağlıdır. İzometrik gerim dokuya uygulanan dahili ve harici kuvvetlerin dengede olduğu, hücre boyunda uzama veya kısalma olmadan hücrenin kontrakte olduğu durumdur.

PDGF, fibroblastların dendritik ağının hareketlenmesini uyarır. Bu uyarı, matriks yumuşak olduğu zaman gerçekleşebilir. Tüm gliserol fosfolipidlerinin en basiti olan lizofosfatidik asit, fibroblastların dendritik uzantılarının kısalmasını sağlar. Lizofosfatidik asit memeli dokusunda ve serumunda bulunur. Özellikle yara yerinde bulunan plateletlerin hücre zarlarının uyarılması ile salıverilirler.<sup>37</sup> Kontraktiliteyi daha da artırmak için fibroblastlar TGF- $\beta$ 'nın etkisi ile miyofibroblastlara dönüşürler.<sup>16</sup> TGF- $\beta$  sadece belli bir bölgedeki fibroblastları etkileyerek farklılaşmasını sağlayabilir. Bundan dolayı mekanik kuvvete maruz kalan ve kalmayan bölgelerde miyofibroblast farklılaşması ve regresyonu lokal olarak kontrol

altındadır. Mekanik kuvvetin az olduğu yerlerde kollajen sentezi azalır ve apoptozis ile sonuçlanırken, kuvvetin fazla olduğu yerlerde aşırı kollajen sentezi ve fibroblast aktivitesine bağlı olarak kontraktür, hipertrofik skar ve skar dokusunda genişleme meydana gelir.

Kollajen sentezindeki bu net artış yaralanmadan sonraki dört-beşinci haftalara kadar devam eder. Bu artış hem fibroblast sayısının, hem de hücre başına düşen kollajen sentezinin artışına bağlıdır. Granülasyon dokusunda bulunan kollajen biyokimyasal olarak normal dermis kollajeninden farklıdır. Lizin rezidüleri daha fazla hidroksilasyon ve glikozilasyona uğramıştır, bu artış ince kollajen lifleri ile ilişkilidir. Skar dokusunda bulunan kollajen, matürasyon fazını tamamlamış olsa dahi normal dermis dokusundaki kollajen kadar organize olamaz. Yara gerim kuvveti %100'e ulaşamaz. Yara gerim kuvveti birinci haftada %3, üçüncü haftada %30, üçüncü ayda yaklaşık %80, altıncı ay sonunda en fazla %85 düzeyine erişebilir.<sup>15</sup>

### **PROLİFERATİF SKARLAŞMA**

Hipertrofik skar ve keloid yara iyileşmesi sırasında hücrel apoptozis mekanizmalarındaki bozulmanın yol açtığı, aşırı dermal fibrozis ve kutanöz skarlaşma ile sonuçlanan yara iyileşmesi biçimleridir.<sup>38-40</sup> Genetik olarak yatkın insanlarda daha yüksek oranda görülür.<sup>41-43</sup> Bu bozukluklar sadece insanlarda görülür. Aşırı skarlaşma sadece deriye özgü bir durum değildir. Diğer organ sistemlerinin travmalarından sonra da görülebilir. Tendon onarımından sonra görülen adezyonlar, karaciğer sirozu, glomerulonefrit, skleroderma bunun patolojik örneklerindedir.<sup>44</sup>

Bu fibröz kitleler travma, inflamasyon, cerrahi veya yanığa cevap olarak ortaya çıkan bağ dokusu cevabıdır ve genellikle kendiliğinden meydana gelir. Hipertrofik skar ve keloidin her ikisi de aşırı miktarda kollajen ve glikoprotein birikimi ile karakterizedir. Hipertrofik skar ve keloidi erken dönemde birbirinden ayırt etmek zordur. Klinik olarak keloidler travmadan aylar veya yıllar sonra ve bazen hasta tarafından travma öyküsü verilmeden ortaya çıkarlar. Orijinal lezyon sınırlarını geçerler ve regresyon göstermezler. Hipertrofik skar dokusu ise zeminden kabarık, kırmızı veya pembe renklidir. Travmadan haftalar sonra oluşur, her zaman bir travma öyküsü vardır. Kendi sınırlarının ilerisine taşmaz ve sıklıkla regresyon gösterirler.<sup>39,45-48</sup> Bazı vücut bölgelerinde hipertrofik skar ve keloid dokusu daha fazla görülür. Deltoid, presternal bölge, sırt bölgesi ve kulak lobülü keloidin en sık görüldüğü

bölgelerdir. Göz kapağı, genitaler, avuç içi veya ayak tabanı nadirdir.<sup>45</sup> Hipertrofik skar ise eklemleri veya cilt katlantı bölgelerini dik açı ile çaprazlayan bölgelerde, doku geriliminin yüksek olduğu deltoidal, presternal, sırt üst yarısında daha fazla görülür.<sup>6</sup> Bu fibröz kitleler sıklıkla ağrı, kaşıntı, hareket kısıtlılığı ve ciddi kozmetik problemlere yol açarlar.<sup>1</sup> Birçok tedavi şekli önerilse de etkinlikleri tartışmalıdır (Tablo-2).<sup>41</sup>

HİPERTROFİK SKAR	KELOİD
Cerrahiden kısa süre sonra ortaya çıkar	Travmadan aylar sonra da ortaya çıkabilir
Genelde zaman içinde geriler	Nadiren zaman içinde geriler
Yara sınırları içerisinde kalır	Başlangıçta var olan yara sınırlarının dışına çıkar
Eklem veya cilt katlantıları dik açı ile kesilirse meydana gelir	Daha çok kulak lobülü, omuzlar, sternal olukta görülür, nadiren eklem üzerinde meydana gelir
Uygun zamanda yapılan cerrahi ile tedavi edilebilir	Cerrahi ile daha da kötüleşir
Sık görülür	Daha az görülür
Cilt rengi ile ilişkisi keloide göre daha düşüktür	Sıklıkla koyu tenlilerde görülür.

Tablo-2. Hipertrofik skar ile keloidin klinik farklılıkları.

Hipertrofik skar başlangıçta genellikle eritematözdür, daha sonra zaman içinde koyu kırmızı, sonra da soluk renge dönmeye başlar. Keloid dokusunun kıvamı yumuşak hamur kıvamından lastik kadar sert olabilmektedir (Tablo 3).<sup>49</sup>

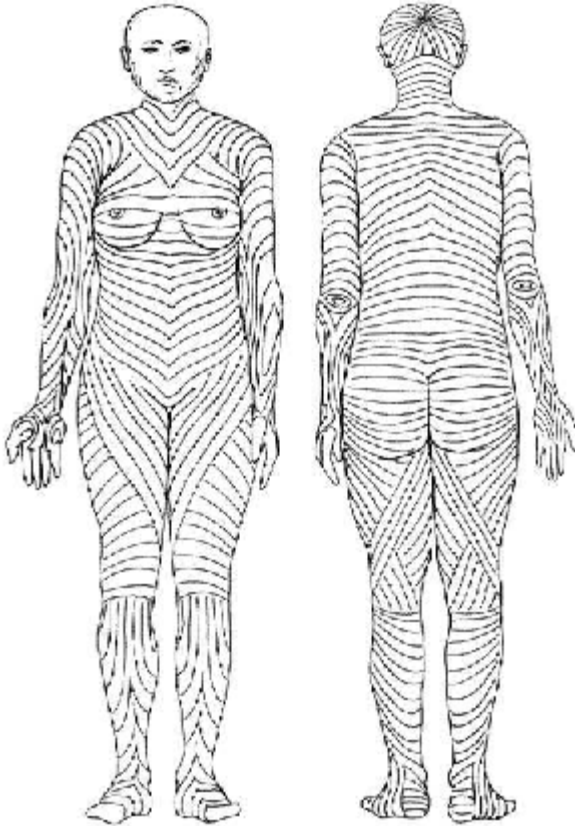
Matür Skar	Açık renkli, düz skar
İmmatür skar	Kırmızı renkli, bazen kaşıntılı ve ağrılıdır, skar maturasyonu fazında deriden hafifçe kabarık olabilir. Bu skarların birçoğu zaman içerisinde normale döner, düzleşir ve çevresindeki cilde göre hiper/hipopigmente olabilir.
Lineer hipertrofik skar (cerrahi veya travmatik)	Kırmızı renkli, zeminden kabarık, bazen kaşıntılıdır. Yaranın orijinal sınırlarını geçmez. Cerrahiden birkaç hafta sonra ortaya çıkar. 3-6 ay içerisinde hızla büyüyebilir, ardından büyümesi duraklar ve gerilemeye başlar. Sıklıkla kabarık ve genişleyerek matürasyonunu tamamlar. Matürasyonu 2 yılı bulabilir.
Geniş hipertrofik skar (yanık)	Yanık alanının sınırları içerisinde kalan geniş, kırmızı renkli, bazen kaşıntılı skarlardır.
Minör keloid	Normal cilt dokusuna doğru genişleme gösteren zeminden kabarık, kaşıntılı skar dokusudur. Travmadan sonraki 1 yıl içerisinde ortaya çıkabilir ve kendi başına gerileme göstermez. Basit cerrahi eksizyonlar nüks ile sonuçlanır. Genetik bir anomali olabilir. Tipik yerleşim yeri kulak lobülüdür.
Majör keloid	Büyük, zeminden kabarık (>0.5 cm) normal dokuya doğru genişleyen, sıklıkla ağrılı ve kaşıntılı skar dokusudur. Sıklıkla minör travmalardan sonra ortaya çıkar ve yıllar içerisinde yayılım gösterebilir.

Tablo-3. Klinik gözlemlere dayanarak oluşturulan uluslararası skar sınıflandırma şeması. (International clinical recommendations on scar management. Plast Reconstr Surg. 2002 Aug;110(2):560-71'den alınmıştır).

Keloid koyu tenli insanlarda açık tenlilere göre daha yüksek oranda görülür.<sup>39,45,50</sup> Koyu tenlilerde sıklığı %4.5-16 arasında değişirken zencilerde %16'nın da üzerindedir. Hipertrofik skar insidansı keloide göre daha yüksektir ancak net bilgi yoktur.<sup>1,51</sup>

Keloid ve hipertrofik skar gelişiminde en önemli rol, genetik yatkınlık ve travmanın şeklidir.<sup>52</sup> Keloid fibroblastlarında p53 geninde mutasyon geliştiği gösterilmiştir.<sup>46</sup> Değişik travmalar keloid veya hipertrofik skar formasyonuna neden olabilir. Cerrahi, küpe takılması, hızma takılması, laserasyon, abrazyon, dövme, aşı uygulaması, enjeksiyon, sinek ısırığı, yanık ve ciltte inflamasyon ile sonuçlanabilen herhangi bir durum gibi.

Cilt veya yara gerginliği de keloid veya hipertrofik skar oluşumunda kritik bir öneme sahiptir. Gerginliğin birçok sebebi olabilir. Doku kaybı, anatomik yerleşim yerine bağlı olarak altta kemik veya eklem olması gibi. Eğer onarım vücut gerginlik çizgilerine uygun olarak yapılmaz ise buda hipertrofik skar gelişimine yardımcı olur (Şekil-6).



Şekil-6. Vücut minimal gerginlik hatlarının gösterildiği insan çizimi

Hipertrofik skar için 3 adet teori tanımlanmıştır.

1)Bozulmuş damarlanma nedeni ile meydana gelen hipoksi

2)Yeniden şekillenme fazında meydana gelen kesinti

3)Granülasyon dokusunun gerilemesinin olmaması. Bu da miyofibroblast apoptozisinin gerçekleşmemesine bağlanmaktadır.<sup>54</sup>

Hipertrofik skar dokusunda bulunan mikrodamarların, aşırı endotel hücrelerine bağlı olarak total veya parsiyel tıkalı olduğu rapor edilmiştir. Bu mikrovasküler oklüzyon hipoksinin hipertrofik skar gelişiminde katkısı olduğu teorisini desteklemektedir.<sup>55</sup> Hipoksiye bağlı olarak makrofajlardan salınan faktörler anjiogenezi ve fibroblastları uyarır. Bu sayede daha fazla kollajen sentezi ve aşırı skar dokusu ile meydana gelir.

Normal yara iyileşmesinde apoptozis, granülasyon dokusundan skarlaşmaya geçişte rol oynar. Literatürde proliferatif skarlaşmanın, apoptozisi düzenleyen genlerdeki değişiklikten kaynaklandığı yönünde bulgular rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda keloid dokusundan elde edilen fibroblastlarda apoptozis sinyallerine düşük cevap ve keloid spesimenlerinde p53, bcl-2 gibi gen ekspresyonlarının normale göre fazla olduğu, yani apoptozis oranlarının düşük olduğu tespit edilmiştir. Apoptozise geç uğramaları nedeni ile kollajen depolanması da artmaktadır.<sup>56,57</sup>

Işık mikroskopisinde keloid ve hipertrofik skar dokusunun birbirinden ayrımı zordur. Ancak elektron mikroskopisi ile normal cilt, hipertrofik skar ve keloid arasında belirgin morfolojik farklılıklar göze çarpmaktadır. Normal cilt dokusu çoğunluğu epitelyal yüzeye paralel belirgin kollajen demetleri içermektedir. Bu kollajen demetleri diğer kollajen demetleri ile kollajen lifleri aracılığıyla rastgele bağlantılıdır. Hipertrofik skar dokusunda kollajen demetleri yassıdır, daha az belirgin ve lifler dalgalı şekildedir. Normal dermisten farklı olarak tip III kollajen oranı daha yüksektir.<sup>6,46</sup> Ancak demetlerin çoğu hala epitelyal yüzeye paraleldir. Ayrıca hipertrofik skar fibroblastik hücreler, küçük damarlar ve rastgele organize kollajen liflerinin bulunduğu nodüler yapı gösterir. Hipertrofik skar nodülleri skar kontraksiyonunun patogenezinde önemli olan alfa-düz kas aktini (SMA) eksprese eden miyofibroblastlar içerir. Alfa-SMA hipertrofik skar dokusunda %70, keloid dokusunda %45 oranında eksprese edildiğinden spesifik bir belirteç değildir.<sup>58</sup> Keloid dokusunda ise kollajen demetleri neredeyse yoktur, kollajen lifleri birbirleri ile gelişigüzel bağlantılar yapmış, geniş ve kalın şekillidir. Epitelyal yüzey ile rastgele ilişkili gevşek tabakalar halindedir. Ayrıca

geniş eozinofilik refraktil hyalin benzeri kollajen lifleri, keloid dokusunun karakteristiğidir. Ancak sadece %5 spesimende görülebilirler.<sup>42</sup>

Fibroblastların çoğalma kapasitesi keloid dokusunda hipertrofik skar ve normal cilde göre daha fazladır. Keloid kaynaklı fibroblastların uyaranlara daha fazla yanıt verme ve kollajen, elastin, fibronektin ve proteoglikan üretme kapasitesi vardır.<sup>59-62</sup> Oysa hipertrofik skar kaynaklı fibroblastlar büyüme faktörlerine normal yanıt verirler ve kollajen üretimi de uyaranlara karşı ılımlı oranda artar.<sup>61</sup>

Keloid dokusunda en çok tip I ve III kollajen mevcuttur, ancak küçük miktarlarda tip IV ve V kollajende bulunur. Keloidlerdeki kollajen sentezi hipertrofik skar dokusuna göre üç kat, normal cilde göre 20 kat fazladır.<sup>64</sup> Tip I/III kollajen oranı keloidlerde diğer gruplara göre anlamlı derecede yükselmiştir. Çünkü tip I kollajen sentezinin baskılanması keloid dokusunda yetersizdir.<sup>65</sup>

Skar kontraksiyonunda büyüme faktörleri de önemli role sahiptir. TGF- $\beta$  ve PDGF normal cilt fibroblastlarında kontraksiyonun düzenlenmesinde önemli faktörlerdendir.<sup>60</sup> TGF- $\beta$ 'nın, keloid kaynaklı fibroblastlarda artmış kollajen/fibronektin üretimine neden olduğu ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır.<sup>59-61,66-68</sup> Onarım bittikten sonra TGF- $\beta$  aktivitesi de sona erer. TGF- $\beta$ 'nin üretiminin artması da anormal fibrozis ile sonuçlanabilir. TGF- $\beta$  otokrin şekilde, fibroblastlarca ekspresyonunu kendisi ayarlayabilir. Hipertrofik skar kaynaklı fibroblastların da artmış TGF- $\beta$  sekresyon seviyesine sahip oldukları gösterilmiştir.<sup>69</sup>

Bazı çalışmalar hipertrofik skar gelişiminde immünolojik mekanizmaların rolü olduğu hipotezini desteklemektedir. HLA gen bölgesinde hipertrofik skar oluşumu için risk faktörü oluşturan sekanslar belirlenmiştir.<sup>72</sup> HLA-DRB-16, B-14 ve BW-16 gen bölgelerinin de keloid oluşmasına yatkınlık meydana getirdiği düşünülmektedir. Ayrıca serum immunglobülin E (IgE) düzeyi yüksek olanlarda ırk, cinsiyet ve yaş gözetmeksizin aşırı skar gelişimi insidansının daha yüksek olduğu ve keloidi olan insanların hipertrofik skarları olanlara göre daha alerjik oldukları tespit edilmiştir.<sup>6,41</sup>

### **Enflamasyon ve aşırı skarlaşma ilişkisi**

Enflamasyon, normal yara iyileşmesinin doğal bir parçasıdır. Bakteriyel kolonizasyon/enfeksiyon, yabancı cisim, mekanik aktivite ve yaranın aşırı büyük ve derin olması, enflamasyon yanıtını artırıcı etki yapar. Hipertrofik skarlar ve fetal yara iyileşmesine ait spesimenlerden elde edilen bulgular aşırı fibrozisi, güçlü ve tüm iyileşme fazlarında etkin



enflamasyonla ilişkilendirmiştir. Ek olarak, hipertrofik skar oluşumu görülen yaralarda yaralanma ve reepitelizasyon arasında geçen zaman uzundur. Bu nedenle enflamasyon fazı daha uzun sürmektedir. Enflamasyon sürecinde, mast hücreleri, makrofajlar ve lenfositler birlikte rol alarak TGF- $\beta$  ve IGF-1, PDGF gibi fibrinojenik sitokinlerin salınımına neden olurlar. Bu da hipertrofik skar veya keloid gelişimine katkıda bulunur.<sup>73,74</sup>

### **TGF- $\beta$ ve aşırı skarlaşma ilişkisi**

TGF- $\beta$  ailesi TGF- $\beta$ 1,2 ve 3, kemik morfojenik proteinler (BMP) ve aktivinlerden oluşur. TGF- $\beta$ 1,2 ve 3 memelilerde bulunan esas formlardır, fakat TGF- $\beta$ 1 cilt yara iyileşmesinde daha baskın bir role sahiptir. Makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler ve plateletler tarafından üretilirler.<sup>75</sup>

Yara iyileşmesinde TGF- $\beta$ 1 inflamasyon, anjiogenez, reepitelizasyon ve yumuşak doku rejenerasyonunda etkilidir. Yaralanmanın başlaması ile ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. TGF- $\beta$ 1 diğer inflamatuvar hücrelerin göçünü ve makrofaj aracılı doku debridmanını kolaylaştırır. Yara yeri sterilize edildiği zaman TGF- $\beta$ 1 in vitro olarak makrofajlardan süperoksid üretimini de aktive eder, böylece sağlam dokuların hasar görmesi engellenir. In vitro çalışmalarda TGF- $\beta$ 1'in hücre dışı matriks oluşumu ile ilişkili olan fibronektin, fibronektin reseptörü, kollajen ve proteaz inhibitörleri ile ilgili genlerin ekspresyonunu artırarak granülasyon dokusu oluşumunu başlattığı gösterilmiştir. Ek olarak kollajen matrikste bulunan fibroblastların kontraksiyonunu kolaylaştırarak, yara kontraksiyonunda da etkisi olduğu gösterilmiştir.

Matriks oluşumu ve yeniden şekillendirme aşamasında TGF- $\beta$ 1, özellikle tip I ve tip III kollajen üretimini artırır. Ayrıca MMP-1, MMP-3 ve MMP-9 için güçlü bir inhibitördür ve doku metalloproteinaz inhibitörü-1 (TIMP-1) sentezini destekleyerek kollajen yıkımını inhibe eder.

TGF- $\beta$ 1 keloid ve hipertrofik skar fibroblastlarını uyararak fibrozis patogenezinde de önemli bir role sahiptir.<sup>76</sup> TGF- $\beta$ 1'in aşırı eksprese edildiği zaman bağ doku büyüme faktörünü (CTGF) uyardığı ve hipertrofik skar ve keloid gelişiminde rolü olduğu gösterilmiştir.<sup>77</sup> Yanık olgularında lokalize TGF- $\beta$ 1 aşırı salınımında reepitelizasyonun geciktiği ve fibrozisin arttığı gösterilmiştir.

## **MMP ve skar matürasyonu ilişkisi**

MMP'lar ilk olarak 1962 yılında Gross ve Lapierre kurbağa yavrusunun metamorfozu esnasında karşılaştığı kollajenolitik aktivite sonrasında tanımlanmıştır.<sup>78</sup> Daha sonra bu endopeptidaz ailesi insanda da tanımlanarak MMP adını almıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda MMP'ların kollajen yıkımı işlevinin yanı sıra hücre dışı matriksin diğer komponentlerinin yıkımı ile de ilgili olduğu gösterilmiştir.<sup>79</sup> En az 24 adet tanımlanmış çinko bağımlı MMP ailesine mensup endopeptidaz mevcuttur (Tablo-3).<sup>80</sup> Ekspresyonu büyüme faktörleri, sitokinler, hormonlar ve hücrel dönüşümle kontrol edilir.<sup>79</sup> Proteolitik aktiviteleri, prekürsörlerinin uyarısı ve endojen inhibitörlerinin etkisi ile düzenlenir (TIMP).<sup>81</sup> Hücre dışı matriks yıkımı dışında MMP'lar inflamatuvar cevabın düzenlenmesinden embriyo implantasyonuna, hücre ölümü veya apoptozise kadar birçok olayda etkin bir rolü vardır.<sup>82</sup> Cilt yara iyileşmesi esnasında keratinositler, fibroblastlar, makrofajlar, endotelial hücreler, mast hücreleri, eozinofiller ve nötrofiller gibi çok çeşitli hücreler tarafından üretilirler.<sup>83</sup> Yapılan çalışmalarda MMP-1, -2 ve -3 ile membran tip 1 MMP'ın, iyileşme basamakları sırasında cilt fibroblastları tarafından sekrete edildiği ve matriks yeniden şekillendirilmesi esnasında önemli roller oynadıkları gösterilmiştir.<sup>84-87</sup> Ayrıca insan matür skar, hipertrofik skar, keloid ve derin dermal yanık sonrası oluşan yaralardan elde edilen fibroblastların direkt analizi veya kültürü sonucu elde edilen verilere göre özellikle aktif MMP-2 (jelatinaz-A) düzeyinin travmadan birkaç gün sonra yükselmeye başladığı ve skar matürasyonundan sonra seviyesinin düştüğü gösterilmiştir.<sup>76,88,89</sup>

Bu çalışmada tavşan kulağında oluşturulan yaranın spontan epitelizasyonu sonrası oluşacağı düşünülen hipertrofik skar dokusunda immünohistokimyasal olarak TGF-β1 ve MMP-2'ye bakarak, yağ grefti ve SVF'nin etkisini histopatolojik bulgularla karşılaştırmayı planladık.

## **KÖK HÜCRELER**

### **Tanımı**

Vücudumuzu üç temel hücre grubu oluşturur:

1) Somatik hücreler. Vücudumuzun genel yapısını, doku ve organlarını teşkil eden farklılaşmış hücrelerdir.

2)Germ hücreleri. Yumurta ve sperm oluşturan hücrelerdir.

3)Kök hücreler. Üç özelliği ile tanımlanır:

- a)Sınırsız bölünerek kendi özelliklerini bir sonraki nesile aktarabilme,
- b)Farklılaşarak değişik hücre özelliklerini kazanabilme,
- c)İn vivo olarak bulunduğu bölgede bulunan doku eksikliğini onarabilme.<sup>90-93</sup>

Kök hücreler köken aldıkları dokuya göre embriyonik, fetal ve erişkin kaynaklıdır.<sup>93</sup>

Embriyonik hücreler blastokistin iç hücrelerinden elde edilir. Fetal kök hücreler primordial germ hücrelerinden elde edilir. Erişkin kök hücreler ise embriyonik veya fetal kök hücrelerin farklılaşması ile oluşur. Diğer 2 kök hücre grubuna göre daha az bölünme ve farklılaşma kapasitesine sahiptir.<sup>93</sup>

Bu bağlamda karşımıza 3 terim daha çıkmaktadır.

a)Totipotensi. Tüm hücre türlerine farklılaşma yeteneğine sahip hücrelerdir (ör.embriyonik kök hücreler).

b)Pluripotensi. Tüm organizmayı değil ancak ait olduğu germ yaprağından oluşan hücrelere farklılaşabilen hücrelerdir (ör.fetal kök hücreler).

c)Multipotensi. Buldukları yere göre daha sınırlı hücrelere farklılaşabilirler (ör.erişkin kök hücreler).<sup>94</sup>

Son yapılan çalışmalarda hematopoietik, nöronal veya mezenşimal kök hücreler gibi erişkin kök hücrelerin, farklı hücre tiplerine farklılaştığı gösterilmiştir. Bu fenomene “transdiferansiyasyon” denir.<sup>95-98</sup>

Erişkin kök hücreler doğumdan sonra dokulardan elde edilen, kendini yenileyebilme ve farklılaşabilme yeteneğine sahip hücrelerdir. Kemik iliği, kan, beyin, yağ, kas, karaciğer, pankreas, diş, umbilikal kord kanından elde edilebilirler.<sup>93</sup> Bu kök hücreler, kaynak dokusunda bulunan hücre topluluğunun çok az bir kısmını oluştururlar.

MKH’ler ise embriyonik dönemde mezoderm germ yaprağından gelişen dokularda bulunur. En çok çalışılan MKH’ler kemik iliği kaynaklı olanlardır. Kemik iliği yanı sıra cilt, amniyotik sıvı, sinovyal sıvı, umbilikal kord kanı veya yağ kaynaklı MKH’ler de mevcuttur. Kemik iliğinde hematopoietik kök hücre oranı 1/10.000 hücre iken, MKH oranı 1/10.000-1/100.000 oranları arasındadır. MKH’ler kemik, kıkırdak, kas, kemik iliği stroması, tendon, ligament, yağ ve diğer bağ doku elemanlarına dönüşebilme yeteneğine sahip hücrelerdir.<sup>90-99</sup>

Kemik iliği kaynaklı MKH’lerin elde edilmesi ağırlı, genel veya spinal anestezi gerektiren bir işlemdir. Bu işlem sonucunda elde edilen kök hücre sayısı yeterli miktarda

olmadığı için uygulamadan önce ex vivo olarak hücrelerin kültüre edilerek çoğaltılması gerekmektedir. Bu işlemde zaman alıcı, pahalı ve kontaminasyon halinde hücrelerin yaşayabilirliğini kısıtlayan bir işlemdir. İdeal bir otolog kök hücre kaynağının elde edilmesi kolay, hastaya en az zahmetli ve yeterli sayıda hücre sağlaması gerekmektedir.<sup>2</sup>

Yağ dokusu, yukarıda sayılan özelliklere sahip bir kaynaktır. Yağ dokusu da kemik iliği gibi mezoderm kaynaklıdır ve değişik kaynaklı stromal hücre grupları içermektedir. Mezenşimal progenitör hücreler çevresel etkiler ile çoğalarak preadipositlere dönüşmektedir. Preadipositler de farklılaşarak matür adipositlere dönüşmektedirler.<sup>100-105</sup> Erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'ler ilk olarak Patricia A. Zuk ve ark tarafından 2001 yılında izole edilmiştir.<sup>2</sup>

SVF, eksizyon yöntemi ile elde edilen yağ dokusunun küçük parçalara ayrılması, bu dokunun da çeşitli işlemlerden sonra parçalanmış yağ hücreleri, kan elemanları ve hücreden zengin fraksiyona ayrıştırılması ile elde edilir. Bu fraksiyon, endotel hücreleri, perisitler, preadipositler ve çeşitli stromal progenitör hücreler içermektedir.<sup>106,107</sup>

Patricia A. Zuk çalışmalarında kullandığı liposakşın materyallerine işlenmiş lipoaspirat (PLA) adını vermiş ve tanım olarak SVF'dan ayırmıştır. SVF içerisinde bulunan stromal progenitör hücreler, uygun şartlar ve mikroçevre altında adipojenik, osteojenik, kondrojenik, miyojenik ve nörojenik farklılaşmaya uğrayabilmektedir. Mezoderm kökenli yağ dokusunda bulunan bu kök hücrelerin transdiferansiyasyon özelliği, bu hücrelerin pluripotent olabileceğini düşündürmüştür. Zuk ve ark. SVF'dan elde edilen ve çok yönlü (*multi-lineage*) farklılaşma yeteneğine sahip bu hücre grubuna erişkin yağ dokusu kaynaklı kök hücre (ADAS) adını vermişlerdir.<sup>101</sup> Yapılan çalışmalarda PLA veya SVF'dan elde edilebilecek MKH sayısı, kemik iliğinden elde edilen MKH sayısı ile karşılaştırılmıştır. Kemik iliğinde MKH oranı 1/10.000-1/100.000 oranları arasında iken Zuk ve ark.ları yaptıkları çalışmada 300 ml PLA içerisinde 2-8 x 10<sup>8</sup> kadar MKH çıkabileceğini tespit etmişlerdir. Yine Brian ve ark. yaptıkları çalışmada yağ dokusunda bulunan her 100 nükleer hücrenin %1-2'si veya gram yağ dokusu başına yaklaşık 5000 hücrenin MKH olduğunu tespit etmişlerdir.<sup>182</sup> Donör saha probleminin kemik iliğine göre minimal olması, işlemin kolay ve elde edilen MKH sayısının kemik iliği kaynaklı MKH miktarına göre çok daha verimli olması, yağ dokusunu değerli, verimli ve en popüler MKH kaynağı haline getirmiştir.

Stashower ve ark. yaptıkları çalışmada SVF ve PLA'tan elde edilen hücreleri karşılaştırmıştır.<sup>183</sup> SVF içerisinde bulunan hücresel yoğunluk PLA'a göre daha fazla

bulunmuştur. Bu hücresele yoğunluk mezenşimal progenitör hücrelerin membran belirteci olan CD34 ile tespit edilmiştir.

Eto ve ark.ları da SVF ve PLA içerisinde bulunan hücrelerin miktarını ve yaşayabilirliğini karşılaştırmıştır. Aspirasyon yöntemi ile alınan yağ hücrelerinin travmaya bağlı olarak daha fazla hasarlandığı ve total hücre sayısının ölü hücre sayısına oranının daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.<sup>184</sup>

Yani SVF, PLA'a göre daha yoğun MKH içermektedir. Bu da SVF'u klinik ve deneysel kullanımda kök hücre miktarı olarak daha değerli bir kaynak yapmaktadır.

Kemik iliği kaynaklı MKH'ler ile aynı morfolojik ve farklılaşma yeteneğine sahip olan yağ dokusu kaynaklı MKH'ler, birçok deneysel çalışmada da kullanılarak rejeneratif tıp içerisindeki yeri sağlamlaştırılmaya çalışılmıştır.

### **SVF'un yara iyileşmesi ve skar matürasyonu üzerine etkisi**

Lim ve ark. yaptıkları çalışmada fare sırtında oluşturdukları yara modelinde kontrol grubu ile ADAS grubunu karşılaştırmışlardır. ADAS grubunda vaskülaritede, inflamatuvar hücre sayısında ve epitelyum kalınlığında belirgin artış tespit etmişlerdir.<sup>185</sup>

Nan ve ark. in vitro ortamda kültüre ettikleri ADAS'ların intravenöz uygulanması halinde yara iyileşmesi üzerine olabilecek etkisini çalışmışlardır. Sıçan sırtında 1.8x1.8x0.5 cm boyutlarında yara oluşturduktan sonra intravenöz ADAS enjekte etmişlerdir. Çalışmanın sonunda ADAS'ların defekt bölgesinde normalden daha fazla toplandığı ve yara iyileşmesine katkıda bulunduğunu göstermişlerdir.<sup>186</sup>

Kim ve ark. farelerde oluşturdukları alt ekstremite iskemi modelinde kemik iliği ve yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin etkilerini birbirleri ve kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. İskemiden 1 gün sonra intramuskuler olarak enjekte edilen MKH'lerin etkisi 14 gün sonra lazer doppler ile ölçülmüştür. Yağ dokusu kaynaklı MKH'ler kemik iliği kaynaklı MKH'ler ve kontrol grubuna göre daha yüksek oran da tüp formasyonu meydana getirmişlerdir.<sup>187</sup>

Blanton ve ark. domuz sırtında oluşturdukları yara modelinde yağ hücresi kökenli MKH'lerin yara iyileşmesi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonunda epitelizasyon süresi gruplar arasında aynı iken, yağ dokusu kaynaklı MKH grubunda kapiller sayısında artma tespit edilmiştir.<sup>188</sup>

Erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin yara iyileşmesi ve vaskülarizasyon üzerine gerçekleştirdikleri bu etkileri parakrin olarak gerçekleştirdikleri birçok in vitro ve in vivo

çalışmada gösterilmiştir. MKH'ler bu parakrin etkiyi salgıladıkları birçok anjiogenik (VEGF, HGF, bFGF, bNGF, anjiogenin ve anjiopietin-1), inflamatuvar (IL-6,IL-8, IL-11, IL-17, monosit kemoatraktan protein 1 ve 2) ve hareketlendirici [granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), makrofaj koloni-uyarıcı faktör (M-CSF), stromal hücre-derive faktör 1 (SDF-1)] faktörlerle gerçekleştirirler.<sup>189</sup>

MKH'lerin yara iyileşmesi modellerinde gösterdiği bu başarıdan dolayı, bu konu ile ilgili klinik çalışmalar yaygınlaşmıştır. Intravenöz veya intramuskuler uygulanan ADAS'ların Buerger hastalığında, diyabetik ayakta ve hatta akut ST elevasyonu olan miyokard enfarktüsülü hastalarda bile kullanımı denenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.<sup>189</sup>

Yağ grefti, aynı zamanda dolgu maddesi olarak uzun zamandır kullanılan otolog bir materyaldir. Yüz veya diğer vücut bölgelerinde yanık, travma veya radyoterapi gibi fibrozis, skar ve kontraktür ile iyileşen bölgelerin konturlarının düzeltilmesi amacı ile yağ grefti uygulamaları farklı klinik gözlemler ile sonuçlanmıştır.

Özellikle mastektomi sonrası radyoterapi uygulanan hastaların protez ile meme rekonstrüksiyonundan önce bir veya birkaç seans mastektomi fleplerinin altına yağ grefti enjeksiyonunun, protez ekspozisyon sıklığını azalttığı ve skar dokusunu yumuşattığına dair yayınları takiben deneysel çalışmalar hız kazanmıştır.<sup>3,4</sup>

Klinger ve ark.ları yüz bölgesinde yanığa ikincil olarak oluşan hipertrofik skar dokusunun altına Coleman tekniği ile abdominal bölgeden elde ettikleri yağ greftini enjekte etmişlerdir. 6 ay sonunda cilt kalitesinde artış, skar dokusunda yumuşama, histolojik olarakda vaskülaritede artma, kollajen miktarında artma tespit etmişlerdir.<sup>4</sup>

Salgarello ve ark.ları mastektomi sonrası radyoterapi uygulanmış 2 hastaya protez ile meme rekonstrüksiyonu öncesi 2 seans yağ grefti enjekte etmişlerdir. Son yağ grefti uygulamasından 3 ay sonra protez ile meme rekonstrüksiyonu yapılan her iki hastada Baker sınıf I kapsül kontraktürü, güzel estetik sonuç, yüksek hasta memnuniyeti elde etmişlerdir.<sup>123</sup>

Bu çalışmalarda liposakşın ile elde edilen yağ greftinin enjekte edildiği bölgelerde, histolojik olarak dermis kalınlığının, vaskülaritenin ve kollajen sentezinin arttığı ve skar dokusunda hastalar ve bağımsız gözlemciler tarafından fark edilen belirgin bir yumuşama olduğu belirtilmiştir.<sup>4,126</sup> Ayrıca kırışıklık ve UV ışınına bağlı cilt hasarları ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin akut olarak parakrin etki ile çevresinde bulunan hücrelerin inflamatuvar cevabını yönlendirdiği, ayrıca fibroblastlara farklılaşarak tip I kollajen üretimini, dermis kalınlığını ve vaskülariteyi artırdığı, sentezlediği

çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri ile mevcut fibroblastların oksidatif strese karşı dayanıklılığını artırdığı, TGF- $\beta$  üzerinden melanin sentezini engellediği ve kollajenin yeniden düzenlemesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir.<sup>127-130</sup> Erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin flep viabilitesine ve iskemi-reperfüzyon hasarına, VEGF üzerinden anjiogenez ve vaskülogenezi artırarak etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>131-132</sup>

Yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin özellikle hipoksik ortamlarda daha etkin olduğu görülmüştür.<sup>133,134</sup> Yara modellerinde erişkin yağ dokusu kaynaklı mezenşimal kök hücreler tek başına, bir taşıyıcı skafold ile veya ADAS mediası ile çalışılmıştır. Özellikle dermal defekt olan yaralarda kök hücrelerin hızla fibroblastlara, keratinositlere, damar endoteline ve epitelyal hücrelere farklılaştığı, ve akut olarak sentezlediği VEGF, bFGF gibi büyüme faktörleri, sitokinler vasıtası ile yara iyileşmesini hızlandırdığı tespit edilmiştir.<sup>135-140</sup>

Ancak mezenşimal kök hücrelerin yara iyileşmesi modellerinde fibroblasta dönüşmeleri bFGF gibi büyüme faktörleri ile tip I kollajen ve fibronektin sentezlemeleri, akıllara hipertrofik skar dokusunun nedenlerinden birisi de ADAS mı sorusunu getirmiştir.<sup>141,142</sup> Panettiere<sup>126</sup> ve ark. protez ile meme rekonstrüksiyonu öncesinde mastektomi cilt fleplerinin altına yağ grefti uygulamalarının klinik faydalarını anlattığı makalesinde Won-Serk<sup>136</sup> ve ark.larının makalesine atıfta bulunarak, yağ greftinde bulunan MKH'lerin fibroblastik aktiviteyi artırması halinde nasıl oluyor da kendi hasta grubunda skar dokusunun yumuşayarak radyasyon hasarının indüklediği fibrozisi geriletmediğini, ve protez ekspozisyonu komplikasyonlarının azaldığını anlamadığını belirtmiştir. Gerçekte ADAS'ın skar dokusu üzerine etkileri ile yara iyileşmesi üzerine etkileri bir tezat oluşturmaktadır. Bu tezatın açıklanamamasındaki en önemli nedenler deneysel olarak hipertrofik skar dokusunun oluşturulmasının zorluğu ve bu konuda yapılan çalışmaların azlığıdır.

Biz çalışmamızda yağ greftinin ve SVF'nun skar maturasyonu üzerine etkilerini, literatürde en fazla kullanılan hipertrofik skar modelinde incelemeyi hedefledik. Birinci grup kontrol grubu, ikinci grup yağ grefti grubu, üçüncü grupta SVF grubu olarak belirledik. SVF ve yağ greftini karşılaştırmamızın nedeni MKH sayısı daha fazla olan ve özel bir işlemle geçirildikten sonra uygulama olanağı olan SVF'un klinik ve histopatolojik etkilerinin; cerrahi olarak en sık uygulanan ve uygulaması çok daha basit ve kolay olan yağ grefti farkını ortaya koymaktır. Çünkü liposakşın materyalini veya eksize edilmiş yağ dokusunu PLA'ya veya

SVF'ye dönüştürecek kitler yavaş yavaş kullanılmaya balanmıtır. Eğer yağ grefti ve SVF grupları arasında bir fark olmaması halinde fiyat etkinlik açısından bu kitlerin kullanımına gerek duyulmayacaktır.



## **GEREC VE YÖNTEM**

Çalışmanın beyaz Yeni Zelanda cinsi 1200-1500gr ağırlıklı 4 aylık tavşanlar üzerinde yapılması planlanmıştır. Tavşanlar deney süresince 'Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarı Usul Ve İşleyiş Esasları' doğrultusunda D.E.Ü. Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda bakılmıştır. Opere edilen tüm tavşanlar 4-6-8. ve 10. haftalarda aynı yöntemle anestezi uygulanarak ve kulaktaki deneye tabi tutulmuş doku örnekleri alındıktan sonra eter fanusunda sakrifiye edilmiştir.

Alınan yağ dokusundan stromal vasküler fraksiyon elde edilmesi Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

Histopatolojik çalışmalar Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Sonuçlar Student *t* test ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

### **Yönteme ait ayrıntılar**

1.Hipertrofik skar oluşturulması:

-Morris<sup>72</sup> ve ark. tanımladığı şekilde, tavşan ketamin 25mg/kg + ksilazin 10mg/kg ile genel anestezi altında yatırılır.

-Kulak ön yüzünde yara yapılacak 2 nokta tespit edildikten sonra povidon iyot solüsyonu ile steril ortam oluşturulur.

-1 cm ara ile 2 adet 7 mm çapında deri eksizyonu yapılır (Resim 1-2).

-Ardından kulak kıkırdağının ön yüzdeki perikondriyumunu 3x büyütme eşliğinde disseke edilerek ayrılır (Resim 3).

-Oluşan defekt okluziv örtü (Tegaderm® 3M) ile pansuman yapılarak cerrahi işleme son verilir(Resim 4).<sup>73,143,144</sup>



Resim 1. Ameliyat öncesi çizim yapıldıktan sonra her iki kulak betadin solüsyon ile temizlenerek steril ortam oluşturulur.



Resim 2. Cilt flebi kaldırılır.



Resim 3. Perikondrium 3x büyütme altında kaldırılır.



Resim 4. Her iki defekt oluşturulduktan sonra okluziv örtü ile yara kapatılır.

## 2.Ciltaltı yağ dokusunun elde edilmesi:

-Dördüncü haftada ciltaltı yağ dokusu elde edilmesi amacı ile tavşan ketamin 25mg/kg + xylazin 10mg/kg karışımla uyutulmuştur.

-Tavşan ameliyat masasına sırt üstü yatırılarak her iki kasık bölgesi tıraş edilmiştir.

-Bölge daha sonra betadin solüsyonla temizlenerek sağ kasıktan sol kasık bölgesine kadar U şeklinde yapılan insizyonla cilt katı geçilmiştir (Resim 5-7).

-Tavşanın kasık bölgesinde bulunan ciltaltı yağ dokusunun tamamı cerrahi yolla elde edilmiştir.



Resim 5. U şeklinde yapılan insizyonun ardından cilt flebi kaldırılmıştır.



Resim 6. Her iki kasık bölgesinde bulunan yağ dokusu bütün halinde greft olarak kullanılmıştır.



Resim 7. Bütün olarak eksize edilmiş yağ dokusu.



### 3.Yağ greftinin elde edilmesi:

-Genel anestezi altında tavşan inguinal bölgesinden elde edilen yağ dokusu, serum fizyolojik ile irrije edildikten sonra cerrahi makas ile 1mm<sup>3</sup> boyutuna gelene kadar kıyılmıştır. Ardından enjektöre yerleştirilerek işleme hazır hale getirilir ve hipertrofik skar dokusunun altına 22G branül ile 0,02 ml enjekte edilmiştir (Resim 8-12).



Resim 8. Alınan yağ grefti makas ile enjekte edilebilecek boyutlara gelene kadar kıyılmıştır.



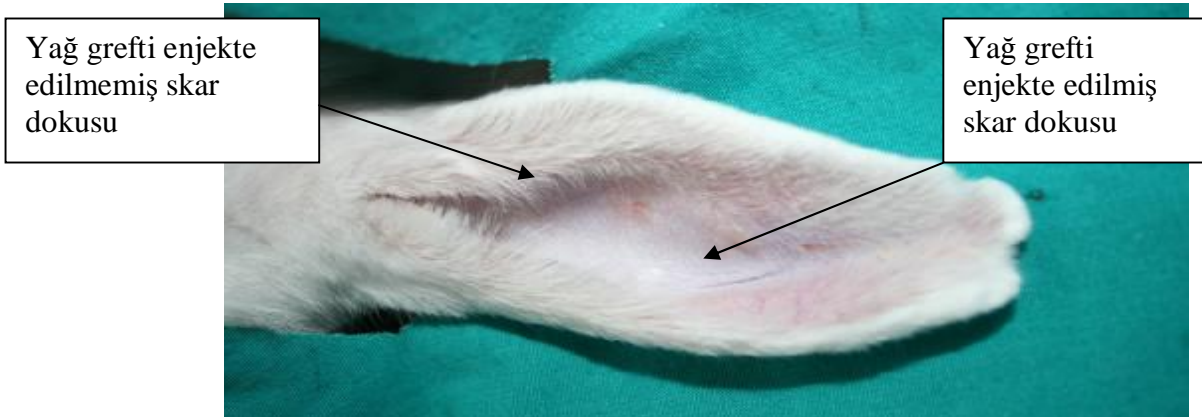
Resim 9. Yağ grefti insülin enjektörüne çekilerek enjeksiyona hazır hale getirilmiştir.



Resim 10. Branül, iğnesi ile birlikte skar dokusunun altına yerleştirildikten sonra iğnesi çıkartılarak insülin enjektörü yerleştirilmiştir.



Resim 11. 0,02 ml yağ grefti skar dokusunun altına enjekte edilmiştir.



Resim 12. Enjeksiyondan sonraki görünüm.

4.Yağ dokusundan SVF elde edilmesi DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim dalı Araştırma Laboratuvarında aşağıdaki protokole uygun olarak gerçekleştirilmiştir:

-Yaklaşık 30 ml hacim içerisindeki yağ dokusu hayvanlardan alındıktan sonra laboratuvara steril %0,9 NaCl solüsyonu içinde getirilmiştir (Resim 13).

-Laboratuvara getirilen yağ dokusu makas ile petri kabına kıyılmıştır (Resim 14).

-Üzerine 20 ml amfoterisin B, penisilin ve streptomisin içeren *Hanks' Balanced Salt Solution* (HBSS) konur ve 2 dakika boyunca yağ dokusunun sıvıda askıda kalmasına izin verilmiştir (Resim 15).

-Yağ dokusu sıvının üst fazında askıda kalıyor olmasından dolayı alttaki tüm sıvı uzaklaştırılmıştır. Bu işlem 5 kere tekrarlanarak kan ve diğer yapıları yağ dokusundan uzaklaştırılmış olunur.

-Yağ dokusu 75 mm<sup>2</sup> lik hücre kültür kabına aktarılır. Üzerine HBSS içerisinde hazırlanmış % 0.2 kollajenaz solüsyonu eklenmiştir (Resim 16).

-37 °C de 150 dakika karıştırılarak bekletilmiştir (Resim 17).

-Fetal bovin serum ile kollajenaz inaktive edilmiştir.

-5000 rpm hızında 10 dakika santrifüj yapıp, üst sıvı atılır alttaki hücre pelleti ile çalışmaya devam edilmiştir (Resim 18)

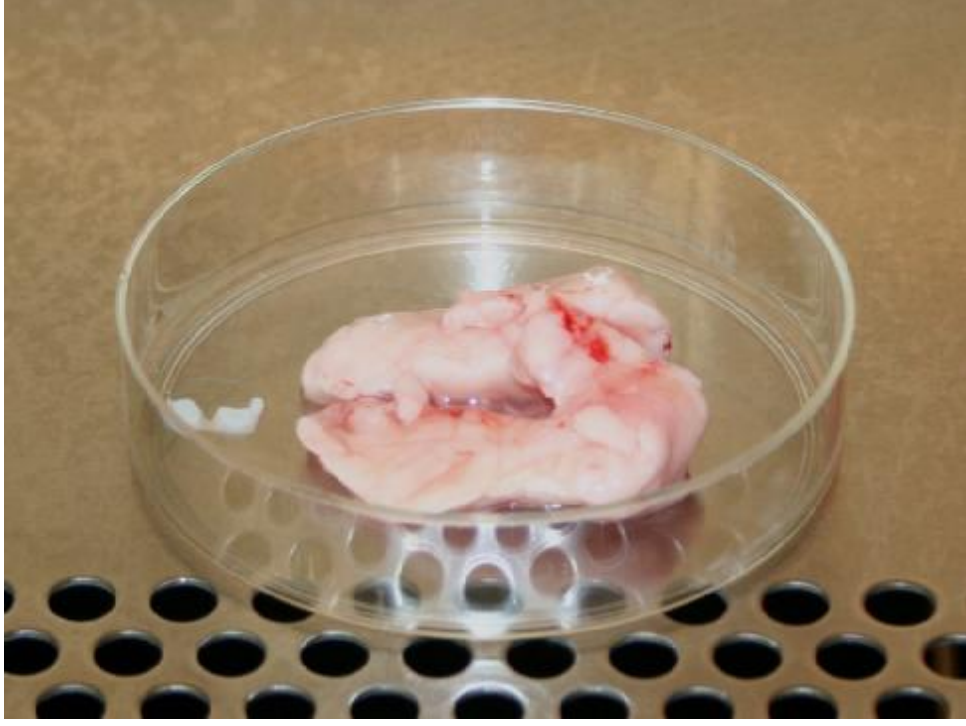
-Hücre pelleti içerisindeki eritrositleri uzaklaştırmak için 20 ml hücre liziz tamponu eklenip ve oda sıcaklığında 10 dakika beklemeye bırakılmıştır.

-Hücre süspansiyonu önce 40 µm çapa sahip delikli yapıdan süzdürülmüştür. 50 ml'lik tüpte toplanan hücreler bu seferde 100 µm çapa sahip delikli yapıdan süzdürülmüştür. Böylelikle hücre dışındaki büyük yapılardan kurtulmuş olunur.

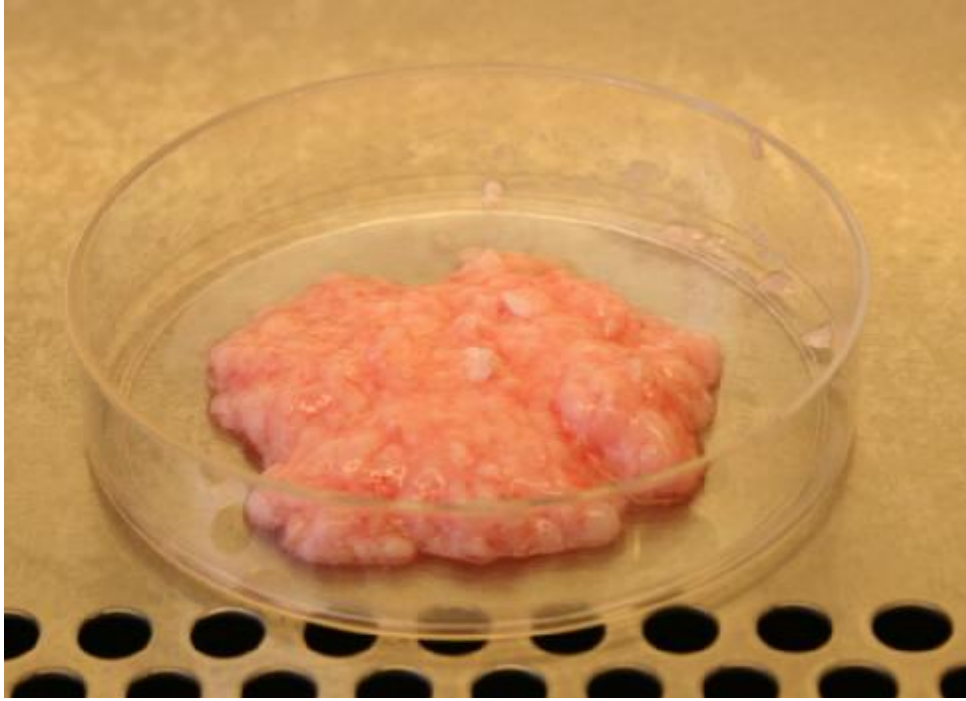
-5000 rpm hızında 5 dakika santrifüj yapılarak hücrelerin ayrılması sağlanmıştır. Santrifüj sonrası en üstte beyaz bulutumsu bir tabaka dikkatlice çekilip yeni bir tüpe aktarılmıştır (Resim 19).

-Bu hücre süspansiyonunun üstte kalan sıvı kısmı atıldıktan sonra tüpün tabanında bulunan pellet, mikropipet aracılığı ile hipertrofik skar dokusunun altına enjekte edilmiştir (Resim 20-22).





Resim 13. Steril %0,9 NaCl solüsyonu içerisinde laboratuara getirilen yağ dokusu.



Resim 14. Petri kabındaki yağ dokusu makas ile küçük parçalara kıyılmıştır.



Resim 15. Yirmi ml antibiyotikli HBSS solüsyonu içerisinde askıda kalan yağ dokusu.



Resim 16. Kollajenaz ile muamele edilmek üzere yağ dokusu kültür kabına yerleştirilmiştir.

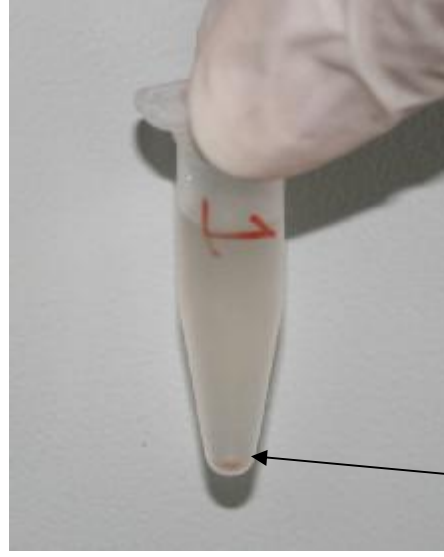


Resim 17. Kollajenaz ile 150 dakika karıştırılan yağ dokusu beyaz renkli krema kıvamına gelmiştir.



**Tabanda  
bulunan hücre  
pelleti**

Resim 18. On dakika santrifüjden sonra tabanda biriken hücre pelleti görülmektedir.



**Eppendorf tüp  
tabanında  
yerleşen  
hücre pelleti**

Resim 19. Kırk ve 100  $\mu\text{m}$  çapa sahip süzgeçlerden geçirildikten sonra Eppendorf tüp içerisinde 5 dakika 5000 rpm hızında santrifüj edilen sıvının tabanında hücre pelleti görülmektedir.



Resim 20. Skar dokusu ile kıkırdak arasını disseke etmek amacı ile 20 gauge branül skar dokusunun 5 mm distalinden normal ciltten ilerletilir.



Resim 21. Mikropipet, branülün açtığı yoldan skar dokusunun altına ilerletildikten sonra SVF enjekte edilir.



Resim 22. Her iki skar dokusuna SVF enjekte edilmiştir.

## **GRUPLAR**

### **GRUP 1**

Dört adet tavşan kullanılmıştır. Her bir tavşanın sol kulağının ön yüzünde bir cm aralıklarla iki adet yedi mm çapında cilt, ciltaltı ve perikondrium dahil dokular kıkırdağa kadar eksize edilmiştir. Oluşturulan doku defekti okluziv örtü ile kapalı pansuman yapılmış, enfeksiyon ve epitelizasyon takibi açısından günlük kontrol edilmiştir. Cilt defektlerinin en geç 14 gün içerisinde epitelize olduğu ve 28. günde hipertrofik skar haline geldiği yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Grup bir hayvanları 28.-42.-56. ve 70. günlerde, oluşan skarın histopatolojik analizi için sakrifiye edilmiştir.

### **GRUP 2**

Dört adet tavşan kullanılmıştır. Tavşanların her iki kulak ön yüzünde iki adet yedi mm çapında lezyon oluşturulmuştur. 28. günde tavşan inguinal bölgesinden genel anestezi altında inguinal yağ yastıkçığından elde edilecek yağ dokusu, yağ grefti haline getirilerek her iki kulaktaki lezyonların altına 0.02 ml yağ grefti enjekte edilmiştir. 42. günde aynı cerrahi işlem tekrarlanarak sol kulakta bulunan lezyonların altına 0.02 ml yağ grefti ikinci kez enjekte edilmiştir. Yağ greftinin hipertrofik skar üzerine etkisini incelemek amacı ile 28.-42.-56. ve 70. günlerde birer adet tavşan sakrifiye edilerek histopatolojik incelemeye alınmıştır.

### **GRUP 3**

Dört adet tavşan kullanılmıştır. Tavşanların her iki kulak ön yüzünde iki adet yedi mm çapında lezyon oluşturulmuştur. 27. günde tavşan inguinal bölgesinden genel anestezi altında alınacak inguinal yağ yastıkçığından elde edilecek SVF 28. günde her iki kulaktaki lezyonların altına 0.01 ml enjekte edilmiştir. Aynı işlem 41. günde tekrarlanarak bir gün sonra sol kulakta bulunan hipertrofik skar dokusunun altına 0.01 ml SVF tekrar enjekte edilmiştir. SVF'un hipertrofik skar üzerine etkisini incelemek amacı ile 28.-42.-56. ve 70. günlerde birer adet tavşan sakrifiye edilerek histopatolojik incelemeye alınmıştır.



## Grup 1



**Sol kulak  
Kontrol grubu**

## Grup 2



**Sağ kulak  
Yağ grefti  
grubu - tek  
enjeksiyon**

**Sol Kulak  
Yağ grefti  
grubu – iki  
enjeksiyon**

## Grup 3



**Sağ kulak  
SVF grubu –  
tek enjeksiyon**

**Sol kulak  
SVF grubu –  
iki enjeksiyon**

Şekil 7. Deney gruplarının görsel anlatımı.

## **Histopatolojik Metodoloji**

Sakrifiye edilen tavşanların kulaklarında oluşturulan hipertrofik skar alanları makroskopik olarak değerlendirilerek, skar eritemi ve skar boyutları ölçülmüştür.

Skar eritemi aşağıda görsel olarak değerlendirilmiştir.

- 0 Eritem yok
- + Minimal pembe renkli eritem
- ++ Belirgin eritem
- +++ Kırmızı renkli eritem.<sup>188</sup>

Skar dokularından alınan yaklaşık 10 mm çapında parçalar %10'luk formaldehit solüsyonu içinde fiksasyona bırakılmıştır. İki-üç gün %10'luk fiksasyonda kalan skar alanlarını içeren örnekler 1 mm aralıklarla seri halde kesilerek, doku takip kasetlerine alınmış ve gece boyunca otomatik doku takip makinesinde işlem yapılmıştır. Doku takibinden çıkan örnekler parafine gömülerek, her bir blok için mikrotomda 4 mikronluk kesitler alınmıştır. Alınan kesitler H&E (hematoksilen-eozin) ile boyanmış ve ışık mikroskopik incelemeye alınmıştır.

Işık mikroskobu altında skar dokusu; epidermise paralel kaba kollajen demetler, bunları dik olarak kesen ve epidermise dik yerleşen prolifer damar yapıları, hafif derecedeki kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve deri eklerinin yokluğu ile tanınmıştır.<sup>73</sup>

Her bir skar dokusu için H&E boyanan kesitlerde skar elevasyon indeksi, inflamatuvar hücrelerin sayısı ve vaskülarizasyon parametreleri için semikantitatif histopatolojik değerlendirmeler yapılmıştır.

Skar dokusundaki hipertrofinin derecesi skar elevasyon indeksi (SEİ) hesaplanarak belirlenmiştir. Bu indeks, hipertrofik skar dokusu yüksekliğinin, skar dokusu altındaki normal dermis yüksekliğinin oranına bakılarak hesaplanmıştır.<sup>73</sup> Bu hesaplama kompüterize olarak yapılmıştır.





Şekil 8. SEİ ölçümünü gösteren çizim (Harper AGS, Mason MJ, Sage SO. A key role for dense granule secretion in potentiation of the  $Ca^{+2}$  signal arising from store-operated calcium entry in human platelets. Cell Calcium 2009 May;45(5):413-20'den alınmıştır).

İnflamatuvar hücre sayısı; mikroskop altında semikantitatif olarak skar dokusu içinde yer alan kronik (lenfosit, plazma hücreleri) ve akut inflamatuvar (nötrofil lökositler) hücrelerin büyük büyütme (40X) alanındaki yoğunluğu semikantitatif olarak skorlanmıştır;

0. İnflamatuvar hücre yok
1. Hafif inflamasyon
2. Orta derecede inflamasyon
3. Belirgin inflamasyon

Vaskülarizasyon; dermal skar dokusu içinde semikantitatif olarak 0-4 arasında skorlanmıştır.<sup>145</sup>

0. Normal görünümlü deri, damar yok.
1. Eritem; küçük çaplı düzensiz dağılmış damarlar.
2. Deri yüzeyine dik olarak yerleşmiş yeni oluşan küçük vasküler segmentler.
3. Kısmen radyal düzenlenme içeren deri yüzeyine paralel damar segmentleri.
4. Tamamen organize, radyal düzenlenmiş deri yüzeyine paralel damarlar.

Dermal selülarite; hipertrofik skar dokusu içinde yer alan fibroblast, myofibroblast ve histiyosit gibi hücrelerin sayısı, skar dokusunun tam ortasında ve skar dokusunun kenarında

olmak üzere iki farklı lokalizasyonda, iki büyük büyütme alanında sayılarak ortalaması alınmıştır.<sup>146</sup>

Formalinde fiske, parafine gömülü dokulardan mikrotom ile kesitler alındıktan sonra otomatik immünohistokimya boyama makinesinde (Lab Vision Autostainer 360), TGF- $\beta_1$  (Abcam Inc. [California] ab31013, 1/50 dilüsyonda) ve MMP-2 (Abcam Inc. [California] ab37150, 2-4  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda) primer antikorlar uygulanıp, semikantitatif olarak değerlendirilmiştir.

Skar dokusu içinde MMP-2 antikor tutulumu 0-3 arasında semikantitatif olarak değerlendirilmiştir.<sup>147,148</sup>

0. Tutulum yok
1. %0.1-10 tutulum var
2. %10-50 tutulum var
3. %50-100 tutulum var.

Skar dokusu içinde TGF- $\beta_1$  antikor tutulumu 0-3 arasında semikantitatif olarak değerlendirilmiştir.<sup>149</sup>

0. Tutulum yok
1. Hafif boyanma +
2. Orta boyanma +
3. Belirgin boyanma +

## BULGULAR

### **Makroskobik Değerlendirme**

#### *Grup 1*

Sol kulak iç yüzünde yedi mm genişliğindeki tam kat deri defekti oluşturulduktan sonra, okluziv örtü ile pansumanı yapılan tavşanların günlük kontrolleri yapılmıştır. Grupta bulunan dört tavşanın yara yerlerinin epitelizasyon süreleri, ciltten kabarıklığı ve hiperemisi takip edilmiştir (Tablo 4, 5 ve 6). Lezyon 4. hafta ciltten belirgin olarak kabarık iken, bu kabarıklığın tedrici olarak azaldığı ancak tamamen kaybolmadığı görülmüştür (Resim 23).

Grup 1	Tavşan 1		Tavşan 2		Tavşan 3		Tavşan 4	
	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2
Sol Kulak	16	19	18	17	15	18	20	21

Tablo 4. Birinci grupta bulunan tavşanların lezyonlarının gün olarak epitelizasyon süreleri

Grup 1	Tavşan 1								Tavşan 2							
	Sol Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	++	+++	++	++	+	+++	++	++	+	++	++	+	+
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

Tablo 5. Birinci grup birinci ve ikinci tavşanların 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi değerlendirmesi ve milimetre cinsinden skar boyutu.

Grup 1	Tavşan 3								Tavşan 4							
	Sol Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	+	+++	+++	++	+	+++	+++	++	++	++	+	+	0
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	8	7	7	8	7	6	6	8	7	6	4

Tablo 6. Birinci grup üçüncü ve dördüncü tavşanların 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi değerlendirmesi ve milimetre cinsinden skar boyutu.



Resim 23. Grup bir 10. hafta fotoğrafı. Sol kulakta iki adet hipertrofik skar dokusu görülmektedir.

### *Grup 2*

Her iki kulak iç yüzünde yedi mm genişliğindeki tam kat deri defekti oluşturulduktan sonra, okluziv örtü ile pansumanı yapılan tavşanların günlük kontrolleri yapılmıştır. Grupta bulunan dört tavşanın yara yerlerinin epitelizasyon süreleri, ciltten kabarıklığı ve hiperemisi takip edilmiştir (Tablo 7-11). Her iki kulaktaki skar dokusu palpasyonla ciltten kabarık ve

hiperemik idi. Sağ kulağa dördüncü haftada bir kez, sol kulağa dördüncü ve altıncı haftalarda birer kez yağ grefti enjeksiyonu yapılmıştır. Yağ grefti enjeksiyonuna bağlı olarak skar dokusunun, grup bir de bulunan kontrol grubuna göre daha kabarık olduğu, ancak hiperemisinin daha kısa sürede gerilediği tespit edilmiştir. Bu kabarıklığın, skar dokusu ile kıkırdak arasına enjekte edilen yağ greftine bağlı olduğu düşünülmüştür (Resim 24).

Grup 2	Tavşan 1		Tavşan 2		Tavşan 3		Tavşan 4	
	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2
Sağ Kulak	17	19	19	20	16	19	20	21
Sol Kulak	18	20	20	18	18	21	21	18

Tablo 7. İkinci grupta bulunan tavşanların lezyonlarının gün olarak epitelizasyon süreleri

Grup 2	Tavşan 1															
	Sağ Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	++	+++	++	++	+	+++	++	++	+	++	++	+	+
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

Tablo 8. İkinci grup birinci tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve milimetre cinsinden lezyon boyutlarını gösteren tablo

Grup 2	Tavşan 2															
	Sağ Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	++	+++	++	++	+	+++	++	++	+	++	++	+	+
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

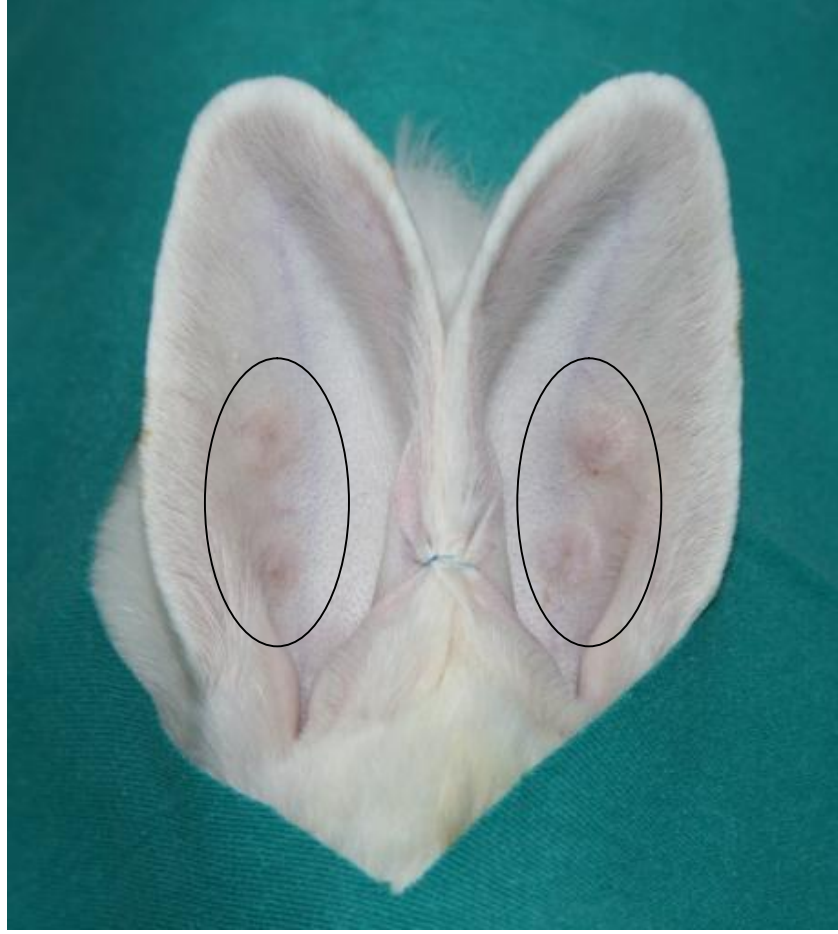
Tablo 9. İkinci grup ikinci tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve milimetre cinsinden lezyon boyutlarını gösteren tablo

Grup 2	Tavşan 3															
	Sağ Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	++	+++	++	++	+	+++	++	++	+	++	++	+	+
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

Tablo 10. İkinci grup üçüncü tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve milimetre cinsinden lezyon boyutlarını gösteren tablo

Grup 2	Tavşan 4															
	Sağ Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	++	+++	++	++	+	+++	++	++	+	++	++	+	+
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

Tablo 11. İkinci grup dördüncü tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve milimetre cinsinden lezyon boyutlarını gösteren tablo



Resim 24. Grup iki 10. hafta fotoğrafı. Hiperemisi azalan hipertrofik skar dokusu görülmektedir.

### *Grup 3*

Her iki kulak iç yüzünde yedi mm genişliğindeki tam kat deri defekti oluşturulduktan sonra, okluziv örtü ile pansumanı yapılan tavşanların günlük kontrolleri yapıldı. Grupta bulunan dört tavşanın yara yerlerinin epitelizasyon süreleri, ciltten kabarıklığı ve hiperemisi takip edilmiştir (Tablo 12-16). Her iki kulaktaki skar dokusu palpasyonla ciltten kabarık ve hiperemik idi. Sağ kulağa dördüncü haftada bir kez, sol kulağa dördüncü ve altıncı haftalarda birer kez SVF enjeksiyonu yapılmıştır. Skar dokusunun takibinde kabarıklığın, grup ikide bulunan skar dokusuna göre daha az, ancak grup birdeki kontrol grubuna göre minimal fazla olduğu görüldü. Skar dokusunun hiperemisi ikinci gruba göre daha fazla olduğu görüldü (Resim 25).

Grup 3	Tavşan 1		Tavşan 2		Tavşan 3		Tavşan 4	
	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2	Lezyon 1	Lezyon 2
Sağ Kulak	18	19	21	20	19	20	23	24
Sol Kulak	22	21	21	19	20	22	18	20

Tablo 12. Üçüncü grupta bulunan tavşanların lezyonlarının gün olarak epitelizasyon süreleri

Grup 3	Tavşan 1															
	Sağ Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	++	++	+++	++	+++	++
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

Tablo 13. Üçüncü grup birinci tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve milimetre cinsinden lezyon boyutlarını gösteren tablo

Grup 3	Tavşan 2															
	Sağ Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	++	+++	++	++	+	+++	+++	++	++	+++	++	++	+
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

Tablo 14. Üçüncü grup ikinci tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve milimetre cinsinden lezyon boyutlarını gösteren tablo

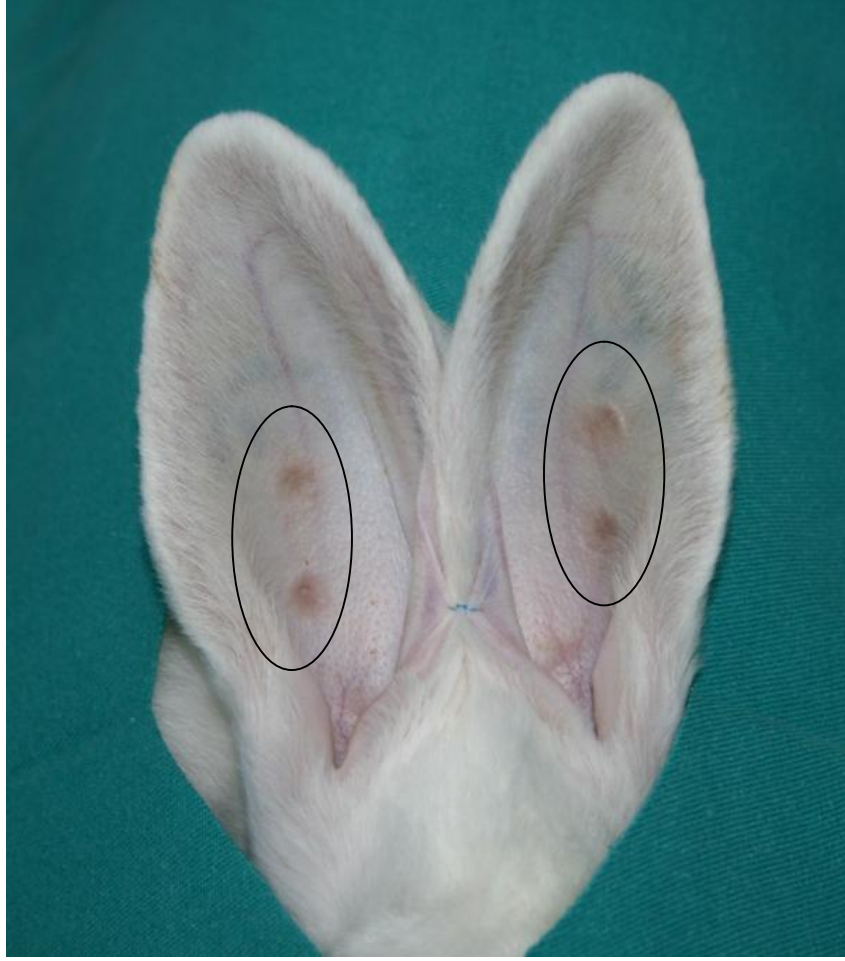


Grup 3	Tavşan 3															
	Sağ Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	++	+++	++	++	+	+++	++	++	+	+++	++	++	+
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

Tablo 15. Üçüncü grup üçüncü tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve milimetre cinsinden lezyon boyutlarını gösteren tablo

Grup 3	Tavşan 4															
	Sağ Kulak								Sol Kulak							
	Lezyon 1				Lezyon 2				Lezyon 1				Lezyon 2			
	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10	4	6	8	10
Hiperemi	+++	++	++	+	+++	++	++	+	+++	++	++	+	+++	++	++	++
Lezyon boyutları	8	7	7	6	8	7	6	6	8	8	6	5	8	7	6	5

Tablo 16. Üçüncü grup dördüncü tavşan 4-6-8-10. haftalardaki hiperemi ve milimetre cinsinden lezyon boyutlarını gösteren tablo

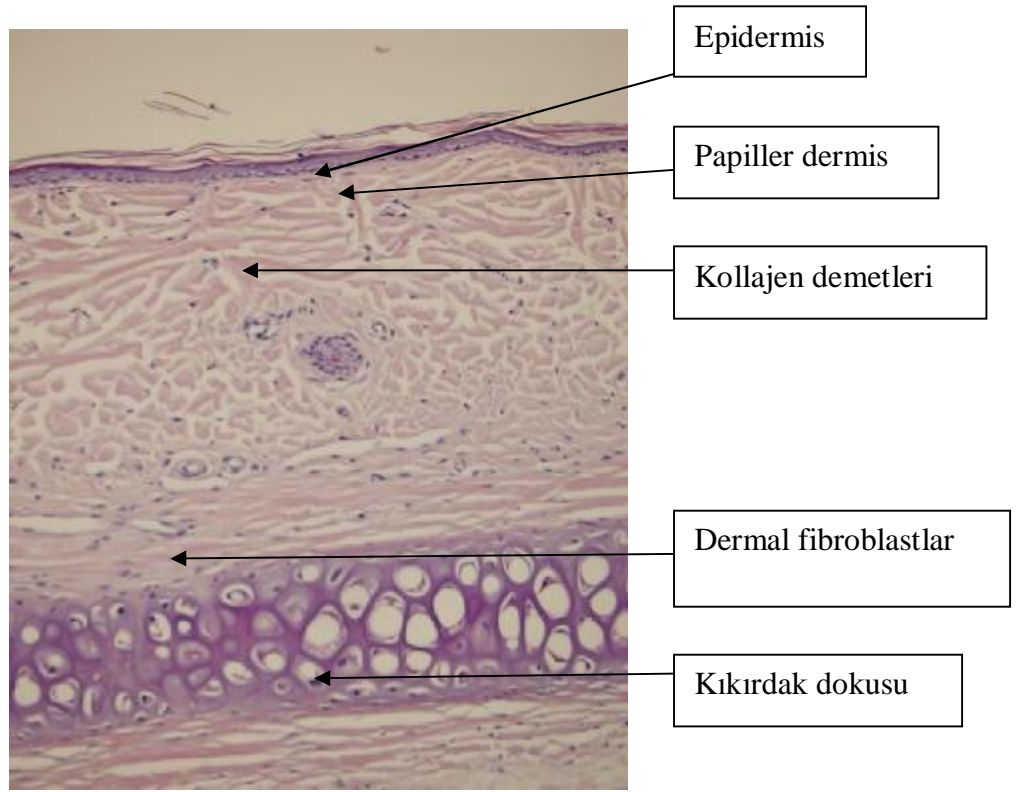


Resim 25. Grup üç 10. hafta fotoğrafı. Skar dokusunu hiperemisi azalmış ancak görünür durumdadır.

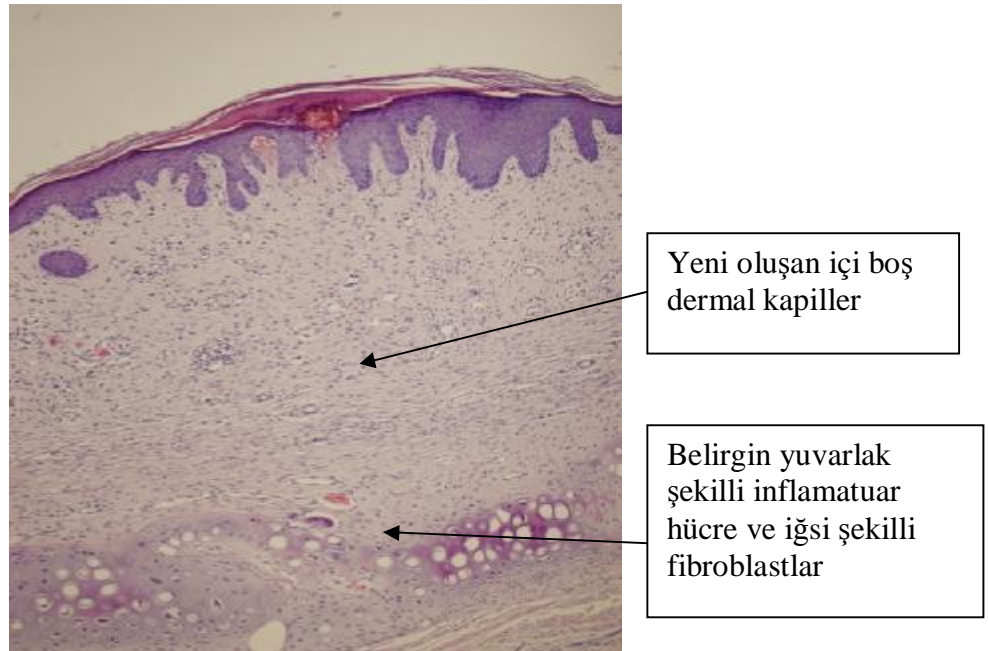
### **Mikroskopik Değerlendirme**

#### *Grup 1*

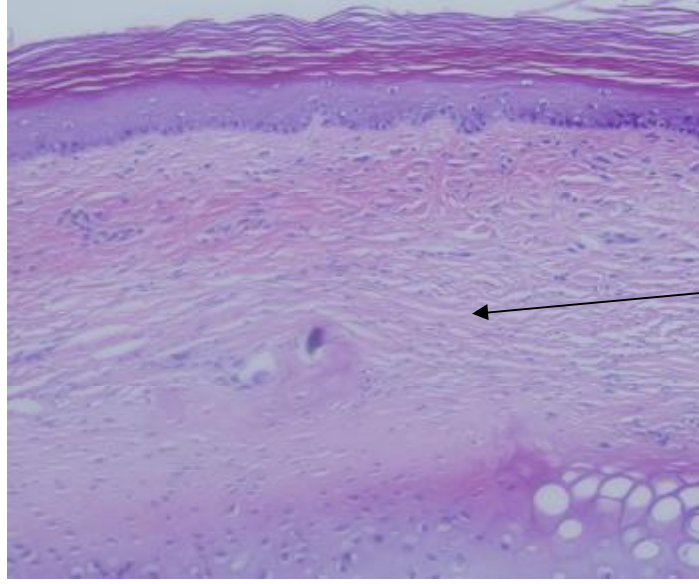
Işık mikroskobu ile yapılan değerlendirmede sol kulakta oluşturulan skar dokusunda normal cilt dokusuna göre belirgin inflamasyon, dermal kalınlık ve selülarite artışı, düzensiz kollajen dizilimi, vaskülaritede artış, TGF- $\beta$ 1 ve MMP-2 antikoru ile boyanmada artış olduğu tespit edildi (Resim 26-28). Dördüncü haftada MMP-2 skoru üç iken, 10. hafta skoru bir olarak ölçülmüştür (Resim 29-31). TGF- $\beta$ 1 skoru ise dördüncü hafta iki iken 10. hafta bir olarak ölçülmüştür (Resim 32-34). İnflamasyon, dermal selülarite, SEİ skorları tedrici azalırken, vaskülarite ve kollajen dizilimi skorları artmıştır (Tablo 17-22).



Resim 26. H&E boyalı normal cilt dokusu 20x büyütme görüntüsü

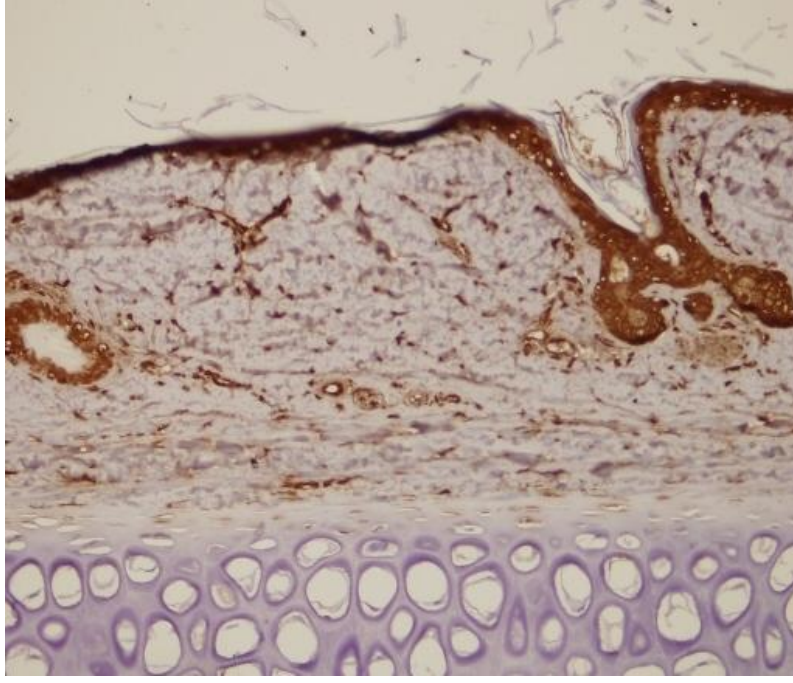


Resim 27. Grup bir **dördüncü hafta** H&E boyalı preparatın 4x büyütme görüntüsü. Papiller ve retiküler dermisdeki kalınlaşma, artmış inflamatuvar hücre sayısı, bozulmuş kollajen organizasyonu görülmektedir.

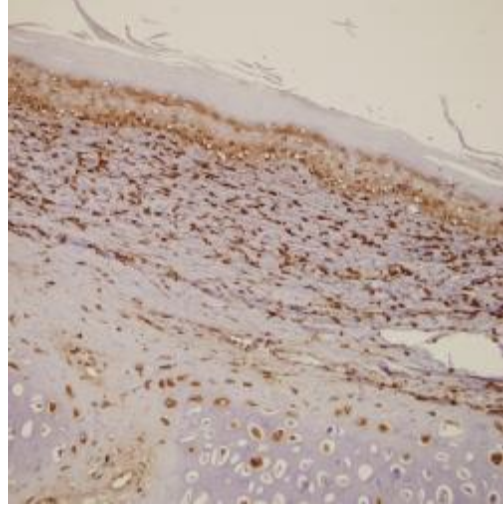
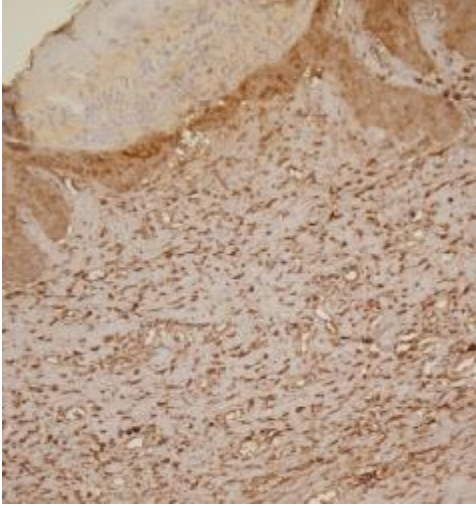


Dördüncü haftaya göre daha organize hale gelen kollajen demetleri

Resim 28. Grup bir 10. hafta 10x büyütme altında H&E boyalı preparat.

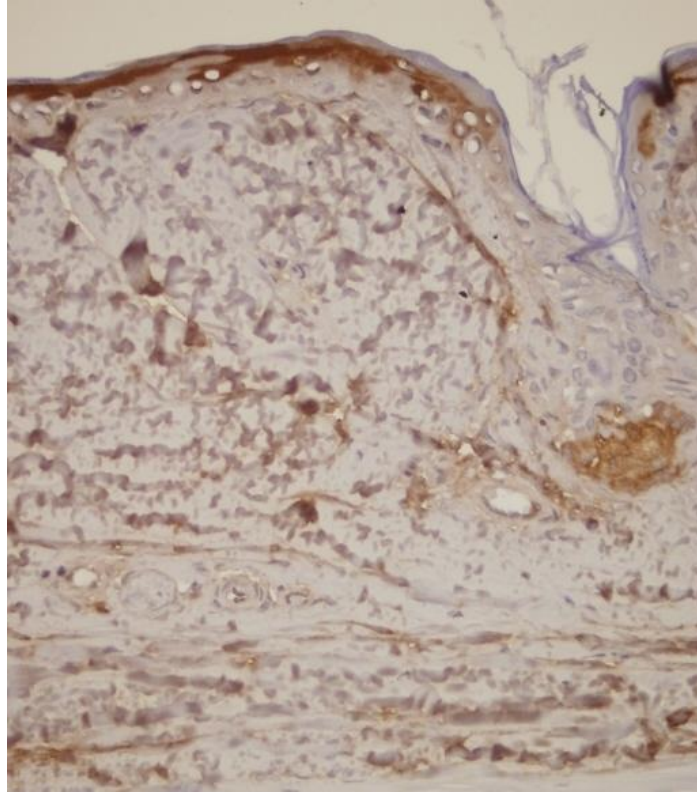


Resim 29. Normal dermis dokusunun 20x büyütme altında MMP-2 antikor tutulumu görülmektedir.

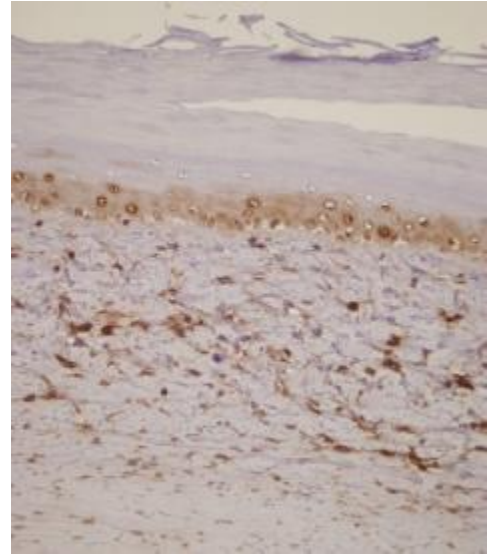
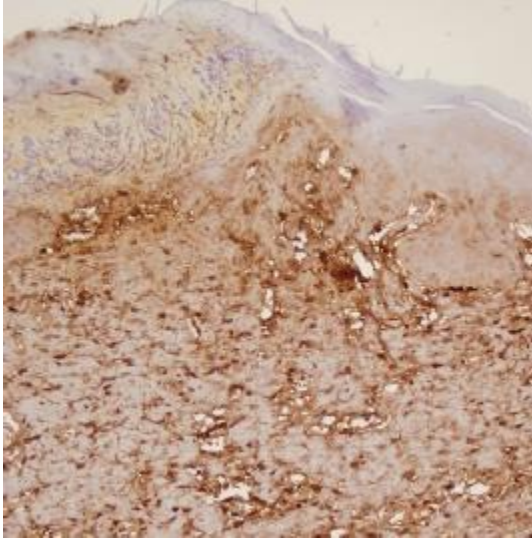


Resim 30 ve 31. Grup bir **dördüncü ve onuncu hafta** 20x büyütme altında sol kulak MMP-2 antikor tutulumu görülmektedir.





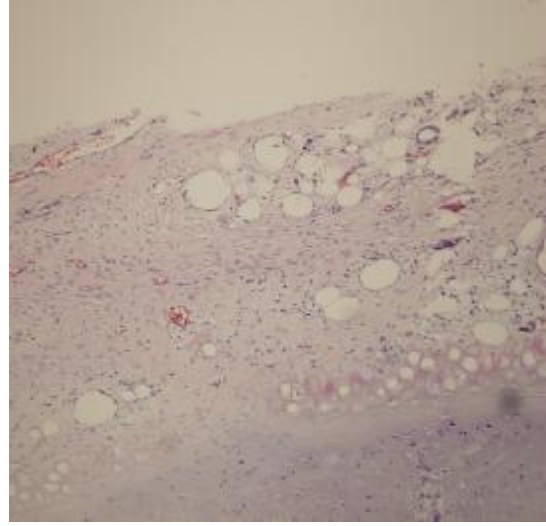
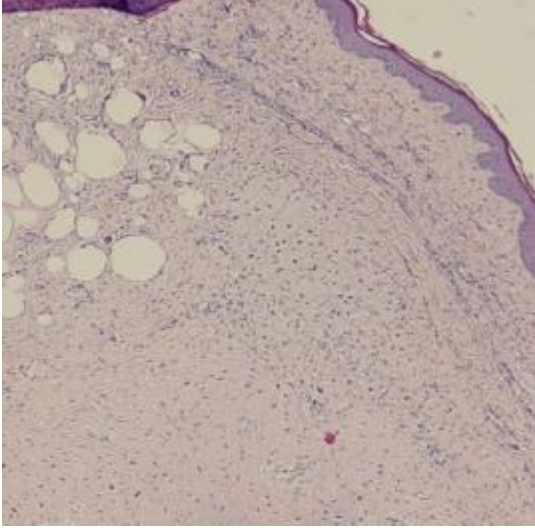
Resim 32. Normal dermis TGF- $\beta$ 1 tutulumunun 20x büyütme altındaki görüntüsü



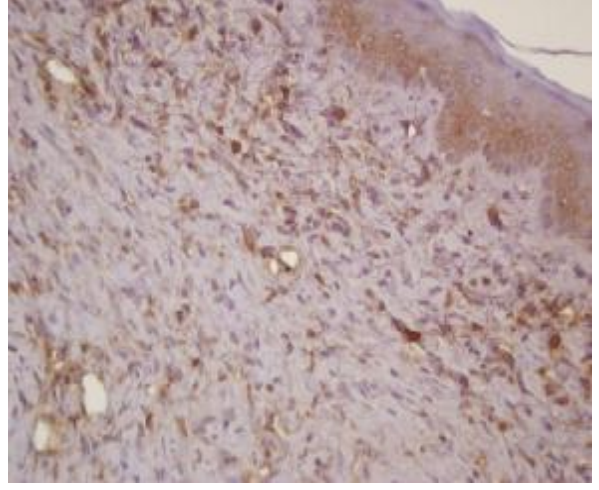
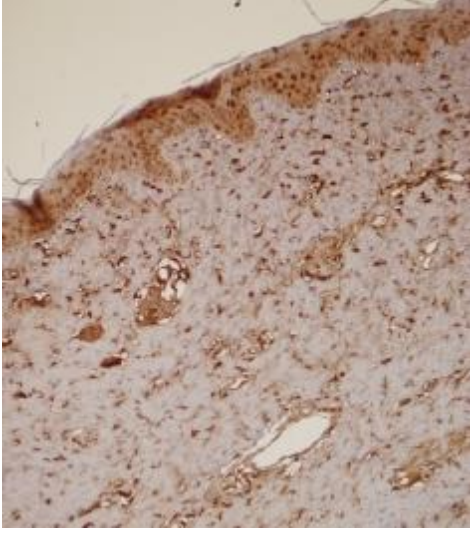
Resim 33 ve 34. Grup bir **dördüncü ve onuncu hafta** 20x büyütme altında sol kulak TGF- $\beta$ 1 tutulumu

## Grup 2

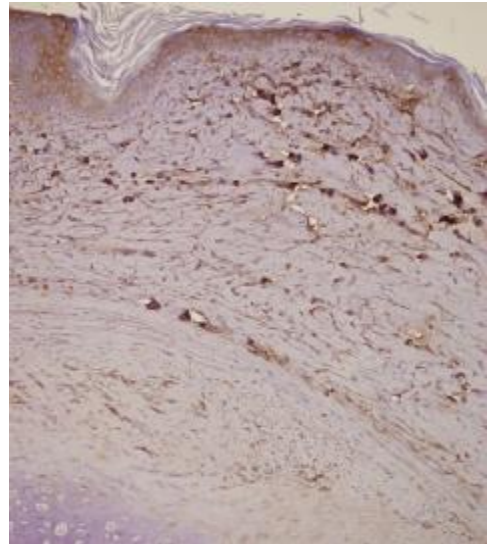
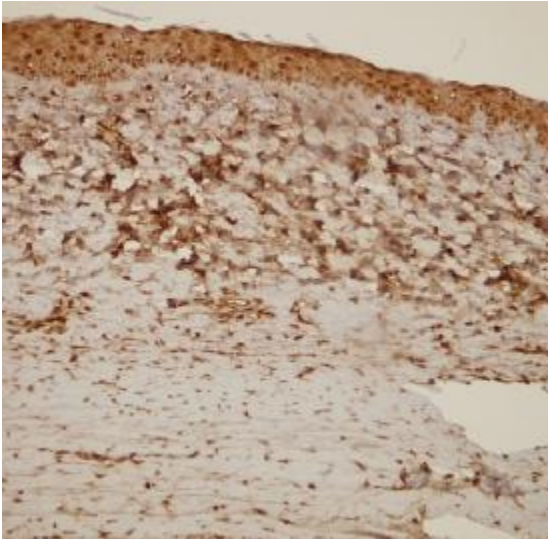
Işık mikroskobu ile yapılan değerlendirmede yağ enjeksiyonunu takiben, yağ grefti etrafında inflamatuvar yanıtın arttığı ve dermisi yükselttiği gözlenmiştir. Makroskobik olarak palpasyonla ele gelen yüksekliğin, viabilitesini koruyan yağ greftine ait olduğu görüldü. SEİ, 10. haftada sağ kulakta, sol kulağa oranla daha düşük ölçüldü (Resim 35 ve 36). MMP-2 antikor tutulumu sol kulakta daha fazla iken, TGF- $\beta$ 1 antikor tutulumunun sağ kulakta daha fazla olduğu görüldü (Resim 37-40). Dermal selülarite ve inflamasyon sol kulakta daha yoğun olarak tespit edildi. Kollajen dizilimi ve vaskülarite 10. haftada eşit skorlandı (Resim 35 ve 36). Ayrıca her iki kulakta da yağ grefti emilimine ait histolojik bulgular mevcuttu (Tablo 17-22).



Resim 35 ve 36. Grup iki sağ ve sol kulak 10x büyütmede H&E boyalı **10. hafta** fotoğrafı.



Resim 37 ve 38. Grup iki sağ kulak **10. hafta** 20x büyütme altındaki fotoğrafı. MMP-2 ve TGF-  $\beta$ 1 antikor ile boyanan hücre sayısındaki azalma görülmektedir.

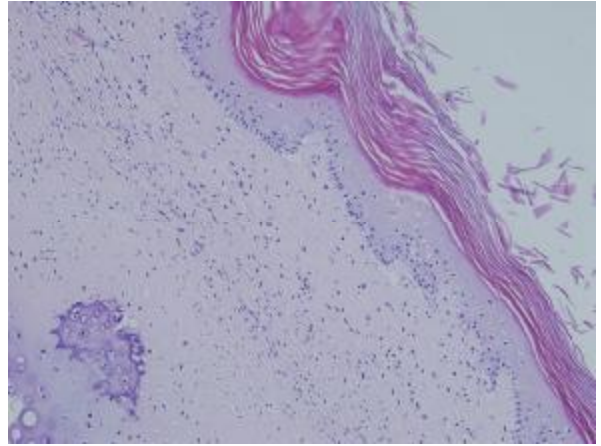
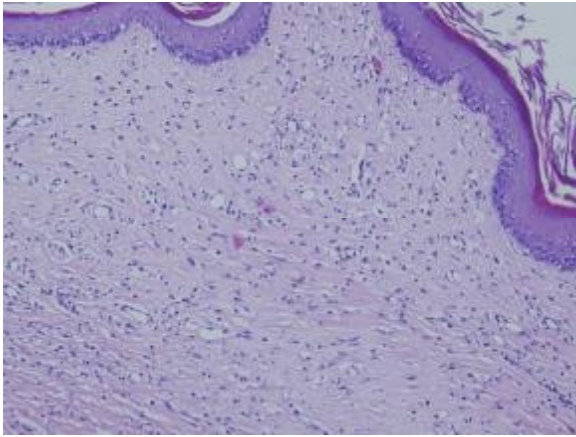


Resim 39 ve 40. Grup iki sol kulak **10. hafta** 20x büyütme altındaki MMP-2 ve TGF- $\beta$ 1 antikor ile boyanmış spesimen fotoğrafı.

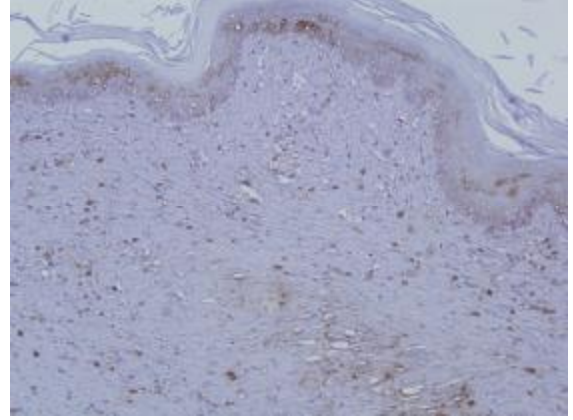
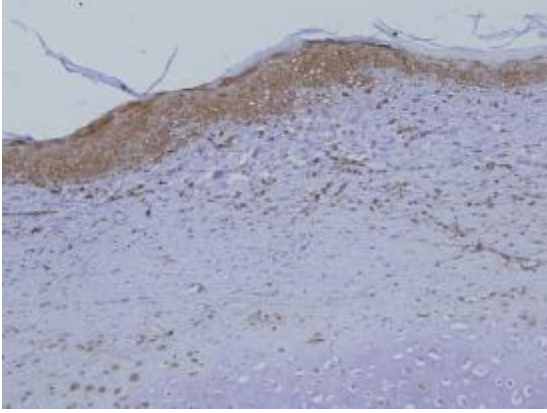


### Grup 3

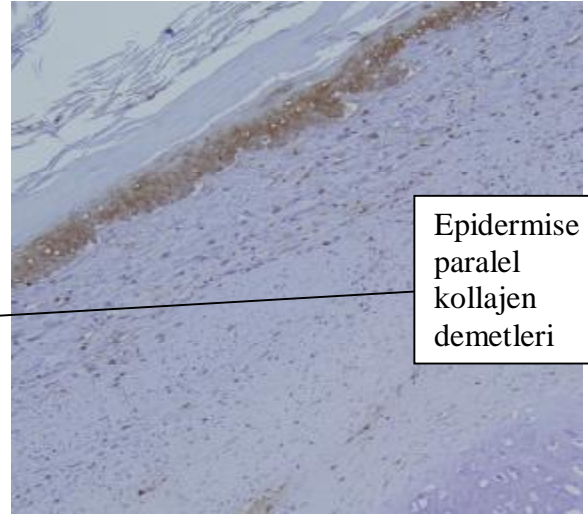
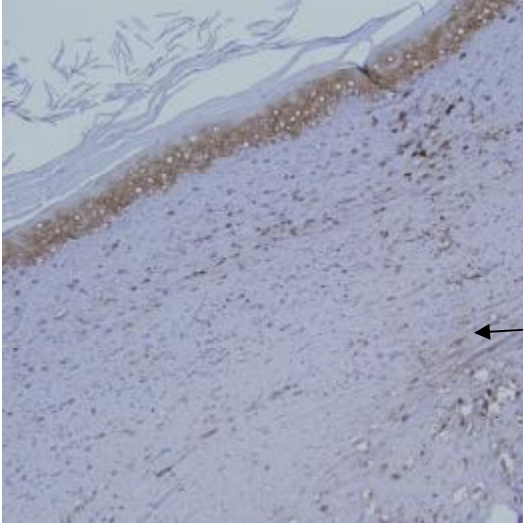
Işık mikroskobu ile yapılan değerlendirmede, yağ enjeksiyonu grubuna göre inflamasyon, minimal daha düşük skorlanmıştır. SEİ, yağ grefti grubuna göre daha düşük ölçülmüştür, ancak kulaklar arasındaki fark minimaldir (Resim 41-42). MMP-2 antikor boyası ile tutulum sol kulakta 10. haftada daha düşük skorlanmışken, TGF- $\beta$ 1 tutulumu 10. haftada sol kulakta daha yüksek skorlanmıştır (Resim 43-46). Dermal selülarite ve inflamasyon sol kulakta daha yoğun olarak tespit edilmiştir (Resim 41-42). Vaskülarite 10. haftada eşit skorlanmıştır. Ayrıca en yüksek vaskülarite, SVF grubunda tespit edilmiştir. Her iki kulaktan alınan örneklerde de diğer gruplara göre kollajen dizilimindeki düzelme dikkati çekmiştir (Tablo 17-22).



Resim 41 ve 42. Grup üç sağ ve sol kulak 20x büyütme altında **10. hafta** fotoğrafı.



Resim 43 ve 44. Grup üç sağ kulak. 20x büyütme altında MMP-2 ve TGF-β1 antikor ile boyalı **10. hafta** fotoğrafı.



Epidermise  
paralel  
kollajen  
demetleri

Resim 45 ve 46. Grup üç sol kulak. 20x büyütme altında MMP-2 ve TGF-β1 antikor ile boyalı **10. hafta** fotoğrafı.

### İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçlar bilgisayar aracılığı ile SPSS 15.0 programı ile *Student t* testi ile değerlendirildi. Her grup kendi içinde ve diğer gruplar ile çapraz olarak karşılaştırıldı. SEİ açısından değerlendirildiğinde yağ enjeksiyonu ve SVF gruplarında sağ kulak ile sol kulak arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). Her iki grup sonuçları

normal skar dokusunun **SEİ** ile karşılaştırılmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

**İnflamasyon** değerlendirildiğinde gruplar içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). **Dermal selülarite** açısından da yağ enjeksiyonu ve SVF gruplarının kendi içinde değerler açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak Grup 2 sol kulak ve grup 3 sol kulak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark elde edilmiştir ( $p<0.05$ ).

**Vaskülarite** değerlendirildiğinde gruplar içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Ancak SVF ve yağ enjeksiyonu grubunda seans sayısı arttıkça vaskülaritedeki artış dikkat çekmiştir.

**MMP-2 ve TGF- $\beta$ 1 antikor tutulumu** açısından değerlendirildiğinde gruplar içinde ve gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Ancak MMP-2 antikor tutulumu ikinci ve üçüncü grupta birinci gruba göre daha fazla gerçekleşmiştir. Ayrıca ikinci ve üçüncü grupların sol kulaklarındaki tutulum sağa göre, ve ikinci gruptaki tutulumda üçüncü gruba göre minimal daha fazladır. TGF- $\beta$ 1 antikor tutulumu ikinci grupta üçüncü ve birinci gruba göre daha fazla gerçekleşmiştir. İkinci grubun sağ kulağındaki tutulum sola göre daha fazla iken, üçüncü grupta sol kulaktaki tutulum sağa göre daha fazla gerçekleşmiştir.

	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
4. Hafta	1	3	2	3,6	3	1,6
6. Hafta	1	2,3	7,2	4,2	2,8	2,4
8. Hafta	1	2	5,2	6,2	2,5	1,5
10. Hafta	1	1,8	3,4	2,3	2,7	1,7

Tablo 17. Grupların SEİ'ni gösteren tablo.

	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
4. Hafta	0	2	2	2	2	2
6. Hafta	0	2	3	3	2	2
8. Hafta	0	1	3	2	3	3
10. Hafta	0	1	4	2	4	4

Tablo 18. Grupların vaskülerite skorlarını gösteren tablo.

	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
4. Hafta	30	220	220	260	190	210
6. Hafta	25	200	300	320	250	270
8. Hafta	20	190	280	350	200	295
10. Hafta	30	150	210	275	155	235

Tablo 19. Grupların dermal hücre sayılarını gösteren tablo.

	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
4. Hafta	0	3	3	3	3	3
6. Hafta	0	3	3	3	3	3
8. Hafta	0	2	2	3	2	2
10. Hafta	0	2	2	2	2	2

Tablo 20. Grupların inflamasyon skorlarını gösteren tablo.

	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
4. Hafta	1	2	3	3	2	2
6. Hafta	1	2	3	2	2	3
8. Hafta	1	2	3	2	2	3
10. Hafta	1	1	2	3	3	2

Tablo 21. Grupların TGF- $\beta$ 1 antikor tutulum skorlarını gösteren tablo.

	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
4. Hafta	1	3	3	3	3	3
6. Hafta	1	2	3	3	3	3
8. Hafta	1	1	1	3	2	2
10. Hafta	1	2	2	3	1	2

Tablo 22. Grupların MMP-2 antikor tutulum skorlarını gösteren tablo.

## TARTIŞMA

Hipertrofik skar gecikmiş yara iyileşmesinde görülen hücrel regülasyon bozukluğu ile karakterize aşırı dermal skarlaşma şeklidir. Hipertrofik skarlarda anabolik ve katabolik sitokinler arasındaki dengenin anabolik sitokinler lehine bozulması, aşırı hücre dışı matriks birikime neden olur.<sup>42</sup>

Hipertrofik skar ve keloid tedavisi, patogenezi tam olarak ortaya konamadığı için çok çeşitlilik gösterir. İnsan ile özdeş hayvan modelinin olmaması, literatürde yayınlanan hayvan modellerinin insan hipertrofik skarı ile kısmen benzeşmesi ve insan çalışmalarının kısıtlı olması bu konudaki ilerlemenin önüne geçmektedir.

Literatürde 5 tip hipertrofik skar modeli vardır:

- 1)İmmünyetersizliği olan fareye, heterolog hipertrofik skar veya keloid implantasyonu
- 2)İmmünolojik olarak özellikli (*immune privileged site*) bölgelere heterolog hipertrofik skar veya keloid implantasyonu
- 3)Kimyasal ajan aracılığıyla oluşturulan hasar yoluyla hipertrofik skar veya keolid indüksiyonu
- 4)Anatomik olarak özellikli (*tavşan kulağı*) bölgelerde hipertrofik skar veya keloid indüksiyonu
- 5)Subkutan yağ dokusunun (*cones of skin*) yeniden keşfi ve domuz modeli.<sup>188,189</sup>

Tüm bu modellerin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır. Birinci modelde immünyetmezlikli bir fareye implante edilen skar dokusu, normal çevresinden çıkartılıp başka bir canlıya yerleştirildiği için elde edilen bulgular yanıltıcı olabilir.

Hochman ve ark.ları hamsterın yanak bölgesinde subepitelyal bölgede oluşturdukları poşa, klinik olarak aktif insan keloid dokusu implante edilmiştir. Doku 168 gün takip edilmiştir. Yapılan histolojik değerlendirmede insan hipertrofik skarı ile uyumlu buldular elde edilmiştir. Bu hayvan modeli birinci modele göre daha ekonomik ve kolay bir yöntem olarak belirtilmiştir.

Kimyasal ajan aracılığı ile meydana getirilen hasar her zaman hipertrofik skar oluşturmadığı için kullanışlı bir model değildir.<sup>190</sup>

Tavşan kulağında oluşturulan hipertrofik skar modeli özellikle yaş ilişkili değişiklikler açısından insan ile benzer özellikler taşımaktadır.<sup>146</sup> Bu model kullanılarak birçok terapötik

ajanın etkinliği değerlendirilmiştir. Ayrıca tavşan modeli hipertrofik skarın moleküler mekanizmalarının çalışılması amacı ile TGF-β, interferon-α2b gibi faktörlerle başarı ile çalışılmıştır. Tavşan kulağında oluşturulan hipertrofik skar modelinde en önemli nokta perikondriyumun eksizyon materyaline dahil edilmesidir. Bu sayede yaranın epitelizasyon süresi uzatılarak yaranın daha fazla hipertrofiye olması sağlanmaktadır.<sup>209</sup>

Domuzlar bakımı zor ve pahalı olduğu için domuz modeli sınırlı olarak kullanılan bir hipertrofik skar modelidir. Ancak insan ile birçok açıdan en fazla benzeşen histolojik ve moleküler özelliklere sahiptir.

Biz alışmamızda literatürde en sık kullanılan hipertrofik skar modeli olan tavşan kulağını seçtik. Deney modeline uygun olarak tavşan kulaklarının ön yüzlerinde 7 mm'lik perikondriyum tabakası dahil olacak şekilde cilt eksizyonu yapılmıştır. Eksizyondan sonra lezyonlar okluziv örtü ile kapatılmıştır. Yapılan günlük takiplerde birçok tavşanın pansumanlarının açıldığı farkedilmiştir. Lezyonlar batikon ile temizlendikten sonra tekrar okluziv örtü ile örtülmüştür. Cerrahi işlemden 5 gün sonra lezyonların epitelize olması beklenmeden üzerindeki okluziv örtü çıkartılarak, yaranın açık kalması sağlanmıştır. Bu sayede yaranın epitelizasyon süresinin uzatılarak oluşması beklenen hipertrofik skar dokusunun daha fazla olması hedeflenmiştir. Enfekte olmaması için lezyonlar antibiyotikli pomad sürülerek takip edilmiştir. Literatürde lezyonların normal epitelizasyon süresi 8-14 gün arasında değişmekte iken bizim çalışmamızda epitelizasyon süresi 15-24 gün arasında olmuştur.<sup>6,7</sup> Lezyonların epitelizasyon süreci, yapılan cerrahi işlem ve pansumandan bağımsız olarak tamamlanmıştır. Aynı kulakta bulunan iki farklı lezyon bile farklı sürelerde epitelize olmuştur. Epitelizasyon süresinin uzaması SEİ'ninde yüksek olmasına neden olmuştur. Kloeters ve ark.ları yaptıkları çalışmada SEİ ortalaması 4. hafta sonunda 1.7 iken bizim çalışmamızda 2.6 olarak tespit edilmiştir. Morris ve ark.ları yaptıkları çalışmada tavşan kulağında 6 mm ve 1.5 cm'lik yaralar yaparak, akut ve kronik skarlaşmayı çalışmalardır.<sup>5</sup> Biz alışmamızda epitelizasyon süresini uzatarak 1,5 cm çapında olan lezyonlar ile aynı ölçüde SEİ'ne sahip skar dokusu elde edilmiştir. Ancak oluşturulan skar dokusu her tavşanda, hatta aynı kulakta bulunan her iki lezyonda da farklı şekilde oluşmuştur. Her skarın SEİ ve hiperemisi birbirinden farklı olarak gerçekleşmiştir. Zaman içinde oluşan regresyon da farklı şekilde gelişmiştir. Skar dokusunun bu değişkenliği, tavşan kulağında oluşturulan hipertrofik skar modelinin bizce en önemli problemidir.

Skar dokusunun hiperemisi ve kabarıklığı her lezyon için farklı derecede gerçekleşmiştir. Dördüncü hafta her üç grupta bulunan lezyonlar, +++ ölçüsünde hiperemik iken 10. hafta gruplar arasında farklılıklar gelişmiştir. Onuncu hafta üçüncü grupta bulunan lezyonlar her iki gruba göre daha hiperemikti. Bunun sebebi yapılan histopatolojik incelemede de görüldüğü üzere artan kapiller sayısına bağlı olduğu düşünülmüştür.

En kabarık skar dokusu ise ikinci grupta tespit edilmiştir. Yağ grefti enjeksiyonuna bağlı olarak 10. hafta yapılan incelemede ikinci grupta bulunan lezyonlar diğer iki gruba göre daha kabarıktı. Üçüncü grupta bulunan lezyonlarda birinci gruba göre daha kabarık olduğu görülmüştür. İnsanda gelişen hipertrofik skar dokusunun altında subkutan yağ dokusu olduğu için, yapılan yağ enjeksiyonu akut dönem dışında palpasyonla minimal kitle etkisi yapmaktadır. Ancak tavşan kulağında, skar dokusu kıkırdağın hemen üzerinde olduğu için yapılan enjeksiyon skar dokusunun kabarıklığını normalden fazla artırmıştır.

Lezyon boyutları 4. hafta tüm gruplarda 8 mm olarak ölçülmüştür. Bunun sebebi yapılan cilt eksizyonundan sonra sağlam cilt dokusunun kontrakte olmasıdır. Ancak skar dokusu mature oldukça lezyon boyutlarının azaldığı görülmüştür.

Literatürde hipertrofik skar için birçok tedavi yöntemi tanımlanmıştır ancak, bu tedavilerin birbirlerine üstünlükleri sınırlıdır. Kabul edilen en önemli görüş hipertrofik skar veya keloidin oluşmasını önleyecek şekilde planlamanın yapılması gerektiğidir. Cerrahi insizyonun hipertrofik skar veya keloid eğilimi olan kişilerde göğüs orta hat, omuz ve sırt bölgesine mümkünse yapılmaması, eğer yapılması gerekiyorsa minimal tutulması; vücudun minimal gerginlik çizgileri göz önüne alınarak insizyonun yapılması; insizyonların eklem bölgesine uzak yerlerde yapılması önerilmektedir.<sup>150</sup> Yara oluşuktan sonra skar dokusunu küçültücü girişimlerde bulunulmasına özen gösterilmelidir. Yara minimal gerginlik ile kapatılmalıdır. İnflamasyonu şiddetlendirecek yabancı cisim, ölü dokular veya hematoma temizlenmelidir. Sütür işlemi daha az inflamatuvar olan monofilaman materyallerle yapılmalıdır. İnsizyon hattının beslenmesini engelleyecek şekilde sıkı düğümden kaçınılmalıdır.<sup>47</sup>

Aşırı skarlaşmanın meydana gelmemesi için alınan önlemlere rağmen hipertrofik skar veya keloid gelişebilir. Uygulanacak tedavi genel olarak:

- 1) Cerrahi
- 2) Cerrahi olmayan olarak ikiye ayrılmaktadır.



## Cerrahi Tedavi

En eski tedavi yöntemlerinden birisidir. Tek başına uygulandığı zaman %45-100 arasında nüks oranına sahiptir.<sup>1,8,74</sup> Bunun esas nedeni cerrahi planlama olmadan yapılan basit eksizyonun, yara kenarlarının maruz kaldığı mekanik kuvvetleri değiştirmemesidir. Z-plasti veya W-plasti ile skar dokusunun yönü değiştirilerek bunun önüne geçilebilir.<sup>74</sup> Bu nedenle cerrahi, intralezyonel steroid enjeksiyonu, radyasyon, basınç uygulaması, extractum cepae, centella asiatica ekstresi, lazer, silikon jel veya tabaka tedavisi gibi cerrahi olmayan diğer yöntemlerle birlikte kullanılmaktadır. Steroid enjeksiyonuna ameliyat öncesi dönemde başlanıp, ameliyat esnasında tekrarlanabilir ve/veya ameliyat sonrası dönemde de bir-dört haftada bir tekrarlanabilir.

Ancak Chowdri ve ark. cerrahi eksizyon yapılan 58 adet hipertrofik skar veya keloid dokusuna intraoperatif ve postoperatif dönemde steroid enjeksiyonu uygulamışlardır. Postoperatif dönemde semptomlar gerileyene kadar haftalık ardından aylık enjeksiyonlar halinde dört-altı ay devam edilmiştir. 30,5 haftalık takip sonunda keloid eksizyonu yapılan hastalarda %91.9, hipertrofik skar eksizyonu yapılan hastalarda %95.24 oranında başarı sağlanmıştır.<sup>151</sup>

Cerrahi eksizyon esnasında uyulması gereken bazı önemli noktalar vardır. Bunlar

-insizyonun gerginlik olmadan kapatılması. Bu nedenle skar dokusunun z-plasti veya w-plasti ile yönünün değiştirilmesi veya flep cerrahisi gerekebilir.

-nükse yol açabilecek tüm inflamatuvar dokuların ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir.

-tüm ölü boşluklar kapatılmalı ve çevre dokunun travmaya maruz kalması engellenmelidir.

-ek tedavi olarak, kortikosteroidler, basınç tedavisi veya silikon tabaka uygulaması başlatılmalıdır.<sup>74</sup>

Bir başka cerrahi tedavide eksizyondan sonra defektin dermal matriks ile kapatılması ve birkaç hafta sonra ince kısmi kalınlıkta deri grefti ile kapatılmasıdır. Dermal matriks uygulaması esas olarak derin yanık sonrası kullanılmaktadır. Bu konu ile ilgili verilerde dermal matriks uygulanan hastaların skar dokusunun, dermal matriks uygulanmayan bölgelere göre daha iyi olması üzerine elde edilmiştir. Ancak deri grefti donör alanında aşırı skarlaşma olma ihtimalini göz ardı etmemek gerekmektedir. Bu konuda çalışmalar oldukça yetersizdir.<sup>152,153</sup>

## **Cerrahi Olmayan Uygulamalar**

### *Kortikosteroidler*

Intralezyonel steroid enjeksiyonu tek başına veya diğer tedavi çeşitleri ile birlikte en sık kullanılan yöntemdir. Tek başına uygulandığı zaman %50-100 gibi tedaviye yanıt oranına ve %9-50 arasında da nüks oranına sahiptir.<sup>8,74</sup> Erken dönem hipertrofik skar dokusunun yüksekliğini azaltarak yumuşatır. Geç dönem hipertrofik skarlarda ve keloidlerde ise daha çok semptomatik etki gösterir. Kaşıntıyı ve ağrı hissini geriletir.

Etkisini temel olarak makrofajlardan mediatör salınımını engelleyerek oluşturduğu düşünülmektedir. Bu sayede fibroblast proliferasyonunu azalttığı, kollajen ve GAG sentezini azalttığı, doku proteazlarının sentezini artırarak proteaz inhibitörlerini azalttığı, inflamasyonu geriletmediği gösterilmiştir.<sup>6,74</sup>

Carrol ve ark. triamsinolon asetonidin etkisini normal ve keloid kaynaklı fibroblastlarda in vitro olarak çalışmışlardır. Edindikleri verilere göre triamsinolon asetonid FGF üretimini uyarırken, TGF- $\beta$ 1 üretimini engellemektedir.<sup>154</sup>

Kortikosteroid enjeksiyonu cerrahi veya cerrahi olmayan tedavi yöntemleri ile kombine edilebilir. Cerrahi ile birleştirildiğinde nüks oranı %0-100 oranları arasında değişmektedir ve uygulanan protokole göre değişmektedir. Ameliyat öncesi, ameliyat esnasında ve ameliyat sonrası kortikosteroid uygulaması yüksek başarıya sahip bir yöntemdir.<sup>6,74</sup>

Kortikosteroid enjeksiyonunun cilt atrofisi, hipopigmentasyon veya depigmentasyon, telanjiektazi, nekroz, ülserasyon ve Cushingoid görünüme sebep olabileceği de akıldan çıkartılmaması gereken bir noktadır. Komplikasyon riski, kortikosteroidin skar dokusunu çevreleyen sağlam dokuya nüfuz etmesi halinde artmaktadır.<sup>1,155</sup>

Beuth ve ark. kortikosteroid enjeksiyonu ile topikal extractum cepae tatbikini karşılaştırmışlardır. Yaptıkları çok merkezli çalışmada topikal extractum cepae tatbikinin intralezyonel kortikosteroid enjeksiyonuna göre daha faydalı olduğunu göstermişlerdir.<sup>156</sup>

Kelemen ve ark. çalışmalarında lineer hipertrofik skarlı olgularda kortikosteroid enjeksiyonu ile silikon jel tabaka uygulamasını karşılaştırmıştır. Spesimenlerin ışık ve elektron mikroskopi sonucunda iki tedavi yönteminin de farklı mekanizmalar üzerinden etki ettiği ancak benzer etkilere sahip olduklarını belirtmişlerdir.<sup>157</sup>

### *Basınç Tedavisi*

Hipertrofik skar tedavisinde yıllardır kullanılan eski bir yöntemdir. Özellikle derin yanık sonrası basınç kıyafetleri ile profilaktik amaçlı kullanılır. Hipertrofik skar gelişimini %60-85 oranında engellediği bildirilmiştir. Genelde gazlı bez, plastik plak, silikon jel veya tabaka ile birlikte kullanılır. Bu malzemeler ile kullanımının amacı, basıncın daha eşit dağıtılması ve altta temas eden derinin korunmasıdır. Basınç tedavisi ile uygulanması gereken basınç 24-30 mmHg arasında olması gerekmektedir. Daha yüksek basınç kapiller iskemiye yol açmaktadır. Ancak 5-15 mmHg arasında uygulanan basıncında etkin olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Basınç kıyafeti günde 18-24 saat arasında ve skar matürasyonu tamamlanana kadar kullanılmalıdır. Aksi takdirde rebound hipertrofi gelişebilir.<sup>6</sup>

Etki mekanizması net olarak bilinmemektedir ancak doku iskemisine sekonder geliştiği düşünülmektedir. Skar dokusunda meydana gelen lokal iskemi doku metabolizmasını azaltır, kollajenaz aktivitesini artırır. Fibroblastlar, perisitler ve endotelial hücreler dejenere olurlar, çoğalmaları engellenir ve kollajen sentezi azalır. Aynı zamanda hücre dışı matriks proteinlerinin miktarını da azaltır. Kollajen nodülleri ve skar dokusu daha avasküler hale gelir. Fibroblastların ölümü sonucu, ortama proteinazlar salınır. Sonuçta skar dokusunda gerileme meydana gelir.<sup>74</sup>

Costa ve ark. çalışmasında, basınç tedavisi görmüş ve görmemiş skar dokularını karşılaştırmıştır. Sonuç olarak basınç tedavisi gören grupta alfa-düz kas aktin ekspresyonu eden miyofibroblastların kaybolduğu, fibrillin depozitlerinin geliştiği, elastin depozitlerinin daha düzgün olduğu, tenasinin sadece epidermin altında ve damar etrafında görüldüğü, fibroblastların apoptozise uğradığı ve kollajen yıkımının belirgin olduğu göstermişlerdir.<sup>158</sup>

### *Topikal silikon jel/tabaka*

İlk kez Perkins ve ark. tarafından 1983 yılında kullanılmıştır. Topikal silikon materyali kullanılan hipertrofik skarlı olgularda %60-100 oranları arasında skar boyutlarında küçülme ve elastisitede artış tespit edilmiştir. Kullanımı kolay ve ağrısızdır. Cerrahiden sonra profilaktik olarak kullanımı halinde %75-85 oranında hipertrofik skar veya keloid gelişimini engellediği belirtilmiştir.<sup>6</sup>

Günde en az 12 saat skar dokusu ile teması gerekmektedir. Silikon materyalinin iritasyon ve alerji yapmaması için silikon materyalinin çıkartılarak derinin yıkanması ve

temizlenmesi gerekmektedir. Basınç kıyafeti ile birlikte kullanılabilir. Ancak etkisi için basınç uygulanmasına gerek yoktur.

Quinn ve ark. silikon materyallerinin skar dokusunun cildinden su buharı kaybını engelleyerek stratum korneumda sıvı miktarını artırdığını tespit etmişlerdir. Ardından Sawada ile Sone benzer bulgulara ulaşmış ve Chang ve ark. da silikon materyallerinin etkisinin basınçtan değil, kapladıkları skar dokusunun üzerini oklüde ederek, su buharı kaybını engellemesine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.<sup>159</sup>

Mustoe yayınladığı makalede silikon materyalleri ile hipertrofik skar ve keloid tedavisi yapılan çalışmaları derlemiştir. Sonuç olarak silikon materyallerinin cilt sıcaklığını yaklaşık 1,7°C artırdığını ve bu sıcaklık artışının kollajenaz aktivitesini artırarak skar dokusunda küçülmeye yol açtığını,<sup>160</sup> aynı zamanda skar dokusundan su buharı kaybını önemli oranda engelleyerek henüz olgunlaşmamış stratum korneumda bulunan keratinositlerin sitokin salınımını azaltarak etki ettiğini belirtmiştir.<sup>161,162</sup>

Berman ve ark silikon jel ve silikon tabakanın etkisini prospektif bir çalışma ile incelemiş ve iki grup arasında etki açısından anlamlı bir fark tespit edememiştir.<sup>163</sup>

### *Radyasyon*

Hipertrofik skar veya keloid tedavisinde tek başına veya cerrahi ile birlikte düşük doz yüzeysel radyoterapi kullanılabilir. Kollajen, normal deri ve keloid fibroblastları üzerinden etki ederler. Fibroblastları harap ederler, bu hücrelerin yeri sistemik dolaşımdan gelen hücreler ile doldurulamaz. Bu sayede kollajen yapımı ve yıkımı arasında denge kurulmaya çalışılır.<sup>6</sup>

Radyoterapinin etkin bir tedavi olduğuna yönelik yapılan çalışmalara rağmen uzun dönemde meydana getirdiği cilt değişiklikleri ve karsinogenez riskine bağlı olarak kullanımı yaygın bir yöntem olamamıştır.

### *Radyofrekans*

Hipertrofik skar kollajen fibril şekil ve üretiminde değişiklik meydana getirir.<sup>164</sup>

Meshkinpour ve ark. radyofrekans cihazı ile hipertrofik skar ve keloidli 4 olguya 1 seans, 4 olguya 2 seans tedavi uygulamışlardır. 12-24 haftalık takip sonunda hipertrofik skar dokusundan alınan biyopsi sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülemedi. Kollajen şekil ve üretiminde minimal değişiklik meydana gelmiştir. Tedavi etkinliği tek başına zayıf olarak bulunmuştur.<sup>165</sup>

### *Lazer*

İlk olarak 1980'lerin başında kullanılmaya başlanmıştır. CO<sub>2</sub> ve argon lazer skar tedavisinde ilk kullanılan lazer çeşitleridir. Ancak nüks oranının yüksek olması ile kısa sürede kullanımdan çıkartılmıştır. 1990'ların başlarında 585 nm dalga boyunda olan damar spesifik pulsed dye lazerin etkinliği görülünce, lazer tedavisi tekrar popüler olmuştur. Alster ve ark. yaptıkları çalışmada 585 nm dalga boyundaki lazerin hipertrofik skar dokusunda yumuşama, renginde açılma ve kabarıklığında gerileme tespit etmişlerdir.<sup>166,167</sup>

Etki mekanizması ise yine Alster ve ark yaptıkları çalışmada 585 nm lazer tatbikinin lokal mast hücre miktarını artırdığını tespit etmişlerdir. Bu sayede histamin salınımı artar ve dolaylı olarak kollajen döngüsü etkilenmektedir. Ayrıca lazer dalgası hemoglobin tarafından emilerek lokal ısı üretir, buda doku iskemisi, kollajenaz salınımı ve kollajen yıkımına neden olur.<sup>168</sup>

Manuskiatti ve ark. 595 nm boyunda lazer ile sternotomi skarları üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Üç seans 0,45 ms ve 7 J/cm<sup>2</sup> lik bir güç ile lazer tatbiki sonunda, skar dokusunda %24.4 oranında bir gerileme elde edebilmişlerdir.<sup>169</sup>

Erol ve ark. intensed pulsed light (IPL) lazer ile klinik bir çalışma yapmışlardır. Olguların %31.2'sinde mükemmel, %25.7'sinde iyi, %34'ünde orta ve % 9.1'inde minimal etki elde etmişlerdir.<sup>170</sup>

### *Kriyoterapi*

Lazer tedavisi ile benzer etkiye sahiptir. Mikrodolaşımı bozarak hücrel anoksi ve doku nekrozu meydana getirir.

Rusciani ve ark. 135 hastanın toplam 166 keloid dokusunda kriyoterapi uygulamışlardır. Ortalama 48.6 aylık bir takip sonucunda lezyonların %79.5'inde, ortalama üç tedavi sonucunda en az %80 oranında küçülme elde etmişlerdir. Takip süresinde nüks görülmemiştir.<sup>171</sup>

Kriyoterapideki en önemli sorun tedavi seansları arasındaki mesafedir. Çünkü kriyoterapiye bağlı ciltte ülser, ağrı ve geç dönemde hipo veya hiperpigmentasyon, cilt atrofisi gelişebilir.<sup>49</sup> Bu yan etkiler intralezyonel kriyoterapi ile en aza indirilmiştir.<sup>51</sup>

### *5-Fluorourasil (5-FU)*

Antimetabolit aktiviteye sahip bir pirimidin analogudur. Bazal hücreli karsinom ve keratoakantom tedavisinde de kullanılır. 5-FU, hücre içinde aktif metabolitine dönüşerek DNA sentezini inhibe eder. Fibroblastlar gibi metabolik aktivitesi hızlı olan hücreleri etkiler.<sup>164</sup>

Fitzpatrick yayınladığı makalede dokuz yıllık tecrübesini kaleme almıştır. Binden fazla hastaya intralezyonel 5-FU uygulamıştır. En iyi sonucu en inflame, semptomatik lezyonlardan elde etmiştir. Hipertrofik skarlar, keloide göre tedaviye daha iyi yanıt vermiştir. Yan etki olarak enjeksiyon sırasında meydana gelen ağrı, %30-40 olguda noktasal purpura ve üç-dört hastada ciltte soyulma meydana gelmiştir. Yazar aynı zamanda 5-FU'ü steroid ve lazer ile kombine de etmiştir ve en güçlü etkiyi üçlü tedavide aldığını belirtmiştir.<sup>172</sup>

### *Bleomisin*

Sık kullanılan bir antitümör ajandır. Hücre siklusuna etki eder ve in vitro olarak da apoptozisi indükler.

Saray ve ark. kortikosteroid tedavisine yanıt vermeyen 14 olguda 0.5 mm aralıklarda 0.1 ml bleomisin jet enjeksiyonu uygulamışlardır. %73.3 lezyonlarda tam düzleşme, %6.7 yüksek oranda düzleşme, %13.3 anlamlı oranda düzleşme, %6.7 orta seviyede düzleşme görülmüştür. 4 olguda hiperpigmentasyon ve 3 olguda cilt atrofisi ortaya çıkmıştır. Ortalama 19 aylık takip sonucunda nüks görülmemiştir.<sup>173</sup>

Ancak bleomisin doz aşımı halinde ciddi sistemik yan etkilere yol açmaktadır. Eritem, hiperpigmentasyon, Raynaud fenomeni, gangren, fibrozis, nötrofilik ekrin hidradenit, alopesi, ödem, tırnak değişiklikleri, akciğer problemlerine sebep olabilir.<sup>164</sup>

### *İnterferon*

Hipertrofik skar ve keloid gelişiminde en önemli sitokinlerden olan TGF- $\beta$ 'yı antagonize ederek etki gösterir. Sistemik veya bölgesel kullanılabilir.<sup>164</sup> İnterferon alfa, beta, gama ve alfa 2b bu amaçla kullanılan interferon çeşitleridir.

Tredget ve ark. interferon alfa ve gama'nın TGF- $\beta$  üzerine olan etkisini in vivo ve in vitro olarak çalışmıştır. Doku ve sistemik TGF- $\beta$  oranlarında ciddi oranda gerileme elde etmiştir.<sup>175</sup>

Berman ve ark. interferon alfa-2b ile kortikosteroidin etkinliğini cerrahi eksizyon yapılan keloid olgularında karşılaştırmışlardır. Cerrahi sonrası tedavi uygulanmayan 43 lezyonda %51.1, cerrahi sonrası kortikosteroid uygulanan 65 lezyonda %58.4, cerrahi sonrası interferon alfa-2b uygulanan 16 hastada %18.7 oranında nüks gelişmiştir.<sup>174</sup>

#### *Mitomisin-C*

*Streptomyces caespitosus* isimli mantardan üretilen antitümör ilaçtır. DNA çift sarmalına bağlanarak replikasyonu önler.

Sanders ve ark. keloid eksizyonu yapılan 15 hastanın bir keloidine ameliyat esnasında beş dakika boyunca topikal olarak 0.4 mg/ml mitomisin-c uygulamışlardır. Bir keloidine de ameliyat sonrasında da altı ay boyunca ayda bir kez kortikosteroid enjeksiyonu uygulamışlardır. İki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.<sup>176</sup>

#### *Verapamil*

Fibroblast şeklini bipolardan sferik hale getirerek, fibroblastların kollajenaz sentezini artırıp, kollajen sentezini inhibe ederek, hücre dışı matris yıkımına sebep olur.<sup>73</sup>

#### *Extractum Cepae*

Contractubex gel® (Merz Pharma, Frankfurt, Almanya) isimli topikal jel %10 sıvı soğan ekstresi, 50 U/gr heparin, %1 allantoin içerir. Extractum cepae'nin etkisi heparin ile güçlendirilmiştir. Etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir, ancak deneysel çalışmalar jelin fibroblastları inhibe ettiğini belirtmektedir.<sup>164</sup>

Ho ve ark. 52 hastanın 61 dövmesine lazer uygulamışlardır. Lazer tedavisi sonrası Contractubex gel® tatbik edilen hastaların skar gelişimi uygulanmayan gruba göre daha az oranda gelişmiştir.<sup>177</sup>

Karagöz ve ark. silikon jel (scarfade®), silikon jel tabaka (epi-derm™) ve topikal soğan ekstresi, heparin ve allantoin içeren jelin (contractubex®) etkilerini hipertrofik skarlı olgularda karşılaştırmışlardır. Tedavi 6 ay uygulanmış ve tedaviden 6 ay sonra skar dokuları tekrar değerlendirilmiştir. Soğan ekstresi, heparin ve allantoin içeren jelin etkisi diğer ürünlere göre daha az bulunmuştur.<sup>178</sup>

### *Centrella asiatica ekstresi*

Centrella asiatica isimli bitkinin ekstresidir. Bu asit ticari marka adının (Madecassol®) adı ile anılmaktadır (madekasik asit). Aktif hipertrofik skar ve keloid dokusunda inflamasyonu durdurduğu ve skar dokusunu matürasyona sevk ettiği tespit edilmiştir.<sup>164,179</sup>

Ju-Lin ve ark tavşan kulağında oluşturdukları hipertrofik skar modelinde asiyetik asiti denemişler ve dokuda TGF-β<sub>1</sub> ekspresyonunu ölçmüşlerdir. Uygulanan tedavi sonucunda skar dokusunda gerileme ve TGF-β<sub>1</sub> ekspresyonunda anlamlı seviyede gerileme tespit edilmiştir.<sup>180</sup>

### *Quersetin*

“Allium cepa Linn” isimli soğanın ekstresidir. Aynı zamanda elma, kırmızı şarap ve ginkgo bilobada bulunur. Antiproliferatif ve antihistaminik etkisi vardır.<sup>164</sup>

Saulis ve ark. tarafından tavşan kulağında oluşturulan hipertrofik skar modelinde denenmiştir. Skar eritemi, yüksekliği, vaskülaritesine etkisi tespit edilememiştir. Sadece kollajen dizilimi üzerine olumlu etkisi tespit edilebilmiştir.<sup>181</sup>

### *Masaj*

Skar tedavi protokollerinin yaklaşık % 52'sinde masaj tedavisi yer almaktadır. Bir çok masaj tekniği mevcuttur ancak hangi tekniğin daha etkin olduğu netleşmemiştir. Masaj endikasyonları yanık bölgesine, hastanın yaşına ve skar dokusunun yapısına göre değişmektedir. Masaj için kullanılan ürünlerin çoğunluğu hidrasyon ve termal özellikli topikal ürünlerdir. Aşırı epidermal hassasiyet, açık yara, enfeksiyon, ağrı ve inflamasyon masaj için kontrendikasyon oluşturmaktadır. Masaj aynı zamanda hastaların mental durumunu ve gerginliğini de azaltmaktadır. Manuel masaj terapisi dışında basınçlı hava, duş terapisi ve vakuoterapide kullanılmaktadır. Masaj terapisinin etkinliğinin belirlenmesi için daha fazla bilimsel araştırmaya ihtiyaç vardır.<sup>164</sup>

Bu sayılan tedavi şekilleri insan ve hayvan deneylerinde çalışılmış ve çeşitli derecelerde etkinliği gösterilmiştir. Genel olarak özetleyecek olursak yukarıda sayılan tüm tedavi şekilleri skar dokusunda görev alan büyüme faktörleri ve sitokinler üzerinden etki göstermektedir. Hiçbirisi kollajen organizasyonuna direkt olarak etki etmemektedir.

Bizim çalışmamızda inflamasyon, vaskülarite, MMP-2 ve TGF-β<sub>1</sub> salınımı semikantitatif olarak, SEİ ve dermal selülarite kantitatif olarak ölçülmüştür. Yapılan istatistiksel çalışmada grup içinde ve gruplar arasında sadece ikinci ve üçüncü grupların sol



kulakları arasında dermal selülarite açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç çıkmıştır. Yani ikinci grup sol kulakta dermal selülarite artışı belirgindir. Bu artışın sebebi yağ grefti enjeksiyonundan sonra meydana gelen inflamatuvar reaksiyondur. Çünkü grup iki sol kulak preparatlarında belirgin yağ nekrozu ve rezorbsiyon bulguları görülmüştür.

Ancak sonuçlar tekrar değerlendirildiğinde SEİ, dermal selülarite, inflamasyon ve vaskülaritenin, uygulanan yağ grefti ve SVF enjeksiyonu ile arttığı görülmüştür. Bu sonuçlar SVF ile yapılan yara iyileşmesi çalışmaları ile örtüşmektedir.<sup>4,126-130</sup>

Klinger ve ark. yaptıkları çalışmada yüz bölgesinde derin ikinci ve üçüncü derece yanığa bağlı matür skarı olan hastalara iki kez yağ grefti enjeksiyonu yapmıştır. Altı aylık takip sonunda alınan biyopsi sonucunda dermiste kalınlaşma, bölgesel vaskülaritede artma, cilt kalitesinde ve skar kalitesinde artış tespit etmişlerdir.<sup>4</sup>

Rigotti ve ark. mastektomi sonrası radyoterapiye bağlı aşırı fibrozisi olan olgulara yağ grefti enjeksiyonu uygulamıştır. 1 yıllık takip sonunda cilt kalitesinde artış, skar dokusunda yumuşama görülmüştür.<sup>3</sup>

Mojallal ve ark. farelerde yaptıkları çalışmada yağ grefti enjekte edilen bölgede, yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin fibroblastları uyararak tip I kollajen yapımını ve dermal kalınlığı artırdığını tespit etmişlerdir.<sup>140</sup>

Wu ve ark. farelerde yaptıkları çalışmalarda, Lee ve ark. in vitro çalışmada ADAS'ların VEGF salınımını uyararak vaskülarizasyonu artırdığını tespit etmişlerdir.<sup>118,134</sup>

Lu F ve ark. ADAS'ın etkisini random paternli cilt flebi üzerinde test etmişlerdir. Flep yaşamını anlamlı derecede artırdığını ve flep vaskülaritesini anlamlı derecede artırdığını tespit etmişlerdir.<sup>132</sup>

Panettiere ve ark. mastektomi sonrası radyoterapi sonrası implant ile meme rekonstrüksiyonu yaptıkları 62 hastaya yağ grefti uygulaması yapmışlardır. Yağ greftinden sonra kozmetik sonuçların daha iyi olduğunu, skar dokusuna bağlı ciltte bulunan kontraktürlerin azaldığını ve cilt kalitesinin arttığını belirtmiştir.<sup>125</sup> Yazar makalesinde, Kim ve ark. makalesine atıfta bulunmuş ve kendi gözlemleri ile bu makalenin tezat oluşturduğunu belirtmiştir. Kim ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada ADAS'ların dermal fibroblastları uyararak tip I kollajen yapımını artırdığını göstermişler.<sup>134</sup>

Erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'ler ile yapılan birçok çalışmada, bu hücrelerin, fibroblastlara, endotele, keratinositlere dönüşerek ve bu hücreleri uyararak kollajen sentezini ve dermal kalınlığı artırdıkları gösterilmiştir.<sup>4,118,127-132,134,135,138,140,141</sup>

Bizim çalışmamızda da MMP-2 ve TGF- $\beta$ 1 antikor tutulumları arasında da anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Ancak kontrol grubuna göre her iki antikor ile tutulum miktarı artmıştır. Bu da gösteriyor ki yağ grefti ve SVF uygulanan gruplarda makrofaj, fibroblast ve myofibroblastlardan MMP-2 ve TGF- $\beta$ 1 üretimi artmıştır. TGF- $\beta$ 1 üretimi, MMP-2 üretimine göre her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa bile daha fazla gerçekleştiği ışık mikroskopi incelemesinde tespit edilmiştir. Bu bulgular Kim ve ark. yaptıkları yara iyileşmesi modelinden elde ettikleri veriler ile kısmen örtüşmektedir.<sup>136</sup> Kim ve ark. ADAS ile yapılan yara iyileşmesi modelinde, dermal fibroblastlarda kollajen üretimi ve PDGF, TGF- $\beta$ , IGF, bFGF, VEGF gibi büyüme faktör salınımında artma, MMP-1 ekspresyonunda azalma tespit etmişlerdir.<sup>136</sup> Bizim çalışmamızda, MMP-2 sentezi kontrol grubuna göre artmış olmasına rağmen, TGF- $\beta$ 1 sentezindeki artış miktarı daha fazla gerçekleşmiştir. MMP-2 sentezi bakımından Kim ve ark. çalışması ile uyuşmamaktadır.

Dermal selülerite miktarı özellikle grup iki sol kulakta daha fazla olacak şekilde artmıştır. Bu artışın yağ grefti ve SVF'a bağlı olduğu düşünülmektedir. Ancak yağ grefti grubunda SEİ ve dermal selüleritenin daha yüksek çıkması, bize yağ greftinin rezorpsiyonu dolayısı ile makrofaj miktarındaki artış ve makrofajlardan salınan sitokinlere bağlı olarak selüleritenin artışını düşündürmektedir. TGF- $\beta$ 1 sentezindeki artışında bu bağlamda değerlendirilmesi gerekir. Çünkü kontrol grubuna göre ikinci ve üçüncü gruplarda dermal kalınlık, kollajen miktarı, selülerite ve SEİ artmıştır. Yağ grefti ve SVF'da bulunan MKH'lerin hem kendi diferansiasyonu, hemde dermal fibroblastları uyarması ile kollajen miktarı ve dermal kalınlığın arttığını düşünmekteyiz. TGF- $\beta$ 1 bu artışın sebeplerinden birisidir.

Yaptığımız histopatolojik incelemede kontrol grubuna göre yağ grefti ve SVF uygulanan skarlarda bulunan kollajen miktarı ve SEİ artışına rağmen dizilimindeki düzelme dikkat çekicidir. Bu bilgiler bize yağ grefti ve SVF içinde bulunan MKH'lerin parakrin etki ile mevcut dermal fibroblastları uyarak kollajen miktarını artırırken, yara matriksinde bulunan kollajeninde yeniden düzenlenmesini sağladığı; böylece skar kontraksiyonunu azalttığını düşündürmüştür. Kollajenin yeniden düzenlenmesinde, kontrol grubuna göre daha fazla sentezlendiği görülen MMP-2'nin de katkısı olduğu düşünülmektedir.

## **SONUC VE ÖNERİLER**

Tüm bu sayılan tedavi şekilleri, matürasyonunun erken aşamasındaki skar dokusunun tedavisi veya matürasyonunu tamamlamış skar dokusunu tekrar opere ederek hipertrofik skar profilaksisi amaçlı kullanılmaktadır.

Bu kadar çok tedavi şeklinden anlaşılacağı üzere hipertrofik skar dokusuna yönelik tatmin edici bir tedavi şekli netleşmemiştir. Gerek hipertrofik skarın insan ile özdeş deneysel modelinin olmayışı, gerekse oluşumundaki mikrodünyanın tam olarak anlaşılabilmesi bu olayda etkindir.

1990'lerden itibaren tıbbi biyoloji ve genetik bilimi ile eş zamanlı olarak rejeneratif tıbbın aldığı mesafe sayesinde eskiden hayal gibi görünen tedaviler artık uygulanmaya başlamıştır. Erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin etkinliği, kolay elde edilebilir olması, transdiferansiyasyon özelliği sayesinde rejeneratif tıbbın en popüler hücre gruplarından birisi olmuştur. Bu özellikleri sayesinde yaklaşık 100 yıldır plastik cerrahlar tarafından kullanılan yağ grefti uygulamaları yeni bir boyut kazanmıştır. Yapılan yara iyileşmesi modellerinde ve klinik çalışmalarda, erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin dermal kalınlığı ve kollajen üretimini artırdığı tespit edilmiş, ve bazı yazarlar tarafından hipertrofik skarın sorumlusu olarak ciltaltı yağ dokusu bile gösterilmiştir. Ancak yağ grefti ve SVF enjeksiyonu, skar dokusundaki kollajen miktarını artırmaya rağmen, kollajen dizilimini düzelterek, vaskülariteyi artırarak olumlu yönde etkilemektedir.

Hipertrofik skar dokusu ile ilgili insan ile özdeşleşebilecek hayvan modelinin olmaması, bu konu ile ilgili en önemli kısıtlamalardan birisidir. Biz çalışmamızda literatürde en fazla kullanılan model olan tavşan kulağında hipertrofik skar modelini kullandık. Ancak oluşturulan tam kat deri defektine aynı kulakta bile farklı boyutlarda reaksiyon gelişmiştir. Bu nedenle bu konu ile ilgili daha ileri çalışmaların klinik çalışma olmasının daha uygun olacağı kanaatindeyiz.

Erişkin yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin kollajen organizasyonu ile yeniden şekillenmesi üzerine ve cilt yaşlanması üzerine yapılacak daha ileri çalışmalar sayesinde, bu konunun aydınlanacağını düşünmekteyiz. Yapılan çalışmalarda MKH'lerin cilt yaşlanması üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir. Yağ grefti sonrası skar dokusunda telomeraz ve apoptoz indekslerinin bakılarak MKH'lerin cilt kalitesindeki artış ve cilt yaşlanması üzerine olan olumlu etkileri gösterilebileceğini tahmin etmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Aster TS, Tanzi EL. Hypertrophic Scars and Keloids Etiology and Management. *Am. J. Clin. Dermatol* 2003; 4(4):235-43
2. Zuk P, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP, Hedrick MH. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001 Apr; 7(2):211-28
3. Rigotti G, Marchi A, Galié M, Baroni G, Benati D, Krampera M, Pasini A, Sbarbati A. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2007 Apr 15;119(5):1409-22
4. Klinger M, Marazi M, Vigo D, Torre M. Fat injection for cases of severe burn outcomes: A new perspective of scar remodeling and reduction. *Aesth. Plast. Surg.* 2008; 32: 465-69
5. Kakar AK, Shahzad M, Haroon TS. Keloids: Clinical features and management part I. *J Pakis Assos Dermatol* 2006;16:97-103
6. Niessen FB, Spauwen PH, Schalkwijk J, Kon M. On the nature of hypertrophic scars and keloids: A review. *Plast Reconstr Surg.* 1999 Oct;104(5):1435-58.
7. Mast BA., Cohen IK., “Normal wound healing “ editörler Bruce M. Achauer, Elof Eriksson, Craig Vander Kolk, Robert C. Russell, “Plastic Surgery: Indications, Operations, Outcomes”, Vol. 1 chapter 5,pp37-52, Mosby, St Louis, 2000
8. Harper AGS, Mason MJ, Sage SO. A key role for dense granule secretion in potentiation of the  $Ca^{+2}$  signal arising from store-operated calcium entry in human platelets. *Cell Calcium* 2009 May;45(5):413-20
9. McNicol A, Israels SJ. Platelet dense granules: Structure, functions and implications for hemostasis. *Thrombosis Research* 1999 Jul 1;95(1):1-18
10. Levi M, ten Cate H, van der Poll T . Endothelium: interface between coagulation and inflammation. *Crit Care Med.* 2002 May;30(5 Suppl):S220-4
11. Mackman N, Tilley RE, Key NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 Aug;27(8):1687-93
12. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing an overview. *Clin Plast Surg* 2003 Jan;30(1):1-12

13. Rohrich RJ, Roninson JB. Wound healing. Selected Readings in Plastic Surgery 1999;9(3):1-39
14. Hanna JR, Giacomelli JA. A review of wound healing and wound dressing products. J Foot Ankle Surg. 1997 Jan-Feb;36(1):2-14
15. Mathes SJ, Lorenz HP, Longaker MT. Plastic Surgery Second Edition.. 2006;1(11):209-234
16. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. Plast Reconstr Surg. 2006 Jun;117(7 Suppl):12S-34S
17. Barisic-Dujmovic T, Boban I, Clark SH. Fibroblasts/Myofibroblasts that participate in cutaneous wound healing are not derived from circulating progenitor cells. J Cell Physiol. 2010 Mar;222(3):703-12
18. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: An overview. 2006 Jun;117(7 Suppl):1eS-32eS
19. Gelse K, Pöschl E, Aigner T. Collagens-structure, function and biosynthesis. Adv Drug Deliv Rev. 2003 Oct 27;163(2):223-9
20. Gross J. Organization and disorganization of collagen. Biophys J. 1964 Jan;4:SUPPL63-77
21. Rodriguez FG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. Dermatol Surg. 2008 Sep;34(9):1159-69
22. Kumar I, Staton CA, Cross SS, Reed MWR, Brown NJ. Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and its receptors in human surgical wounds. Br J Surg. 2009 Dec;96(12):1484-91
23. Enzerink A, Rantanen V, Vaheri A. Fibroblast nemoisis induces angiogenic responses of endothelial cells. Exp Cell Res. 2010 Mar 10; 316(5):826-35
24. Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS ve ark. The role of vascular endothelial growth facton in wound healing. J Surg Res. 2009 May 15;153(2):347-58
25. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor:Basic science and clinical progress. Endocr Rev. 2004 Aug;25(4):581-611
26. Bullard KM, Lund L, Mudgett JS, Mellin TN ve ark. Impaired wound contraction in stromelysin-1 deficient mice. Ann Surg. 1999 Aug;230(2):260-5

27. Igotz RA, Massague J. Transforming growth factor- $\beta$  stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Biol Chem* 1986 Mar 25;261(9):4337-45
28. Gabbiani G, Hirschel BJ, Ryan GB, Statkov PR ve ark. Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. *J Exp Med* 1972 Apr 1;135(4):719-34.
29. Hinz B, Celetta G, Tomasek JJ, Gabbiani G ve ark. Alpha-smooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity. *Moll Biol Cell* 2001 Sep;12(9):2730-41
30. Hinz B, Mastrangelo D, Iselin CE, Chaponnier C ve ark. Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation. *Am J Pathol* 2001 Sep;159(3):1009-20
31. Katoh K, Kano Y, Amano M, Onishi H ve ark. Rho-Kinase mediated contraction of isolated stress fibers. *J Cell Biol* 2001 Apr 30;153(3):569-84
32. Witte M, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am.* 1997 Jun;77(3):509-28
33. Ehrlich HP, Krummel TM. Regulation of wound healing from a connective tissue perspective. *Wound Repair Regen* 1996 Apr-Jun;4(2):203-10.
34. Grinnell F. Fibroblast receptor for cell-substratum adhesion: Studies on the interaction of baby hamster kidney cells with latex beads coated by cold insoluble globulin (plasma fibronectin). *J Cell Biol.* 1980 Jul;86(1):104-12
35. Henry G, Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing. *Surg Clin North Am* 2003 Jun;83(3):483-507.
36. Grinnell F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends Cell Biol.* 2003 May;13(5):264-9.
37. Eiccholtz T, Jalink K, Fahrenfort I, Moolenaar WH. The bioactive phospholipid lysophosphatidic acid is released from activated platelets. *Biochem J.* 1993 May 1;291 (Pt3):677-80
38. Tanaka A, Hatoko M, Tada H, Iioka H ve ark. Expression of p53 family in scars. *J Dermatol Sci.* 2004 Feb;34(1):17-24.

39. Szulgit G, Rudolph R, Wandel A, Tenenhaus M ve ark. Alterations in Fibroblast  $\alpha 1\beta 1$  integrin collagen receptor expression in keloids and hypertrophic scars. *J Invest Dermatol.* 2002 Mar;118(3):409-15.
40. Amadeu TP, Braune AS, Porto LC, Desmouliere A ve ark. Fibrillin-1 and elastin are differentially expressed in hypertrophic scars and keloids. *Wound Repair Regen.* 2004 Mar-Apr;12(2):169-74.
41. English RS, Shenefelt PD. Keloids and Hypertrophic scars. *Dermatol Surg.* 1999 Aug;25(8):631-8.
42. Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN. Keloid or hypertrophic scar: the controversy: review of the literature. *Ann Plast Surg.* 2005 Jun;54(6):676-80.
43. Russell SB, Trupin KM, Rodriguez-Eaton S, Russell JD ve ark. Reduced growth-factor requirement of keloid-derived fibroblasts may account for tumor growth. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1988 Jan;85(2):587-91.
44. Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. Sabiston Textbook of Surgery. The Biological Basis of Modern Surgical Practice 2009;17(3):27-44
45. Bayat A, Bock O, Mrowietz U, Ollier WE ve ark. Genetic Susceptibility to keloid disease and hypertrophic scarring: Transforming growth factor\_1 common polymorphisms and plasma levels. *Plast Reconstr Surg.* 2003 Feb;111(2):535-43.
46. Ehrlich HP, Desmouliere A, Diegelmann RF, Cohen IK ve ark. Morphological and Immunochemical differences between keloid and hypertrophic scars. *Am J Pathol.* 1994 Jul;145(1):105-13.
47. Slemple AE, Kirchner RE. Keloids and scars: a review of keloids and scars, their pathogenesis, risk factors, and management. *Curr Opin Pediatr.* 2006 Aug;18(4):396-402.
48. Wolfram D, Tzankov A, Pülzl P, Piza-Katzer H. Hypertrophic scars and keloids-A review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management. *Dermatol Surg.* 2009 Feb;35(2):171-81.
49. Mustoe TA, Cooter RD, Gold MH, Hobbs FDR ve ark. International clinical recommendations on scar management. *Plast Reconstr Surg.* 2002 Aug;110(2):560-71.
50. Rekha A. Keloids – a frustrating hurdle in wound healing. *Int Wound J.* 2004 Jun;1(2):145-148.

51. Har-Shai Y, Amar M, Sabo E. Intralesional cryotherapy for enhancing the involution of hypertrophic scars and keloids. *Plast Reconstr Surg.* 2003 May;111(6):1841-52.
52. Bayat A, Bock O, Mrowietz U, Ollier WER ve ark. Genetic susceptibility to keloid disease and transforming growth factor  $\beta_2$  polymorphisms. *Br J Plast Surg.* 2002 Jun;55(4):283-6.
53. Ladin DA, Hou Z, Patel D, McPhail M ve ark. p53 and apoptosis alterations in keloids and keloid fibroblasts. *Wound Repair Regen.* 1998 Jan-Feb;6(1):28-37.
54. Amadeu T, Braune A, Mandarim-de-Lacerda C, Porto LC ve ark. Vascularization pattern in hypertrophic scars and keloids: A stereological analysis. *Pathol Res Pract.* 2003;199(7):469-73.
55. Kischer CW. Comparative ultrastructure of hypertrophic scars and keloids. *Scan Electron Microsc.* 1984;(Pt 1):423-31.
56. Satish L, Babu M, Tran KT, Hebda PA. Ve ark. Keloid fibroblast responsiveness to epidermal growth factor and activation of downstream intracellular signaling pathways. *Wound Repair Regen.* 2004 Mar-Apr;12(2):183-92.
57. Mathes SJ, Lorenz HP, Longaker MT. *Plastic Surgery Second Edition.* 2006;1(11):217
58. Lee JY, Yang CC, Chao SC, Wong TW. Histopathological Differential Diagnosis of keloid and hypertrophic scar. *Am J Dermatopathol.* 2004 Oct;26(5):379-84.
59. Babu M, Diegelmann R, Oliver N. Fibronectin is overproduced by keloid fibroblasts during abnormal wound healing. *Mol Cell Biol.* 1989 Apr;9(4):1642-50.
60. Chen MA, Davidson TM. Scar management: Prevention and treatment strategies. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005 Aug;13(4):242-7.
61. Younai S, Nichter LS, Wellisz T, Reinisch J ve ark. Modulation of collagen synthesis by transforming growth factor-beta in keloid and hypertrophic scar fibroblasts. *Ann Plast Surg.* 1994 Aug;33(2):148-51.
62. Calderon M, Lawrence WT, Banes AJ. Increased proliferation in keloid fibroblasts wounded in vitro. *J Surg Res.* 1996 Mar;61(2):343-7.
63. Oliver N, Babu M, Diegelmann R. Fibronectin gene transcription is enhanced in abnormal wound healing. *J Invest Dermatol.* 1992 Nov;99(5):579-86.
64. Mathes SJ, Lorenz HP, Longaker MT. *Plastic Surgery Second Edition.* 2006;1(25):732-46.



65. Friedman DW, Boyd CD, Mackenzie JW, Norton P ve ark. Regulation of collagen gene expression in keloids and hypertrophic scars. *J Surg Res.* 1993 Aug;55(2):214-22
66. Peltonen J, Hsiao LL, Jaakkola S, Solberg S ve ark. Activation of collagen gene expression in keloids: Co-localization of type I and VI collagen and transforming growth factor-beta 1 mRNA. *J Invest Dermatol.* 1991 Aug;97(2):240-8.
67. Smith P, Mosiello G, Deluca L, Ko F ve ark. TGF-beta2 activates proliferativescar fibroblasts. *J Surg Res.* 1999 Apr;82(2):319-23.
68. Wang X, Smith P, Pu LL, Kim YJ ve ark. Exogenous transforming growth factor beta(2) modulates collagen I and collagen III synthesis in proliferative scar xenografts in nude rats. *J Surg Res.* 1999 Dec;87(2):194-200.
69. Younai S, Venters G, Vu S, Nichter L, Nimni ME ve ark. Role of growth factors in scar contraction: an in vitro analysis. *Ann Plast Surg.* 1996 May;36(5):495-501.
70. Younai S, Nichter LS, Wellisz T, Reinisch J ve ark. Modulation of collagen synthesis by transforming growth factor-beta in keloid and hypertrophic scar fibroblasts. *Ann Plast Surg.* 1994 Aug;33(2):148-51.
71. Tan EM, Rouda S, Greenbaum SS, Moore JH Jr ve ark. Acidic and basic fibroblast growth factors down-regulate collagen gene expression in keloid fibroblasts. *Am J Pathol.* 1993 Feb;142(2):463-70.
72. Castagnoli C, Stella M, Magliacani G, Alasia ST ve ark. Anomalous expression of HLA class II molecules on keratinocytes and fibroblasts in hypertrophic scars consequent to thermal injury. *Clin Exp Immunol.* 1990 Nov;82(2):350-4.
73. Morris DE, Wu L, Zhao LL, Bolton L, Roth SI, Ladin DA, Mustoe TA. Acute and chronic animal model for excessive dermal scarring: Quantitative studies. *Plast Reconstr Surg* 1997 Sept; 100(3):674-81
74. Rahban SR, Garner WL. Fibroproliferative scars. *Clin Plast Surg.* 2003 Jan;30(1):77-89.
75. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H ve ark. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 2008 Sep-Oct;16(5)585-601.
76. Fujiwara M, Muragaki Y, Ooshima A. Keloid-derived fibroblasts show increased secretion of factors involved in collagen turnover and depend on matrix metalloproteinase for migration. *Br J Dermatol.* 2005 Aug;153(2):295-300.

77. Colwell AS, Phan TT, Kong W, Longaker MT ve ark. Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor- $\beta$  stimulation. *Plast Reconstr Surg*. 2005 Oct;116(5):1387-90.
78. Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: A tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 1962 Jun 15;42:1014-22.
79. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*. 1999 Jul 30;274(31):21491-4.
80. Pasternak B, Apsenberg P. Metalloproteinases and their inhibitors-diagnostic and therapeutic opportunities in orthopedics. *Acta Orthop*. 2009 Dec;80(6):693-703.
81. Dang CM, Beanes SR, Lee H, Zhang X ve ark. Scarless fetal wounds are associated with an increased matrix metalloproteinase-to-tissue derived inhibitor of metalloproteinase ratio. *Plast Reconstr Surg*. 2003 Jun;111(7):2273-85.
82. Rodriguez D, Morrison CJ, Overall CM. Matrix metalloproteinases: what do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Jan;1803(1):39-54.
83. Imaizumi R, Akasaka Y, Inomata N, Okada E ve ark. Promoted activation of matrix metalloproteinase (MMP)-2 in keloid fibroblasts and increased expression of MMP-2 in collagen bundle regions: implications for mechanisms of keloid progression. *Histopathology* 2009 May;54(6):722-30.
84. Okada A, Tomasetto C, Lutz Y, Bellocq JP ve ark. Expression matrix metalloproteinases during rat skin wound healing: Evidence that membrane type-1 matrix metalloproteinase is a stromal activator of pro-gelatinase A. *J Cell Biol*. 1997 Apr 7;137(1):67-77.
85. Parks WC. Matrix metalloproteinases in repair. *Wound Repair Regen*. 1999 Nov-Dec;7(6):423-32.
86. Gillard JA, Reed MWR, Buttle D, Cross SS ve ark. Matrix metalloproteinase activity and immunohistochemical profile of matrix metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 during human dermal wound healing. *Wound Repair Regen*. 2004 May-Jun;12(3):295-304.
87. Pardo A, Selman M. MMP-1: the elder of the family. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005 Feb;37(2):283-8.

88. Tanriverdi-Akhisaroglu S, Menderes A, Oktay G. Matrix metalloproteinase-2 and -9 activities in human keloids, hypertrophic and atrophic scars: a pilot study. *Cell Biochem Funct.* 2009 Mar; 27(2):81-7.
89. Neely AN, Clendening CE, Gardner J, Greenhalgh DG ve ark. Gelatinase activity in keloids and hypertrophic scars. *Wound Repair Regen.* 1999 May-Jun;7(3):166-71.
90. Roobrouck VD, Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM. Self-renewal and differentiation capacity of young and aged stem cells. *Exp Cell Res;* 2008 Jun 10;314(9):1937-44.
91. Verfaillie CM. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol.* 2002 Nov;12(11):502-8.
92. Conrad C, Huss R. Adult stem cell lines in regenerative medicine and reconstructive surgery. *J Surg Res.* 2005 Apr;124(2):201-8.
93. Ahsan T, Doyle AM, Nerem RM. Stem cell research.
94. Bongso A, Richards M. History and perspective of stem cell research. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004 Dec;18(6):827-42.
95. Jackson KA, Mi T, Goodell MA. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999 Dec 7;96(25):14482-6.
96. Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O ve ark. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell.* 2001 May 4;105(3):369-77.
97. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC ve ark. Turning brain into blood: A hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science.* 1999 Jan 22;283(5401):534-7.
98. Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B ve ark. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science.* 2000 Jun 2;288(5471):1660-3.
99. Sethe S, Scutt A, Stolzing A. Aging of mesenchymal stem cells. *Ageing Res Rev.* 2006 Feb;5(1):91-116.
100. Rosen ED, Spiegelman BM. Molecular regulation of adipogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2000;16:145-71.
101. Zuk PA. The adipose-derived stem cell: Looking back and looking ahead. *Mol Biol Cell.* 2010 Apr;7:1-12.
102. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA ve ark. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell.* 2002 Dec;13(12):4279-95.

103. Safford KM, Hicok KC, Safford SD, Halvorsen YD ve ark. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 Jun 7;294(2):371-9.
104. Safford KM, Safford SD, Gimble JM, Shetty AK ve ark. Characterization of neuronal/glial differentiation of murine adipose-derived adult stromal cells. *Exp Neurol.* 2004 Jun;187(2):319-28.
105. Beahm EK, Waltron RL, Patrick CW Jr. Progress in adipose tissue construct development. *Clin Plast Surg.* 2003 Oct;30(4):547-58.
106. Balwierz A, Czech U, Polus A, Filipkowski RK ve ark. Human adipose tissue stromal vascular fraction cells differentiate depending on distinct types of media. *Cell Prolif.* 2008 Jun;41(3):441-59.
107. Ailhaud G, Grimaldi P, Negrel R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu Rev Nutr.* 1992;12:207-33.
108. Fu X, Li H. Mesenchymal stem cells and skin wound repair and regeneration: possibilities and questions. *Cell Tissue Res.* 2009 Feb;335(2):317-21.
109. Shumakov VI, Onishchenko NA, Rasulov MF, Krashennnikov ME ve ark. Mesenchymal bone marrow stem cells more effectively stimulate regeneration of deep burn wounds than embryonic fibroblasts. *Bull Exp Biol Med.* 2003 Aug;136(2):192-5.
110. Kataoka K, Medina RJ, Kageyama T, Miyazaki M ve ark. Participation of adult Mouse bone marrow cells in reconstitution of skin. *Am J Pathol.* 2003 Oct;163(4):1227-31.
111. Badiavas EV, Abedi M, Butmarc J, Falanga V ve ark. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing. *J Cell Physiol.* 2003 Aug;196(2):245-50.
112. Deng W, Han Q, Liao L, Li C ve ark. Engrafted bone marrow-derived flk-(1+) mesenchymal stem cells regenerate skin tissue. *Tissue Eng.* 2005 Jan-Feb;11(1-2):110-9.
113. Fu X, Fang L, Li X, Cheng B ve ark. Enhanced wound-healing quality with bone marrow mesenchymal stem cells autografting after skin injury. *Wound Repair Regen.* 2006 May-Jun;14(3):325-35.
114. Lataillade JJ, Doucet C, Bey E, Carsin H ve ark. New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cells. *Regen Med.* 2007 Sep;2(5):785-94.

115. Li H, Fu X, Ouyang Y, Cai C ve ark. Adult bone-marrow-derived mesenchymal stem cells contribute to wound healing of skin appendages. *Cell Tissue Res.* 2006 Dec;326(3):725-36.
116. Mansilla E, Marin GH, Sturla F, Drago HE ve ark. Human mesenchymal stem cells are tolerized by mice and improve skin and spinal cord injuries. *Transplant Proc.* 2005 Jan-Feb;37(1):292-4.
117. Yoshikawa T, Mitsuna H, Nonaka I, Sen Y ve ark. Wound therapy by marrow mesenchymal cell transplantation. *Plast Reconstr Surg.* 2008 Mar;121(3):860-77.
118. Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells.* 2007 Oct;25(10):2648-59.
119. Vojtassak J, Danisovic L, Kubes M, Bakos D ve ark. Autologous biograft and mesenchymal stem cells in treatment of the diabetic foot. *Neuro Endocrinol Lett.* 2006 Dec;27 Suppl 2:134-7
120. Sasaki M, Abe R, Fujita Y, Ando S ve ark. 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.
121. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso Z ve ark. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs.* 2003;174(3):101-9.
122. Zhu Y, Liu T, Song K, Fan X ve ark. Adipose-derived stem cell: a better stem cell than BMSC. *Cell Biochem Funct.* 2008 Aug;26(6):664-75.
123. Salgarello M, Visconti G, Farallo E. Autologous fat graft in radiated tissue prior to alloplastic reconstruction of the breast: Report of two cases. *Aesthetic Plast Surg.* 2010 Feb;34(1):5-10.
124. Illouz YG, Sterodimas A. Autologous fat transplantation to the breast: A personal technique with 25 years of experience. *Aesthetic Plast Surg.* 2009 Sep;33(5):706-15.
125. Panettiere P, Marchetti L, Accorsi D. The serial free fat transfer in irradiated prosthetic breast reconstructions. *Aesthetic Plast Surg.* 2009 Sep;33(5):695-700.
126. Sardesai MG, Moore CC. Quantitative and qualitative dermal change with microfat grafting of facial scars. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007 Dec;137(6):868-72.

127. Kim WS, Park BS, Kim HK, Park JS ve ark. Evidence supporting antioxidant action of adipose-derived stem cells: Protection of human dermal fibroblasts from oxidative stress. *J Dermatol Sci.* 2008 Feb;49(2):133-42.
128. Park BS, Jang KA, Sung JH, Park JS ve ark. Adipose-derived stem cells and their secretory factors as a promising therapy for skin aging. *Dermatol Surg.* 2008 Oct;34(10):1323-6.
129. Kim WS, Park BS, Sung JH. Protective role of adipose-derived stem cells and their soluble factors in photoaging. *Arch Dermatol Res.* 2009 Jun;301(5):329-36.
130. Kim WS, Park BS, Park SH, Kim HK ve ark. Antiwrinkle effect of adipose-derived stem cell: Activation of dermal fibroblast by secretory factors. *J Dermatol Sci.* 2009 Feb;53(2):96-102.
131. Uysal AC, Mizuno H, Tobita M, Ogawa R ve ark. The effect of adipose-derived stem cells on ischemia-reperfusion injury: Immunohistochemical and ultrastructural evaluation. *Plast Reconstr Surg.* 2009 Sep;124(3):804-15.
132. Lu F, Mizuno H, Uysal CA, Cai X ve ark. Improved viability of random pattern skin flaps through the use of adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2008 Jan;121(1):50-8.
133. Chung HM, Won CH, Sung JH. Responses of adipose-derived stem cells during hypoxia: enhanced skin-regenerative potential. *Expert Opin Biol Ther.* 2009 Dec;9(12):1499-508.
134. Lee HY, Xia Y, Kim WS, Kim MH ve ark. Hypoxia-enhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells: Increase in stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF. *Wound Repair Regen.* 2009 Jul-Aug;17(4):540-7.
135. Nambu M, Ishihara M, Nakamura S, Mizuno H ve ark. Enhanced healing of mitomycin c-treated wounds in rats using inbred adipose tissue-derived stromal cells within an atelocollagen matrix. *Wound Repair Regen.* 2007 Jul-Aug;15(4):505-10.
136. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM ve ark. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: A critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 2007 Oct;48(1):15-24.
137. Nie C, Yang D, Morris SF. Local delivery of adipose-derived stem cells via acellular dermal matrix as a scaffold: A new promising strategy to accelerate wound healing. *Med Hypotheses.* 2009 Jun;72(6):679-82.

138. Ebrahimian TG, Pouzoulet F, Squiban C, Buard V ve ark. Cell therapy based on adipose tissue-derived stromal cells promotes physiological and pathological wound healing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009 Apr;29(4):503-10.
139. Yang JA, Chung HM, Won CH, Sung JH. Potential application of adipose-derived stem cells and their secretory factors to skin: discussion from both clinical and industrial viewpoints. *Expert Opin Biol Ther.* 2010 Apr;10(4):495-503.
140. Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C, Breton P ve ark. Improvement of skin quality after fat grafting: Clinical observation and an animal study. *Plast Reconstr Surg.* 2009 Sep;124(3):765-74.
141. van den Bogaerd AJ, van der Veen VC, van Zuijlen PP, Reijnen L ve ark. Collagen cross-linking by adipose-derived mesenchymal stromal cells and scar-derived mesenchymal cells: Are mesenchymal stromal cells involved in scar formation?. *Wound Repair Regen.* 2009 Jul-Aug;17(4):548-58.
142. Wu Y, Wang JF, Scott PG, Tredget EE ve ark. Bone marrow-derived stem cells in wound healing: a review. *Wound Repair Regen.* 2007 Sep-Oct;15 Suppl 1:S18-26.
143. Kloeters O, Tandara A, Mustoe TA. Hypertrophic scar model in the rabbit ear: a reproducible model for studying scar tissue behavior with new observations on silicone gel sheeting for scar reduction. *Wound Rep Reg* 2007 Sept-Oct;15:S40-5
144. Saulis AS, Chao JD, Telser A, Mogford JE, Mustoe TA. Silicone occlusive treatment of hypertrophic scar in the rabbit model. *Aesth Surg J.* 2002 Mar;22(2):147-53.
145. Lockhart AC, Braun RD, Yu D, Ross JR, Dewhirst MW, Klitzman B, Yuan F, Grichnik JM, Proia AD, Conway DA, Mann G, Hurwitz HI. A clinical model of dermal wound angiogenesis. *Wound Rep Reg* 2003 Jul-Aug; 11(4):306-13.
146. Marcus JR, Tyrone JW, Bonomo S, Xia Y, Mustoe TA. Cellular mechanisms for diminished scarring with aging. *Plast Reconstr Surg* 2000 Apr;105(5);1591-9.
147. Lebe B, Pabuççuoğlu U, Özer E. Bazal melanositik ve displastik nevüsler ile derinin primer melanomlarında immünhistokimyasal matrik metalloproteinaz-2 (MMP-2) ekspresyonu. *Turkish Journal of Pathology* 2006;22(2):82-6.
148. Hofman UB, Westphal JR, Zendman AJW, Becker DJ ve ark. Expression and activation of matrix metalloproteinase-2 (MPP-2) and its co-localization with membrane-type I matrix metalloproteinase (MT1-MMP) correlate with melanoma progression. *J Pathol* 2000;191:245-56.

149. Zhao CG, He XJ, Lu B, Li HP, Kang AJ. Increased expression of collagens, transforming growth factor-beta1, and -beta3 in gluteal muscle contracture. *BMC Musculoskelet Disord* 2010 Jan;11:15.
150. Kelly AP. Update on the management of keloids. *Semin Cutan Med Surg* 2009 Jun;28(2):71-6.
151. Chowdri NA, Masarat M, Mattoo A, Darzi MA. Keloids and hipertrophic scars: results with intraoperative and serial postoperative corticosteroid injection therapy. *Aust N Z J Surg* 1999 Sep;69(9):655-9.
152. Chou TD, Chen SL, Lee TW, Chen SG ve ark. Reconstruction of burn scar of the upper extremities with artificial skin. *Plast Reconstr Surg* 2001 Aug;108(2):378-84.
153. Lynch JB, Ismael TS, Kelly JL. Release of anterior neck burn contracture using artificial dermis and vacuum-assisted closure. *Plast Reconstr Surg* 2008 Jan;121(1):352-3.
154. Carroll LA, Hanasono MM, Mikulec AA, Kita M ve ark. Triamcinolone stimulates bFGF production and inhibits TGF- $\beta$ 1 production by human dermal fibroblasts. *Dermatol Surg* 2002 Aug;28(8):704-9.
155. Civelek B, Çelebioğlu S. An unexpected complication of steroid use for the treatment of hypertrophic scar. *Ann Plast Surg* 2005 Feb;54(2):221-2.
156. Beuth J, Hunzelmann N, Van Leendert R, Basten R ve ark. Safety and efficacy of local administration of contractubex to hypertrophic scars in comparison to corticosteroid treatment. Results of a multicenter, comparative epidemiological cohort study in Germany. *In vivo* 2006 Mar-Apr;20(2):277-83.
157. Kelemen O, Hegedus G, Kollar L, Menyhei G ve ark. Morphological analysis of the connective tissue reaction in linear hypertrophic scars treated with intralesional steroid or silicone-gel sheeting. A light and electron microscopic study. *Acta Biol Hung* 2008 Jun;59(2):129-45.
158. Costa AM, Peyrol S, Portp LC, Comparin JP ve ark. Mechanical forces induce scar remodelling. *Am J Pathol* 1999 Nov;155(5):1671-9.
159. Stravrou D, Weissman O, Winkler E, Yankelson L ve ark. Silicone-based scar therapy: A review of the literature. *Aesthetic Plast Surg* 2010 Mar 31.
160. Musgrave MA, Umraw N, Fish JS, Gomez M ve ark. The effect of silicone gel sheets on perfusion of hypertrophic burn scars. *J Burn Care Rehabil* 200- May-Jun;23(3):208-14.



161. Mustoe TA. Evolution of silicone therapy and mechanism of action in scar management. *Aesthetic Plast Surg* 2008 Jan;32(1):82-92.
162. Borgognoni L. Biological effects of silicone gel sheeting. *Wound Repair Regen* 2002 Mar-Apr;10(2):118-21.
163. Berman B, Flores F. Comparison of a silicone gel-filled cushion and silicone gel sheeting for the treatment of hypertrophic or keloid scars. *Dermatol Surg* 1999
164. Atiyeh BS. Nonsurgical management of hypertrophic scars: Evidence-based therapies, Standard practices, and emerging methods. *Aesthetic Plast Surg* 2007 Sep-Oct;31(5):468-92.
165. Meshkinpour A, Ghasri P, Pope K, Lyubovitsky JG ve ark. treatment of hypertrophic scars and keloids with a radiofrequency device: a study of collagen effects. *Lasers Surg Med* 2005 Dec;37(5):343-9.
166. Alster TS. Improvement of erythematous and hypertrophic scars by the 585 nm flashlamp-pumped pulsed dye laser. *Ann Plast Surg* 1994 Feb;32(2):186-90.
167. Alster TS, McMeekin TO. Improvement of facial acne scars by the 585 nm flashlamp-pumped pulsed dye laser. *J Am Acad Derm* 1996 Jul;35(1):79-81.
168. Alster TS, Williams CM. Treatment of keloid sternotomy scars with 585-nm flashlamp-pumped pulsed dye laser. *Lancet* 1995 May;345(8959):1198-200.
169. Manuskiatti W, Wanitphakdeedecha R, Fitzpatrick RE. Effect of pulse width of 595-nm flashlamp-pumped pulsed dye laser on the treatment response of keloidal and hypertrophic sternotomy scars. *Dermatol Surg* 2007 Feb;33(2):152-61.
170. Erol OO, Gurlek A, Agaoglu G, Topcuoglu E ve ark. Treatment of hypertrophic scars and keloids using intense pulsed light (IPL). *Aesthetic Plast Surg* 2008 Nov;32(6):902-9.
171. Rusciani L, Paradisi A, Alfano C, Chiummariello S ve ark. Cryotherapy in the treatment of keloids. *J Drugs Dermatol* 2006 Jul-Aug;5(7):591-5.
172. Fitzpatrick RE. Treatment of inflamed hypertrophic scars using intralesional 5-FU. *Dermatol Surg* 1999 Mar;25(3):224-32.
173. Saray Y, Gulec AT. Treatment of keloids and hypertrophic scars with dermojet injections of bleomycin: a preliminary study. *Int J Dermatol* 2005 Sep;44(9):777-84.
174. Berman B, Duncan MR. Short-term keloid treatment in vivo with human interferon alpha-2b results in a selective and persistent normalization of keloidal fibroblast

- collagen, glycosaminoglycan, and collagenase production in vitro. *J Am Acad Dermatol* 1989 Oct;21(4 Pt 1):694-702.
175. Tredget EE, Shankowsky HA, Pannu R, Nedelec B ve ark. Transforming growth factor-beta in thermally injured patients with hypertrophic scars: effects of interferon alfa-2b. *Plast Reconstr Surg* 1998 Oct;102(5):1317-28.
176. Sanders KW, Gage-White L, Stucker FJ. Topical mitomycin-c in the prevention of keloid scar recurrence. *Arch Facial Plast Surg* 2005 My-Jun;7(3):172-5.
177. Ho WS, Ying SY, Chan PC, Chan HH. Use of onion extract, heparin, allantoin gel in prevention of scarring in Chinese patients having laser removal of tattoos: A prospective, randomized controlled trial. *Dermatol Surg* 2006 Jul;32(7):891-6.
178. Karagoz H, Yuksel F, Ulkur E, Evinc R. Comparison of efficacy of silicone gel, silicone gel sheeting, and topical onion extract including heparin and allantoin for the treatment of postburn hypertrophic scars. *Burns* 2009 Dec;35(8):1097-103.
179. Widgerow AD, Chait LA, Stals R, Stals PJ. New innovations in scar management. *Aesthetic Plast Surg* 2000 May-Jun;24(3):227-34.
180. Ju-Lin X, Shao-Hai Q, Tian-Zeng L, Bin H ve ark. Effect of asiaticoside on hypertrophic scar in the rabbit ear model. *J Cutan Pathol* 2009 Feb;36(2):234-9.
181. Saulis AS, Mogford JH, Mustoe TA. Effect of mederma on hypertrophic scarring in the rabbit ear. *Plast Reconstr Surg* 2002 Jul;110(1):177-83.
182. Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z ve ark. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med.* 2005;54(3):132-41.,
183. Stashower M, Smith K, Williams J, Skelton H. Stromal progenitor cells present within liposuction and reduction abdominoplasty fat for autologous transfer to aged skin. *Dermatol Surg* 1999;25(12):945-9.
183. Lim JS, Yoo G. Effects of adipose-derived stromal cells and of their extract on wound healing in a Mouse model. *J Korean Med Sci* 2010;25:746-51.
184. Eto H, Suga H, Matsumoto D, Inoue K, Aoi N ve ark. Characterization of structure and cellular components of aspirated and excised adipose tissue. *Plast Reconstr Surg* 2009;124(4):1087-97.
185. Lim JS, Yoo G. Effects of adipose-derived stromal cells and of their extract on wound healing in a Mouse model. *J Korean Med Sci* 2010;25(5):746-51.

186. Nan H, Gao JH, Lu F, Liao YJ. Migration of intravenously injected adipose tissue-derived stem cells in SD rats with soft tissue wound. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi* 2009;25(5):372-6.
187. Kim YJ, Kim HK, Cho HH, Bae YC, Suh KT ve ark. Direct comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissues and bone marrow in mediating neovascularization in response to vascular ischemia. *Cell Physiol Biochem* 2007;20:867-876.
188. Blanton MW, Hadad I, Johnstone BH, Mund JA, Rogers PI ve ark. Adipose stromal cells and platelet-rich plasma therapies synergistically increase revascularization during wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2009;123(2 Suppl):56S-64S.
189. Hong SJ, Traktuev DO, March KL. Therapeutic potential of adipose-derived stem cells in vascular growth and tissue repair. *Curr Opin Organ Transplant* 2010;15(1):86-91.