



T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

HYALURONİK ASİT UYGULAMASININ
PERİSİLİKON KAPSÜL YAPISINA ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Sedat TATAR

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Osman LATİFOĞLU

ANKARA 2014



T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

HYALURONİK ASİT UYGULAMASININ
PERİSİLİKON KAPSÜL YAPISINA ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Sedat TATAR

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Osman LATİFOĞLU

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
01/2014-25 proje numarası ile desteklenmiştir

ANKARA 2014

TEŞEKKÜR

Tıp hayatıma başladığım Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinden ve büyük bir mutluluk ve gururla 6 yılımı geçirdiğim Gazi Üniversitesi Plastik,Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi bölümünden ayrılmadan ve büyük özveri ve mutlulukla sürdüreceğim meslek hayatıma başlamadan önce teşekkürü etmek istediğim insanları belirtmek isterim

Bu yolda bilgi birikimi,tecrübesi, anlayış ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan tez danışmanım ,değerli hocam Prof.Dr.Osman LATİFOĞLU ‘na teşekkür ederim.

Plastik Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı olan yaratıcı fikirleri, eşsiz bilgi birikimi,bilimsel bakış açısı ve farklı düşünebilme yeteneğiyle her zaman önder olan Prof.Dr.SeyhanÇENETOĞLU’na,tecrübesi,bilgisi,objektifliği,bilimselliği ve sanatsal yönüyle örnek olan ve motivasyonuma büyük katkıları olan Prof.Dr. Sühan AYHAN hocama,üstün becerisi,enerjisi,pozitifliğiyle bana önder olan Doç.Dr.Serhan TUNCER hocama,her zaman hoşgörüsüyle,yardımseverliğiyle, cerrahi sanatımı öğrenmemde büyük katkıları olan Doç Dr. Kemal FINDIKCIOĞLU hocama,bana desteğini hiçbirzaman esirgemeyen Doç Dr.Ayşe GÜLŞEN hocama,teşekkür etmek istiyorum.

Şu anda Gazi Plastik Cerrahi Bölümünde olmayan ancak asistanlığımın ilk yıllarında çalışma fırsatı bulmuş olmaktan büyük onur duyduğum hocalarımdan bahsetmek istiyorum. Öğrencilik hayatımda ilk olarak tanıdığım,uzmanlık eğitimi hayatımda çalışma fırsatı bulabilmiş olduğum için gurur duyduğum sadece Gazi Plastik Cerrahi Bölümünde değil,Türk Plastik Cerrahi tarihinde çok önemli yeri olan şu anda emeklilik hayatının keyfini çıkaran sağlıklı ve uzun ömürler dilediğim Prof.Dr.Cemalettin ÇELEBİ hocama,bilimsel bakış açısıyla örnek aldığım değerli hocam Prof.Dr.Kenan ATABAY hocama,enerjisi pozitifliği,yaratıcılığı ile çalışma hayatımda katkısı olan Prof.Dr.Reha YAVUZER hocama, fikirlerine,bilimsel bakış açısına her zaman güvendiğim Prof.Dr. Selahattin Özmen hocama,daha önce uzmanlık hayatına başlamış olan mesleğimi öğrenmeme katkıları olan tüm kıdemlilerime,uzmanlık eğitimimim sırasında birlikte çalıştığım tüm meslektaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimi bitirmemde büyük katkıları olan Histoloji Anabilim Dalından Prof.Dr.Çiğdem ELMAS hocama ve Dr.Merve Seymen’e teşekkür ederim

Bugünlere gelmemde en çok emeği geçen, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim annem Hatice Tatar’a ve babam Rıza Tatar’a,ablam Özden Tatar ve abim Yalçın Tatar’a sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Her alanda desteğini,yardımlarını,sevgisini eksik etmeyen biricik eşim hayat arkadaşım Filiz Orhan Tatar’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 İmplant materyalleri	3
2.2 İmplant materyali olarak silikon	3
2.3 Meme büyütme amaçlı kullanılan implantlar	5
2.4 Kapsül formasyonu ve kontraktürü	6
2.4.1 Kapsül kontraktürü nedenleri	8
2.4.2 Kapsül kontraktürünün klinik sınıflaması ve ölçümü	9
2.4.3 Kapsül kontraktürü oluşumunu önleme ve tedavi	10
2.4.4 Kapsülün histolojik özellikleri	11
2.5 Hyaluronik asit	12
2.5.1 Kimyasal yapısı	12
2.5.2 Biyolojik özellikleri	13
2.5.3 Hyaluronik asit sentezi	14
2.5.4 Hyaluronik asit degradasyonu ve eliminasyon yolları	14
2.5.5 Hyaluronik asitin biyomedikal uygulamaları	15
2.5.6 Dolgu maddesi olarak hyaluronik asit	15
2.5.7 Hyaluronik asit ve yara iyileşmesi	16
2.6 Transforming growth faktör $\beta 1$ ve Isı şok proteini 47(HSP-47)	20
3.GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1 Gruplar ve açıklamaları	24
3.2 Cerrahi yöntem	25
3.3 Histolojik ve immunohistokimyasal yöntemler	28
3.4 İstatistiksel yöntemler	31
4.BULGULAR	32
4.1 Makroskobik bulgular	32
4.2 Histolojik ve immunohistokimyasal bulgular	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
6. ÖZET	56
7. İNGİLİZCE ÖZET	57
8. KAYNAKLAR	58

GİRİŞ VE AMAÇ

Silikon implantlar meme büyütme, meme rekonstrüksiyonu, doku genişletici, yüz implantları ve el cerrahisinde olmak üzere plastik cerrahide estetik ve rekonstrüktif amaçlı sık olarak kullanılmaktadır. Vücuda yerleştirilen silikon implantlara karşı, biyouyumlulukları yüksek materyaller kullanılsa da yabancı cisim reaksiyonu gelişmekte ve etrafında kapsül formasyonu gelişmektedir. Bu doğal sürecin aşırı olması kapsül kontraktürü ile sonuçlanmakta ve distorsiyon, ağrı, şişlik, gerginlik gibi semptomlara yol açıp implant materyalinin çıkarılmasına neden olmaktadır.

DeneySEL ve klinik çalışmalar kapsül kontraktürü gelişimini artıran etmenlerin implant tipi, implantın yerleştirildiği yer, implant çevresinde doku sıvısı birikimi, yoğun inflamatuvar cevap, subklinik enfeksiyon, hasta yaşı, yabancı madde reaksiyonu ve implant çevresindeki sellüler ve moleküler değişken mekanizmaların rol aldığını göstermektedir¹⁻¹⁰. Meme florasında bulunan *S. epidermidis* implanta ulaşarak biofilm oluşturması sonucu periprostetik inflamasyonu ve IL-6'yı tetikleyerek fibrozise yol açmaktadır¹¹. Estetik amaçlı meme büyütme ameliyatlarında incelenen kapsül kontraktürü dokusunda TGF-1'in periprostetik kapsüler fibrozis ile ilişkili bulunduğu ve normal meme dokusuna göre TGF- β 1 ve TGF- β 2'nin yüksek seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir¹². Kapsül kontraktürü mekanizmasıyla ilgili bilgilerin artması tedavi modalitelerinin de gelişimine katkı sağlamıştır. Bu amaçla antibiyotikli yıkamalar¹³⁻¹⁴, intraluminal steroid enjeksiyonları¹⁵⁻¹⁶ implantın submuskuler plana yerleştirilmesi¹⁷, düşük viskoziteli silikon elastomer kullanımı¹⁸, salin implant¹⁹⁻²⁰, pürüzlü yüzeyli silikon implant uygulamaları²¹ ve sistemik antibiyotik kullanımı denenmiş fakat halen arzu edilen üstün sonuç alınamamıştır^{11,22,23,24}.

Hyaluronan olarak da bilinen hyaluronik asit insan vücudunda doğal olarak bulunan ve ekstraselüler matriksin yüksek molekül ağırlıklı tek sülfatlanmamış lineer glikozaminoglikan yapısında polimeridir. Yapısında birbirine β bağları ile bağlanan tekrarlayıcı (β 1-3) N-asetil glukozamin ve (β 1-4)D-glukuronik asit ünitelerinden oluşan lineer yapıda polimer yapıda glikozaminoglikandır. Disakkarit üniteleri 30000 tekrara kadar olabilir ve molekül 20.000 kDa'a kadar ulaşabilmektedir. İlk kez 1934 yılında Karl Meyer ve John Palmer tarafından göz vitröz sıvısında tespit edilmiş ve in vitro 1964 yılında sentezlenmiştir²⁵. Büyük kısmı dermis ve epidemiste bulunur ve beyin , santral sinir sistemi ve sinovyal dokuda bulunur. Primer olarak ekstraselüler matriksin en büyük komponentlerinden biri olmasının yanında periselüler ve intraselüler olarak da bulunabilmektedir.

Biyolojik fonksiyonu eklem sinovyal sıvısı ve ya göz içerisi gibi baē dokunun elastotvizeozitesini saēlamak,doku hidrasyonunu ve su transportunda rol oynamak,proteoglikanın ekstraselüler matrikstek i devamını saēlamak,reseptör aracılı hücre tutunması,hücre adezyonu,hücre göçü,mitozu,tümör büyümesi,metastazı ve inflamasyon gibi pek çok görevi vardır²⁶⁻³³.

Ekstraselüler matrikte normal fizyolojik koşullarda hyaluronik asitin birbirine sarmalanmış bir şekilde bulunmakta ancak patolojik koşullara cevap olarak ve inflamasyona cevap olarak bu şekli deēişmektedir^{33,34,35}.

Bu çalışmadaki amacımız yara iyileşmesinin her basamaēında etkili olan yara iyileşmesinde düzenleyici ve fibrozisi oluşumu üzerine etkileri bilinen hyaluronik asitin silikon implant materyali etrafında oluşan kapsül yapısına etkilerini ortaya çıkarmak ve klinik kullanımda implant materyallerinde kapsül oluşumuna baēlı gelişen komplikasyonları azaltabilecek ipuçları elde etmektir.

GENEL BİLGİLER

İmplant Materyalleri

İmplant materyallerinin tıpta kullanımı 5000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Neolitik Peru kabilelerinin bulunduğu kazılarda özellikle frontal bölgedeki defektlerin altın plakalar ile kapatıldığı görülmüştür³⁶. Otojen dokuya kıyasla donör sahanın olmayışı, ameliyat süresini ve morbitideyi azaltması, rezorbsiyona daha az uğramaları gibi avantajları nedeniyle zamanla tıpta yaygın kullanım alanı bulmuştur. İdeal bir implantın allerjik, karsinojen ve teratojen olmaması, korozyona dirençli, enfeksiyona dayanıklı, inert, biyouyumlu, gerilme ve dış travmalara dayanıklı, sterilizasyon şartlarına uyumlu, istenilen formda üretilebilmesi ve ekonomik olması tercih edilir³⁷. Kimyasal kompozisyonlarına göre implant materyelleri 4 grupta toplanabilir.

1. Metal alaşımlı implantlar
2. Seramik veya cam alaşımlı implantlar
3. Polimerler
4. Biyolojik materyaller

İmplant Materyali Olarak Silikon

Silikon sıralı silikon (si) ve oksijen (o) moleküllerinden oluşan polimer yapıda bir maddedir. İki metil yan zincirden oluşan poly-dimetilsiloksan (PMDS) pek çok medikal uygulamada kullanılan silikon formudur³⁸. PDMS'nin değişen molekül uzunluğu ve ağırlığı silikonun biyolojik ve mekanik yapısını belirler. Düşük molekül ağırlıklarda (< 30 monomer) akışkan yağ kıvamında iken, yüksek molekül ağırlıklarda (> 3000 monomer) solid yapıdadır. Mekanik yapılarını etkileyen çapraz bağlama veya farklı yan zincirlerle etkileşim, silikonun 1000' den fazla medikal alanda kullanımına olanak sağlamıştır.

Tıbbi amaçlı silikon, dimetilsiloksanın polimerizasyonu ile elde edilir. Polimerizasyon işlemiyle birlikte dimetilsiloksan aralıklarında lineer zincirler oluşur ve bu zincirlerin uzunluğu silikonun akışkanlığını belirler^{37,39}. Kısa polimer zincirler sıvı silikonu oluştururken, zincirlerin uzaması silikona jelöz form kazandırır. Polimerlerin çapraz ve yan bağların artırılması silikonu katı hale getirir. Polidimetilsiloksanın elastikiyet ve dayanıklılığının artırılması için vulkanizasyon denilen işleme tabi tutulur. Bu işlemde polidimetilsiloksan ağı arasındaki boşluklar

demir oksit ve benzol peroksit gibi maddelerle doldurulur Medikal kateterler, şant ve drenaj tüpleri, meme protezi yüzeyi, eklem protezleri, penil protezler vulkanizasyon tekniğiyle üretilen yüksek yoğunluklu silikon elastomerleridir ³⁹.

Meme büyütülmesi amacıyla Uchida⁴⁰ ilk kez 1961 yılında memeye sıvı silikon enjeksiyonu gerçekleştirmiş, ancak klinik takiplerde Chaplin 1969 yılında sıvı silikon enjeksiyonların meme nodülleri, kronik inflamasyon, yağ ve cilt nekrozları ve mortaliteye yol açtığını bildirmiştir⁴¹. Uzun dönem klinik gözlemlerde meme kontüru restorasyonu için yapılan silikon sıvı enjeksiyonların “Human Adjuvant Disease” adlı otoimmün hastalığa neden olduğu, yabancı maddenin migrasyonu sonrası yağ dokusunda fibröz kapsül reaksiyonları oluşturduğu bildirilmiş, bu nedenle 1992’den beri kullanımdan çekilmiştir ^{39,42}.

Çalışmada kullanılan silikon blok yüksek molekül ağırlıklı PMDS monomerlerinden oluşan solid yapıda bloktur. Biyolojik olarak inert, toksik olmayan ve yanmaz bir materyaldir.



Şekil – 1: Silikon blok

Meme Büyütme Amaçlı Kullanılan İmplantlar

Meme implantların kullanılmasıyla beliren komplikasyonlar ve dezavantajlar sonucu istenilen temel kriterler de belirlenmiştir. Buna göre aranan temel iki kriter güvenilirlik ve etkinliktir. İmplant güvenilirliğini toksik, teratojenik, immunojenik, karsinojenik olmaması ve mamografi üzerindeki etkisinin olmaması belirlerken, etkinliğini ise kapsüler kontraktür, deflasyon, palpasyonla ele gelmesi ve anatomik paket içerisindeki kıvrılma olasılığının düşük olması belirler^{20,43}. Bu kriterler göz önüne alındığında kullanılan dolgu materyalleri ve implant seçenekleri de zamanla sınırlanmış ve ideal olanları tıpta kullanıma sunulmuştur. Modern anlamda meme büyütme ameliyatı için silikon jel implantların kullanımı ilk kez 1960'da Cronin ve Gerow⁴⁴ tarafından tariflenmiş ve ilk kadın hastaya 1962'de implant konulmuştur.

Silikon jel İmplantlar

Silikonun özellikle inert ve yumuşak oluşu tıpta kullanılmasını cazip hale getirmiştir⁴⁵. Silikonun yanı sıra meme augmentasyonu için alternatif dolgu materyelleri olarak organik polimerler olarak lipidler (trigliseridler, soya yağı, yer fıstığı yağı), hidrojel, polivinilpirolidon, hidroksipropilmetilselüloz, hyalüronik asit, yosun ve kimyasal olarak da polietilenglikoller denenmiştir⁴⁶.

İlk nesil implantlar (1962-1970) kalın kılıf (shell), kalın jel ve arka kısmı Dacron yama ile kaplı ve damla (tear drop) şeklindeydiler. Ancak %30-50 oranında kapsül kontraksiyonu geliştiği görülmüştür³⁹.

İkinci nesil implantlar (1970-1982) daha ince kılıf, ince jel ve yuvarlak yapıya sahiplerdir. Bu dönemde poliüretan kaplanmış silikon jel dolu implantlar geliştirilerek kapsül formasyonu gelişiminin azaltılması amaçlanmıştır. Ancak poliüretanın çevre dokuya sıkıca yapışması ve vücuttaki çözünümü sonucu toluen 2,4 diisosiyanat ve toluen 2,6 diisosiyanat gibi karsinojenik iki ürünün oluştuğunun saptanması üzerine implantlar A.B.D.de kullanımdan kaldırılmıştır^{46,47}. Buna karşın Latin Amerika ve Avrupa'da poliüretan kaplı protezler yaygın olarak kullanılmakta, uzun dönem sonuçlarının güvenilir olduğu ve kapsül kontraktürünü %0.4'e kadar indirgeyen çalışmalar bildirilmiştir⁴⁸.

Üçüncü nesil implantlar 1982'den itibaren halen kullanılmakta, kalın kılıf ve kalıf jel içeren yuvarlak şekle sahiplerdir. Dördüncü nesil implantlar 1986'da kullanıma sunulmuş, üçüncü nesille benzer özellikler taşır fakat implant yüzeyleri kapsül kontraktürün azaltılması amacıyla pürüzlü (textured surface) üretilmiştir⁴⁹. Aynı zamanda yuvarlak ve anatomik formları mevcuttur. Beşinci nesil implantlar ise 1993'te piyasaya sürülmüş, anatomik ve yuvarlak şekillere sahip, ana özellikleri pürüzlü yüzeyli ve içerisinde koheziv silikon jel ile doldurulmuş olmalarıdır.

Yerleştirilen anatomik pakette kaymaması ve kapsül kontraktürün az görülmesi nedeniyle avantajlıdır ⁴⁵.

Şişirilebilir Salin İmplantlar

Arion, 1965 yılında Fransa’da şişirilebilir salin implantların kullanımını bildirmiştir⁵⁰. Ana avantajları implantın küçük bir insizyonla yerleştirilebilir olmasıdır. İçerik olarak serum fizyolojik kullanıldığından silikon jel sızıntısındaki klinik şikayetler gözükmez ve kapsül kontraktürü daha az görülür. Dezavantajı olarak implantın sönmesi (deflation), görünür yüzey kırışıklıklar ve hacminden daha az sıvı verildiğinde boğum benzeri histir. Hacminden daha fazla şişirildiğinde ise balon hissi görünümü yaratabilir, zamanla doku genişletici gibi mekanizma benzeri etkiyle cilt incelir ve yer değişimleri görülebilir ⁴⁵.

Çift Lümenli İmplantlar

Çift lümenli implantları Hartley, kapsüler kontraktürü önlemesi amacıyla 1976’da tanımlamıştır⁵¹. İç kısımda silikon jel ile doldurulmuş lümen ve dış kısımda ise şişirilebilir salin lümen özelliklerine sahiptir. Aynı zamanda dış lümenin jel, iç lümenin salin olduğu implantlar da mevcuttur. Buradaki amaç silikon jelin önünde bariyer oluşturulmasıdır. Salin içerisine antibiyotik ve steroid gibi kapsül kontraktürünü azaltan maddeler de eklenebilir. Ellenberg ve Braun 291 olguda çift lümenli implant ile birlikte intraluminal steroid uygulamanının, silikon jel implanta daha üstün olduğunu gözlemlemiştir⁵². Günümüzde mastektomi sonrası meme rekonstrüksiyonu gerektiren ve cildin yetersiz olduğu olgularda kullanılan Becker doku genişletici protezler jel dolu dış lümen ve salin dolu iç lümen formunda tasarlanmış modifiye çift lümenli implantlardandır.

Kapsül Formasyonu ve Kontraktürü

Kapsül formasyonu, vücudun yabancı materyallere karşı oluşturduğu fibrotik yabancı cisim reaksiyonudur. Bütün cerrahi implantlarda bir dereceye kadar kapsül formasyonu gelişir , fakat kapsül kontraktüründe klinik problem bu fibrotik dokunun, yara iyileşmesindeki hipertrofik skar ve keloide benzer aşırı cevabıdır⁵³. Kapsül formasyonun istenmeyen bu aşırı şekli kapsül kontraktürü olarak adlandırılır. Normal kalınlığı 1mm’yi geçmez¹ ve yara iyileşmesinin bir parçası olduğu ve implantın yerinde tutulmasını sağladığı savunulur^{54,55}. Silikon tabakalar, doku genişleticiler, temporomandibuler eklem protezleri, çene, yanak ve meme protezleri gibi silikon implantlar rekonstrüktif ve estetik cerrahide sıklıkla kullanılmaktadır. Silikon implant çevresinde kapsül formasyonu sıklıkla gözlenen bir durumdur⁵⁶. Kapsül formasyonu üç tabakadan oluşur ⁵⁷:

- 1) İç tabaka: silikon implant bitişiğindeki sinovyum benzeri dokudan oluşur. Kollajen uzanımları ince ve düzenlidir.
- 2) Ara tabaka: gevşek bağ dokusundan oluşur kollajen lifleri görünür.
- 3) Dış tabaka: kollajen lifleriyle birlikte , myofibroblast ve damarlardan oluşan, kontraktüre neden olduğu düşünülen katmandır. Kollajen liflerin düzeni kapsül kalınlığı arttıkça hipertrofik skardaki histolojiye benzer halde değişim gösterir ⁵⁸.

Kapsülün meydana geliş aşamalarına yönelik yapılmış histolojik incelemelerden elde edilen sonuçlara göre kapsül gelişimi 3 döneme ayrılabilir.

1. Erken dönem:

Kapsül oluşumunda hücrel reaksiyon belirgindir. İlk hafta içinde implant çevresinde makrofaj, fibroblast ve lenfositlerden zengin granülasyon dokusu oluşur. Fibroblastlar kollajen, fibronektin, glikozaminoglikan ve kollajenaz salınımından sorumlu ana hücredir. Wolfram ve ark. implant çevresindeki lenfosit özelliklerini, periferik kan ile karşılaştırdığında $CD4^{+}$ hücrelerin baskın olduğunu, intrakapsüler T Hücrelerinin IL-17,IL-6, IL-8 ve TGF- β 1 üretiminde artış gösterdiğini belirtmiştir⁹. Dördüncü haftanın sonunda kapsül yapısındaki hücreler giderek azalır, kapsül kollajen liflerin baskın olduğu bir yapıya dönüşür. İkinci aya kadar kollajen sentezi ve birikimi devam eder ve bu süreçten sonra kollajen miktarı azalıp yeni kapiller damarların oluşumu belirginleşir.

2. Ara dönem:

3-24 ay arası dönemdir. Kapsülde yağ hücresi infiltrasyonu başlar. Yara iyileşme sürecine benzer özellikler gösterir.

3. Geç dönem:

Gecikmiş yara iyileşme etkenlerinin kronik hal alması sonucu meydana gelir. Kollajen lifler zamanla kalınlaşır ^{59,60}.

Kapsül Kontraktürü Nedenleri

Kapsül kontraktürü birçok klinik ve deneysel çalışmalara rağmen nedeni açık şekilde ortaya konulamasa da temelde ortaya sürülen iki teori: hipertrofik skar ve subklinik enfeksiyondur⁵³.

Hipertrofik skarın seroma, hematoma, implant yüzeyi, anatomik lokalizasyon ve silikon jel sızıntısına ikincil olduğu düşünülmektedir. Bu faktörlerden özellikle silikon jel sızıntısı ve mikropartiküllerinin miyofibroblastın aşırı uyarılmasında etken olduğu vurgulanılmaktadır⁶¹⁻⁶⁴. Rudolf⁶⁵ ve Piscatelli'nin⁶⁶ çalışmaları ise miyofibroblast ile kapsül kontraktürü ve şiddeti arasında net ilişki kurulamadığını göstermektedir. Williams ve ark. deneysel çalışmalarında drene edilmeyen hematomaun aşık olarak kapsül kontraktürüne neden olduğunu belirtse de, klinik çalışmalarda bu veri doğrulanamamıştır⁶⁷. Ameliyathane çarşafı ve spanç iplikleri, toz ve eldiven pudrası gibi yabancı maddeler benzer şekilde inflamatuvar programı tetikleyebilir⁵³. Veras-Castillo ve ark. meme implantı sonrası kapsülotomi yapılan hastalarda, kapsül kontraktürünün profibrojenik süreç ile kuvvetle ilişkili olduğunu göstermesi otoimmün mekanizmaların da rol aldığını düşündürmektedir⁶⁸.

Ersek⁶⁹, kollajen liflerin düzensiz yerleşmesine yol açan pürüzlü yüzeyin kapsüller kontraktürü azalttığını vurgularken aksine Fagrell⁷⁰, implant yüzey özelliklerindeki farklılığın, kapsüller kontraktür gelişimi üzerinde önemli etkisinin olmadığını ileri sürmüştür. Barnsley⁷², yapmış olduğu randomize kontrollü çalışma ile kapsüller kontraktür oranını azaltma yönünden, pürüzlü yüzeyli implantların düz yüzeyli implantlardan daha üstün olduğunu göstermiştir. Dempsey ve Latham, 1968 yılında ilk kez subpektoral implant yerleştirme ile meme büyütme tekniğini tariflemiş⁷¹, kapsül kontraktürün daha az görülmesi, implant kenarının kas dokusu ile belirsizleşmesi, meme konturunda artma, düşük enfeksiyon riski ve meme başı hissinde azami koruma nedeniyle bu teknik daha popüler hale gelmiştir⁴⁵.

Subklinik enfeksiyona ikincil kapsül kontraktürü üzerine bir çok çalışma geliştirilmiş ve neden olarak normal cilt florasındaki *S.epidermidis* gösterilmiştir. Tavşan modeli deneysel çalışmada, *S.epidermidis* inokülasyonu yapılan grupta Baker sınıflamasına göre evre 3-4 kapsül kontraktürü geliştiği, kontrol grubuna göre 2-3 kat daha kalın olduğu saptanmıştır⁷³. Klinik çalışmalarda Virden ve ark. kapsül kontraktürü gelişen implantların %56 (15 / 27)'sında bakteri saptamış ve baskın olan mikroorganizmanın *S.epidermidis* olduğunu belirtmişlerdir⁷⁴. *S.epidermidisin* duktal yolla implanta ulaştığı ve biofilm oluşturarak enflamasyonu tetiklediği yaygın kanıdır.

Sonuç olarak kapsül kontraktürü oluşumu çoklu etmenlere bağlı olup, bu konudaki klinik ve deneysel çalışmalar kontraktürün azaltılması için cerrahi

tekniklerin de şekillenmesine yardımcı olmuştur.

Kapsül Kontraktürü Klinik Sınıflandırma Ve Ölçümü

İnspeksiyon, palpasyon ve ağrı kriterleri göz önüne alınarak Baker'ın⁷⁵ 1975'te geliştirdiği kapsül kontraktürü sınıflaması uygulanımdaki kolaylık nedeniyle en çok kullanılan klinik sınıflamadır³⁹

Spear ve Baker 1995'te bu sınıflandırmayı modifiye etmiş, Evre I'i ikiye ayırmıştır⁷⁶. Buna göre Evre IA'da augmented meme yumuşak ve doğal görünümlü iken Evre IB'de augmented meme yumuşak fakat implant görülebilir haldedir. Günlük kullanımda sınıflamanın tedavide yol gösterici olması açısından önemlidir.

Baker sınıflandırılmasına göre I ve II. evre kontraktürler kabul edilebilir olarak değerlendirilip, invazif işleme gerek duyulmazken, III. ve IV. evre kontraktürler cerrahi düzeltmeye ihtiyaç duyar.

Kapsül kontraktürü ölçümü amacıyla görüntüleme tekniklerinden özellikle manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve ultrasonografiden yararlanılmıştır^{77,78}. Zahavi ve ark. gözlemlerinde görüntülemelerde sınır noktasını (cutoff point) 2mm kapsül kalınlığı olarak belirlemiştir⁷⁹. Buna göre ultrasonografide Baker Evre I-II için ortalama 1.14 mm, Evre III-IV için ise 2.39 mm kapsül kalınlığı belirlemiş ve MRG bulgularının da sırasıyla 1.39 ve 2.62 mm ile korele olduğunu bildirmişlerdir.

Memenin kompresyona direnci ve Laplace kanunlarına göre ne kadar sferik şekil aldığı ölçülmesi de alternatif tekniklerdendir. Bu amaçla kullanılan metodlar⁴⁶:

Kompresometri: Dinamometre cihazı yardımıyla memenin kompresyon kabiliyetini ölçer.

Aplanometri: Memenin kompresyon kabiliyetini ölçmede kullanılır. Bu amaçla, üzerinde özel bir skalası olan, saydam ve yeterli ağırlıkta cam veya pleksiglas levha hazırlanmıştır. Ölçüm, meme levha üzerine yerleştirildikten sonra kompresyon kabiliyetinin değerlendirilmesi esasına dayanır.

Tonometri: Birbiri içinde hareket eden ve ilerleyen iki silindirin memeye bastırılması ile memenin direncini ölçen bir yöntemdir.

Kapsül Kontraktürü Oluşumunu Önleme Ve Tedavi

Kapsül kontraktürü riskini azaltmak amacıyla implant özellikleri ve cerrahi tekniklerde değişiklikler görülmüştür. Ana değişim pürüzlü yüzeyli koheziv jel silikon implantların kullanılmasıyla olmuş ve anatomik lokalizasyon gözetmeksizin subglandüler ya da submusküler konulan ve düşük kapsül kontraktürü gösteren salin implantların önüne geçmiştir^{72,53,80-83}. Klinik deneyimler subpektoral yerleşimli implantların kapsül kontraktürünü azalttığını göstermesinden sonra cerrahların öncelikli tercihi olmuş ve aynı zamanda subglandüler yerleşimli kapsül kontraktürü tedavisi için de seçenek oluşturmuştur^{82,84}. İmplantın yerleşeceği paketin mümkün olduğunca görülerek açılması, kanama kontrolüne azami önem gösterilmesi hematoma riskini, dolayısıyla kontraktür riskini azaltır.

İnfeksiyöz teori temel alınarak temiz cerrahi saha oluşturma ve implantın yerleşeceği paketin antibiyotikli solüsyonlarla yıkanması önerilmiştir. Povidon iyodin (%5'lik) yıkamanın bakteriyel kolonizasyonu etkili bir şekilde azalttığını bildiren Burkhardt'ın çalışmasına karşın 2000 yılında FDA bu tekniğin implant kılıfını zayıflattığı ve deflasyona neden olduğunu belirtmiştir¹⁴. Günümüzde önerilen antibiyotikli solüsyon 50.000 ünite basitrasin, 1gr sefazolin ve 80 mg gentamisinli 500mL serum fizyolojiktir⁸⁵. Mladick'in⁸⁶ "No-touch" teknik olarak tariflediği, implantın pudrasız eldiven ile tutulması ve insizyon sahasının yeniden sterilize edilip paket içine yerleştirilmesi yaygın kabul görmüştür.

Klinik çalışmalarda intraluminal steroid kullanımında başlarda iyi sonuçlar alınsa da gecikmiş yara iyileşmesi, implant ekspozisyonu ve dermisin incilmesi gibi steroide ikincil komplikasyonlar nedeniyle terk edilmiştir^{19,87,88}. Veras- Castillo, Baker Evre III-IV kapsül kontraktürü gelişen 20 serilik hasta grubunda günde 1800 mg oral pirfenidon kullanımıyla kontraktürlerin 12 aylık sürede Evre I-II ye kadar indirgendğini göstermesi cerrahi tedavilere alternatif olarak değerlendirilebilir⁶⁸.

Kronik inflamasyonu azaltmaya yönelik çeşitli ilaçların kapsül formasyonunu azaltıcı etkisi araştırılmıştır. Zafirkulast,pirfenidone,steroidler bu amaçla kullanılmış ve kapsül formasyonunu azaltıcı etkilerinin olduğu gösterilmiştir^{89,90}

TGF- β gibi fibrozisin tetikleyicisi büyüme faktörünün inhibisyonunda kapsül formasyonu azalttığı gösterilmiştir⁹¹. Vinnik, hastaların post-operatif dönemde günde iki kez, 15 saniye süreli üç masaj hareketinin (kapsül ekspansiyon egzersizleri) yapılmasıyla kapsül formasyonunun en aza indirgenebileceğini ortaya koymuştur⁹². Ancak bu tip zorlayıcı hareketlerin, silikon jel dolu implantlarda jel sızıntısını artırabileceği ve rüptürlere yol açabileceği için sınırlı kullanım alanı bulmuştur. Kapsül kontraktürü geliştikten sonra etkin tedavi yöntemi kapsül bütünlüğünün

bozulmasıdır. Günümüzde tercih edilen cerrahi teknikler, internal kapsüler scoring, parsiyel kapsülektomi ve total kapsülektomidir.

Kapsülün Histolojik Özellikleri

Silikon implant materyaline karşı oluşan lokal reaksiyon sonucu olan kapsül ve kapsül kontraktürü ekstraselüler özellikle kollajen gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin aşırı üretimi sonucunda oluşur. Proliferatif inflamatuvar reaksiyon sonucunda mezenkimal hücrelerin dense hyalin kollajenöz paterne tıpkı bir metaplazi karakterinde dönüşümü sonrası implantlar etrafında fibrozis ilerleyici olur ve kapsül kontraktürü gelişir^{93,94}.

Histolojik olarak fibröz kapsüller 3 tabakalı kompozisyonunda olurlar. İç tabaka tek ve multibakalı olarak silikonun yüzeyinde makrofaj ve fibroblastlardan oluşur. Bazı vakalarda daha içi yüzde psödoepitelyal bir hücre tabakası yani sinovia benzeri metaplazi bulunabilir. Sinovyal benzeri metaplazi de çok çeşitli dev hücreler ve mononükleer makrofajlardan oluşur. Orta katman internal vasküler beslenmesi olan gevşek bağ dokusundan oluşur. Dış tabaka eksternal damarlanması olan yoğun bir bağ dokusu tabakasından oluşur. Dış tabakada kollajen bantları fibrozislerde olduğu gibi kapsüller yüzeye paralel olarak bulunur. Yüksek prokollajen tip 1 ve tip 3 uzun süreli fibrozislerde daha yüksek oranda bulunur.

Literatürdeki araştırmalar Baker sınıflamasına göre kapsüller kontraktürün ilerlemiş olduğu vakalarda Wilfinger histolojik bulgularında arttığını göstermiştir^{95,96}

GRADE	BAKER	WILFINGER
1	İMLANT PALPABL VE VGÖRÜNÜR DEĞİL	İNCE VE KONTRAKTE OLMAMIŞ KAPSÜL
2	İMLANT HAFİF SERT, GÖRÜNÜR DEĞİL	DEV HÜCRELERİN OLMADIĞI KONSTRİKTE FİBROZİS
3	İMLANT SERT VE GÖRÜNÜR	DEV HÜCRELERİN OLDUĞU KONSTRİKTE FİBROZİS
4	İMLANT ÇOK SERT, DEFORME VE AĞRILI	İNFLAMATUAR HÜCRE, GRANÜLOMA, NEOVASKÜLARİZASYO N, OLASI NÖROMA

TABLO 1: KAPSÜL KONTRAKTÜRÜNÜN KLINİK VE HISTOLOJİK SINFLANDIRMASI

Hyaluronik Asit

Hyaluronan olarak da bilinen hyaluronik asit insan vücudunda doğal olarak bulunur ve ekstraselüler matriksin yüksek molekül ağırlıklı tek sülfatlanmamış lineer glikozaminoglikan yapısında polimeridir. Yapısında birbirine 'β' bağları ile bağlanan tekrarlayıcı (b1-3) N-asetil glukozamin ve (b 1-4) D-glukuronik asit ünitelerinden oluşan lineer yapıda polimer yapıda glikozaminoglikandır. Disakkarit üniteleri 30000 tekrara kadar olabilir ve molekül ağırlığı 20.000 kDa'a kadar ulaşabilmektedir. İlk kez 1934 yılında Karl Meyer ve John Palmer tarafından göz vitröz humorde tespit edilmiş ve in vitro 1964 yılında sentezlenmiştir.²⁵ Büyük kısmı dermis ve epidemiste bulunur ve beyin , santral sinir sistemi ve sinovyal dokuda bulunur. Primer olarak ekstraselüler matriksin en büyük komponentlerinden biri olmasının yanında periselüler ve intraselüler olarak da bulunabilmektedir.

Biyolojik fonksiyonu eklem sinovyal sıvısı ve ya göz içerisi gibi bağ dokunun elastovizkozitesini sağlamak, doku hidrasyonu ve su transportunda rol oynamak, proteoglikanın ekstraselüler matriksteki devamını sağlamak, reseptör aracılı hücre tutunması, hücre adezyonu, hücre göçü, mitozu, tumor büyümesi, metastazı ve inflamasyon gibi pek çok görevi vardır.^{26,27,28,29,30,31,32,33}

Ekstraselüler matrikste normal fizyolojik koşullarda hyaluronik asitin birbirine sarmalanmış bir şekilde bulunmakta ancak patolojik koşullara cevap olarak ve inflamasyona cevap olarak bu şekli değişmektedir.^{33,34,35}

Hyaluronik Asit Kimyasal Yapısı

Esas olarak iki şeker molekülü hyaluronik asit yapısını oluşturmaktadır. Bunlar D-N –Asetilglukozamin ve D glukuronik asittir ve birbirine β,1-4 ve β 1-3 Glikozitik bantlarla bağlanmıştır.^{97,98} HA yapısının belkemiği iç yapısında bulunan ve disakkarit ünitelerin kimyasal yapısıyla sıkı bağlantılar oluşturan fizyolojik koşullarda birleşik halde bulunmasını sağlayan hidrojen bantlarıdır

Aksiyel hidrojen bantları görece hidrofobik non-polar bir yüz oluşturur, Ortasındaki zincirler daha polar ve hidrofilik yapıyı oluşturur ve bu hyaluronik asitin fizyolojik koşullardaki bükülmüş birleşik sarmal yapısını oluşturur.⁹⁸

Hyaluronik asitin bükülü yapısı konantrasyonu ve zincir uzunluğuna göre vizkozitesini belirler. Düşük konantrasyonlarda orta dercede, yüksek konantrasyonlarda daha visköz ve jel yapısında bulunur.⁹⁸

Biyolojik Özellikleri

Hyaluronik asitin ekstraselüler matrikste hücrelerle ve diğer biyolojik yapılarla bağlantı kurarak gerçekleştirdiği çeşitli yapısal görevleri vardır. Bu görevleri spesifik reseptörler ve moleküller ile yapar. Hücrelerel sinyal transdüksiyonunda rol alan aggregan, versican gibi moleküller ve CD44, RHAMM, TSG6, GHAP, ICAM-1, ve LYVE-1 reseptörler HA ile bağlantı kuran reseptörlerdir. Bu reseptörlerden CD44 (hücre yüzey glikoproteini ve RHAMM (receptor for HA mediated motility) özellikle kanser metastazıyla ilişkisi bulunduğundan beri daha çok araştırılmıştır^{99,100}. CD44 pek çok hücre yüzeyinde bulunan ve hücre-hücre etkileşiminde birçok fonksiyonu olan ve HA'nın esas reseptörü olarak kabul edilen glikoprotein yapısında bir reseptördür¹⁰¹.

Bir diğer reseptör RHAMM hücre yüzeyinin yanı sıra sitoplazma ve çekirdekte de bulunur ve büyüme faktörlerine hücre cevabı ve özellikle düz kas ve fibroblastların migrasyonunda rol oynar^{102,103,104}

ICAM 1 (Hücre içi adezyon molekülü) hyaluronik asit için tanımlanan hücre yüzeyinde bulunan ve literature göre hyaluronik asitin plazmadan ve lenfatik sistemden uzaklaştırılmasını sağlayan ve aynı zamanda HA'nın immun komplekslerin polimorfonükleer hücrelere bağlanmasını inhibe etme görevini de üstlenen reseptördür¹⁰⁵

LYVE-1 (lymphatic vessel endothelial HA receptor) Lenfatik endotelial hücrelerde bulunan, karaciğer ve dalak sinusoidallerinde aktive edilmiş makrofajlar üzerinde bulunduğu gösterilmiştir.

TLR (toll-like receptors) interlökin-1 reseptör ailesinin bir üyesidir. TLR-4 pek çok dokuda bulunur^{106,107,108} (ve monosit, makrofaj ve dendritik hücreler için aktivator görevi görür). Düşük molekül ağırlıklı HA TLR-4'e bağlanır. Yüksek molekül ağırlıklı HA immun cevap için düşük molekül ağırlıklı fragmanlara bölünür^{102,108,109}.

HA makrofaj, endotelial hücre, eozinofil ve bazı epitel hücrelerin genetik ekspresyonunu stimüle eder^{110,111} ancak orta ve düşük molekül ağırlıklı HA (2×10^4 – 4.5×10^5) genetik stimülasyonda rol oynar.

Hyaluronik Asit Sentezi

Hyaluronik asit, hyaluronan sentaz ile golgi aparatında üretilir. HA sentezi devamlılık gösteren bir süreçtir ve fibroblast, keratinosit ve kondrositler tarafından üretilir. Cilt ve kartilaj dokusunda HA büyük bir alan kapsar ve HA sentezi fazla olur. Hyaluronan sentaz (HAS1, HAS2, HAS3) bir grup integral membran proteinidir^{102,112,113} HAS3 en aktif enzim formu iken HAS1 daha az aktiftir. HAS1 ve HAS2 daha büyük boyutlarda HA sentezlerken, HAS3 daha kısa HA zincirleri oluşturur. HA üretimi hyaluronan sentaz ile tekrarlayıcı disakkarit ünitelerinin oluşmasıyla oluşur ve 10.000 ve fazlasına kadar tekrar oluşabilir ve moleküler ağırlığı 4 milyon Da'a ulaşabilir. Her bir disakkarit in molekül ağırlığı 400 Da ve ortalama uzunluğu yaklaşık 1 nanometredir. 10.000 tekrar uzatıldığında 10 mikrometreye ulaşır ve bu yaklaşık 1 eritrosit çapına eşittir^{102,114,115,116}

Hyaluronik Asit Degradasyonu ve Eliminasyon Yolları

Yaşayan her organizmada doğal olarak bulunan Hyaluronik asitin yaklaşık üçde biri günlük olarak degrade edilir ve tekrar sentezlenir¹¹⁷. Hyaluronik asit degradasyonu basamaklı olarak devam eden enzimatik ve non-enzimatik süreçle olur. 3 çeşit enzim hyaluronidaz, β -D- glukuronidaz, β -N-asetil-hegzominidaz tarafından enzimatik süreç gelişir. Bu enzimler hücrelerarası boşlukta ve serumda bulunur. Hyaluronidaz yüksek molekül ağırlıklı HA'ı küçük fragmanlara ayırır ve diğer 2 enzim terminal şekerleri parçalar^{102,118,119}

Enzimatik olmayan parçalanma termal ve gerilme kuvvetleriyle olur. Isı artışı degradasyona yol açar ve viskozitede azalmayla sonuçlanır¹¹⁸ 70 kg bir insan vücudunun 15 gr'ını Hyaluronik asit oluşturur ve bunun büyük kısmı deri ve kas iskelet sistemi ekstraselüler matriksinde bulunur¹⁰² HA yarılanma ömrü kartilaj da 1-3 hafta, epidermisde ise 1-2 gündür. Kandaki yarılanma ömrü 2-5 dakika gibi oldukça kısa bir süredir.

Hyaluronik asitin degradasyonu bir dizi enzimatik reaksiyonla olur. İki adet hyaluronidaz Hyal1 ve Hyal2 somatik dokulardaki dominant katabolizmadan sorumludur. Ekstraselüler yüksek molekül ağırlıklı HA hücre yüzeyindeki CD 44 reseptörleri aracılığıyla (ve Hyal2 glikozilfosfatidilinozitol (GPI) bağlı enzim aracılığıyla plazma membranının dış yüzeyinde) yüksek molekül ağırlıklı HA 20 kDa boyuttan yaklaşık 100 sakkaritlik üniteler parçalanır. Parçalanmış bu hyaluronik asit fragmanları endozom ve lizozomlarda terasakkaritlere dönüştürülür. β glukuronidaz ve β -N asetil hegzominidaz yardımıyla degradasyon tamamlanır.

Hyaluronik Asitin Biyomedikal Uygulamaları

Hyaluronik asit'in terapödik uygulamaları 1968 yılında yanığın pürifiye HA ile tedavi edilmesine dayanır²⁵. Hyaluronik asit'in vücutta hızlı degradasyonu ve döngüsü HA biyomedikal uygulamalarını kısıtlar. Bu yüzden saf hyaluronik asitin kimyasal modifikasyonu ve çapraz bağlanması amaçlanarak tıbbi uygulamalara olanak sağlamıştır^{120,121,122}. Çapraz bağlama yöntemleri suda çözünür karbodiimide çapraz bağlama¹²³, polivalan hidrazide¹²⁴ çapraz bağlama, divinil sulfon¹²⁵ disülfid¹²⁶ glisidil metakrilat-HA konjugasyonunun fotoçapraz bağlama ile elde edilmesi¹²⁷ gibi yöntemler kullanılmaktadır. Çapraz bağlanma hyaluronik asitin enzimatik degradasyonunu uzatır ve uzun dönem stabilizasyon sağlar. Farklı dansitelerde çapraz bağlanma ile HA ortopedi, kardiyovasküler sistem ve kozmetik alanlarda kullanılabilmektedir. Fotopolimerizasyonla elde edilen HA kardiyak kapakçık onarımlarında kullanılmaktadır¹²⁸. Benzil modifikasyonlar kartilaj doku mühendisliğinde kartilaj rejenerasyonunda ve fibrokartilaj doku oluşumunda kullanılmaktadır^{121,129}. Osteoartrit tedavisinde sinovyal sıvı idamesinde çapraz bağlı veya bağlanmamış HA özellikle ağrı tedavisinde kullanılır²⁵

Dolgu Maddesi Olarak Hyaluronik Asit

Hyaluronik asit dolgu maddesi ilk defa 1996 yılında kuşlardan elde edilmiştir. FDA tarafından 2006 yılında kabul edilmiştir. HA in dolgu maddesi olarak kullanımı için bir dizi kimyasal süreç gerekmektedir. Doğal olarak bulunan HA hızlı bir şekilde parçalanırken çapraz bağlanma yöntemi ile kalıcılığı artırılmaktadır. Çapraz bağlanma polimer bir ağ oluşturur ve visköz bir solüsyondan zayıf bir jel formuna dönüşür. Dolgunun dayanıklılık süresi çapraz bağlanma oranıyla artış gösterir¹³⁰

Dolgu maddesi olarak kullanılan hyaluronik asitin çapraz bağlanmasında iki yöntem daha sık kullanılır. Birincisi 1,4 butanediol diglisidal eter, ikincisi divinil sulfon. İki yöntemde hidroksil gruplarını hedef alır¹³⁰

Hyaluronik asit dolgular arasındaki farklılık, hyaluronik asitin kaynağı, konsantrasyonu, partikül sayısı, çapraz bağlanmanın dercesi ve tipi ve lokal anestezi içerip içermemesidir. Dolgular için hyaluronik asit horoz ibiği veya stafilokokus equine bakterisinin sentetik fermentasyonu sonucu elde edilmiştir.

Dolgunun kalıcılığı HA in molekül ağırlığının ve çapraz bağ sayısının artırılması ile artırılır. Ancak HA in bu özelliklerini artırmak uygulanabilirliğini zorlaştırır. Çalışmamızda egzojen hyaluronik asit olarak Restylane(Q-Med,Uppsala,Sweden) kullanıldı. Restylane 1,4-Butanediol Diglycidyl Eter ile çapraz bağlanmış total hyaluronik asit konsantrasyonu 20 mg/ml, partikül büyüklüğü 250 µm (100,000 partikül /mL), bifazik, hyaluronik asit jel konsantrasyonu 15 mg/ml olan FDA onaylı bir dolgu maddesidir.

Hyaluronik Asit Ve Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi birbiri ile iç içe geçmiş inflamasyon, proliferasyon ve remodeling fazlarından oluşur. Sitokinler aracılı hücresel süreç, yapısal proteinler ve polimerler yara iyileşmesinin her aşamasında rol oynamaktadır. Hyaluronik asit yani Hyaluronan ekstraselüler matriksin polisakkarit yapısında bir glizaminoglikandır. Yara iyileşmesindeki rolü boyutuna göre değişmektedir^{131,132}.

Yara iyileşmesinde hyaluronan rolü;

- İnflamatuar faz
 - ✓ Pıhtılaşma sürecini başlatmak için fibrinojene bağlanır
 - ✓ İnflamatua hücre göçüne izin verir
 - ✓ Hücre infiltrasyonunu kolaylaştırmak için ödematöz alan oluşturur
 - ✓ İnflamatuar cevabı azaltmak için nötrofil migrasyonunu inhibe eder
- Proliferative faz
 - Fibroblastların yara alanına göçüne izin verir
 - ✓ Ekstraselüler matriksi yeniden şekillendirir, yapısal organizasyon sağlar
 - ✓ Anjiogenez için matriks metalloproteinazları stimüle eder
 - ✓ Keratinosit migrasyonu ve prliferasyonunu uyarır
- Remodeling faz
 - ✓ Normal ve patolojik skar dengesini kurar

HA polimerleri omurgalıların vücutlarında aynı anda çeşitli değişen boyutlarda bulunmaktadır.Çok büyük boyutlardaki HA daha çok ekstraselüler alanda bulunur ve boşluk dolduran düzenleyici ve yapısal fonksiyonları vardır.Orta ve küçük polimerler anjiogenik,inflamatuvar ve immunstimülatör özellikleri vardır.Bunlar vücudun alarm sistemi olarak tariflenmiştir

Fötal yara iyileşmesinde HA'ın rolü büyüktür.Ha seviyesi proliferatif fazın sonunda erişkinlerde azalırken fötus da HA seviyeleri azalmaz ¹³³Fötal çevrede HA degradasyonu olmaz.Fötal ekstremitte in vitro olarak kültüre edildiğinde ve açık yara oluşturulduğunda egzojen HA eklenmesinin skarı azalttığı gösterilmiştir¹³³ Erken fötal dönemde CD 44 ve RHAMM reseptörlerinin erişkine göre daha az oranda olduğu gösterilmiştir¹³⁴

Fötal yaralar yüksek HA seviyelerinden dolayı skarsız iyileşir^{133,134} İn-vitro ortamda erişkin insanların fibroblastı yükselmiş HA' e fötal fibroblastlar gibi reaksiyon verir¹³³.Deneyisel modellerde egzojen hyaluronik asit uygulamasının fibrozisi ve fibroze bağlı yapışıklıkları azalttığı gösterilmiştir Balasz ve denlinger ¹³⁵ hyaluronandan zengin çevrede fibröz skarın azaldığı ve west ve ark. Erişkin ve geç gestasyon dönemindeki fetal iyileşmenin ortamdan hyaluronik asit uzaklaştırıldığında fibröz skarla sonuçlandığı gösterilmiştir İnsan yara modellerine yüksek HA içern amniyotik sıvının eklenmesinin iyileşmey hızlandırdığı ve epitelizasyonu artırdığı,aynı deney grubunda amniyotik sıvı içerisine hyalüronidaz eklenen gruplarda iyileşmenin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir¹³⁷Yüksek molekül ağırlıklı HA anjiogenezi inhibe ederken,düşük molekül ağırlıklı HA anjiogenezi artırdığı deneysel mdellerde gösterilmiştir¹³⁷

Erişkin derinin kollajen içeriği daha çok tip 1 kollajendir.Tip 3 kollajen daha çok fötal dokularda mevcuttur.Hyaluronik asit uygulamasının tip 3 kollajen yapımını indüklediği gösterilmiştir¹³⁸

Egzojen HA uygulamasının en büyük etkisi fibroblastlardaki kollajen sentezini anlamlı olarak azaltmasıdır¹³⁹.

Hyaluronik asit'in fibrozis ve inflamasyonu azalttığını gösteren çalışmalara karşın literatürdeki pek çok çalışma da endojen hyaluronik asit'in TGF-β1'i inhibe ederek myofibroblastların diferansiasyonunu azalttığı ancak egzojen hyaluronik asit'in yine TGF-β1 aracılığıyla myofibroblast diferansiasyonunu arttırdığı,fibroblast yoğunluğunu artırdığını göstermiştir^{140,141,142}

Hyaluronik Asit Ve Yara İyileşme Fazları

İnflamatuar Faz

İnflamatuar fazda HA sentezi hızlı artış gösterir¹⁴³ Plateletlerden sentezlenen yüksek molekül ağırlıklı HA ve dolaşımdaki HA ekstrinsik pıhtılaşma mekanizmasına katılır¹⁴⁴ ve yüksek molekül ağırlıklı HA su tutucu özelliğinden dolayı yaralanma bölgesinde ödem oluşur¹⁴⁵ ve bu HA poröz bir çatı oluşturarak hücrelerin ve sitokinlerin yaralanma bölgesine geçişine olanak sağlar¹⁴⁶

İnflamatuar süreç TNF alfa, IL 1 β , IL-8 yüksek HA ile stimüle edilmesiyle devam eder ve vazodilatasyon ve buna bağlı ısı artışı ve kızarıklık gibi inflamasyonun esas belirtileri oluşur¹⁴⁷

Hyaluronik asitin inflammatuar cevabı azaltıcı ve modüle edici etkisi de vardır Bu etkisini TNF- stimulatede gen-6 (TSG-6) aracılığıyla yapar¹⁴⁸ TSG-6 yüksek molekül ağırlıklı HA' e bağlanır ve nötrofil migrasyonunu ve plasmin aktivitesini bloke eder^{149,150,151}

Proliferatif Faz

İnflamatuar fazın sonlarında proliferatif fazın esas hücresi fibroblastlar yaralanma bölgesinde toplanmaya başlar ve bu düşük molekül ağırlıklı HA ve büyüme faktörleri varlığında gerçekleşir^{144,152} Fibroblastlar, kollajen ve yeni GAG üretmeye başlar ekstraselüler matriksi yeniden inşaa eder¹⁵³ Gelişen bu ekstraselüler matrikse granülasyon dokusu denir ve gelişen kollajen ve elastin fibröz bir çatı oluşturur. Granülasyon dokusu elastik olmasına karşın kanamaya meyillidir granülasyon dokusunun bu esas özelliğinden primer olarak anjiogenez sorumludur. Anjiogenezin devamlılığı hyaluronik asitin kısa zincirli oligomerleri sayesinde olur¹⁴⁴ Bu oligomerler hyaladerin CD44 e bağlanırlar ve matriks metalloproteinleri (MMPs) stimüle ederler ve MMPs iyileşme sahasındaki bazal membranı parçalayarak yeni kapillerin oluşması için yol açar. Borgogni ve ark. Ratlarda primer kapatılan ve sekonder iyileşmeye bırakılan yaralara değişik molekül ağırlıklı HA ilave ettiler ve anjiogenezin her iki yaradada fazla olduğunu ve sekonder iyileşme hızının arttığını göstermişlerdir¹⁵⁴

Epitelizasyon yara iyileşmesinin erken dönemlerinde başlar ve keratinositlerce gerçekleştirilir. Keratinositler HA ve esas resptörlerinden biri olan Hyaladerin CD44 eksprese eder ve HA CD44 etkileşimiyle daha fazla keratinosit bölgeye göç eder ve epitelizasyon gerçekleştirilir¹⁴⁴.

Remodeling Faz

Fibroblast ve ekstraselüler matriks etkileşimi ve kollajen sentezi ve degradasyonun devam edip yaranın gerim kuvvetinin arttığı bu faz yara iyileşmesinin en uzun fazıdır. Her yara az veya çok skarla iyileşir. Fötal yaşamın belirli bir dönemine kadar yüksek konsantrasyondaki HA skarsız iyileşmeyi mümkün kılar. Endojen hyaluronik asit'in fibrozisi azaltıcı etkileri bilinirken egzojen hyaluronik asit'in özellikle çapraz bağlı hyaluronik asitlerle ilgili literatürde fibrozis üzerine olumlu ve olumsuz etkilerinin olduğu multifaktoryel çalışmalar mevcuttur^{138,140,141,142}

Yüksek molekül ağırlıklı HA (4×10^2 - 2×10^4 kDa; 2×10^3 - 10^5 şeker)

Ekstraselüler matriksin en büyük polimerleridir, aynı zamanda en yüklü moleküldür. Yüksek molekül ağırlıklı HA eklem boşluğunda, göz içerisinde, umbilikal korda yağlı, şok absorbe edici, boşluk doldurucu ve ekstraselüler matriksi organize edici rolleri vardır. Şok, sepsis, cerrahi sonrası, kan kaybı , yanık gibi patolojik durumlarda dolaşımdaki yüksek molekül ağırlıklı HA konsantrasyonu artar ve doğal bir volüm ekspansiyon edici rol oynar^{144,145}

Yüksek molekül ağırlıklı HA 10^5 sakkarit uzunluğa kadar ulaşabilir ve yapısal özelliğinin yanında anti-inflamatuar ve immunsupresiftir¹⁴⁴. Hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla immün supresif özelliğini yüksek oranda bulunduğu amniyotik sıvıda fetal gelişim sırasında da gösterir. Ovulasyon, fertilizasyon ve embriyogeneze rol oynamasının yanında ve monosit ve makrofaj fagositozunu da inhibe eder. Yüksek molekül ağırlıklı HA hücre proliferasyonunu azaltır.

Düşük molekül ağırlıklı HA

HA fragmanları fizyolojik koşullarda ve patolojik koşullarda da ortaya çıkabilir. Yara iyileşmesinin erken aşamalarında HA miktarında keskin bir artış olur. Bu çok erken aşamalarda yüksek molekül ağırlıklı HA fibrinojene bağlanır ve intrinsik pıhtı formasyonunun bir parçası olur. (Frost and Weigel 1990) Bu HA

plateletlerce üretilir, anti-anjiogenik ve immunsupresiftir. Doku boşluklarını açarak PMN iyileşme sahasına geçmesini sağlar ve debris ve bakterilerden ortamı temizler.

İnflamasyon fazında düşük molekül ağırlıklı HA miktarında artış olur. Monosit ve lenfositlerden oluşan mononükleer hücreler HA fragmanlarının da etkisiyle yaralanma alanına göç ederler. İnflamatuvar sitokinler 1000-1250 sakkarit aralığındaki (200-250 kDa) HA aracılığıyla indüklenir. HA fragmanlarının bu özelliği ilk defa yılında ortaya konmuştur¹⁴⁴.

İnflamatuvar fazla iç içe geçen ve devamlılık gösteren anjiogenik fazda HA fragmanları anjiogenezi sadece endotelial hücreler üzerindeki mitojenik etkisinden değil aynı zamanda endotelial hücre göçü ve multipl sinyal yolları aracılığıyla etkiler^{141,142,144}.

Proliferatif fazda 6-20 sıralı sakkaritler fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini stimüle ederler¹⁴¹. Daha küçük HA fragmanları 4-6 sakkarit immün sistemin antijen sunan hücreleri olan dendritik hücreleri stimüle eder. Aynı fragmanlar endotelial hücre yüzeyindeki TLR (toll-like reseptör) lerde de saptanmıştır. Malignitelerin pek çoğunda HA depolanması artmıştır. Özellikle daha düşük ağırlıklı HA tümör hücrelerinin motilitesini ve invazyonunu da artırdığı gösterilmiştir.

“Transforming” Büyüme Faktör- β (TGF- β)

İlk olarak 1983 yılında plasenta kaynaklı elde edilmiş ve kültür ortamında fibroblast proliferasyonunu sağladığı görülmüştür. Asidik yapılı, 25 kDa ağırlığında bir büyüme faktörü olup, orijinal olarak normal hücreleri malign hücrelere çevirdiği düşünüldüğü için bu isim konmuştur; ancak daha sonra malign dönüşüm etkisi olmadığı anlaşılmıştır. TGF- β farklı dokularda üç farklı izoform şeklinde bulunmaktadır. (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) ve bu formların polipeptit dizilimleri %60 oranında aynıdır. Hedef hücrelerde RI, RII ve RIII olarak adlandırılan membran reseptörlerine bağlandıklarında, hücre içi serin- treonin protein kinaz aktivasyonuna neden olurlar.

TGF- β vücutta trombosit, makrofaj, lenfosit, fibroblast, kemik hücreleri ve keratinositler gibi pek çok farklı hücreden sentezlenebilir ve hemen hemen tüm

hücrelerin duyarlı oldukları bir faktördür; ancak her hücre tipinin bu faktöre yanıtı farklılık gösterir. Genel olarak hücre döngüsünün regülasyonunda, embriogeneze ve organ gelişiminde etkili bir faktördür.

Makrofajlardan kendi salınımını regüle ederken, monositleri FGF, PDGF gibi diğer büyüme faktörlerinin salınımı için uyarır. Yara iyileşmesinin geç fazı olan güçlenme ve remodeling fazında da etkileri vardır. Yara yerinde kemotaktik ve anjiogenezi hızlandırıcı etkisi vardır. Ayrıca kollajen, fibronektin ve glikozaminoglikanlar gibi birçok matriks proteininin sentezini regüle eder¹⁵⁵. İnflamatuar hücre kemotaksisini, ekstra-sellüler matriks sentezini, fibroblastlarda fibronektin ve kollajen üretimini stimüle eder. Özellikle yara iyileşmesinde esas görevi olan hücrelerin proliferasyonu, diferansiasyonu ve gen ekspresyonunu etkileyerek, bazı fibrotik hastalıkların da patogeneğinde rol alır. Ekstra-sellüler matrikse mitojenik, kemotaktik ve anabolik etkileri olup, inflammatuar ve immun cevabın hem hücresel hem de humoral basamaklarında rol alır¹⁵⁶. Yapılan hayvan çalışmalarında, atların ekstremitte distallerinde yerleşik kısmi ya da tam kalınlıklı yaralarda, sıçanlarda timpanik zar perforasyonlarında etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca kronik ülser, hipertrofik skar ve farelerde intestinal mukozal ülserlerin iyileşmesinde olumlu etkileri görülmüştür^{156,157}. Sıçan dorsal cilt insizyon modeli ile yapılan başka bir çalışmada ise, PDGF ile sinerjistik etki göstererek yara iyileşmesini hızlandırdığı ve yara gerilim kuvvetini arttırdığı saptanmıştır¹⁵⁸.

TGF- β hücre tipine, büyüme koşullarına ve ortamda bulunan diğer büyüme faktörlerine göre, çeşitli hücrelere stimülatör ya da inhibitör etkiler gösterebilir. Bu grup içinden TGF- β 1 ve TGF- β 2'nin, in vitro sıçan Schwann hücreleri için güçlü etkili mitojenik ajanlar olduğu ortaya konmuştur. TGF- β 1, adenilat siklazı uyaran fosfokolin ile sinerjistik etki göstererek, Schwann hücrelerindeki mitojenik etkisini ortaya koyar¹⁵⁹. Sinir hasarından sonra ortama gelen makrofajlar ve schwann hücrelerinden salınır. Kendi nörotrofik etkisinin yanı sıra, pek çok nörotrofik faktörün, özellikle de motor nöronlar için potent bir nörotrofik faktör olan GDNF'ün, fonksiyonlarını gösterebilmesi için TGF- β 'ya ihtiyaç duyduğu gözlenmiştir. Sulaiman ve ark.¹⁶⁰ kronik denervasyonda dışardan TGF- β verilmesi ile in vivo olarak Schwann hücre proliferasyonunda ölçülebilir bir artış saptamışlardır

TGF- β 'nın dupuytren kontraktürü,pulmoner fibrozis,karaciğer fibrozis,siroz,glomerülonefrit,skleroderma gibi pek çok fibrotik hastalıkta rol oynadığı gösterilmiştir¹⁶¹. Aynı şekilde periprostetik kapsüler fibrozisde de rolü olduğu ve nötralizasyonunun kapsüler fibrozisi azalttığı ispatlanmıştır¹⁶¹ TGF- β 1 VE β 2 erişkin yara iyileşmesi,TGF- β 3 fetal yara iyileşmesinde önemli rol oynar.TGF- β

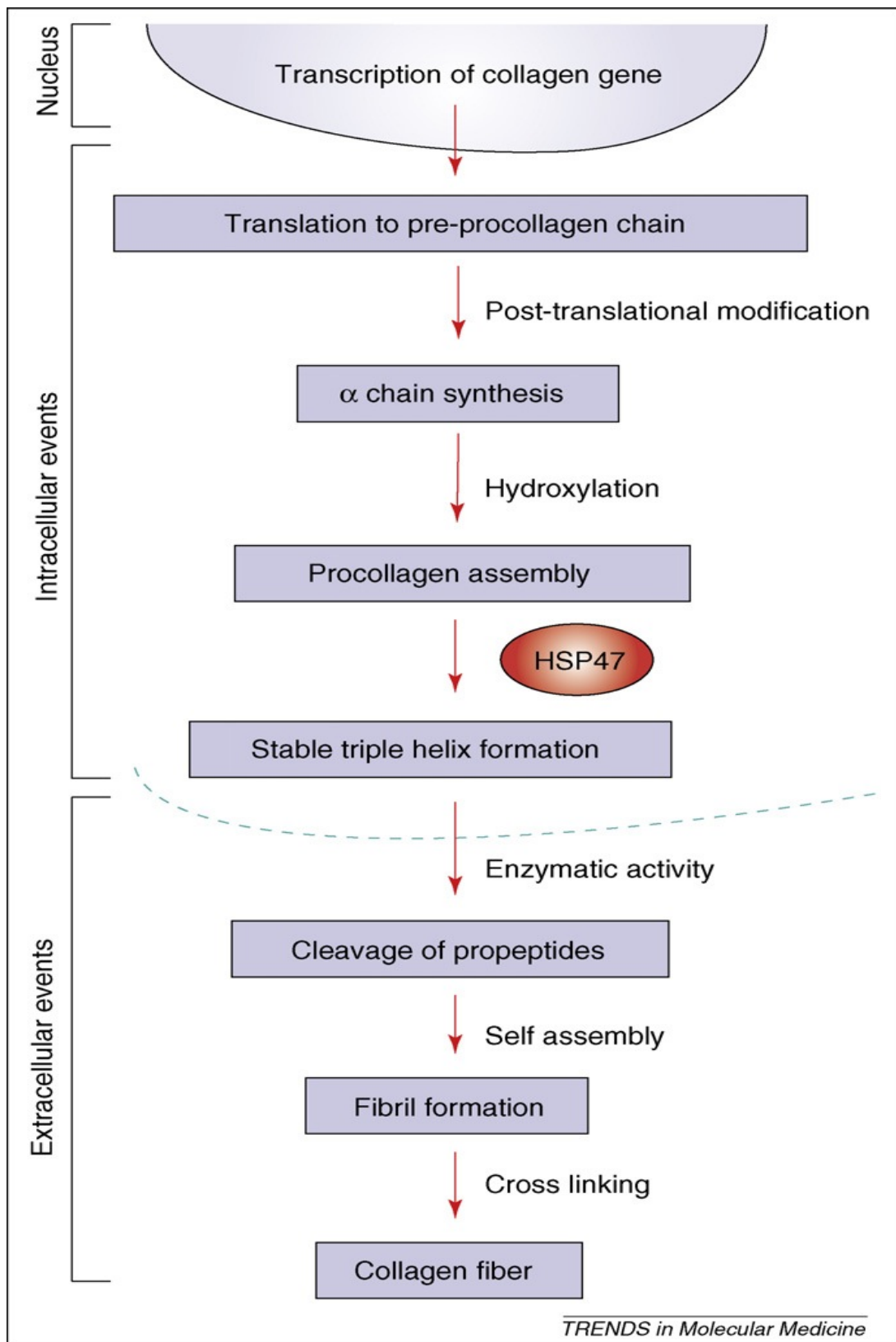
ekstraselüler matriksi module etme gibi kritik bir görevi vardır.TGF β 1 VE β 2 skar formasyonunu oluşturduğu bilinmektedir ve TGF- β 1 VE β 2 nötralize eden ajanların skarı azalttığı bilinmektedir^{162,163} Skarsız iyileşen fetal dokular düşük miktarda TGF β 1 ve TGF β 2 salgılamaktadır¹⁶⁴ Ellis ve schor yaptığı çalışmada TGF - β 1 erişkin fibroblast kültürlerinde HA sentezini inhibe eder¹⁶⁵.

Isı Şok Proteini 47 (Hsp 47)

Isı şok proteinleri hücre içi polipeptidlerin katlanmasında,birleştirilmesinde ve fonksiyonlarını restore etmede görevli bir grup proteindir.Aynı zamanda stres altındaki hücrelerdeki hasar görmüş proteinlerin yeniden şekillendirilmesinde ve sinyal iletişimi ve protein homeostazında görevli moleküler yapılardır. Isı şok proteinleri cevabı ilk defa 1962 yılında gösterilmiştir ¹⁶⁶.HSP 47 yüksek ısılarda üretimi artan bir stres proteindir.ilke olarak fare parietal hücrelerinde Kurkinen ve ark. tarafından keşfedilmiştir ¹⁶⁷.HSP 47 doğru biçimde katlanmış kollajenin ısı denatürasyonuna uğramadan endoplazmik retikulumdan transportunu sağlar.Ökaryotik ve prokaryotik tüm canlılarda ısı şok proteinleri sentezlenir.

HSP 47 kollajen üreten hücrelerin endoplazmik retikulumu tarafından üretilen 47 kDA ağırlığında çeşitli tiplerdeki kollajen maturasyonundada görevi olan kollajen spesifik bir moleküler şaperondur.Prokollajenin katlanmasında,birleştirilmesinde ve endoplazmik retikulumdan transportunda rol alır¹⁶⁸. Vücutta pek çok fibrotik hastalıkta miktarının arttığı gösterilmiştir¹⁶⁹ .Plastik cerrahi pratiğinde sık olarak karşımıza çıkan kollajenin aşırı üretimi ile karakterize olan keloid vakalarında HSP 47 nin ekspresyonunun arttığı ve HSP 47 nin baskılanmasının keloid formasyonun azalttığı gösterilmiştir ¹⁶⁸.

Fibrotik süreçlerin progresyonu sırasında HSP 47 yi kodlayan mRNA seviyeleri ve tip 1 ve tip 3 kollajen üretiminde artış olur ancak HSP-47 herhangi bir kollajen türüne spesifik değildir.tip 1,2,3,4 ve 5'e eşit oranda afinite gösterir¹⁷⁰.



Şekil 2 : HSP-47 etkisi

GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından G.Ü.ET-14.042 kod numaralı çalışma etik kurul onayı almış olup, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yerleştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde (GÜDAM) gerçekleştirildi. Yapılan bu çalışmada ortalama ağırlıkları 235 (+ 20) gr olan Wistar türü dişi albino sıçanlar kullanıldı. Toplam 2 ana grup ve 2 alt grup bulunmakta ve her bir grupta 5'er hayvan olmak üzere toplam 20 deney hayvanı kullanıldı.

Gruplar ve Açıklamaları

2 ana grup ve 2 alt grup olmak üzere 4 grup bulunmaktadır.(tablo-1)

A) Kısa dönem incelemesi işlem sonrası 30. Gün (1. ay) değerlendirme;

Grup 1A) Sıçanların sırtına açılan poşa sadece silikon blok yerleştirildi (5 sıçan)

Grup 1B) Sıçanların sırtına açılan poşa silikon blok + hyaluronik asit enjekte edildi.(5 sıçan)

B) Uzun dönem incelemesi, işlem sonrası 60. Gün (2. ay) değerlendirme;

Grup 2A) Sıçanların sırtına açılan poşa sadece silikon blok yerleştirildi (5 sıçan)

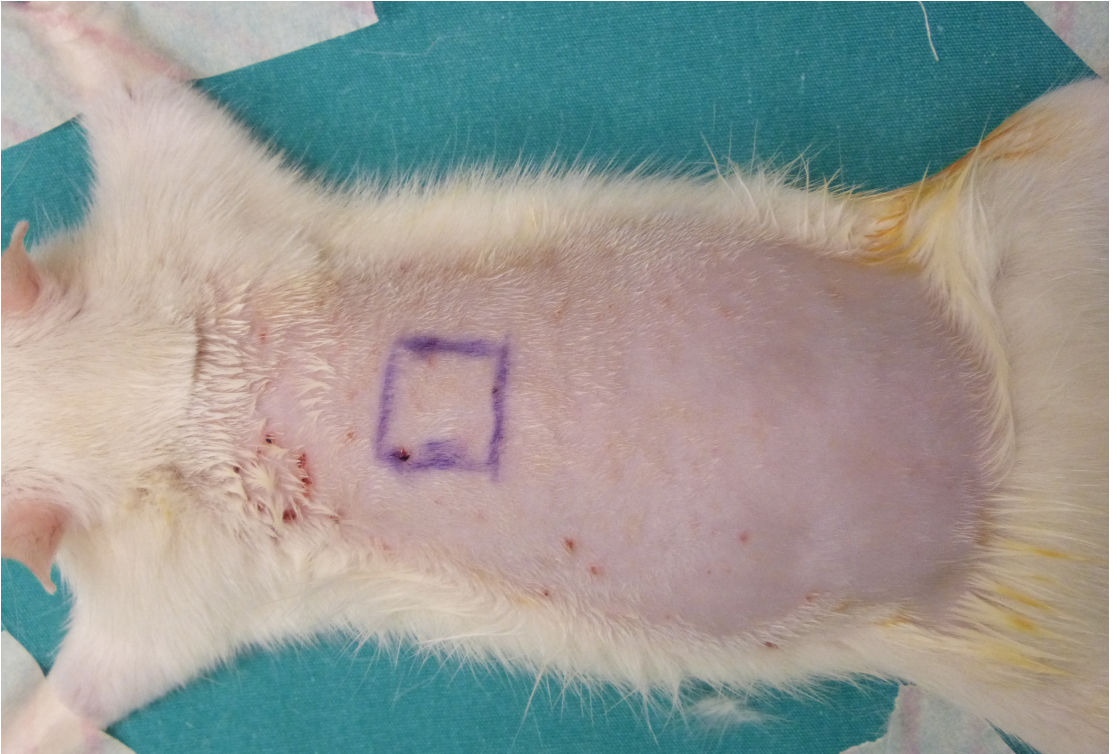
Grup 2B) Sıçanların sırtına açılan poşa silikon blok + hyaluronik asit enjekte edildi.(5 sıçan)

GRUPLAR	SİLİKON BLOK	SİLİKON BLOK+HYALURONİK ASİT
1 A(1. AY)	+	
1B (1. AY)		+
2A (2. AY)	+	
2B (2. AY)		+

Tablo 2 :Deney Grupları

Cerrahi Prosedür

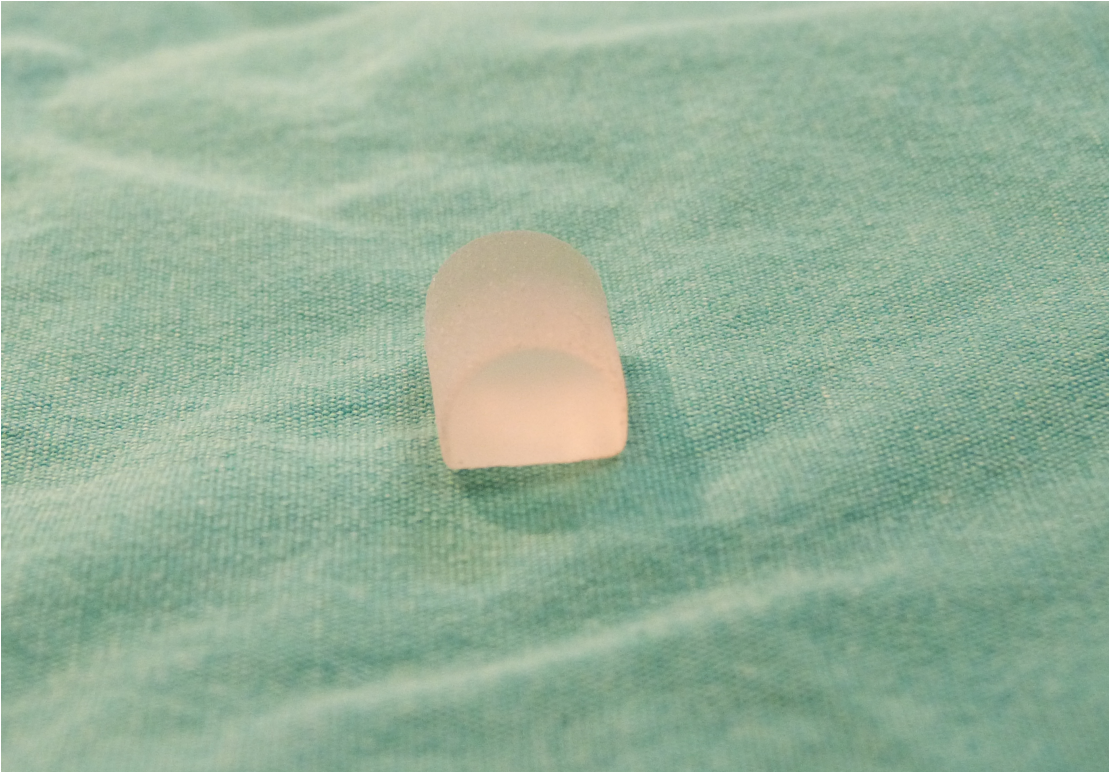
Tüm gruptaki sıçanlara poş hazırlama işlemleri aynı teknikle uygulandı. 45 mg/kg ketamin HCL ve 5 mg/kg xylazin intramusküler uygulanarak uygun anestezi şartlarında tüm sıçanların dorsumu tıraş edildi. Povidon iodin ile tüm sırt bölgesi temizlendikten sonra steril cerrahi alan örtünmesini takiben sırtta skapula seviyesinin 1 cm altına orta hatta horizontal 1 cm kesiyi takiben pannikulus karnozus kası üzerine subkutan olarak 1 x 0,5 cm poş açıldı. Poş içerisine yerleştirilmek üzere tabanı dikdörtgen üst yüzeyi kubbe şeklinde keskin kenarları alınmış hepsi aynı hacimde standardize edilmiş 1 x 0,5 x 0,5 cm boyutunda silikon bloklar hazırlatıldı. Bloklar yerleştirilmeden önce açılan poş % 0,9 serum fizyolojik ve povidon iodin ile irrigasyon edildi ve silikon blok froseps yardımıyla el değdirilmeden yerleştirildi. Grup 1B ve Grup 2B de silikon bloklar yerleştirilmeden hemen önce poşun tabanına ve yerleştirildikten hemen sonra silikon bloğun her iki yanına ve üst yüzeyine tüm alanları homojen olarak kaplanacak şekilde 0,2 cc Restylane (Q – Med, Uppsala, Sweden) hyaluronik asit enjeksiyonu yapıldı.



Şekil 3 : Rat dorsumuna açılacak poşun pre-op çizimi



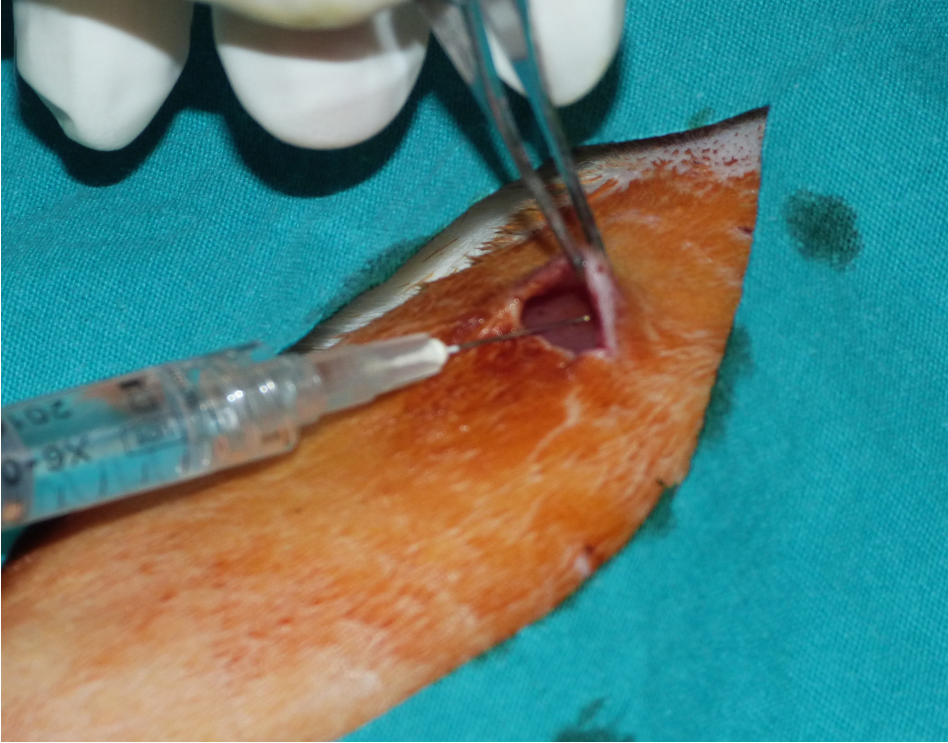
Şekil 4 :Sterilizasyon ve örtünme sonrası görünüm



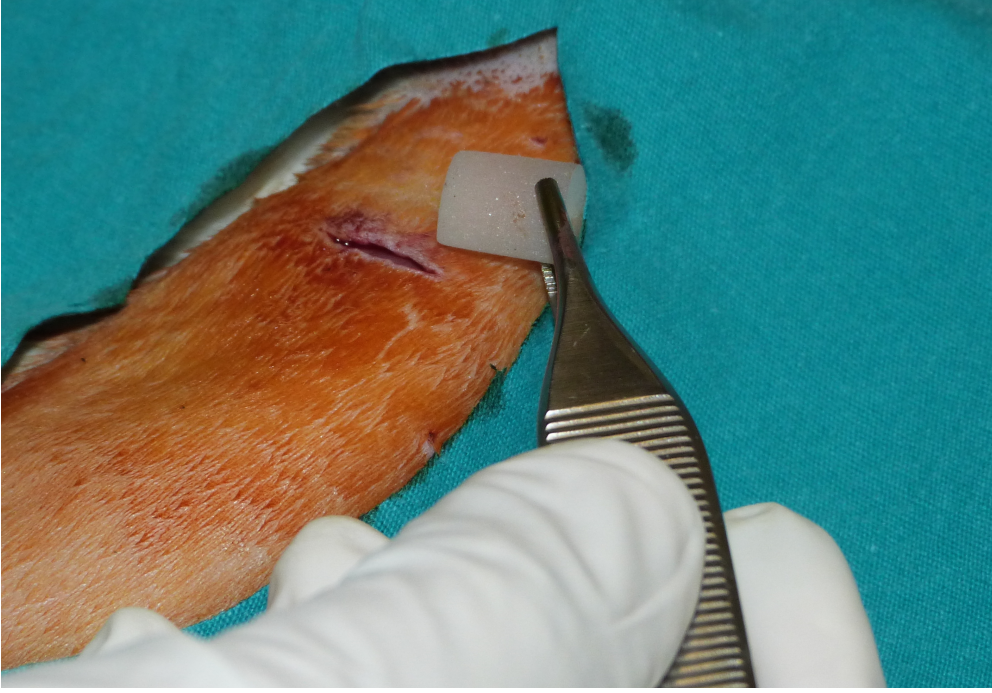
Şekil 5 :Tabanı düz üst tarafı yuvarlak silikon blok



Şekil 6 : Açılan poşun povidon iodin ile irrigasyonu



Şekil 7: Poşun tabanına hyaluronik asit enjeksiyonu



Şekil 8: Silikon bloğun poş içerisine forseps yardımıyla yerleştirilmesi

Grupların örnek alma süreleri tamamlandığında uygun anestezi altında steril şartlarda sırtta bulunan eski insizyon hattından girilerek silikon bloklar etrafında oluşan kapsül dokusu ile beraber sıçana ait cilt ve ciltaltı dokusu dahil edilmeden sadece kapsül dokusu diseke edilerek spesmenler alındı ve makroskopik incelemenin ardından % 10'luk nötral formaldehit içine yerleştirildi. Dokular alındıktan sonra intrakardiyak kan alınması ile sıçanların ötenazileri sağlandı.

Histolojik ve İmmünohistokimyasal Yöntemler

Tüm doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak % 10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Doku örnekleri kasetlere konularak akar su altında 24 saat süresince yıkandı. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan derecelerde alkol serilerinden (%70, %80, %90, %100) geçirildiler. Sonrasında dokular parlatılmaları amacıyla ksilolden geçirildi ve ardından erimiş parafine gömüldüler. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4-5 mikron kalınlığındaki kesitlere tüm gruplar için Hematoksilen- Eozin boyaması, Masson' un üçlü boyaması ile HSP-47 ve TGF- β 1 primer antikoru ile immünohistokimya uygulandı. Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve resimleri çekildi.

Hematoksilen – Eozin Boyama Yöntemi

Boya Solüsyonlarının Hazırlanışı :

1- Harris Hematoksilen Solüsyonu

Hematoksilen 1gr

Alkol 10ml

Potasyum alum (alüminyum potasyum sülfat) 20gr

Distile su 200ml

Civa oksit 0.5gr

Glasiyal asetik asit 8ml

2- Eozin Solüsyonu

Eozin 1gr

Distile su 100ml

1 küçük timol kristali

Boyama Yöntemi:

Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 30 dakika bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamalar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (%100, %96, %80, %70, %50) havada kurutuldu. 10 dakika akar suda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen’ de 10 dakika boyandı ve 10 dakika akar suda yıkandılar. % 70 alkol + 2 – 3 damla glasiyel asedik asit karışımına batırılıp tekrar 10 dakika akar suda yıkandı. Lamalar 15 dakika Eozin de bekletilip 10 dakika daha akar suda yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%50, %70, %80, %96, %100), 2x15 dakika ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı.

Masson' un Üçlü Boyama Yöntemi:

Kesitler 60°C etüvde 2 saat bekletildikten sonra, 2x5 dakika ksilole alınarak deparifizasyonları sağlandı. 2x3 dakika absolu alkolden geçirildikten sonra sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirildi. Kesitler daha sonra öncelikle Harris hemotoksilene 20 dakika etkin bırakıldı. Süre sonunda fazla boyanın arındırılması amacıyla akarsuda 5 dakika akarsuda yıkanan kesitlere Bio-optika Masson trikrom (cat: 04-010802, Lot: 2214, Bio-Optica 20134 Milano, ITALY via S. Faustino 58) kiti uygulanarak boyama tamamlandı. Bu erekle kesitlere 10 damla pikrik asit alkol solusyonu (reagent C) damlatıldı ve 4 dakika bekletildi. Daha sonra, dokular hızlıca (3-4 saniye) distile suda çalkalanarak her bir kesite 10 damla asit fuksin (reagent D) damlatılarak yine 4 dakika bekletildi. Camlar distile suyla yıkanarak, üzerlerine 10 damla fosfomolibidik asit

solüsyonu (reagent E) damlatılarak 10 dakika bekletildi. Yıkama yapılmadan, camlar silkelendi ve 10 damla anilin mavisi (reagent F) damlatılarak 5 dakika bekletildi. Son olarak, camlar distile suda yıkanarak artan alkol serilerinden geçirildi ve ksilol' de tutularak, entellanla kapatıldı.

İmmunohistokimyasal Yöntem

Kontrol ve deney gruplarına ait bloklardan mikrotomla (Leica SM 2000, Germany) polizimli lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada HSP-47 rabbit polyclonal (sc-8352, Lot # D2310) (Santa Cruz) ve TGF-β1 rabbit polyclonal (sc-146, Lot # G2114) (Santa Cruz) primer antikorları kullanıldı.

Kesitler 37 °C' deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57 °C' ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15' er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla % 100' lük, % 96' lık ve % 80' lik alkol serilerinden 10' ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5' er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı ve pap pen (Super PAP Pen, PN IM3580, Becman Coulter Company, France) ile kesit üzerindeki dokuların etrafı çizildi. Camlar 15 dakika % 3' lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılarak dokularda, endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi.

Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 10 dakika Ultra V Block (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan HSP-47 rabbit polyclonal (sc-8352, Lot # D2310) (Santa Cruz) ve TGF-β1 rabbit polyclonal (sc-146, Lot # G2114) (Santa Cruz) primer antikorlarına etkin bırakılarak bir gece bekletildi. Süre sonunda; 3 kez 3' er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikör (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: 859043, Lot: 1018708A, İnvitrogen) etkin bırakıldı. Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan DAB (Cat: 00-2020, Lot: 720221A, İnvitrogen) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Harris' in Hematoksileni (Cat: 008011, Lot: 73267432A, İnvitrogen) kullanıldı ve camlar entellan ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

Dokuda HSP-47 ve TGF- β 1 pozitif hücreler saptandı ve hücreler 1 merkez, 5 perifer bölgede olmak üzere toplam 6 bölge için tüm grup ve tüm hayvanlarda incelenerek, istatistik uygulaması için veriler oluşturuldu. “ 0=Hiç Yok, 1=Zayıf, 2=Azdan Ortaya, 3=Orta, 4=Ortadan Yoğuna, 5=Yoğun ” sayısal veriler olarak kabul edildi.

Dokuda kapsül kalınlığının sayısal değerlendirilmesinin yapılabilmesi adına, tüm alanda, her grup ve her hayvan için 6 ayrı bölge ölçümü yapıldı, istatistik uygulaması için veriler oluşturuldu.

İstatistiksel inceleme

Değerlendirilen bütün parametrelerden elde edilen verilerin istatistiksel incelemesi için SPSS for Windows v15.0 programından (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL) faydalanıldı. Tüm verilerin ortalama, ortanca, minimum, maksimum ve standart sapmaları hesaplandı. Verilerin karşılaştırılmasında Mann Whitney-U testi ve Kruskal Wallis varyans analizi, Chi-square testi kullanıldı. Değerlendirmede $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

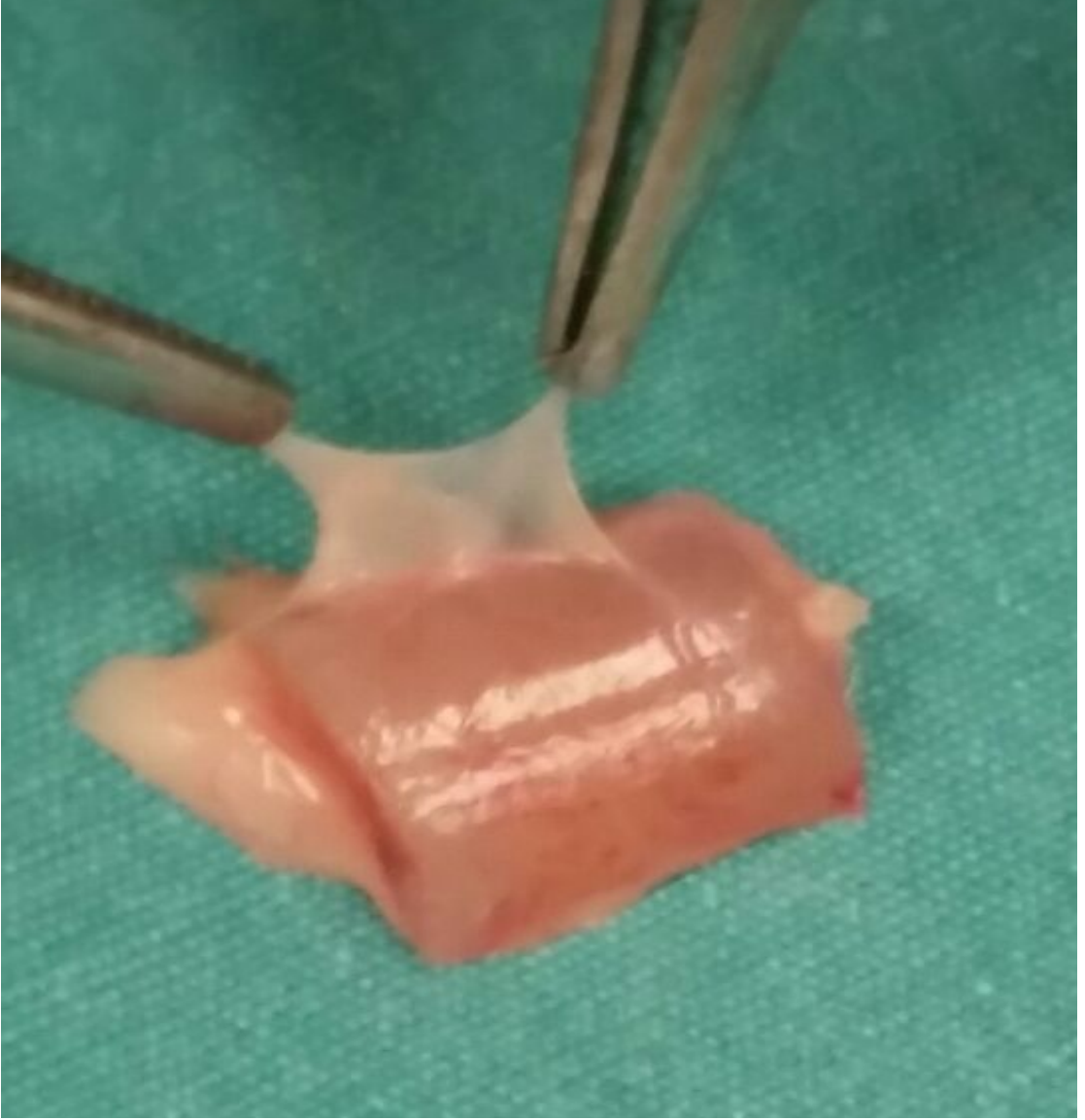
BULGULAR

Makroskobik Bulgular

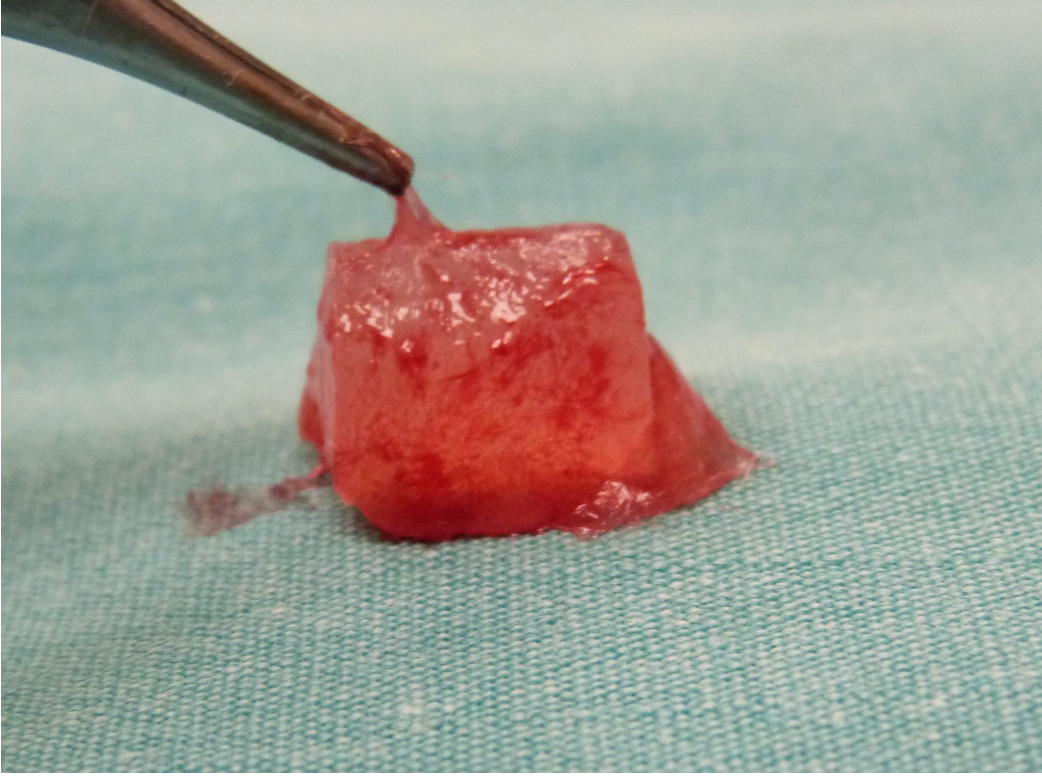
Grup 1A ve 1B ‘deki hayvanlar toplam 10 hayvan uygun koşullarda 1 ay takip edildi. Grup 2A ve 2B 2 ay boyunca uygun koşullarda takip edildi. Gruplardaki hayvanlardan hiçbirisinde yara yeri açılması, implant ekspozisyonu ve yer değişmesi gözlemlenmedi. Eksize edilen silikon bloklar ve kapsül dokusu değerlendirildi. İncelemede tüm gruplarda silikon bloklar etrafında ince bir kapsül yapısının oluştuğu görüldü. Grup 1B, 2A ve 2B de kapsül dış tabakada vasküler yapıların belirgin olduğu gözlemlendi. Grup 1A da belirgin vasküler yapı gözlemlenmedi. Oluşan kapsül kalınlığında belirgin bir farklılık gözlemlenmedi.



Şekil 9 : Silikon blok ve etrafında oluşan kapsülün makroskobik görünümü



Şekil 10 :Silikon blok etrafında ince kapsül yapısı



Şekil 11: Grup 1A silikon blok etrafındaki kapsül yapısı



Şekil 12: Grup 1B'deki ince kapsül yapısı ve vasküler yapılar



Şekil 14: Grup 2A'nın kapsül etrafında daha yoğun vasküler yapının görünümü



Şekil 15 :Grup 2B'nin kapsüler yapısı ve vasküler yapının görünümü

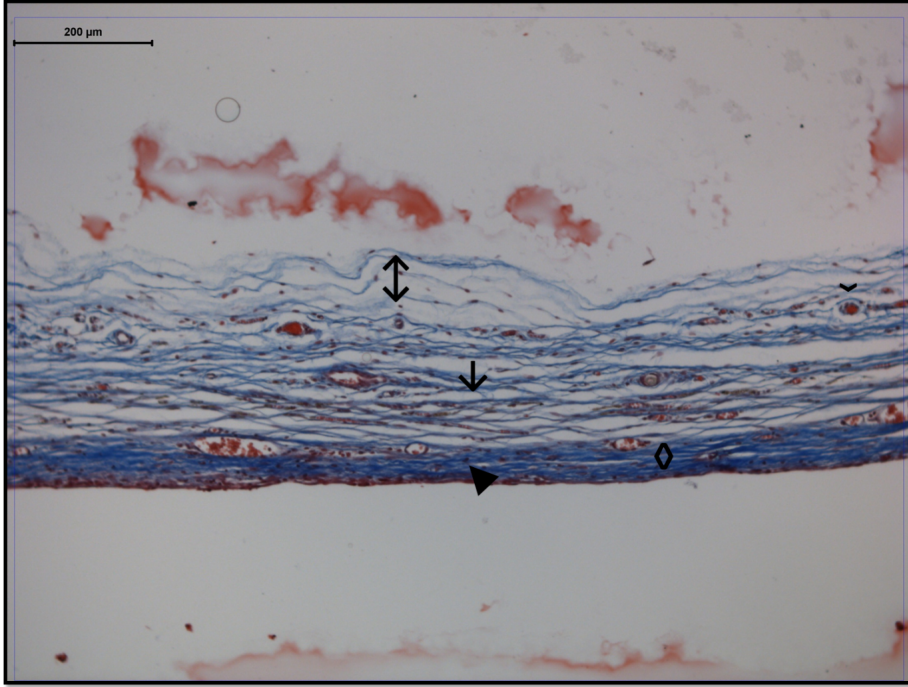
Histolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular

Mikroskopik incelemede silikon bloklar etrafında sirküler olarak oluşan kapsül birbirine eşit uzaklıkta 6 ayrı noktada kapsül kalınlığı mikrometre olarak ölçüldü.(1 mikrometre = 1/1000 milimetre).En ince kapsül yapısı 115,25 mikrometre ile grup 1’de görülürken en kalın kapsül yapısı 479,30 mikrometre ile grup 4 de ölçüldü.Tüm gruplar birbiri ile kıyaslandığında tüm gruplar arasında yani; Grup 1 ile 2,Grup 1 ile 3,Grup 1 ile 4,Grup 2 ile 3,Grup 2 ile 4,Grup 3 ile 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı($p<0,05$)

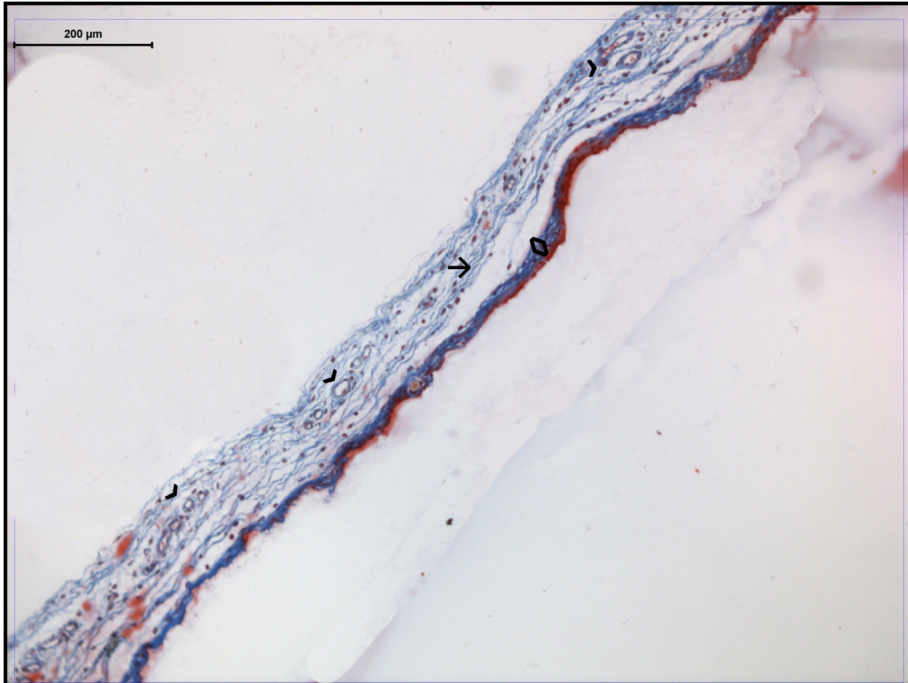
GRUP 1A	115,25 μm
GRUP 1B	189.51 μm
GRUP 2A	265,17 μm
GRUP 2B	479,30 μm

Tablo 3: Grupların ortalama kapsül kalınlığı(μm)

Masson’ un üçlü boyaması sonucu yapılan değerlendirmelerde; silikon uygulanan 1 aylık grupta (Grup 1A) silikon blok çevresinde oluşan kapsül yapısının iç tabakada bağ dokusu hücrelerinden ve özellikle fibroblastlardan zengin olduğu görüldü. Kapsülün orta tabakada birbirine paralel yerleşim gösteren kollajen liflerden şekillendiği ve en dışta da kan damarı içeren gevşek bağ dokusundan meydana geldiği izlendi. Dış tabakadaki damarlar azdı ve damar duvarında ödem / dilatasyon dikkati çekmedi. Bu grupta kapsülün fibröz kalınlığının tüm gruplar arasında en az seviyede olduğu ve oluşan kapsül yapısının diğer gruplara karşın görece daha ince olduğu belirlendi(Resim 16,17)

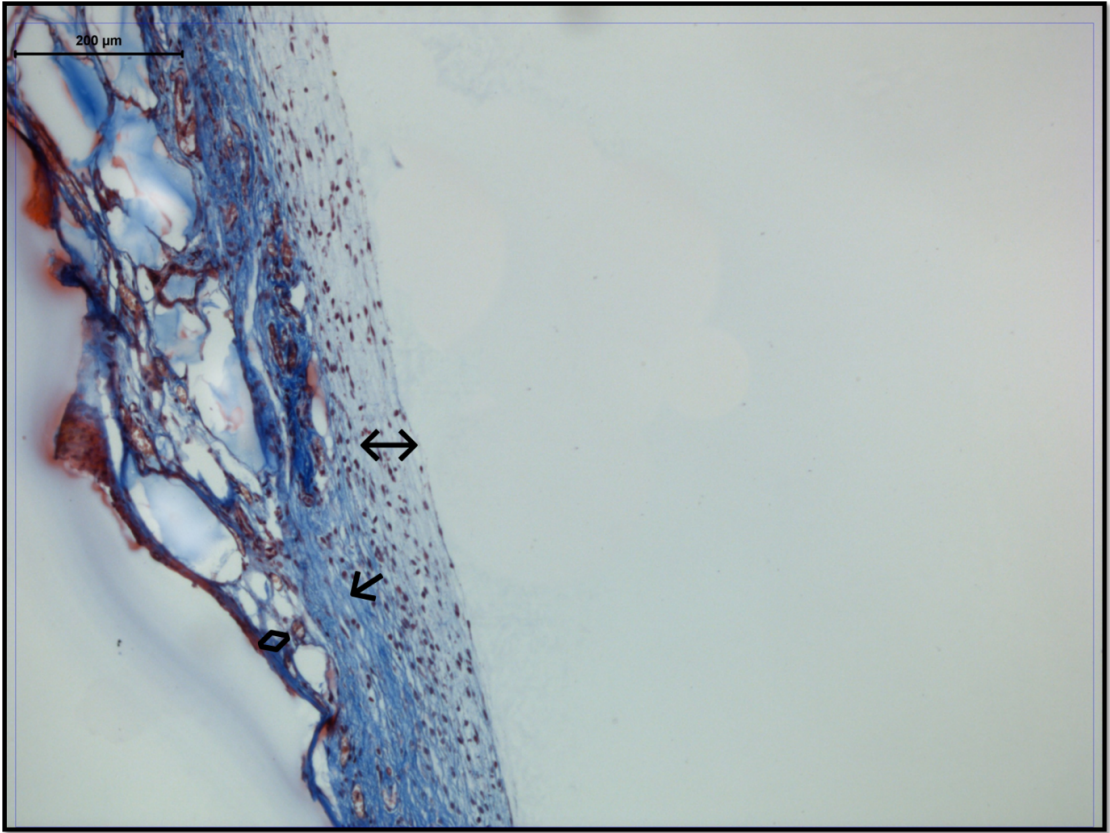


Resim 16: Silikon uygulanan 1 aylık gruba(Grup 1A) ait resimde iç tabaka (◊), fibroblastlar (►), kollajen lifler (→), dış tabakada gevşek bağ dokusu yapısı (↔) ve kan damarları (x) görülüyor (Masson Trikrom x 100).

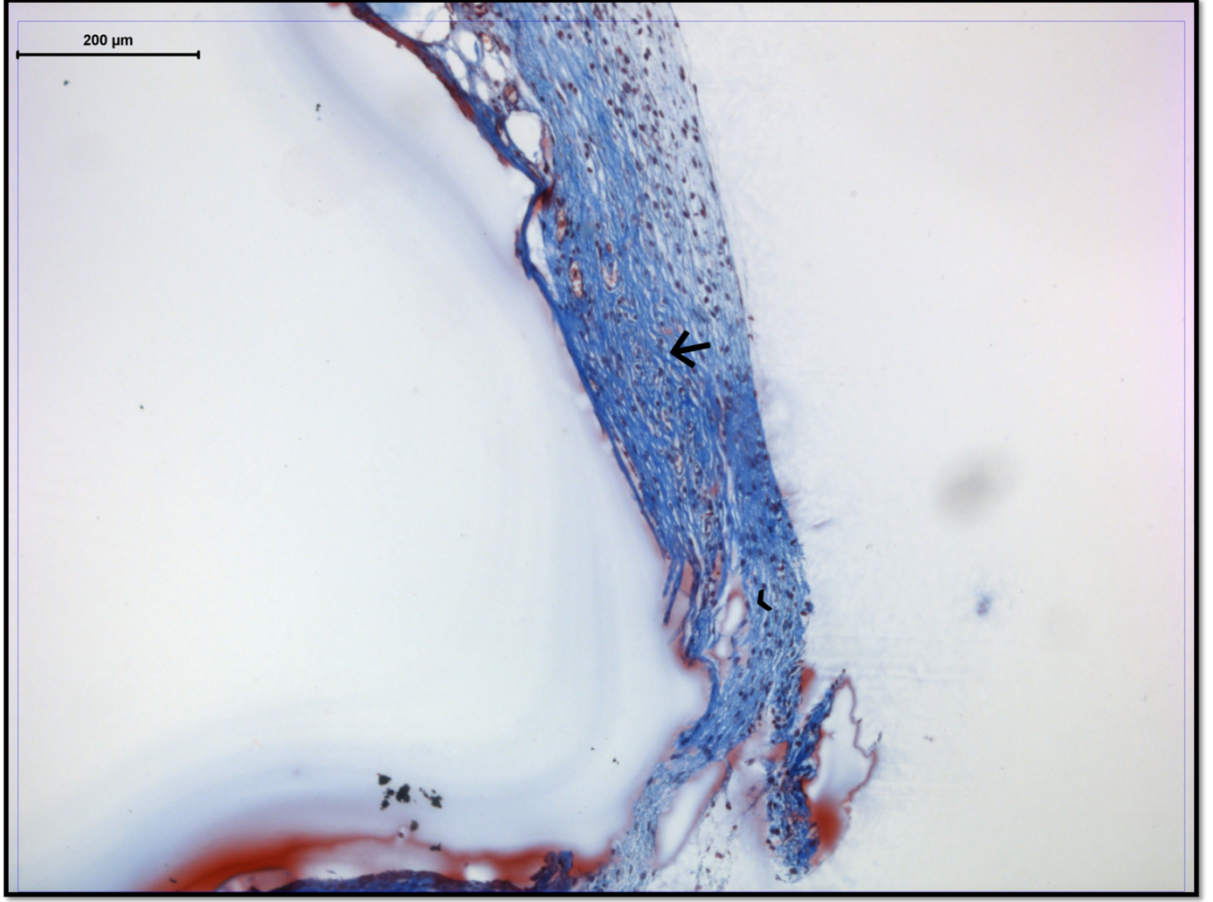


Resim 17: Silikon uygulanan 1 aylık gruba(Grup1A) ait resimde iç tabaka (◊), kollajen lifler (→) ve kan damarları (x) görülüyor (Masson Trikrom x 100).

Hyaluronik asit ve silikon uygulaması yapılan 1 aylık grupta (Grup 1B) orta tabakada yer alan kollajen liflerdeki düzenlenimin sıklaştığı ve liflerin göreceli olarak arttığı belirlendi. Dış tabakada yer alan damarların sayıca artarak dilate bir hal aldığı izlendi. Kapsülün iç tabakası bir önceki grup ile benzer özellikler gösterirken, fibröz kalınlığın özellikle orta tabakadaki kollajen liflerin sentezindeki artışa bağlı olarak görece bir önceki gruba karşı daha kalın olduğu dikkati çekti (Resim 18.19)

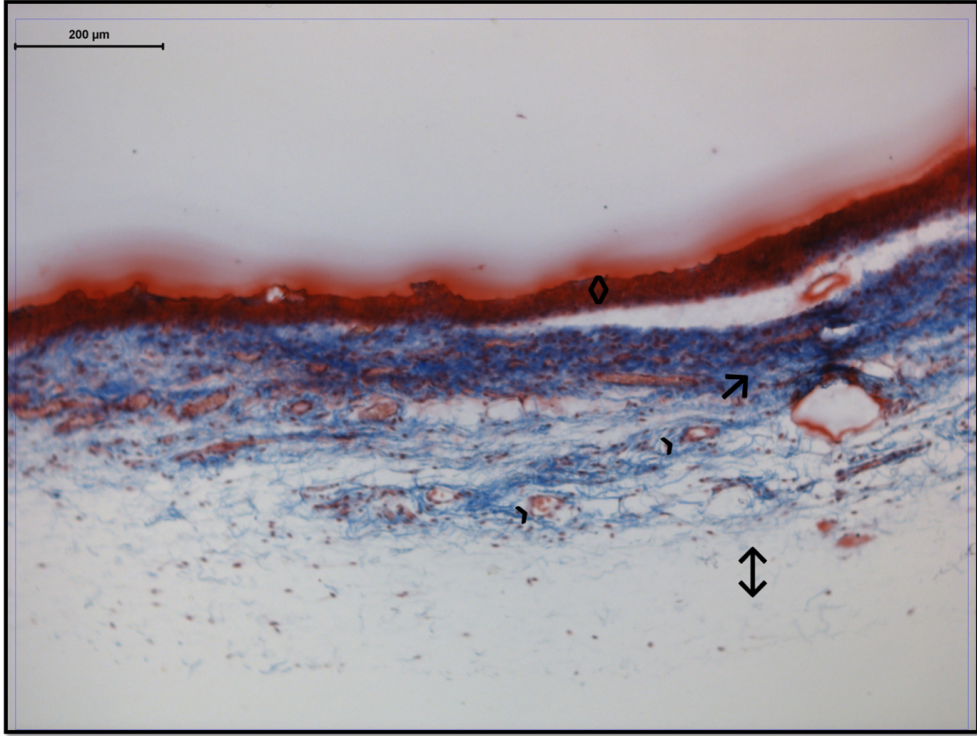


Resim 18: Hyaluronik asit ve silikon uygulanan 1 aylık gruba (Grup 1B) ait resimde iç tabaka (◊), kollajen lifler (→) ve dış tabakada gevşek bağ dokusu yapısı (↔) görülüyor (Masson Trikrom x 100).

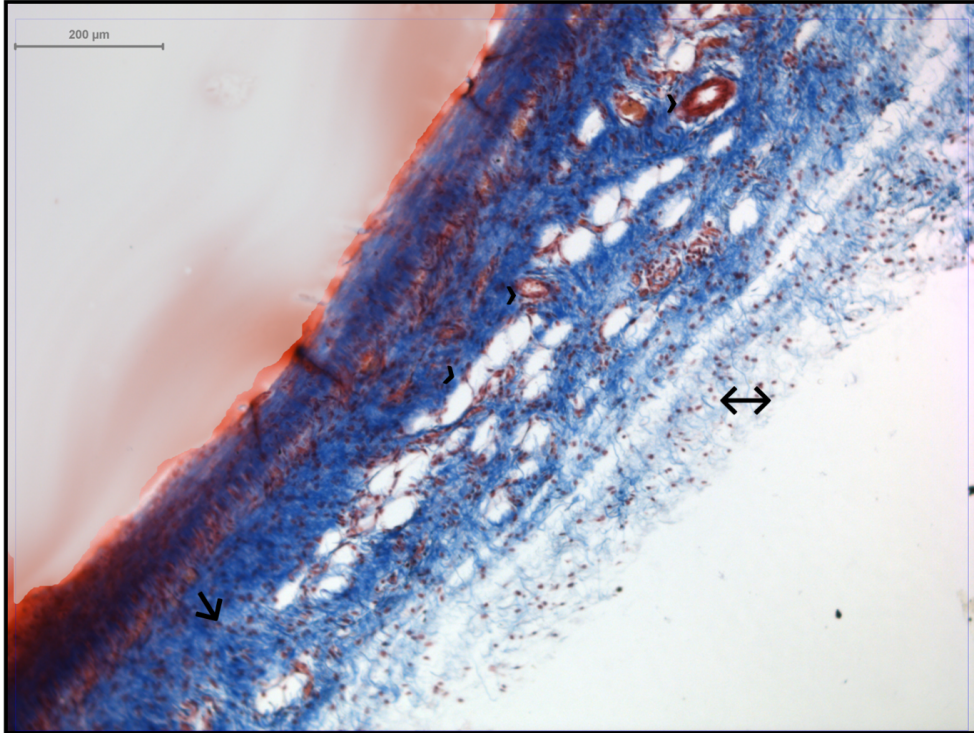


Resim 19: Hyaluronik asit ve silikon uygulanan 1 aylık gruba(Grup 1B) ait resimde kollajen lifler (→) ve kan damarları (➤) görülüyor (Masson Trikrom x 100)

Silikon uygulaması yapılan 2 aylık grupta (Grup 2A) iç tabakanın hücreden daha zengin bir yapı kazandığı, orta tabakada kollajen liflerin sıkıca yerleşim gösterdiği ve dış tabakadaki gevşek bağ dokusu yapısının daha da gelişerek, daha geniş bir alana yayıldığı görüldü. Kapsül yapısında yer alan damarlar dilate yapıları ile dikkati çekti. Kapsülün fibröz kalınlığının göreceli olarak daha kalın olduğu izlendi (Resim 20,21)

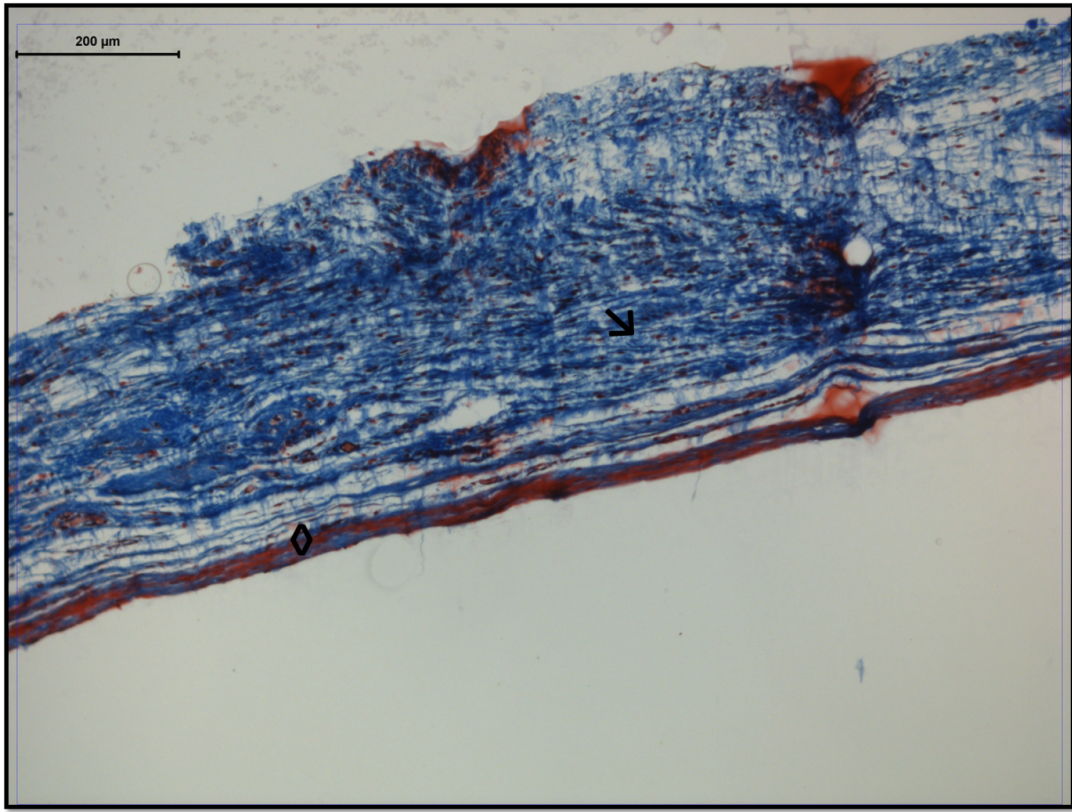


Resim 20: Silikon uygulanan 2 aylık gruba(Grup 2A) ait resimde iç tabaka (◊), kollajen lifler (→), dış tabakada gevşek bağ dokusu yapısı (↔) ve kan damarları (>) görülüyor (Masson Trikrom x 100)

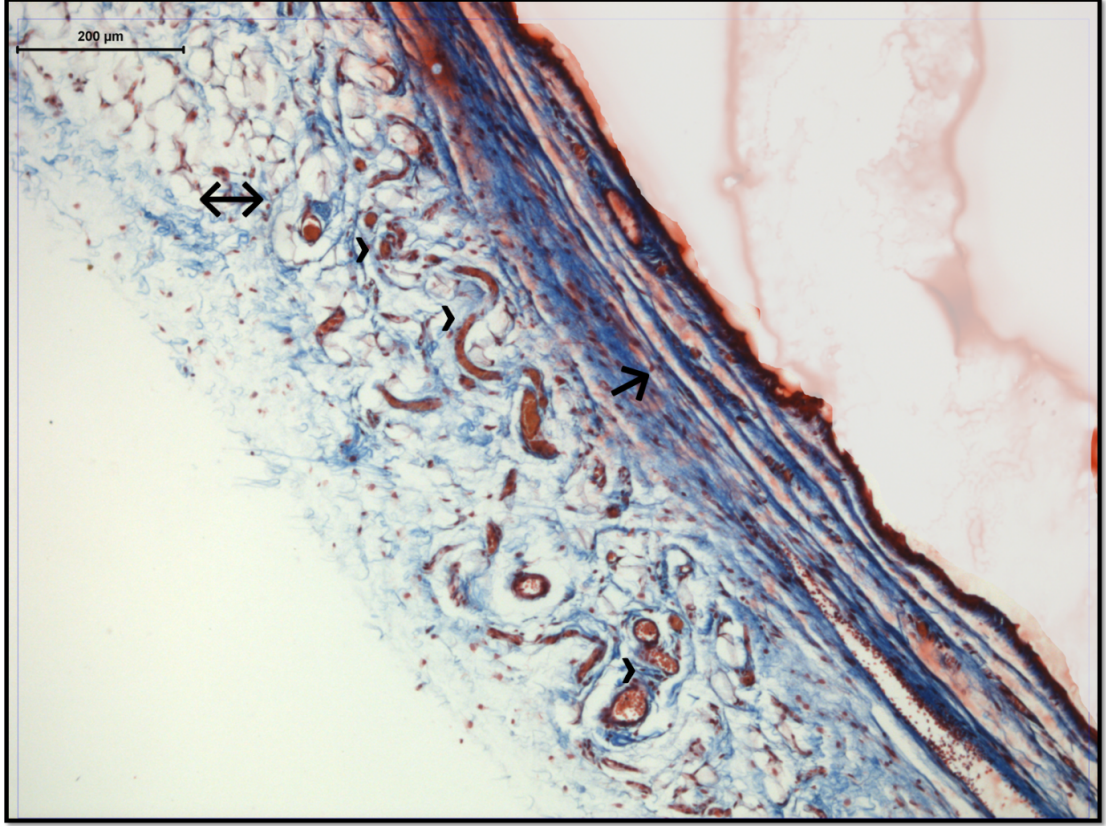


Resim 21: Silikon uygulanan 2 aylık gruba (Grup 2A) ait resimde kollajen lifler (→), dış tabakada gevşek bağ dokusu yapısı (↔) ve kan damarları (>) görülüyor (Masson Trikrom x 100)

Hyaluronik asit ve silikon uygulaması yapılan 2 aylık grupta (Grup 2B)orta tabakada yer alan kollajen liflerin göreceli olarak arttığı ve yerleşimlerinin sıklaştığı izlenirken, 2 aylık süre sonucunda fibröz kalınlığın en fazla bu grupta olduğu belirlendi. Diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, vaskülarizasyon' un en fazla yine bu grupta görüldüğü tespit edildi (Resim 22,23)



Resim 22: Hyaluronik asit ve silikon uygulanan 2 aylık gruba(Grup 2B) ait resimde kollajen lifler (→) ve iç tabaka (◇) görülüyor (Masson Trikrom x 100)



Resim 23: Hyaluronik asit ve silikon uygulanan 2 aylık gruba(Grup 2B) ait resimde kollajen lifler (→), dış tabakada gevşek bağ dokusu yapısı (↔) ve kan damarları (↗) görülüyor (Masson Trikrom x 100)

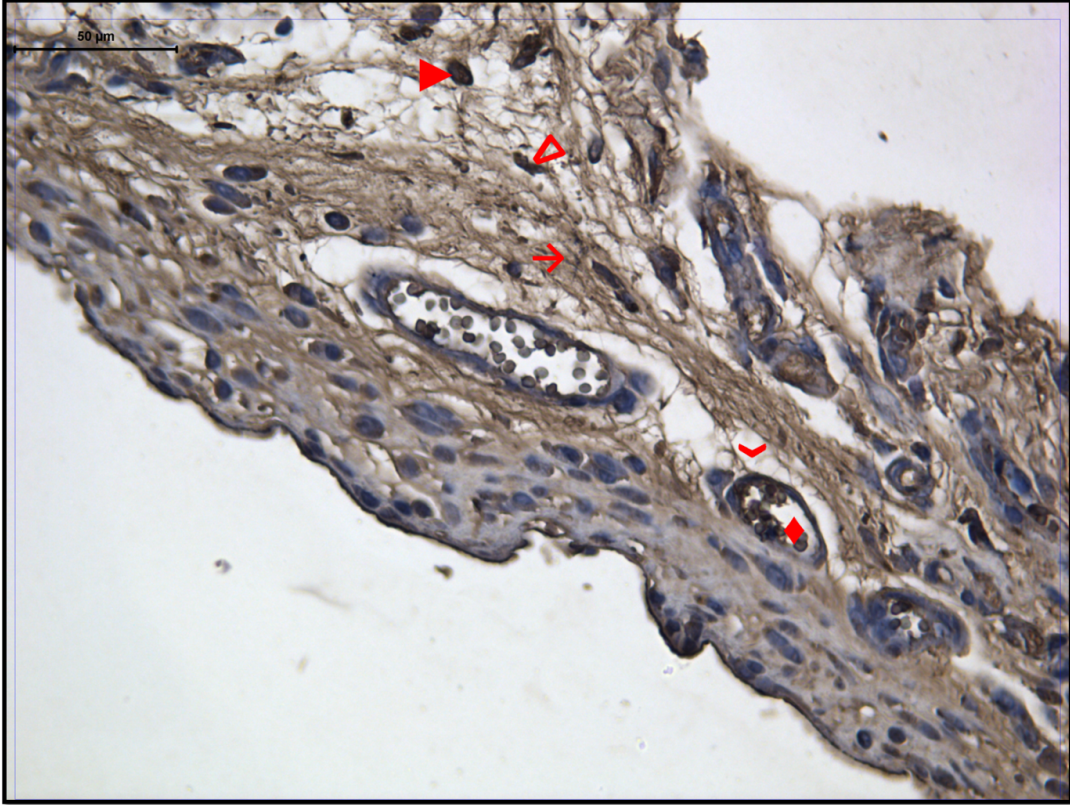
Dokuda HSP-47 ve TGF- β 1 pozitif hücreler saptandı ve hücreler 1 merkez, 5 perifer bölgede olmak üzere toplam 6 bölge için tüm grup ve tüm hayvanlarda incelenerek, istatistik uygulaması için veriler oluşturuldu. “ 0=Hiç Yok, 1=Zayıf, 2=Azdan Ortaya, 3=Orta, 4=Ortadan Yoğuna, 5=Yoğun ” sayısal veriler olarak kabul edildi.

HSP 47

Kollajene özgü ısı şok proteini olan HSP-47 ile yapılan immün boyamalar değerlendirildiğinde; silikon uygulanan 1 aylık grupta(Grup1A) tutulumun kapsüle ait tüm tabakalarda fibroblastlar, fibrositler, kan damarları, kan hücreleri ve kollajen liflerde kuvvetli olduğu izlendi (Resim 24)

Grup 1A'daki değerlendirilen tüm alanlardaki HSP-47 pozitif hücreler ‘5’ yoğun olarak değerlendirildi. Grup 2'nin HSP-47 tutulumu ağırlıklı olarak ‘4’ , Grup 3'ün % 83.3'ü ‘2’ , % 16.7 ‘3’ olarak değerlendirilirken Grup 4'ün % 83.3'ü ‘2’, % 16.7 ‘3’ olarak değerlendirildi.

Gruplar birbiri ile HSP-47 tutulumu açısından karşılaştırıldığında Grup 1A ile 1B, Grup 1A ile 2A, Grup 1A ile 2B, Grup 1B ile 2A, Grup 1B ile 2B arasında istatistiksel anlamlı fark bulunurken ($p < 0,05$), Grup 2A ile 2B arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$)



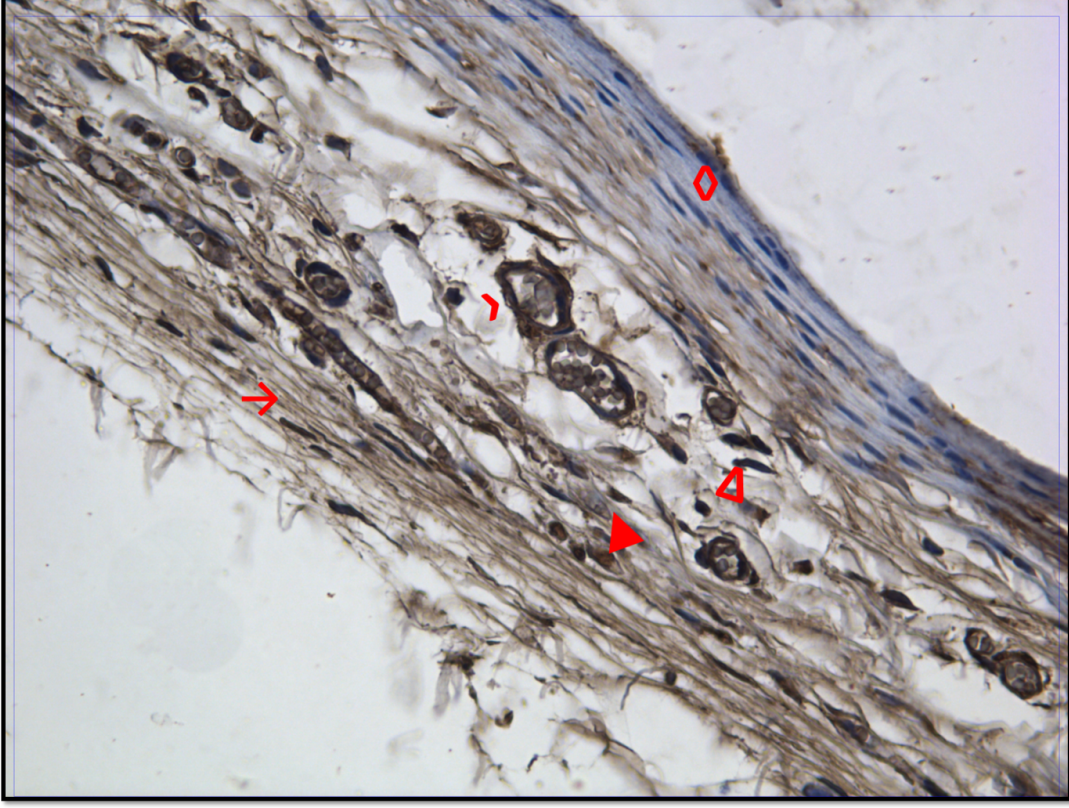
Resim 24 : Silikon uygulanan 1 aylık gruba (Grup 1A) ait resimde tutulum gösteren fibroblastlar (►), fibrositler (Δ), kollajen lifler (→), kan damarları (▷) ve kan hücreleri (◆) görülüyor (HSP-47 primer antikoru x 400).

Hyaluronik asit ve silikon uygulaması yapılan 1 aylık grupta (Grup 1B) tutulumun iç hücre tabakasında bir önceki gruba kıyasla daha az, hafiften ortaya değişen immünreaktivite gösterdiği görüldü. Buna karşılık kuvvetli tutulumun; kollajen liflerde, kan damarlarında ve orta tabakaya ait fibroblast ve fibrositlerde izlenmeye devam ettiği belirlendi (Resim 25)



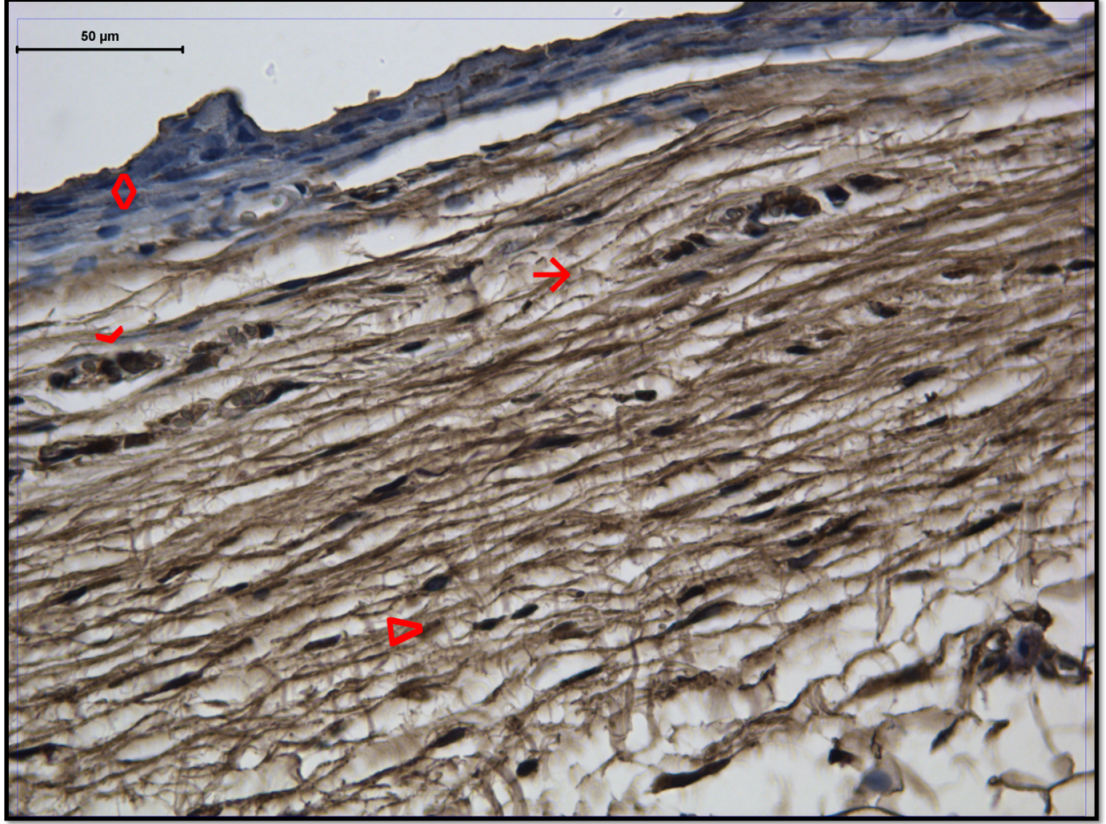
Resim 25: Hyaluronik asit ve silikon uygulanan 1 aylık gruba (Grup 1B)ait resimde tutulum gösteren fibroblastlar (►), fibrositler (Δ), kollajen lifler (→) ve kan damarları (✱) görülüyor (HSP-47 primer antikoru x 400).

Silikon uygulaması yapılan 2 aylık grupta(Grup 2A) iç tabakada yer alan hücrelerde HSP-47 immünreaktivitesi oldukça zayıf olarak izlenirken; orta ve dış tabakada yer alan kollajen lifler ve kan damarlarında orta düzeydeki immünreaktivite dikkati çekti (Resim 26)



Resim 26: Silikon uygulanan 2 aylık gruba(Grup 2A) ait resimde tutulum gösteren fibroblastlar (►), fibrositler (Δ), kollajen lifler (→) ve kan damarları (↗) ile zayıf tutulum gösteren iç tabaka (◇) görülüyor (HSP-47 primer antikoru x 400)

Hyaluronik asit ve silikon uygulaması yapılan 2 aylık grupta (Grup 2B) tutulumun iç hücre tabakasında bir önceki gruba benzerlik gösterdiği görülürken, kollajen lifler ve fibroblastlardaki tutulumun kuvvetli olduğu izlendi (Resim 27)



Resim 27: Hyaluronik asit ve silikon uygulanan 2 aylık gruba(Grup 2B)ait resimde tutulum gösteren fibrositler (Δ), kollajen lifler (→) ve kan damarları (⋈) ile zayıf tutulum gösteren iç tabaka (◊) görülüyor (HSP-47 primer antikor x 400).

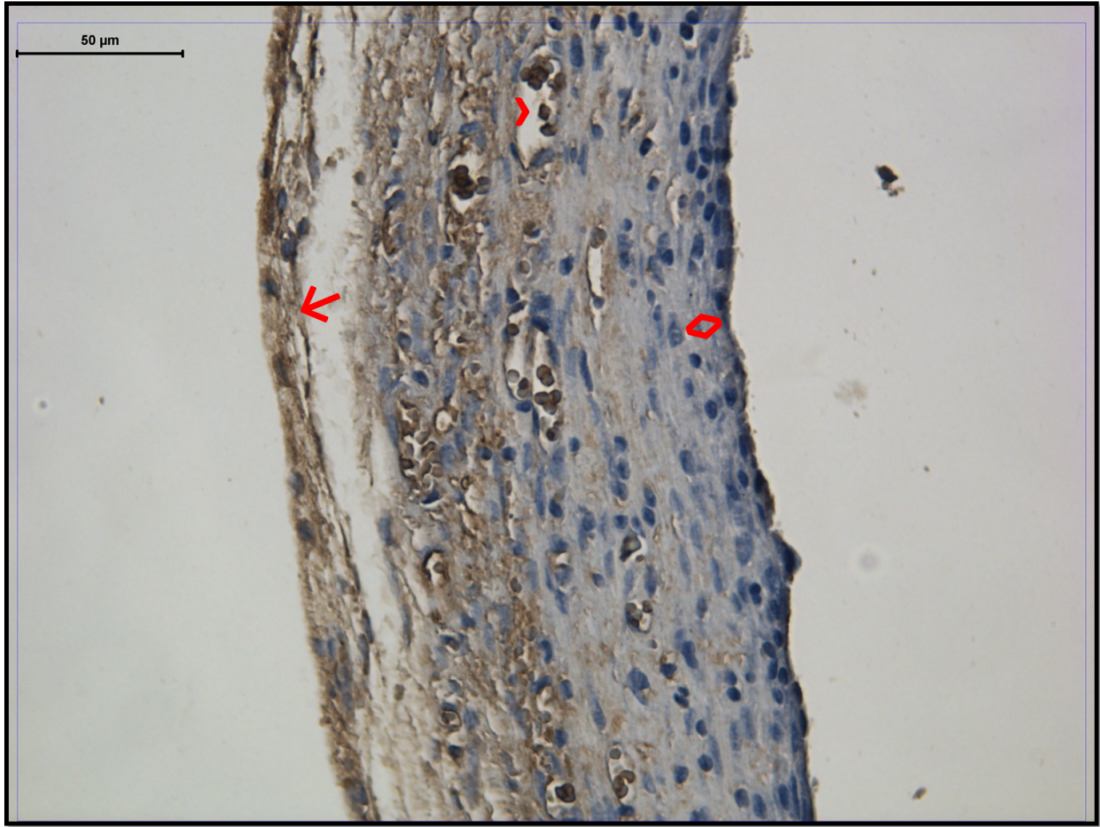
TGF-β1

YOĞUNLUK	GRUP 1A	GRUP 1B	GRUP 2A	GRUP 2B
2	%71.4	%83.3	%16.7	% 0
3	%14.3	%16.7	%66.7	%0
4	%0	%0	%16.7	%100
5	%14.3	%0	%0	%0

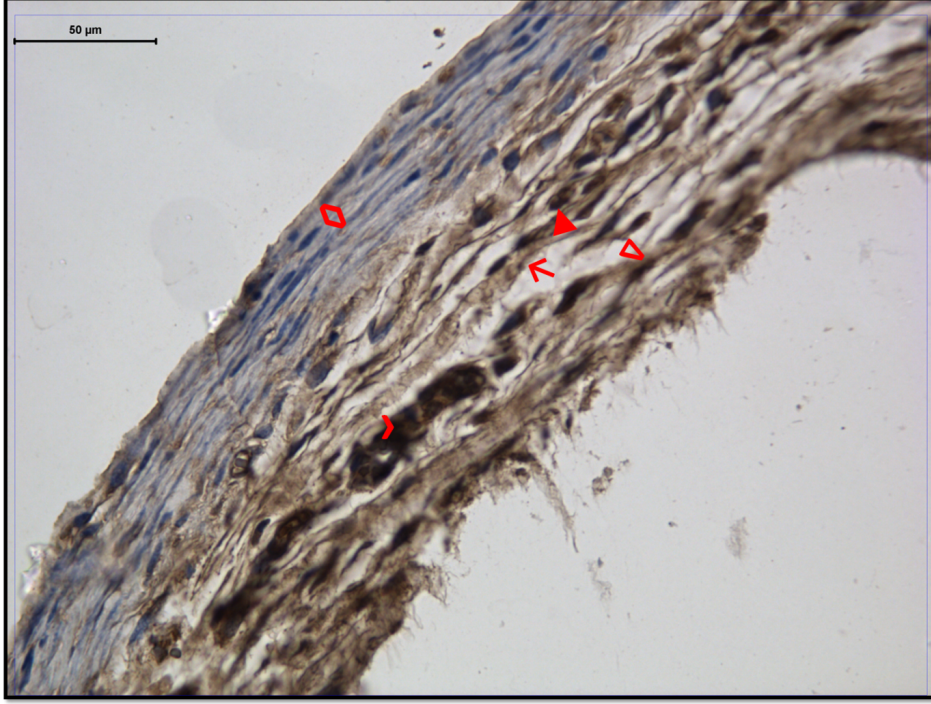
Tablo 4: Grupların TGF- β1 tutulum yoğunluğu ortalaması

TGF- β 1 ile yapılan immün boyamalar değerlendirildiğinde; tutulumun tüm gruplarda iç tabakada zayıftan ortaya değişen düzeyde olduğu buna karşın kan damarları, kollajen lifler ve fibroblast'lardaki tutulumun 1 aylık uygulama yapılan gruplardan 2 aylık uygulama yapılan gruplara gidildikçe arttığı ve en kuvvetli tutulumun da Hyaluronik asit ve silikon uygulaması yapılan 2 aylık grupta (Grup2B) olduğu belirlendi (Resim 28,29,30,31)

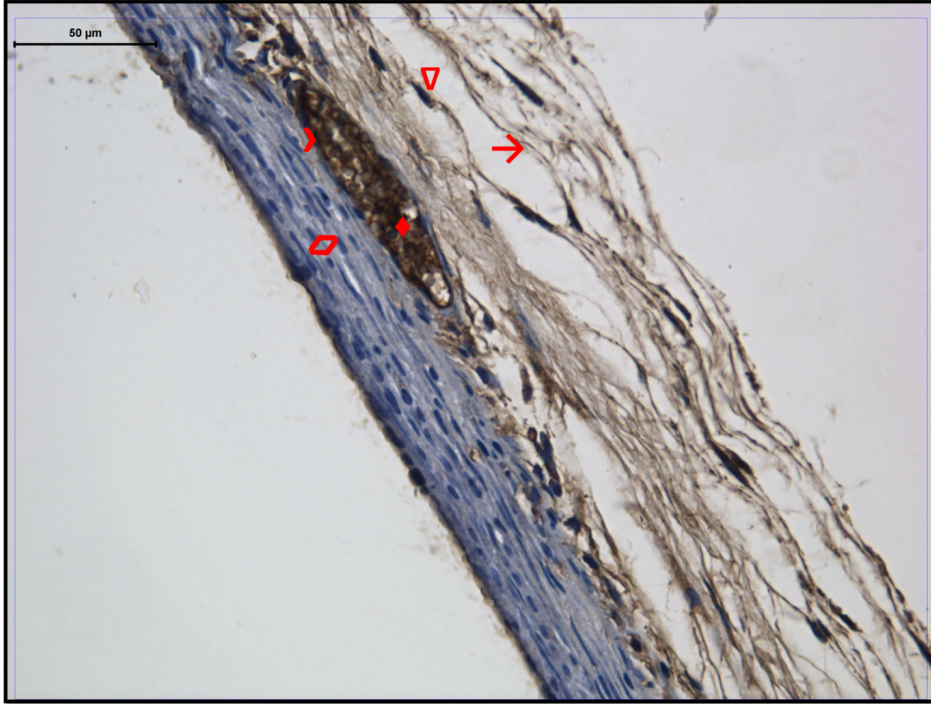
Gruplar arasındaki kıyaslamada Grup 1A ile 2B,Grup 1B ile 2B ve Grup 2A ile 2B arasında istatistiksel anlamlı fark saptanırken ($p < 0.05$),Grup 1 ile 2,Grup 1 ile 3,Grup 1A ile 2A arasında anlamlı fark saptanmadı($p > 0.05$)



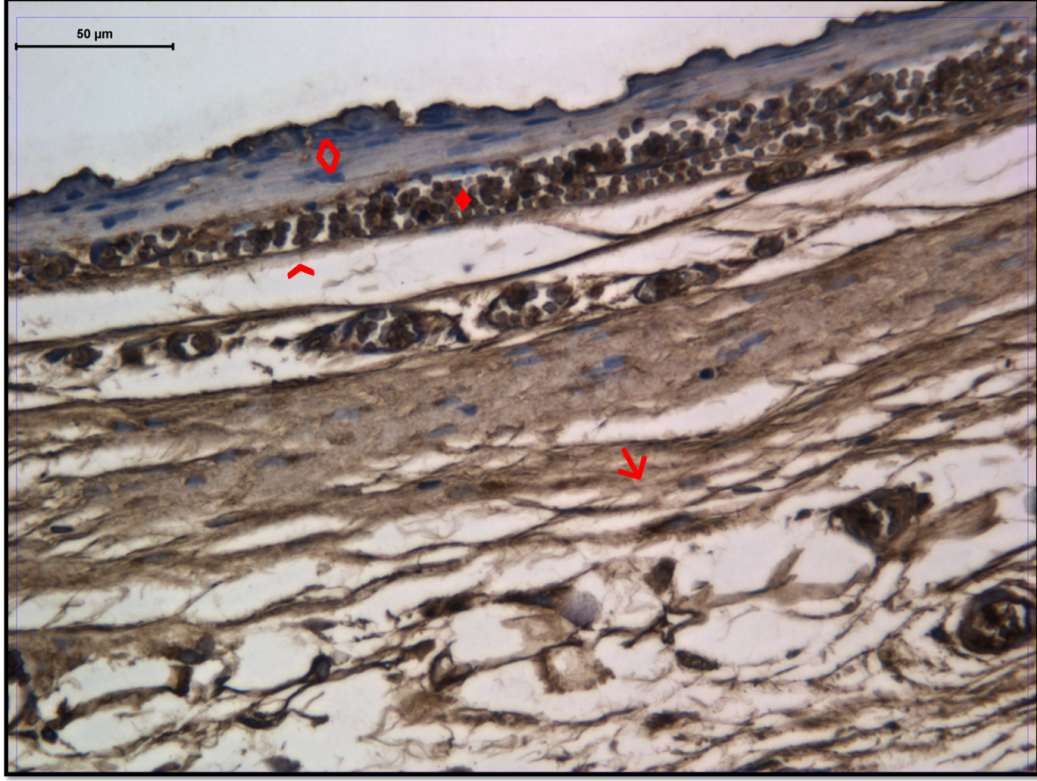
Resim 28: Silikon uygulanan 1 aylık gruba(Grup 1A) ait resimde tutulum gösteren kollajen lifler (→) ve kan damarları (x) ile zayıf tutulum gösteren iç tabaka (◇) görülüyor (TGF- β 1 primer antikoru x 400).



Resim 29: Hyaluronik asit ve silikon uygulanan 1 aylık gruba(Grup 1B)ait resimde tutulum gösteren kollajen lifler (→), fibroblastlar (►), fibrositler (Δ) ve kan damarları (x) ile zayıf tutulum gösteren iç tabaka (◇) görülüyor (TGF-β1 primer antikoru x 400)



Resim 30: Silikon uygulanan 2 aylık gruba (Grup 2A) ait resimde tutulum gösteren kollajen lifler (→), fibrositler (Δ), kan damarları (x) ve kan hücreleri (◆) ile zayıf tutulum gösteren iç tabaka (◇) görülüyor (TGF-β1 primer antikoru x 400)



Resim 31: Hyaluronik asit ve silikon uygulanan 2 aylık gruba(Grup 2B) ait resimde tutulum gösteren kollajen lifler (→), kan damarları (↗) ve kan hücreleri (◆) ile zayıf tutulum gösteren iç tabaka (◇) görülüyor (TGF-β1 primer antikoru x 400)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Silikon ve prostetik implantlar meme büyütme, meme rekonstrüksiyonu, doku genişletici, yüz implantları ve el cerrahisinde olmak üzere plastik cerrahide estetik ve rekonstrüktif amaçlı sık olarak kullanılmaktadır. Modern anlamda implant materyalleri veya alloplastik materyallerin kullanımı II. Dünya Savaşı sonrası gelişen endüstriyel teknolojiyle olmuştur.¹⁷¹ Donör saha morbiditesinin olmaması, ameliyat süresini ve morbitideyi azaltması, rezorbsiyona daha az uğramaları gibi avantajları nedeniyle zamanla tıpta yaygın kullanım alanı bulmuştur. İdeal bir implant materyalinin allerjik olmaması, karsinojen ve teratojen olmaması, korozyona dirençli olması, enfeksiyona dayanıklı, inert, biyouyumlu, gerilme ve dış travmalara dayanıklı, sterilizasyon şartlarına uyumlu, istenilen formda üretilebilmesi ve ekonomik olması tercih edilir³⁷.

İmplant materyali olarak kullanılan polimer yapıdaki silikon sıralı silikon(sı) ve oksijen(o) moleküllerinden oluşur. İki metil yan zincirden oluşan poly-dimetilsiloksan (PMDS) pek çok medikal uygulamada kullanılan silikon formudur¹⁷². PDMS'nin değişen molekül uzunluğu ve ağırlığı silikonun biyolojik ve mekanik yapısını belirler. Tıbbi amaçlı silikon, dimetilsiloksanın polimerizasyonu ile elde edilir. Polimerizasyon işlemiyle birlikte dimetilsiloksan aralıklarında lineer zincirler oluşur ve bu zincirlerin uzunluğu silikonun akışkanlığını belirler^{37,39}. Kısa polimer zincirler sıvı silikonu oluştururken, zincirlerin uzaması silikona jelöz form kazandırır. Polimerlerin çapraz ve yan bağların artırılması silikonu katı hale getirir. Polidimetilsiloksanın elastikiyet ve dayanıklılığının artırılması için vulkanizasyon denilen işleme tabi tutulur. Bu işlemde polidimetilsiloksan ağı arasındaki boşluklar demir oksit ve benzoil peroksit gibi maddelerle doldurulur.

Kapsül formasyonu, vücudun yabancı materyallere karşı oluşturduğu fibrotik yabancı cisim reaksiyonudur. Kapsül kontraktüründe klinik problem bu fibrotik dokunun, yara iyileşmesindeki hipertrofik skar ve keloide benzer aşırı cevabıdır⁵³. Kapsül formasyonun istenmeyen bu aşırı şekli kapsül kontraktürü olarak adlandırılır. Kapsül kontraktürü birçok klinik ve deneysel çalışmalara rağmen nedeni açık şekilde konulamasa da temelde ortaya sürülen iki teori: hipertrofik skar ve subklinik enfeksiyondur⁵³.

Subklinik enfeksiyona ikincil kapsül kontraktürü üzerine bir çok çalışma geliştirilmiş ve neden olarak normal cilt floradaki *S.epidermidis* gösterilmiştir. Tavşan modeli deneysel çalışmada, *S.epidermidis* inokülasyonu yapılan grupta Baker sınıflamasına göre evre 3-4 kapsül kontraktürü geliştiği, kontrol grubuna göre 2-3 kat daha kalın olduğu saptanmıştır⁷³. Klinik çalışmalarda Virden ve ark. kapsül

kontraktürü gelişen implantların %56 (15 / 27)'sında bakteri saptamış ve baskın olan mikroorganizmanın *S.epidermidis* olduğunu belirtmişlerdir⁷⁴. *S.epidermidisin* duktal yolla implanta ulaştığı ve biofilm oluşturarak enflamasyonu tetiklediği yaygın kanıdır.

Kapsül formasyonunu ve kontraktürünü azaltmaya yönelik olarak özellikle hipertrofik skar ve subklinik enfeksiyon teorisi üzerinden pekçok çalışma yapılmıştır.İnfeksiyöz teori üzerinde sterilizasyon şartlarına dikkat edilmesi,implantın yerleştirileceği vücut bölgesinin antibiyotikli solüsyonlarla irrije edilmesi,profilaktik antibiyotik tedavisi gibi önlemler ön plana çıkmaktadır^{14,85}.Hipertrofik skar teorisi üzerinden kapsül formasyonunu azaltıcı yara iyileşmesini baskılayan veya modüle eden çeşitli ajanlar kullanılmıştır^{89,90,91}.

Primer olarak ekstraselüler matriksin en büyük komponentlerinden biri olmasının yanında periselüler ve intraselüler olarak da bulunabilen tekrarlayıcı sakkarit ünitelerinden oluşan Hyaluronik asit eklem sinovyal sıvısı ve ya göz içerisi gibi bağ dokunun elastovizkozitesini sağlamak,doku hidrasyonunu ve su transportunda rol oynamak,proteoglikanın ekstraselüler matriksteki devamını sağlamak,reseptör aracılı hücre tutunması,hücre adezyonu,hücre göçü,mitozu,tümör büyümesi,metastazi ve inflamasyon gibi pek çok görevi vardır^{26,27,28,29,30,31,32,33}. Hyaluronik asit'in RHAMM,ICAM 1,CD 44,TSG6 gibi reseptörler üzerinden gösterdiği etkileri molekül büyüklüğüne göre değişmektedir.Genel olarak yüksek molekül ağırlıklı Hyaluronik asit inflamasyonu baskılayıcı ve anjiogenezi inhibe edici etkileri bilinirken orta ve düşük molekül ağırlıklı Hyaluronik asit inflamasyonu tetikler ve kollajen üretimini artırıcı etkisi bilinmektedir.

Hyaluronik asitin dolgu maddesi olarak kullanımı için bir dizi kimyasal süreç gerekmektedir.Doğal olarak bulunan HA hızlı bir şekilde parçalanırken çapraz bağlanma yöntemi ile kalıcılığı artırılmaktadır.Çapraz bağlanma polimer bir ağ oluşturur ve visköz bir solüsyondan zayıf bir jel formuna dönüşür.Dolgunun dayanıklılık süresi çapraz bağlanma oranıyla artış gösterir¹⁷³

Hyaluronik asit dolgular arasındaki farklılık,hyaluronik asitin kaynağı,konsantrasyonu,partikül sayısı,çapraz bağlanmanın dercesi ve tipi ve lokal anestezi içerip içermemesidir.Dolgular için hyaluronik asit horoz ibiği veya stafilokokus equine bakterisinin sentetik fermantasyonu sonucu elde edilmiştir.

Dolgunun kalıcılığı HA in molekül ağırlığının ve çapraz bağ sayısının artırılması ile artırılır.Ancak HA in bu özelliklerini artırmak uygulanabilirliğini zorlaştırır.

Deneyisel modellerde orta-uzun etki süreli Hyaluronik asit dolguların ekstraselüler matriksi düzenlediği ve kollajen ve elastin sentezini artırdığı gösterilmiştir^{174,175,176}

Ratlar üzerinde yapılan çapraz bağlı hyaluronik asit dolgunun ekstraselüler matriks üretimini ve kollajen sentezini transforming growth faktör beta sinyal yolu üzerinden gerçekleştirdiği gösterilmiştir^{177,178}. Quan ve ark. yaptığı çalışmada çapraz bağlanmamış hyaluronik asit in fibroblast kültürlerinde kollajen sentezini stimüle etmediğini göstermiştir¹⁷⁶.

Hyaluronik asit uygulamasını takiben çapraz bağlı hyaluronik asitin degradasyon süreci ve çapraz bağlarının yıkılmasını takiben ortamda hızla artan değişik molekül ağırlıklarındaki hyaluronik asit yara iyileşmesinin tüm basamaklarında bilinen etkilerinin kapsül formasyonu üzerine etkilerini inceledik.

Çalışmamızda hyaluronik asitin etkisini değerlendirmek amaçlı hayvan modeli kullandık. Ratların dorsumuna ciltaltı planda açılan poşlara boyutları eşit olacak şekilde biçimlendirilen silikon bloklar yerleştirildi. Deney gruplarına 0,2 cc hyaluronik asit silikon blok tabanı, yan yüzeyleri ve üst yüzeyine eşit miktarda enjekte edildi. Deney hayvanlarının yarısı 1. ayda diğer yarısı 2. ayda sakrifiye edildi ve makroskopik, histolojik ve immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Kapsül formasyonunun deneysel modellerde değerlendirildiği çalışmalarda inceleme süreleri 4 veya 8 hafta olduğu için bizde çalışma süremizi 4 ve 8 hafta olarak belirledik^{89,90}. Yara iyileşmesinin birbiri ile içi içe geçmiş fazları inflamasyon, proliferasyon ve remodeling kapsül formasyonu oluşurken de geçerlidir. İlk 24-48 saat süren inflamasyon fazının ardından proliferasyon süreci başlamakta ve bu dönem içinde kollajen sentezide hızlı bir artış göstermekte ve 16. günde pik yapmaktadır. Çapraz bağlı hyaluronik asit'in uygulamasını takiben kollajen sentezinde artış olur¹⁷⁴. Fibroblastlar tarafından üretilen kollajen kapsülün esas yapısını oluşturur. Fibroblastların myofibroblastlara dönüşümü ve bu hücrelerin artışı fibrozisle sonuçlanmaktadır. Hyaluronik asit'in hücre kültürlerinde myofibroblastların dokudaki dengesini ve devamlılığını sağladığı gösterilmiştir¹⁷⁹.

Çalışmamızda silikon bloka etrafında oluşan kapsül 3 tabakadan oluştuğu, iç tabakada bağ dokusu hücrelerinden ve özellikle fibroblastlardan zengin olduğu görüldü. Kapsülün orta tabakada birbirine paralel yerleşim gösteren kollajen liflerden şekillendiği ve en dışta da kan damarı içeren gevşek bağ dokusundan meydana geldiği izlendi. Kapsül yapısındaki fibroblast yoğunluğu ve kollajen liflerinin sayısı ve organizasyonu ve dış tabakadaki yeni kan damarları Grup 1A'den Grup 2B'ye gidildikçe artmış olduğu gözlemlendi. Kapsül kalınlığı Grup 1A'da ortalama 115,25 µm, Grup 1B'de 189,51 µm, Grup 2A'de 265,17 µm Grup 2B'de ise 479,30 µm olarak ölçüldü. Çalışmamızda Grup 1B ve Grup 2B'ye egzojen olarak hayvansal kaynaklı olmayan, stabilize çapraz bağlı hyaluronik asit dolgu Restylane(Q-Med, Uppsala, Sweden) eklendi. Yoon ve ark. Restylane ile yaptıkları çalışmada

Restylane'in dokuya eklenmesini takiben 2. haftadan 16. haftaya kadar doku kültürlerinde dermal fibroblastların canlılığının devamlılığını, serum fizyolojik eklenen kontrol grubuna göre anlamlı olarak sağladığını göstermiştir¹⁸⁰. Hyaluronik asitin hücre içinde ve hücre dışında etkileri hyaluronik asit'in molekül ağırlığına göre farklılıklar gösterdiği literatürde pek çok çalışmada gösterilmiştir^{131,181}. Çapraz bağlı hyaluronik asit'in degradasyonunu takiben ortamda hızla artan oligomerler, çalışmamızda elde ettiğimiz hyaluronik asit eklenen gruplardaki histolojik ve immunohistokimyasal farklılıkları açıklamaktadır.

Grup 1B ve Grup 2B'de egzojen eklenen hyaluronik asit kapsül kalınlığını ve fibroblast yoğunluğunu artırdığı görüldü. Literatürdeki pek çok çalışma endojen hyaluronik asit'in TGF- β 1'i inhibe ederek myofibroblastların diferansiasyonunu azalttığı ancak egzojen hyaluronik asit'in yine TGF- β 1 aracılığıyla myofibroblast diferansiasyonunu arttırdığı, fibroblast yoğunluğunu artırdığı gösterilmiştir^{140,141,142}. Bu sonuçlar çalışmamızla da uyumludur ve egzojen hyaluronik asit'in eklendiği Grup 1B ile 2B'de kapsül kalınlığının, fibroblast yoğunluğunun, kollajen miktarının fazla olması ve TGF- β 1 düzeyinin bu gruplarda yüksek olmasını açıklamaktadır.

Kollajene özgü ısı şok proteini olan HSP-47 ile yapılan immün boyamalarda ;Grup 1A'da tutulumun kapsüle ait tüm tabakalarda fibroblastlar, fibrositler, kan damarları, kan hücreleri ve kollajen liflerde olmak üzere ortalama olarak en fazla tutulum yine bu grupta oldu. Grup 1B de ise tutulumun iç hücre tabakasında daha az, buna karşılık kuvvetli tutulumun; kollajen liflerde, kan damarlarında ve orta tabakaya ait fibroblast ve fibrositlerde izlenmeye devam ettiği belirlendi. Literatürdeki pek çok çalışma kapsülün histolojik yapısının 3 tabakadan oluştuğu ve kollajen liflerinin ağırlıklı olarak orta tabakada yer aldığını göstermiştir^{163,164}. Grup 1A ve Grup 1B arasındaki istatistiksel anlamlı fark HSP-47 ye spesifik olan kollajen liflerinin¹⁸² orta ve dış tabakada Grup 1B'de artması ancak kapsülün içi tabakasında kollajen olmayan alanda HSP-47'nin miktarının Grup 1B'de daha az olmasından ve yoğunluk- alan ortalaması hesaplanarak HSP-47 yoğunluğunun ölçülüp istatistiksel olarak hesaplanmasından kaynaklandığı düşünüldü. Grup 2A ve 2B de 2 aylık dönemde yeni kollajen sentez hızının devam etmesine rağmen üretim hızının azalmasına ve hücre dışında devam eden kollajen maturasyonuna bağlı olarak HSP-47 miktarının azalmış olabileceğini düşündürdü. Grup 2A ile 2B'ün benzer HSP-47 değerlerine sahip olması Grup 2B'de dış tabakada gevşek bağ dokusunun artmasının kapsül kalınlığını artırırken orta tabakadaki kollajen liflerinin Grup 2B'de göreceli olarak artmış olmasına rağmen iç tabakadaki zayıf tutulumun yine yoğunluk hesaplamasında Grup 2B'nin ortalama yoğunluğunun daha az ölçüldüğü düşünüldü.

TGF- β 'nın dupuytren kontraktürü, pulmoner fibrozis, siroz, glomerülonefrit, skleroderma gibi pek çok fibrotik hastalıkta rol oynadığı gösterilmiştir¹⁶¹. Aynı şekilde periprostetik kapsüler fibrozisde de rolü olduğu ve nötralizasyonunun kapsüler fibrozisi azalttığı ispatlanmıştır¹⁶¹. TGF- β 1 VE β 2 erişkin yara iyileşmesi, TGF - β 3 fötal yara iyileşmesinde önemli rol oynar. TGF- β ekstraselüler matriksi module etme gibi kritik bir görevi vardır. TGF - β 1 ve β 2 skar formasyonunu oluşturduğu bilinmektedir ve TGF- β 1 VE β 2 nötralize eden ajanların skarı azalttığı bilinmektedir¹⁶².

TGF- β 1 ile yapılan immün boyamalar değerlendirildiğinde; tutulumun tüm gruplarda iç tabakada zayıftan ortaya değişen düzeyde olduğu buna karşın kan damarları, kollajen lifler ve fibroblast' lardaki tutulumun Grup 1A'dan Grup 2B'ye gidildikçe arttığı ve en kuvvetli tutulumun da Hyaluronik asit ve silikon uygulaması yapılan Grup 2B'de olduğu belirlendi. Grup 2B ile karşılaştırılan tüm gruplarda istatistiksel anlamlı farklılık saptanması ($p < 0,05$) Grup 4'deki TGF- β 1 tutulumunun yüksek olmasına bağlandı. Kapsül kalınlığı ve kollajen miktarının en yüksek olduğu Grup 2B'de TGF- β 1'in inflamasyonu ve fibrozisi artırıcı etkilerinin bir göstergesi ve kapsül kontraktürü oluşumu için geçmesi gereken ortalama 1 yıllık sürenin sonunda TGF- β 1 Etkisiyle kapsül kontraktürünün ilerleyen zamanlarda oluşabileceği şeklinde yorumlandı. Grup 1B'deki TGF- β 1 değeri Grup 1'e göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kollajen miktarının ve kapsül kalınlığının Grup 1A ve Grup 1B'ye göre daha fazla olan Grup 2A'da TGF- β 1 değeri beklenildiği gibi daha fazla bulunmuştur ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ($p > 0,05$) Kapsül kalınlığı ve kollajen miktarı en fazla olan Grup 2B beklenildiği gibi TGF- β 1 düzeyi de en yüksek olan gruptu ve bu yüksekliğin kapsül kalınlığını da artırmış olabilir şeklinde yorumlandı¹⁶¹.

Çalışmanın kısıtlayıcı basamağı; çalışmada hedeflenen kapsül formasyonu araştırması için çalışmanın 8 hafta ile sonlandırılması, hyaluronik asit'in eklenmesiyle artmış olan kapsül formasyonunun ilerleyen zamanlarda kontraktür ile sonuçlanıp sonuçlanmayacağının daha uzun süreli deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenebilirdi. Hyaluronik asit'in fibrozis üzerine farklı etkilerini araştırmak için farklı molekül ağırlıklı hyaluronik asitlerin deneysel ve klinik çalışmalarda kullanılması faydalı olacaktır. Çapraz bağlanmamış yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asitlerin fibrozis ve anjiogenezi azaltıcı etkileri literatürde bazı çalışmalarda gösterilmiştir.

Çalışmamızda çapraz bağlı hyaluronik asit'in fibrozisi artırıcı etkisinin görülmesi implantla meme büyütme operasyonları sonrası üst pol veya medial pol dolgunluğunu azaltmak için veya implant kenarlarının belirginliğini azaltmak için yağ enjeksiyonlarına alternatif olarak düşünülebilecek hyaluronik asit kullanımının kapsül kontraktürün artırabileceği ihtimalini düşünerek dikkatli kullanılması veya önerilmektedir. Yine skar revizyonlarında veya yara iyileşmesi modellerinde çapraz bağlı hyaluronik asitlerin kullanılması fibrozisi artırabilir

Klinik kullanımda çapraz bağlı hyaluronik asitlerin doku augmentasyonu ve estetik açıdan olumlu sonuçları uzun yıllardır bilinmektedir ancak fibrozis üzerine etkilerinin farklı deneysel ve klinik çalışmalarla gösterilmesinde fayda vardır.

ÖZET

Kapsül formasyonu silikon implantlar sonrası görülen yabancı cisim reaksiyonudur.Kapsül formasyonu oluşum süreci normal yara iyileşmesinin doğal bir sonucudur.Bu sürecin ilerleyici olması kapsül kontraktürü ile sonuçlanmakta ve plastik cerrahi pratiğinde sık olarak estetik ve rekonstrüksiyon amaçlı kullanılan silikon implantlar sonrası görülen en ciddi komplikasyonlardan birini oluşturmaktadır.

Bu çalışmanın amacı yara iyileşmesi ve fibrozis üzerine çeşitli etkileri bilinen hyaluronik asit'in perisilikon kapsül formasyonuna etkilerini araştırmak.

Çalışmada 20 adet wistar albino türü sıçan kullanıldı.Sıçanlar her bir grupta 5 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.Eşit hacimde silikon bloklar sıçanların dorsumuna subkutan olarak yerleştirildi.Grup 1A ve Grup 2A'ya sadece silikon blok,Grup 1B ve 2B'e silikon blok etrafına 0,2 cc çapraz bağlı hyaluronik asit enjekte edildi.Grup 1A ve Grup 1B 1. ayda, Grup 2A ve Grup 2B 2. ayda sakrifiye edildi.Kapsül formasyonu histolojik yöntemlerle boyandı ve immunohistokimyasal yöntemlerle boyandı.Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Kapsül kalınlığının ve kollajen miktarının Grup 1A'dan Grup 2B'e doğru istatistiksel anlamlı olarak artmış olduğu gözlemlendi.($p<0.05$)Hyaluronik asit uygulanan Grup 1B' de kapsül kalınlığının istatistiksel anlamlı olarak Grup 1A'ya göre daha fazla olduğu görüldü.($p<0.05$) 2 aylık gruplarda hyaluronik asit eklenen Grup 2B' de kapsül kalınlığının en fazla olduğu görüldü ve fibrozisle korele olarak TGF- β 1 değerinin yine bu grupta en yüksek olduğu görüldü.HSP-47 değerinin kollajenin artmasına paralel olarak Grup 2B'ye doğru arttığı ancak yoğunluğunun, kapsül kalınlığı da arttığı için Grup 2B'ye doğru azalmış olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak çapraz bağlı hyaluronik asitlerin doku augmentasyonu ve estetik açıdan olumlu sonuçları olmasına karşın fibrozisi artırıcı etkilerinin çalışmada görülmesi implantlar etrafındaki kapsül formasyonu ve kontraktürünü azaltma amaçlı egzojen hyaluronik asit uygulamaları sırasında dikkatli olunması önerilmektedir.

SUMMARY

Capsule formation is a foreign body reaction that occurs in patients who receive silicone implants. In most cases, capsule formation is part of the normal healing process and may keep an implant in

place. However, contracture of the capsule is one of the most severe complications that can result from silicone implant breast augmentation and many reconstruction for clinical practice

The purpose of this study, to investigate the effect of hyaluronic acid on perisilicone capsular formation which is well known agent that effect wound healing and fibrosis in many different ways

We used 20 Wistar Albino rats. We had 4 groups, and every group has 5 rats in each. Equal sized silicon blocks inserted the subcutaneous area of rat dorsum. Group 1 and 3 had only silicone block, In Group 1B and Group 2B 0,2 cc hyaluronic acid injected around silicone blocks. Group 1A and 1B sacrificed at fourth week, Group 2A and Group 2B sacrificed at eighth week. We determined capsule thickness, collagen pattern, inflammatory cells and fibrosis by histologic and immunochemical procedures. Results analysed using statistical methods.

The capsule was composed of distinct layers, was similar in consistency in both groups, but of variable thickness, which differed significantly between each groups ($p < 0.05$). Capsular thickness of Group 1B, which had hyaluronic acid was significantly had a thicker capsule. Group 2B had the thickest capsule and had the highest level of TGF- β 1 which is a sign of fibrosis. HSP 47 levels were increased depending on amount of collagen towards Group 2B, but density of HSP 47 decreased towards Group 2B because of increased capsular thickness.

As a result, crosslinked hyaluronic acid based fillers are useful material for soft tissue augmentation and correct wrinkles for aesthetical practice, but we have to be careful about these fillers if we want to use for decrease fibrosis and capsular thickness around silicone implants because of we saw negative effect on fibrosis and capsular formation

KAYNAKLAR

- 1) Siggelkow, W., et al., *Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture*. Biomaterials, 2003. 24(6): p. 1101-9.
- 2) Wolfram, D., et al., *Cellular and molecular composition of fibrous capsules formed around silicone breast implants with special focus on local immune reactions*. J Autoimmun, 2004. 23(1): p. 81-91.
- 3) Ulrich, D., et al., *Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, aminoterminal propeptide of procollagen type III, and hyaluronan in sera and tissue of patients with capsular contracture after augmentation with Trilucent breast implants*. Plast Reconstr Surg, 2004. 114(1): p. 229-36.
- 4) Wyatt, L.E., et al., *The influence of time on human breast capsule histology: smooth and textured silicone-surfaced implants*. Plast Reconstr Surg, 1998. 102(6): p. 1922-31.
- 5) Domanskis, E. and J.Q. Owsley, Jr., *Histological investigation of the etiology of capsule contracture following augmentation mammoplasty*. Plast Reconstr Surg, 1976. 58(6): p. 689-93.
- 6) Freedman, A.M. and I.T. Jackson, *Infections in breast implants*. Infect Dis Clin North Am, 1989. 3(2): p. 275-87.
- 7) Wagner, H., F.K. Beller, and M. Pfautsch, *Electron and light microscopy examination of capsules around breast implants*. Plast Reconstr Surg, 1977. 60(1): p. 49-55.
- 8) Shanklin, D.R. and D.L. Smalley, *The immunopathology of siliconosis. History, clinical presentation, and relation to silicosis and the chemistry of silicon and silicone*. Immunol Res, 1998. 18(3): p. 125-73.
- 9) Wolfram, D., et al., *T regulatory cells and TH17 cells in peri-silicone implant capsular fibrosis*. Plast Reconstr Surg, 2012. 129(2): p. 327e-337e.
- 10) Backovic, A., et al., *Identification and dynamics of proteins adhering to the surface of medical silicones in vivo and in vitro*. J Proteome Res, 2007. 6(1): p. 376-81.
- 11) Tamboto, H., K. Vickery, and A.K. Deva, *Subclinical (biofilm) infection causes capsular contracture in a porcine model following augmentation mammoplasty*. Plast Reconstr Surg, 2010. 126(3): p. 835-42.

- 12)Kuhn, A., et al., *Periprosthetic breast capsules contain the fibrogenic cytokines TGF-beta1 and TGF-beta2, suggesting possible new treatment approaches*. Ann Plast Surg, 2000. 44(4): p. 387-91.
- 13)Schreml, S., et al., *Bacterial colonization is of major relevance for high- grade capsular contracture after augmentation mammoplasty*. Ann Plast Surg, 2007. 59(2): p. 126-30.
- 14)Burkhardt, B.R., et al., *Capsular contracture: a prospective study of the effect of local antibacterial agents*. Plast Reconstr Surg, 1986. 77(6): p. 919-32.
- 15)Caffee, H.H., *Intracapsular injection of triamcinolone for intractable capsule contracture*. Plast Reconstr Surg, 1994. 94(6): p. 824-8.
- 16)Lemperle, G. and K. Exner, *Effect of cortisone on capsular contracture in double-lumen breast implants: ten years' experience*. Aesthetic Plast Surg, 1993. 17(4): p. 317-23.
- 17)Vazquez, B., K.S. Given, and G.C. Houston, *Breast augmentation: a review of subglandular and submuscular implantation*. Aesthetic Plast Surg, 1987. 11(2): p. 101-5.
- 18)Chang, L., et al., *A comparison of conventional and low-bleed implants in augmentation mammoplasty*. Plast Reconstr Surg, 1992. 89(1): p. 79-82.
- 19)Gutowski, K.A., G.T. Mesna, and B.L. Cunningham, *Saline-filled breast implants: a Plastic Surgery Educational Foundation multicenter outcomes study*. Plast Reconstr Surg, 1997. 100(4): p. 1019-27.
- 20)Spear, S.L., M. Elmaraghy, and C. Hess, *Textured-surface saline-filled silicone breast implants for augmentation mammoplasty*. Plast Reconstr Surg, 2000. 105(4): p. 1542-52; discussion 1553-4.
- 21)Coleman, D.J., I.T. Foo, and D.T. Sharpe, *Textured or smooth implants for breast augmentation? A prospective controlled trial*. Br J Plast Surg, 1991. 44(6): p. 444-8.
- 22)van Heerden, J., et al., *Antimicrobial coating agents: can biofilm formation on a breast implant be prevented?* J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2009. 62(5): p. 610-7.
- 23)Zimman, O.A., et al., *The effects of angiotensin-converting-enzyme inhibitors on the fibrous envelope around mammary implants*. Plast Reconstr Surg, 2007. 120(7): p. 2025-33.

- 24) Adams, W.P., Jr., et al., *A rabbit model for capsular contracture: development and clinical implications*. Plast Reconstr Surg, 2006. 117(4): p. 1214-9; discussion 1220-1.
- 25) Schiller S. Synthesis of hyaluronic acid by a soluble enzyme system from mammalian tissue. Biochem Biophys Res Commun 1964;15:250-5
- 26) Balazs, E. A. Univ. Mich. Med. Ctr. J. (Suppl.) 1968, 22,255–259.
- 27) Balazs, E. A.; Denlinger, J. L. J. Equine Vet. Sci. 1985, 5,217–228.
- 28) Laurent, T. C.; Laurent, U. B. G.; Fraser, J. R. Immunol. Cell Biol. 1996, 74, A1–A7.
- 29) Tammi, M. I.; Day, A. J.; Turley, E. A. J. Biol. Chem. 2002, 277, 4581–4584.
- 30) Day, A. J.; Prestwich, G. D. J. Biol. Chem. 2002, 277, 4585–4588.
- 31) Turley, E. A.; Noble, P. W.; Bourguignon, L. Y. W. J. Biol. Chem. 2002, 277, 4589–4592.
- 32) Toole, B. P.; Wight, T. N.; Tammi, M. I. J. Biol. Chem. 2002, 277, 4593–4596.
- 33) Hascall, V. C.; Majors, A. K.; de la Motte, C. A.; Evanko, S. P.; Wang, A.; Drazba, J. A.; Strong, S. A.; Wight, T. N. Biochim. Biophys. Acta 2004, 1673, 2–12.
- 34) de la Motte, C. A.; Hascall, V. C.; Drazba, J.; Bandyopadhyay, S. K.; Strong, S. A. Am. J. Pathol. 2003, 163, 121–133.
- 35) Majors, A. K.; Austin, R. C.; de la Motte, C. A.; Pyritz, R. E.; Hascall, V. C.; Kessler, S. P.; Sen, G.; Strong, S. A. J. Biol. Chem. 2003, 278, 47223–47231.
- 36) Longacre, J.J. and G.A. Destefano, *Reconstruction of extensive defects of the skull with split rib grafts*. Plast Reconstr Surg (1946), 1957. 19(3): p. 186- 200.
- 37) Breitbart, A., *Implant Materials*, in *Grabb & Smith's Plastic Surgery*, C.H. Thorne, Editor 2010, Lippincott Williams & Wilkins. p. 58-65.
- 38) Linear Polydimethylsiloxanes" Joint Assessment of Commodity Chemicals, September 1994 (Report No. 26) ISSN 0773-6339-26
- 39) Oymak, O., *Silikonun kimyasal yapısı, protez çeşitleri, kapsül*, in *Meme Protezleri ve Silikon* 1992, OPC: İstanbul. p. 9-77.

- 40)Uchida, j., *Clinical application of crosslinked dimethyl polysiloxane, restoration of breast, cheeks, atropy of infantile paralysis, funnel-shaped chest etc.* Jpn J Plast Reconstr Surg., 1961. 4: p. 303.
- 41)Chaplin, C.H., *Loss of both breasts from injections of silicone (with additive).* Plast Reconstr Surg, 1969. 44(5): p. 447-50.
- 42)Mitnick, J.S., et al., *Fine needle aspiration biopsy in patients with augmentation prostheses and a palpable mass.* Ann Plast Surg, 1993. 31(3): p. 241-4.
- 43)Yager, J.S. and T. Chaglassian, *Polyester as a bioimplantable material.* Ann Plast Surg, 1998. 40(5): p. 502-5.
- 44)Cronin, T., *Augmentation mammoplasty: A new "natural feel" prosthesis.*, in *Transactions of the Third International Congress of Plastic and Reconstructive Surgery*1964, Excerpta Medica: Amsterdam.
- 45)Ramachandran, K., *Breast augmentation.* Indian J Plast Surg, 2008. 41(Suppl): p. S41-7.
- 46)Aydin, E.E., *Alloderm ile sarılı silikon implantlarda radyoterapi sonrası kapsül gelişiminin incelenmesi*, in *Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD*.2006, Haydarpasa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi: İstanbul.
- 47)*toluenediamine in urine and serum samples from women with Meme or Replicon breast implants.* Plast Reconstr Surg, 1997. 100(5): p. 1291-8.
- 48)Peña-Salcedo, J.d.l., *Back to the future: a 15-year experience with polyurethane foam-covered breast implants using the partial-subfascial technique.* Aesthetic Plast Surg., 2012. 36(2): p. 331-338.
- 49)Ashley, F.L., *Further studies on the natural-Y breast prosthesis.* Plast Reconstr Surg, 1972. 49(4): p. 414-9.
- 50)Arion, H., *Retromammary prosthesis.* C.R. Soc Fr Gyneco, 1965: p. 5.
- 51)Hartley, J.H., *Specific applications of the double lumen prosthesis.* Clin Plast Surg, 1976. 3(2): p. 247-63.
- 52)Ellenberg, A.H., *Steroids in breast implants.* Plast Reconstr Surg, 1983. 71(2): p. 282-3.
- 53)Maxwell, P., *Breast Augmentation*, in *Plastic Surgery*, S. Mathes, Editor 2006, Saunders-Elsevier. p. 1-33.

- 54)Embrey, M., et al., *A review of the literature on the etiology of capsular contracture and a pilot study to determine the outcome of capsular contracture interventions*. Aesthetic Plast Surg, 1999. 23(3): p. 197-206.
- 55)Ersek, R.A., *Firestorm fibrosis: the fast fibrotic phenomenon*. Ann Plast Surg, 1991. 26(5): p. 494-8.
- 56)Benlier, E., et al., *Effect of verapamil on reduction of peri-implant capsular thickness*. Aesthetic Plast Surg, 2009. 33(4): p. 570-5.
- 57)Prantl, L., et al., *Clinical and morphological conditions in capsular contracture formed around silicone breast implants*. Plast Reconstr Surg, 2007. 120(1): p. 275-84.
- 58)Ginsbach, G., L.C. Busch, and W. Kuhnel, *The nature of the collagenous capsules around breast implants; light and electron microscopic investigations*. Plast Reconstr Surg, 1979. 64(4): p. 456-64.
- 59)Smahel, J., *Histology of the capsules causing constrictive fibrosis around breast implants*. Br J Plast Surg, 1977. 30(4): p. 324-9.
- 60)Rappard, J.H.A.V., *Capsule formation in controlled tissue expansion In: Controlled tissue expansion in reconstructive surgery*. Experiments in tissue expansion. Vol. 5. 1991.
- 61)Baker, J.L., Jr., M.L. Chandler, and R.R. LeVier, *Occurrence and activity of myofibroblasts in human capsular tissue surrounding mammary implants*. Plast Reconstr Surg, 1981. 68(6): p. 905-12.
- 62)Winding, O., et al., *Silicon in human breast tissue surrounding silicone gel prostheses. A scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray investigation of normal, fibrocystic and peri-prosthetic breast tissue*. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg, 1988. 22(2): p. 127-30.
- 63)Thomsen, J.L., et al., *Histologic changes and silicone concentrations in human breast tissue surrounding silicone breast prostheses*. Plast Reconstr Surg, 1990. 85(1): p. 38-41.
- 64)Gayou, R.M., *A histological comparison of contracted and non-contracted capsules around silicone breast implants*. Plast Reconstr Surg, 1979. 63(5): p. 700-7.
- 65)Rudolph, R., et al., *Myofibroblasts and free silicon around breast implants*. Plast Reconstr Surg, 1978. 62(2): p. 185-96.

- 66)Piscatelli, S.J., et al., *Breast capsule contracture: is fibroblast activity associated with severity?* Aesthetic Plast Surg, 1994. 18(1): p. 75-9.
- 67)Williams, C., S. Aston, and T.D. Rees, *The effect of hematoma on the thickness of pseudosheaths around silicone implants.* Plast Reconstr Surg, 1975. 56(2): p. 194-8.
- 68)Veras-Castillo, E.R., et al., *Controlled Clinical Trial With Pirfenidone in the Treatment of Breast Capsular Contracture: Association of TGF-beta Polymorphisms.* Ann Plast Surg, 2011.
- 69)Ersek, R.A. and A.V. Salisbury, *Textured surface, nonsilicone gel breast implants: four years' clinical outcome.* Plast Reconstr Surg, 1997. 100(7): p. 1729-39.
- 70)Fagrell, D., A. Berggren, and E. Tarpila, *Capsular contracture around saline-filled fine textured and smooth mammary implants: a prospective 7.5-year follow-up.* Plast Reconstr Surg, 2001. 108(7): p. 2108-12; discussion 2113.
- 71)Dempsey, W.C. and W.D. Latham, *Subpectoral implants in augmentation mammoplasty. Preliminary report.* Plast Reconstr Surg, 1968. 42(6): p. 515- 21.
- 72) Barnsley, G.P., L.J. Sigurdson, and S.E. Barnsley, *Textured surface breast implants in the prevention of capsular contracture among breast augmentation patients: a meta-analysis of randomized controlled trials.* Plast Reconstr Surg, 2006. 117(7): p. 2182-90.
- 73)Shah, Z., J.A. Lehman, Jr., and J. Tan, *Does infection play a role in breast capsular contracture?* Plast Reconstr Surg, 1981. 68(1): p. 34-42.
- 74)Virden CP, D.M., Stein P, *Subclinical infection of the silicone breast implant surface as a possible cause of capsular contracture.* Aesthetic Plast Surg., 1992. 16(2): p. 173-9.
- 75)Baker, J., *Classification of spherical contractures.*, in *Aesthetic Breast Symposium*1975: Scottsdale , Arizona.
- 76)Spear, S.L. and J.L. Baker, Jr., *Classification of capsular contracture after prosthetic breast reconstruction.* Plast Reconstr Surg, 1995. 96(5): p. 1119- 23; discussion 1124.
- 77)J Nachbar, W.O., *Validation of quantification of breast implant capsule surface area and volume using magnetic resonance imaging.* Ann Plast Surg, 1991. 27: p. 321.
- 78)Leibman, A.J., *Imaging of complications of augmentation mammoplasty.* Plast Reconstr Surg, 1994. 93(6): p. 1134-40.

79)Zahavi, A., M.L. Sklair, and D.D. Ad-El, *Capsular contracture of the breast: working towards a better classification using clinical and radiologic assessment*. Ann Plast Surg, 2006. 57(3): p. 248-51.

80)Asplund, O., *Capsular contracture in silicone gel and saline-filled breast implants after reconstruction*. Plast Reconstr Surg, 1984. 73(2): p. 270-5.

81)Gylbert, L., O. Asplund, and G. Jurell, *Capsular contracture after breast reconstruction with silicone-gel and saline-filled implants: a 6-year follow- up*. Plast Reconstr Surg, 1990. 85(3): p. 373-7.

82)Puckett, C.L., et al., *A critical look at capsule contracture in subglandular versus subpectoral mammary augmentation*. Aesthetic Plast Surg, 1987. 11(1): p. 23-8.

83)Biggs, T.M. and R.S. Yarish, *Augmentation mammaplasty: a comparative analysis*. Plast Reconstr Surg, 1990. 85(3): p. 368-72.

84)Biggs, T.M. and R.S. Yarish, *Augmentation mammaplasty: retropectoral versus retromammary implantation*. Clin Plast Surg, 1988. 15(4): p. 549-55.

85)Adams, W.P., Jr., et al., *Optimizing breast-pocket irrigation: the post- betadine era*. Plast Reconstr Surg, 2001. 107(6): p. 1596-1601.

86)Mladick, R.A., *"No-touch" submuscular saline breast augmentation technique*. Aesthetic Plast Surg, 1993. 17: p. 183.

87)Ellenberg, A.H., *Marked thinning of the breast skin flaps after the insertion of implants containing triamcinolone*. Plast Reconstr Surg, 1977. 60(5): p. 755-8.

88)Carrico, T.J. and I.K. Cohen, *Capsular contracture and steroid-related complications after augmentation mammaplasty. A preliminary study*. Plast Reconstr Surg, 1979. 64(3): p. 377-80.

89) Histologic Analysis of Zafirlukast's Effect on Capsule Formation Around Silicone Implants Erika M. Bastos, M.D., MS.c.,¹ Miguel S. Neto, M.D., Ph.D.,¹ Maria Teresa S. Alves, M.D., Ph.D.,² E´lvio B. Garcia, M.D., Ph.D.,¹ Rafael A. Santos, M.D.,¹ Thai´s Heink, M.D.,² Juliana B. Pereira, M.D.,¹

90)Pirfenidone Prevents Capsular Contracture After Mammary Implantation Matias Gancedo Æ Luis Ruiz-Corro Æ□Adriana Salazar-Montes Æ Ana Rosa Rincó'n Æ Juan Armenda´riz-Borunda Published online: 30 October 2007 Ó Springer Science+Business Media, LLC 2007

- 91) Chin Med J (Engl). 2011 Jan;124(2):284-90.
Controlled release of transforming growth factor-beta receptor kinase inhibitor from thermosensitive Chitosan-based hydrogel: application for prevention of capsular contracture. Diao ZY1, Fu HL, Nie CL, Hao LJ, Yang DP, Chen WH
- 92) Vinnik, C.A., *Spherical contracture of fibrous capsules around breast implants. Prevention and treatment.* Plast Reconstr Surg, 1976. 58(5): p. 555- 60.
- 93) Friemann J, Bauer M, Golz B, Rombeck N, Ho.h.r D, Erbs G, Steinau H-U, Olbrisch RR. Physiologische und pathologische Reaktionsmuster auf Silikonprothesen der Mamma. Zentralbl Chir 1997;122:551–64.
- 94) Wyatt LE, Sinow J, Wollman JS, Sami DA, Miller TA. The influence of time on human breast capsule histology: smooth and textured silicone-surfaced implants. Plast Reconstr Surg 1998; 102(6):1922–31.
- 95) Biomaterials 24 (2003) 1101–1109, Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture Wulf Siggelkow^{a,*}, Andre Faridi^a, Katrin Spiritus^a, Uwe Klinge^b, Werner Rath^a, Bernd Klosterhalfen^c
- 96) Clinical and Morphological Conditions in Capsular Contracture Formed around Silicone Breast Implants
Lukas Prantl, M.D. Stephan Schreml, M.D. Stefan Fichtner-Feigl, M.D. Nina Po'ppl, M.D. Marita Eisenmann-Klein, M.D. Hartmut Schwarze, M.D. Bernd Fu'chtmeier, M.D. 10.1097/01.prs.0000264398.85652.9a
- 97) Garg HG, Hales CA. Chemistry and biology of hyaluronan. Elsevier Science; 2004. ISBN: 978-0-08-044382-9.
- 98) Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. Veterinarni Medicina. 2008;53:397–411.
- 99) Toole BP. Hyaluronan in morphogenesis. Elsevier; 2001. pp. 79–87.
- 100) Noble PW. Hyaluronan and its catabolic products in tissue injury and repair. Matrix biology. 2002;21:25–9.
- 101) Toole B. Hyaluronan in morphogenesis. Journal of internal medicine. 1997;242:35–40.
- 102)] Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. Veterinarni Medicina. 2008;53:397–411
- 103) Turley EA, Noble PW, Bourguignon LY. Signaling properties of hyaluronan receptors. Journal of Biological Chemistry. 2002;277:4589–92.

- 104) Christofori G. Changing neighbours, changing behaviour: cell adhesion molecule-mediated signalling during tumour progression. *The EMBO journal*. 2003;22:2318–23.
- 105) Leppilahti M, Hellström P, Tammela TL. Effect of diagnostic hydrodistension and four intravesical hyaluronic acid instillations on bladder ICAM-1 intensity and association of ICAM-1 intensity with clinical response in patients with interstitial cystitis. *Urology*. 2002;60:46–51.
- 106) Akira S, Tokeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature immunology*. 2001;2:675–80
- 107) Takeda K, Akira S. Toll-like receptors. *Current Protocols in Immunology*. 2007;14:2. 1–2. 3.
- 108) McKee CM, Penno MB, Cowman M, Burdick MD, Strieter RM, Bao C, et al. Hyaluronan (HA) fragments induce chemokine gene expression in alveolar macrophages. The role of HA size and CD44. *Journal of Clinical Investigation*. 1996;98:2403.
- 109) Oertli B, Fan X, Wüthrich RP. Characterization of CD44-mediated hyaluronan binding by renal tubular epithelial cells. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1998;13:271.
- 110) Gariboldi S, Palazzo M, Zanobbio L, Selleri S, Sommariva M, Sfondrini L, et al. Low molecular weight hyaluronic acid increases the self-defense of skin epithelium by induction of β -defensin 2 via TLR2 and TLR4. *The Journal of Immunology*. 2008;181:2103–10.
- 111) Scheibner KA, Lutz MA, Boodoo S, Fenton MJ, Powell JD, Horton MR. Hyaluronan fragments act as an endogenous danger signal by engaging TLR2. *The Journal of Immunology*. 2006;177:1272–81
- 112)] Lee JY, Spicer AP. Hyaluronan: a multifunctional, megaDalton, stealth molecule. *Current Opinion in Cell Biology*. 2000;12:581–6.
- 113) Ramamurthi A, Vesely I. Evaluation of the matrix-synthesis potential of crosslinked hyaluronan gels for tissue engineering of aortic heart valves. *Biomaterials*. 2005;26:999–1010.
- 114) Toole B. Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nature Reviews Cancer*. 2004;4:528–39.
- 115) Cowman MK, Matsuoka S. Experimental approaches to hyaluronan structure. *Carbohydrate research*. 2005;340:791–809.
- 116) Laurent TC, Fraser J. Hyaluronan. *The FASEB Journal*. 1992;6:2397–404.

117) *Dermatol Surg.* 2011 May;37(5):637-43. doi: 10.1111/j.1524-4725.2010.01852.x. Epub 2011 Jan 27.

Comparative histology of intradermal implantation of mono and biphasic hyaluronic acid fillers.

Flynn TC1, Sarazin D, Bezzola A, Terrani C, Micheels P

118) Stern R, Kogan G, Jedrzejewski MJ, Soltés L. The many ways to cleave hyaluronan. *Biotechnology advances.* 2007;25:537–57.

119) Volpi N, Schiller J, Stern R, Soltes L. Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan. *Current medicinal chemistry.* 2009;16:1718–45.

120) Falcone S, Palmeri D, Berg R. Biomedical applications of hyaluronic acid. *ACS Publications;* 2006. pp. 155–74.

121) Allison DD, Grande-Allen KJ. Review. Hyaluronan: a powerful tissue engineering tool. *Tissue Engineering.* 2006;12:2131–40.

122) Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23:435–61.

123) Tomihata K, Ikada Y. Crosslinking of hyaluronic acid with water soluble carbodiimide. *Journal of biomedical materials research.* 1997;37:243–51.

124) Vercruyse KP, Marecak DM, Marecek JF, Prestwich GD. Synthesis and in vitro degradation of new polyvalent hydrazide cross-linked hydrogels of hyaluronic acid. *Bioconjugate chemistry.* 1997;8:686–94.

125) Luo Y, Kirker KR, Prestwich GD. Cross-linked hyaluronic acid hydrogel films: new biomaterials for drug delivery. *Journal of controlled release.* 2000;69:169–84.

126) Liu Y, Zheng Shu X, Prestwich GD. Biocompatibility and stability of disulfide-crosslinked hyaluronan films. *Biomaterials.* 2005;26:4737–46.

127) J Baier Leach J, Bivens KA, Patrick CW, Jr, Schmidt CE. Photocrosslinked hyaluronic acid hydrogels: natural, biodegradable tissue engineering scaffolds. *Biotechnology and bioengineering.* 2003;82:578–89.

128) Toole BP. Hyaluronan in morphogenesis. *Elsevier;* 2001. pp. 79–87.

129) Aigner J, Tegeler J, Hutzler P, Campoccia D, Pavesio A, Hammer C, et al. Cartilage tissue engineering with novel nonwoven structured biomaterial based on hyaluronic acid benzyl ester. *Journal of biomedical materials research.* 1998;42:172–81.

130) Tezel A, Fredrickson GH. The science of hyaluronic acid dermal fillers. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy.* 2008;10:35–42.

131) David-Raoudi M, Tranchepain F, Deschrevel B, Vincent JC, Bogdanowicz P, Boumedene K, Pujol JP. Differential effects of hyaluronan and its fragments on fibroblasts: relation to wound healing. *Wound Repair Regen* 2008;16:274–87.

132) The role of hyaluronan in wound healing

Joseph S Frenkel *Int Wound J* 2014; 11:159–163

133) Longaker MT, Chiu ES, Adzick NS, et al. Studies in fetal wound healing. V. A prolonged presence of hyaluronic acid characterizes fetal wound fluid. *Ann Surg* 1991;213:292–6

134) Lovvorn HN, Cass DL, Sylvester KG, et al. Hyaluronan receptor expression increases in fetal excisional skin wounds and correlates with fibroplasia. *J Pediatr Surg* 1998;33:1062–9

135) Balasz EA, Denlinger JL. Clinical uses of hyaluronan. In: Evered D, Whelan J, editors. *The biology of hyaluronan*. Chichester: J. Wiley and Sons, 1989:265–80

136) *J Plast Surg Hand Surg*. 2013 Apr;47(2):89–92. doi: 10.3109/2000656X.2012.733169. Epub 2013 Jan 29.

Hyaluronic acid, an important factor in the wound healing properties of amniotic fluid: in vitro studies of re-epithelialisation in human skin wounds.

Nyman El, Huss F, Nyman T, Junker J, Kratz G.

137) *Matrix Biology* 21 (2002) 252–259. Mini-review Hyaluronan and its catabolic products in tissue injury and repair Paul W. Noble

138) Differential effects of hyaluronan and its fragments on fibroblasts: Relation to wound healing Maha David-Raoudi, PhD¹; Frédéric Tranchepain, PhD²; Brigitte Deschrevel, PhD²; Jean-Claude Vincent, PhD²; Patrick Bogdanowicz, PhD¹; Karim Boumediene, PhD¹; Jean-Pierre Pujol, PhD¹

139) *Tissue Cell*. 2001 Aug;33(4):326–31. Hyaluronan affects protein and collagen synthesis by in vitro human skin fibroblasts. Croce MA¹, Dyne K, Boraldi F, Quaglino D Jr, Cetta G, Tiozzo R

140) Hyaluronan Synthesis Mediates the Fibrotic Response of Keratocytes to Transforming Growth Factor β Naxin Guo,^{1,2} Xuan Li,¹ Mary M. Mann, Martha L. Funderburgh, Yiqin Du, and James L. Funderburgh³ *J Biol Chem*. Apr 3, 2009; 284(14): 9083–9092. doi: 10.1074/jbc.M806989200

141) Hyaluronan Orchestrates Transforming Growth Factor- β 1-dependent Maintenance of Myofibroblast Phenotype* Jason Webber, Soma Meran, Robert Steadman,¹ and Aled Phillips^{1,2}, *Am J Pathol*. 2009 Jul;175(1):148–60. doi: 10.2353/ajpath.2009.080837. Epub 2009 Jun 18.

- 142) Modulation of TGF β 1-dependent myofibroblast differentiation by hyaluronan. Webber JL, Jenkins RH, Meran S, Phillips A, Steadman R.
- 143) Oksala O, Salo T, Tammi R, Kakkien L, Jalkanen M, Inki P, Larjava H. Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. *J Histochem Cytochem* 1995;43:125–35.
- 144) Stern R, Asari AA, Sugahara KN. Hyaluronan fragments: an information-rich system. *Eur J Cell Biol* 2006;85:699–715.
- 145) Gerdin B, Hallgren R. Dynamic role of hyaluronan in connective tissue activation and inflammation. *J Intern Med* 1997;242: 49–55.
- 146) Toole BP. Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nat Rev Cancer* 2004;4:528–39.
- 147) Hart J. Inflammation 1: its role in the healing of acute wounds. *J Wound Care* 2002;11:205–9.
- 148) Milner CM, Day AJ. TSG-6: a multifunctional protein associated with inflammation. *J Cell Sci* 2003;116:1863–73.
- 149) Wisniewski HG, Vilček J. TSG-6: an IL-1/TNF-inducible protein with anti-inflammatory activity. *Cytokine Growth Factor Rev* 1997;8:143 – 156.
- 150) Fries E, Kaczmarczyk A. Inter- α -inhibitor, hyaluronan and inflammation. *Acta Biochim Pol* 2003;50:735–42.
- 151) Noble PN, Jiang D, Liang J. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev* 2011;91:221–64.
- 152) Halloran CM, Slavin J. Pathophysiology of wound healing. *Surgery* 2002;20:i – v
- 153) Enoch S, Leaper D. Basic science of wound healing. *Surgery* 2005;23:37 – 42.
- 154) Borgognoni L, Reali UM, Santucci M. Low-molecular-weight hyaluronic-acid induces angiogenesis and modulation of the cellular infiltrate in primary and secondary healing wounds. *Eur J Dermatol* 1996;6:127 – 31
- 155) Bennett NT., Schultz GS., Growth factors and wound healing, biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg.*, 165(6), 728-37, (1993).
- 156) Grazul-Bilska AT, Johnson ML, Bilski JJ, Redmer DA, Reynolds LP, Abdullah A, Abdullah KM. Wound healing: the role of growth factors. *Drugs Today (Barc)*. 2003;39(10):787-800

- 157) Hudson AR., Hunter D. Timing of Peripheral Nerve Repair: Important Local Neuropathological Factors. Clin Neurosurg 1977;24:391-405.
- 158) Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Griffin GL, Senior RM, Deuel TF. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor- beta enhance tissue repair activities by unique mechanisms. J Cell Biol. 1989; 109(1):429-40.
- 159) Ridley AJ, Davis JB, Stroobant P, Land H. Transforming growth factors- beta 1 and beta 2 are mitogens for rat Schwann cells. J Cell Biol. 1989;109,(6 Pt2):3419-24
- 160) Sulaiman OA, Gordon T. Transforming growth factor-beta and forskolin attenuate the adverse effects of long-term Schwann cell denervation on peripheral nerve regeneration in vivo. Glia. 2002;37(3):206-18
- 161) Use of the transforming growth factor-beta1 inhibitor peptide in periprosthetic capsular fibrosis: experimental model with tetraglycerol dipalmitate. Ruiz-de-Erenchun R, Dotor de las Herrerías J, Hontanilla B. Plast Reconstr Surg. 2005 Oct;116(5):1370-8.
- 162) Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralising anti- body to TGF-beta 1,2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. J Cell Sci 1994; 107: 1137–57.
- 163) Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralisation of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 or exogenous addition of TGF- beta 3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. J Cell Sci 1995; 108: 985–1002.
- 164) Ferguson MW, O’Kane S. Scar-free healing: from embryonic mechanisms to adult therapeutic intervention. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2004; 359: 839–50.
- 165) Differential effects of TGF-beta1 on hyaluronan synthesis by fetal and adult skin fibroblasts: implications for cell migration and wound healing. Ellis IR, Schor SL. Exp Cell Res. 1996 Nov 1;228(2):326-33.
- 166) Ritossa, F. M. (1962) A new puffing pattern Induced by tempera- ture shock and DNP in Drosophila. Experientia 18; 571–573.
- 167) Kurkinen, M., Taylor, A., Garrels, J. I. and Hogan, B. L. (1984) Cell surface-associated proteins which bind native type IV collagen or gelatin. J. Biol. Chem. 259; 5915–5922.
- 168) Effect of heat shock protein 47 on collagen accumulation in keloid fibroblast cells J-J. Chen, S. Zhao,* Y. Cen, X.-X. Liu, R. Yu and D.-M. Wu

- 169) Koide T, Asada S, Nagata K. Substrate recognition of collagen- specific molecular chaperone HSP47. Structural requirements and binding regulation. *J Biol Chem* 1999; 274:34523–26.
- 170) TRENDS in Molecular Medicine Vol.13 No.2The collagen-specific molecular chaperone HSP47: is there a role in fibrosis? Takashi Taguchi¹ and M. Shawkat Razzaque
- 171) Atagi, T., *Alloplastic materials*, in *Plastic Surgery*, S. Mathes, Editor 2006, Saunders-Elsevier. p. 745.
- 172) Linear Polydimethylsiloxanes" Joint Assessment of Commodity Chemicals, September 1994 (Report No. 26) ISSN 0773-6339-26
- 173) *Dermatology* 2014;228:47–54 DOI: 10.1159/000354384 In vivo Bio-Integration of Three Hyaluronic Acid Fillers in Human Skin: A Histological Study Christian Tran^a Pierre Carraux^a Patrick Micheels^b Gürkan Kaya^c Denis Salomon^a
- 174) Skin Extracellular Matrix Stimulation following Injection of a Hyaluronic Acid–Based Dermal Filler in a Rat Model Sumit Paliwal, Ph.D. Steven Fagien, M.D. Xiaojian Sun Tyler Holt Thomas Kim, M.S. Christopher K. Hee, Ph.D. Dennis Van Epps, Ph.D. Darin J. Messina, Ph.D.
- 175) Wang F, Garza LA, Kang S, et al. In vivo stimulation of de novo collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch Dermatol.* 2007;143:155–163.
- 176) Quan T, Wang F, Shao Y, et al. Enhancing structural support of the dermal microenvironment activates fibroblasts, endo- thelial cells, and keratinocytes in aged human skin in vivo. *J Invest Dermatol.* 2013;133:658–667.
- 177) Lambert CA, Colige AC, Lapière CM, Nusgens BV. Coordinated regulation of procollagens I and III and their post-transla- tional enzymes by dissipation of mechanical tension in human dermal fibroblasts. *Eur J Cell Biol.* 2001;80:479–485.
- 178) Quan T, He T, Kang S, Voorhees JJ, Fisher GJ. Solar ultravio- let irradiation reduces collagen in photoaged human skin by blocking transforming growth factor- beta type II

179) J Biol Chem. Apr 3, 2009; 284(14): 9083–9092. doi: 10.1074/jbc.M806989200
PMCID: PMC2666557 Hyaluronan Orchestrates Transforming Growth Factor- β 1-
dependent Maintenance of Myofibroblast Phenotype*
Jason Webber, Soma Meran, Robert Steadman,¹ and Aled Phillips^{1,2}

180) Ann Plast Surg. 2003 Dec;51(6):587-92.
Advantages of the presence of living dermal fibroblasts within restylane for soft tissue
augmentation.

Yoon ES¹, Han SK, Kim WK
181) Ann Plast Surg. 2003 Dec;51(6):587-92.
Advantages of the presence of living dermal fibroblasts within restylane for soft tissue
augmentation. Yoon ES¹, Han SK, Kim WK

182) ANZ J Surg. 2011 Jun;81(6):425-30.
Effect of heat shock protein 47 on collagen synthesis of keloid in vivo.
Chen JJ¹, Jin PS, Zhao S, Cen Y, Liu Y, Xu XW, Duan WQ, Wang HS.