



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

**TAVŞAN KULAĞI MODELİNDE MULTİ TARGET  
TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRÜ REGORAFENİB'İN  
HİPERTROFİK SKAR ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Özgün İlke KARAGÖZ CEYLAN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Erol KESİKTAŞ**

**ADANA - 2022**



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

**TAVŞAN KULAĞI MODELİNDE MULTİ TARGET  
TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRÜ REGORAFENİB'İN  
HİPERTROFİK SKAR ÜZERİNE ETKİSİ**

**Dr. Özgün İlke KARAGÖZ CEYLAN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Erol KESİKTAŞ**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından  
TTU-2021-14324 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

**ADANA - 2022**

## TEŞEKKÜR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum asistanlık eğitimim boyunca kendisinden gerek mesleki gerek insani olarak çok şey öğrendiğim, her zaman örnek alacağım sonsuz saygı duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Erol KESİKTAŞ'a şükranlarımı sunarım.

Yine bu süreçte birlikte çalışma şansına eriştiğim; emeğini ve hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen, üst düzey bilgi ve deneyimlerini paylaşarak mesleki gelişimime çok büyük katkıları olan Sayın Prof. Dr. Metin YAVUZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca cerrahi disiplini ve cerrahi özgüveni aşıl原因an, her türlü desteği sunan, zamanını ve emeğini esirgemeyen, her zaman arkamızda duran Doç. Dr. Eyüphan GENCEL'e, Doç. Dr. Cengiz ESER'e, Dr. Öğretim Üyesi İbrahim TABAKAN'a ve Dr. Öğretim Üyesi Ömer KOKAÇYA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım beraber yol aldığımız araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve tüm diğer personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimin fikir aşamasında ve var olmasında büyük katkısı olan, mesleki bilgisini ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Oğuz KARA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin deneysel aşamasında histopatolojik ve elektron mikroskopik incelemeleri titizlikle yapan, hem mesleki olarak hem de arkadaşlıklarıyla bana destek olan Dr. Öğretim Üyesi Yurdun KUYUCU ve Arş. Gr. Dilek ŞAKER'e sonsuz teşekkür ederim.

Hayvan temini, bakımı, deney aşamasındaki yardımları için SABİDAM ekibine teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, beni bu günlere getiren sevgili anneme ve babama ayrıca beni hep destekleyen seven, sayan, her an benimle olan sevgili eşim Cem'e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. İlke Karagöz

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER .....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VI
TABLolar DİZİNİ .....	VII
KISALTMALAR LİSTESİ .....	VIII
ÖZET .....	X
ABSTRACT.....	XII
1.GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Deri Anatomisi ve Fizyolojisi .....	5
2.3. Yara İyileşmesi.....	7
2.3.1. İnflamasyon Fazı .....	7
2.3.1.1. Hemostaz .....	8
2.3.1.2. İnflamasyon .....	8
2.3.1.2.1. Nötrofiller.....	9
2.3.1.2.2. Makrofajlar.....	9
2.3.1.2.3. Lenfositler .....	10
2.3.2. Proliferasyon fazı.....	11
2.3.2.1. Fibroblastlar .....	11
2.3.2.2. Keratinositler .....	12
2.3.2.3. Endotel hücreleri ve Anjiogenez.....	12
2.3.2.4. Ekstraselüler Matris .....	13
2.3.2.5. Granülasyon Dokusu.....	14
2.3.3. Olgunlaşma Fazı ve Yeniden Şekillendirme .....	14
2.4. Patolojik Skar .....	15
2.4.1. Hipertrofik Skar.....	17
2.4.2. Keloid .....	23
2.5. Hipertrofik Skar ve Keloid Tedavi Protokolleri.....	26

2.5.1. Cerrahi Tedavi .....	27
2.5.2. İntralezyonel Kortikosteroid Enjeksiyonu.....	27
2.5.3. Silikon Jel Uygulaması.....	28
2.5.4. Basınç Tedavisi .....	29
2.5.5. Radyoterapi.....	29
2.5.6. Lazer Tedavisi .....	30
2.5.7. Kriyoterapi.....	30
2.5.8. İnterferon Tedavisi (IFN) .....	31
2.5.9. İmiquimod Tedavisi.....	31
2.5.10. Retinoik Asit Tedavisi .....	31
2.5.11. 5-Florourasil (5-FU) .....	32
2.5.12. Diğer Tedaviler.....	32
2.6. Bu Çalışmada Kullanılan Medikal Ajanlar .....	33
2.6.1. Regorafenib .....	33
2.6.1.1. Etki Mekanizması .....	34
2.6.1.2. Farmakokinetik ve Eliminasyonu .....	34
2.6.1.3. Preklinik Veri.....	35
2.6.1.4. Klinik Veri .....	35
2.6.1.5. Toksikite Analizi .....	36
2.6.1.5.1. Dermatolojik Toksikite.....	36
2.6.1.5.2. Hipertansiyon, Kardiyak İskemi, İnfarkt .....	37
2.6.1.5.3. Hepatotoksikite .....	37
2.6.1.5.4. Gastrointestinal Perforasyon ve Fistül .....	37
2.6.1.5.5. Hemoraji.....	37
2.6.1.5.6. Embriyo-Fetal Toksikite .....	38
2.6.2. Triamsinolon Asetonid .....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Cerrahi Yöntem.....	40
3.2. Çalışma Grupları .....	43
3.3. Elektron Mikroskopik Yöntemler .....	44
3.4. Işık Mikroskopik Yöntemler .....	46
3.5. Skar Elevasyon İndeksi (SEİ) .....	46

3.6. İmmünohistokimyasal Yöntemler .....	47
3.7. İmmünohistokimyasal Skorlama Yöntemi .....	48
3.8. İstatistiksel Yöntem .....	49
4. BULGULAR .....	50
4.1. Klinik Bulgular .....	50
4.2. Histopatolojik Bulgular .....	51
4.2.1. Skar Elevasyon İndeksi (SEİ) .....	51
4.2.1.1. Sham Grubu .....	52
4.2.1.2. Kontrol Grubu .....	54
4.2.1.3. Triamsinolon Asetonid Grubu .....	55
4.2.1.4. Regorafenib Grubu .....	57
4.2.2. Elektron Mikroskopik Bulgular .....	59
4.2.2.1. Sham Grubu .....	59
4.2.2.2. Kontrol Grubu .....	61
4.2.2.3. Triamsinolon Asetonid Grubu .....	63
4.2.2.4. Regorafenib Grubu .....	65
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular .....	67
4.3.1. Sham Grubu .....	68
4.3.2. Kontrol Grubu .....	70
4.3.3. Triamsinolon Asetonid Grubu .....	71
4.3.4. Regorafenib Grubu .....	73
4.4. İmmünohistokimyasal Skorlama .....	74
4.4.1. VEGF İmmünreaktivitesi İstatistiksel Analizi .....	74
4.4.2. $\alpha$ -SMA İmmünreaktivitesi İstatistiksel Analizi .....	75
5. TARTIŞMA .....	77
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	94
7. KAYNAKLAR .....	96

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1. Smith papirüsü.....	3
Şekil 2. Yoruba heykeli .....	4
Şekil 3. Derinin katmanları .....	5
Şekil 4. Patolojik skar örnekleri A)Hipertrofik skar B)Keloid .....	16
Şekil 5. Regorafenib (BAY 73-4506, Stivarga®).....	33
Şekil 6. Regorafenib'in etki mekanizması (Goel, 2018).....	34
Şekil 7. Triamsinolon Asetonid (Kenakort-A Retard 40 mg ampul, Deva®).....	38
Şekil 8. Kullanılan deney hayvanı (Yeni Zelanda tavşanı) .....	39
Şekil 9. Ketamin hidroklorür (Ketasol®, Richter Pharma ag), Ksilazin hidroklorür (Xylazinbio®, Bioveta).....	41
Şekil 10. Operasyon öncesi tavşan kulağının görünümü.....	41
Şekil 11. Kullanılan cerrahi malzemeler .....	42
Şekil 12. Defektlerin oluşturulması.....	42
Şekil 13. 16. gün hipertrofik skar oluşumunun gözlenmesi .....	43
Şekil 14. Skar elevasyon indeksinin hesaplanması .....	47
Şekil 15. Kontrol grubu 44. gün .....	50
Şekil 16. Triamsinolon asetonid grubu 44. Gün .....	51
Şekil 17. Regorafenib grubu 44. gün.....	51
Şekil 18. Sham grubu ışık mikroskopik görünümü (H&E). .....	53
Şekil 19. Sham grubu ışık mikroskopik görünümü (MT).....	53
Şekil 20. Kontrol grubu ışık mikroskopik görünümü (H&E). .....	54
Şekil 21. Kontrol grubu ışık mikroskopik görünümü (MT) .....	55
Şekil 22. Triamsinolon Asetonid uygulanan grubun ışık mikroskopik görünümü (H&E). .....	56
Şekil 23. Triamsinolon Asetonid uygulanan grubun ışık mikroskopik görünümü (MT).....	57
Şekil 24. Regorafenib uygulanan grubun ışık mikroskopik görünümü (H&E). .....	58
Şekil 25. Regorafenib uygulanan grubun ışık mikroskopik görünümü.....	58
Şekil 26. Sham grubu elektron mikroskopik görünümü.....	60
Şekil 27. Sham grubu elektron mikroskopik görünümü.....	60
Şekil 28. Kontrol grubu elektron mikroskopik görünümü. ....	62
Şekil 29. Kontrol grubu elektron mikroskopik görünümü. ....	62
Şekil 30. Kontrol grubu elektron mikroskopik görünümü .....	63
Şekil 31. Triamsinolon Asetonid uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü .....	64
Şekil 32. Triamsinolon Asetonid uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü .....	64
Şekil 33. Regorafenib uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü. ....	65
Şekil 34. Regorafenib uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü. ....	66
Şekil 35. Regorafenib uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü. ....	66
Şekil 36. VEGF immünoreaktivitesi. ....	67
Şekil 37. $\alpha$ -SMA immünoreaktivitesi. ....	68
Şekil 38. Sham grubunda VEGF immünoreaktivitesi.....	69
Şekil 39. Sham grubunda $\alpha$ -SMA immünoreaktivitesi. ....	69
Şekil 40. Kontrol grubunda VEGF immünoreaktivitesi. ....	70
Şekil 41. Kontrol grubunda $\alpha$ -SMA immünoreaktivitesi.....	71
Şekil 42. Triamsinolon Asetonid uygulanan grupta VEGF immünoreaktivitesi. ....	72
Şekil 43. Triamsinolon Asetonid uygulanan grupta $\alpha$ -SMA immünoreaktivitesi.....	72
Şekil 44. Regorafenib uygulanan grupta VEGF immünoreaktivitesi. ....	73
Şekil 45. Regorafenib uygulanan grupta $\alpha$ -SMA immünoreaktivitesi.....	74
Şekil 46. VEGF için immünohistokimyasal skorlama. ....	75
Şekil 47. $\alpha$ -SMA için immünohistokimyasal skorlama. ....	76

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 1. Işık mikroskopik doku takip işlemi .....	46
Tablo 2. Semikantitatif kollajen yoğunluğu skorlaması .....	47
Tablo 3. Skar elevasyon indekslerinin gruplara göre karşılaştırılması.....	52
Tablo 4. Kollajen yoğunluğunun gruplara göre karşılaştırılması .....	59



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>5-FU</b>	: 5-Florourasil
<b>ACE-I</b>	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörü
<b>ARB</b>	: Anjiotensin Reseptör Blokörü
<b>CORRECT</b>	: Daha Önce Tedavi Görmüş Metastatik Kolorektal Karsinomda Regorafenib Monoterapisi
<b>CTGF</b>	: Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
<b>DPPIV</b>	: Dipeptidil Peptidaz IV
<b>ECM</b>	: Ekstraselüler Matris
<b>EGF</b>	: Epidermal Büyüme Faktörü
<b>eNOS</b>	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
<b>FAF</b>	: Fibroblast Aktivatör Faktör
<b>FAP-α</b>	: Fibroblast Aktivasyon Proteini Alfa
<b>FDA</b>	: Gıda ve İlaç Dairesi
<b>FGFR</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü
<b>GİST</b>	: Gastrointestinal Stromal Tümörü
<b>GM-CSF</b>	: Granülosit-Makrofaj Koloni Stimulan Faktör
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen-Eozin
<b>HCC</b>	: Hepatoselüler Karsinom
<b>HGF</b>	: Hepatosit Büyüme Faktörü
<b>HIF1-α</b>	: Hipoksi İle İndüklenebilir Faktör 1-Alfa
<b>IFN</b>	: Interferon
<b>IGF-1</b>	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
<b>IL</b>	: Interlökin
<b>iNOS</b>	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>KGF</b>	: Keratinosit Büyüme Faktörü
<b>MCP-1</b>	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>MMP</b>	: Matris Metalloproteinaz
<b>MT</b>	: Masson Trikrom
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik Oksit Sentaz
<b>PDGFR</b>	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptörü
<b>PF4</b>	: Platelet Faktör 4
<b>PKB</b>	: Protein Kinaz B
<b>PNL</b>	: Polimorfonükleer Lökosit
<b>SDF-1</b>	: Stromal Hücre Kaynaklı Faktör-1

<b>SEİ</b>	:	Skar Elevasyon İndeksi
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	:	Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta
<b>TIMPs</b>	:	Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	:	Tümör Nekroz Faktör-Alfa
<b>VEGFR</b>	:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü
<b><math>\alpha</math>-SMA</b>	:	Alfa Düz Kas Aktin



## ÖZET

### Tavşan Kulağı Modelinde Multi Target Tirozin Kinaz İnhibitörü Regorafenib'in Hipertrofik Skar Üzerine Etkisi

**Giriş ve Amaç:** Hipertrofik skar, yara iyileşmesindeki anormal yanıt sonucu ortaya çıkan, kişileri fonksiyonel ve kozmetik açıdan olumsuz etkileyebilen aşırı iz gelişimi ile karakterize bir durumdur. Cerrahi eksizyon, steroid enjeksiyonu, radyoterapi, lazerler ve bası tedavisi gibi birçok tedavi yöntemi mevcut olmakla birlikte bu yöntemler her zaman tatmin edici sonuç sağlamaz. Hipertrofik skar oluşumunu önlemek ve tedavi etmek için alternatif tedavilerin araştırılmasına ihtiyaç vardır. Regorafenib; anjiyojenik, stromal, onkojenik reseptör tirozin kinazı hedefleyen çoklu tirozin kinaz inhibitörüdür. Metastatik kolorektal kanserde, hepatoselüler karsinomda ve gastrointestinal stromal tümörde kullanılmaktadır. Aşırı yara iyileşme sürecindeki mikroçevre ile tümör mikroçevresi benzerlik gösterdiğinden bu çalışmada Regorafenib'in hipertrofik skar üzerindeki etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Ağırlıkları 2000-2600 gr olan Yeni Zelanda tipi 16 adet erkek tavşan; sham grubu, kontrol grubu, Regorafenib grubu ve intralezyonel Triamsinolon asetonid grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sham grubuna hiçbir işlem yapılmadı. Diğer gruplarda her bir tavşan kulağının ventraldeki kılsız yüzeyine steril koşullarda birbirlerine eşit aralıklı 4 adet 6mm çaplı sirküler eksizyonel yaralar oluşturularak hipertrofik skar modeli tasarlandı. 16. günde epitelizasyon tamamlandı, hipertrofik skar formasyonları gözlemlendi. Sham grubundaki tavşanlara herhangi bir tedavi uygulanmadı. Kontrol grubunda hipertrofik skarlar tedavisiz takip edildi. Regorafenib grubuna 21 gün boyunca Regorafenib 10 mg/kg dozunda oral yolla verildi. Triamsinolon asetonid grubuna intralezyonel Triamsinolon asetonid enjeksiyonu uygulandı. Tedaviler başladıktan 4 hafta sonra hipertrofik skarlar ve skarlardaki gerilemeler klinik olarak, elektron mikroskopisi ile ve ışık mikroskopisi ile incelendi. Skar elevasyon indeksi, kollajenizasyon ve immünohistokimyasal olarak vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve alfa- düz kas aktin ( $\alpha$ -SMA) düzeyleri değerlendirildi.

**Bulgular:** Makroskopik bakıda hipertrofik skarların tedavisiz takip edildiği kontrol grubunda skarlar palpasyonla sert, ciltten kabarık nodüler şekilde ve hiperemik gözlemlendi. Triamsinolon asetonid ve Regorafenib grubundaki skarların palpasyonla daha yumuşak, düz ve renginin daha soluk olduğu görüldü. Histopatolojik olarak skar elevasyon indeksi ve kollajenizasyon Regorafenib ve Triamsinolon asetonid gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulundu. VEGF ekspresyonu Triamsinolon asetonid ve Regorafenib gruplarında sham grubuna benzer şekilde kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulundu.  $\alpha$ -SMA ekspresyonu Regorafenib grubunda, Triamsinolon asetonid ve kontrol gruplarına göre anlamlı ölçüde düşük bulunurken, hiçbir cerrahi işlem ve tedavi uygulanmayan sham grubuyla aralarında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi.

**Sonuç:** Tavşan kulağı hipertrofik skar modelinde Regorafenib'in Triamsinolon asetonide benzer şekilde hipertrofik skar üzerinde iyileştirici etkisi olduğu görülmüştür ve bu iyileşme histopatolojik olarak da desteklenmiştir. Skar elevasyon indeksi, kollajenizasyon ve VEGF düzeylerinde Triamsinolon asetonid ve Regorafenib grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir ve her iki grupta da kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşüş gözlenmiştir.  $\alpha$ -SMA düzeyi Regorafenib grubunda kontrol ve Triamsinolon asetonid gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Bu bulgular Regorafenib'in hipertrofik skar tedavisinde yeni bir modalite olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** Hipertrofik skar, Regorafenib, Triamsinolon asetonid.



## ABSTRACT

### Effect Of Multi Target Tyrosine Kinase Inhibitor Regorafenib On Hypertrophic Scar Model In The Rabbit Ear

**Introduction and Aim:** Hypertrophic scar is a condition that occurs on the skin as a result of an abnormal response in wound healing and is characterized by the development of excessive scars that can negatively affect people functionally and cosmetically. Although there are many treatment methods such as surgical excision, steroid injection, radiotherapy, lasers and pressure therapy, these methods do not always provide satisfactory results. There is a need to search alternative treatments to prevent and treat hypertrophic scar. Regorafenib is a multiple tyrosine kinase inhibitor targeting angiogenic, stromal, oncogenic receptor tyrosine kinase. It is used in metastatic colorectal cancer, hepatocellular carcinoma and gastrointestinal stromal tumor. In this study, it was aimed to observe the effect of Regorafenib on hypertrophic scar, since the microenvironment in the excessive wound healing process and the tumor microenvironment are similar.

**Materials and methods:** 16 New Zealand type male rabbits weighing 2000-2600 g; were divided into 4 groups as sham group, control group, Regorafenib group and intralesional Triamcinolone acetonide group. No action was taken on the sham group. In other groups, a hypertrophic scar model was designed by creating 4 equally spaced circular excisional wounds of 6 mm diameter on the ventral hairless surface of each rabbit ear under sterile conditions. On the 16th day, epithelialization was completed and hypertrophic scar formations were observed. Rabbits in the sham group did not receive any treatment. In the control group, hypertrophic scars were followed without treatment. Regorafenib was given orally to the regorafenib group at a dose of 10 mg/kg for 21 days. Intralesional injection of Triamcinolone acetonide was applied to the Triamcinolone acetonide group. 4 weeks after the treatment was started, hypertrophic scars and regression of the scars were examined clinically, by electron microscopy and light microscopy. Scar elevation index, collagenization, and immunohistochemically vascular endothelial growth factor (VEGF) and alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) levels were evaluated.

**Results:** In macroscopic examination, in the control group, in which hypertrophic scars were followed without treatment, the scars were hard, nodular and hyperemic on palpation. The scars in the Triamcinolone acetonide and Regorafenib groups were found to be softer, flatter and paler in color. Histopathologically, scar elevation index and collagenization were found to be significantly lower in Regorafenib and Triamcinolone acetonide groups compared to the control group. VEGF expression was found to be significantly lower in the Triamcinolone acetonide and Regorafenib groups, similar to the sham group, compared to the control group. While  $\alpha$ -SMA expression was found to be significantly lower in the Regorafenib group compared to the Triamcinolone acetonide and control groups, there was no significant difference between the sham group, which did not undergo any surgical procedure or treatment.

**Conclusion:** In the rabbit ear hypertrophic scar model, Regorafenib was found to improve scar appearance similar to Triamcinolone acetonide, and this improvement is also supported histopathologically. There was no significant difference in the scar elevation index, collagenization and VEGF levels between the Triamcinolone acetonide and Regorafenib groups, and a significant decrease was observed in both groups compared to the control group. The  $\alpha$ -SMA level was found to be significantly lower in the Regorafenib group than in the control and Triamcinolone acetonide groups. These findings suggest that Regorafenib may be a new modality in the treatment of hypertrophic scars.

**Keywords:** Hypertrophic scar, Regorafenib, Triamcinolone acetonide



# 1.GİRİŞ

Yara iyileşmesi, bir organ ya da dokudaki hasarlanmanın onarımı ve yeniden düzenlenmesidir. Dermis hasarı sonucu fizyolojik yara iyileşmesinin abartılı sonuçlanmasıyla aşırı skar gelişimi meydana gelir. Dermal yaralanmanın ardından oluşan hipertrofik skar insanları olumsuz etkileyen önemli bir klinik problemdir. Hipertrofik skar; cerrahi, travmatik yaralanmalar veya yanıklardan sonra gelişebilir ve etkilenen bireylerde fonksiyonel, psikolojik ve estetik açıdan olumsuz sonuçlara neden olabilir. Hipertrofik skar gelişen hastalarda depresyon ve anskiyete gibi psikolojik problemlere sıklıkla rastlanabilmektedir. Aynı zamanda hipertrofik skar ağrı, kaşıntı gibi yakınmalara ve kontraktür oluşumu gibi fonksiyonel kısıtlılıklara sebep olarak yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir.

Aşırı skar oluşumunun klinik olarak görülen iki farklı türü; hipertrofik skar ve keloidlerdir. Hipertrofik skar fibroproliferatif bir bozukluk olup, klinikte ciltten kabarık, kızarıklık, kaşıntılı ve ağrılı lezyonlar ile karakterizedir. Eklem bölgelerini de içine aldığı kontraktürlere neden olmaktadır. Hipertrofik skar için cerrahi eksizyon, intralezyonel steroid enjeksiyonu, bası uygulaması ve lazerleri içeren birçok tedavi modalitesi bulunmaktadır. Ancak bu tedavi yöntemleri aşırı skar oluşumunu önlemede ve sağlıklı cilt dokusunun oluşumunda tam olarak yeterli değildir. Hipertrofik skar ve keloidin eksizyonu sonrasında sıklıkla rekürrens görülmektedir. Bu nedenle uygulaması kolay, ağrısız ve etkili alternatif tedavi yöntemlerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.<sup>1</sup>

Regorafenib, onkogeneze, tümör anjiyogenezinde ve tümör mikroçevresinin modülasyonunda rol alan çoklu protein kinazların aktivitesini bloke ettiği gösterilen bir oral çoklu kinaz inhibitörüdür. Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR) ve tirozin kinaz, tümör anjiyogenezinde önemli roller oynar. Oral multikinaz inhibitörü olan Regorafenib, biyokimyasal ve hücre kinaz fosforilasyon yollarında endotel hücre kinazlarını güçlü bir şekilde inhibe eder. Ayrıca, Regorafenib diğer anjiyogenik kinazları (VEGFR1-3, trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü (PDGFR), fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR)-1) ve mutant onkogenik kinazlar KIT, RET ve B-RAF'ı inhibe etmektedir. Regorafenib daha önce anti-VEGF veya anti-epidermal büyüme faktörü (EGF) tedavisi ile veya bu kemoterapi olmadan standart kemoterapi ile

tedavi edilmiş metastatik kolorektal kanserler için kurtarma tedavisi olarak Eylül 2012 tarihinde, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır.<sup>2</sup> Metastatik kolorektal kanserinde, hepatoselüler karsinomda ve gastrointestinal stromal tümörde oral multikinaz inhibitörü olarak kullanılmaktadır.<sup>3</sup>

Kanser hastalarında genel sağkalımı azaltan ve ilaç direncini artıran tümör mikroçevresinin oluşumunda yer alan anahtar sinyal molekülleri, doku rejenerasyonu ve yara yönetiminde de yer almaktadır. Yayınlanmış veriler, tümör ve yara iyileşmesi sürecindeki mikroçevreler arasında dikkate değer benzerlikler göstermektedir.<sup>4</sup>

Aşırı yara iyileşme sürecindeki mikroçevre ile tümör mikroçevresi benzer olduğundan çalışmamızda Regorafenib'in hipertrofik skar üzerindeki etkisini deneysel olarak araştırmak amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

Bilinen en eski tıbbi doküman, 1862'de arkeolog Edwin Smith tarafından Teb şehrinde bulunan cerrahi papirüstür. M.Ö. 1700'lü yıllarda yazılmış olan bu papirüste, 48 cerrahi vaka, batıl inançlar yerine gözlem ve mantıksal çıkarımlara dayanarak tanımlanmıştır. Smith papirüsü 45. vakada 'göğsündeki geniş, yayılan ve sert şişlik' olarak, yazılı tarihte ilk kez patolojik skar tariflenmiştir.<sup>5</sup> (Şekil 1)



Şekil 1. Smith papirüsü

Batı Nijerya'daki antik Yoruba halkının M.S. 10. yüzyılda keloidlere çok sayıda örnekleri mevcuttur. Yorubalılar, yüzlerinde keloidal formlar oluşturarak bunu ritüelleştirmişler ve ayrıca bunu heykel sanatlarında kullanmışlardır.<sup>6</sup> (Şekil 2.)



Şekil 2. Yoruba hekkeli

Homeros İlyada eserinde (M.Ö 1000) 147 tane yarayı tanımlamıştır. Yaralılar çadırda, hikâyeler eşliğinde şarap içerek, keçi peyniri ve arpa yiyerek ve güzel kadınlar tarafından yaraları sıcak su ile yıkanarak tedavi edilmiştir. Ancak yaralıların %77,6'sı ölmüştür. Ölümünün muhtemel nedeninin kanama olduğu düşünülmektedir.<sup>7</sup>

Hipokrat (M.Ö 460-370) yaraların kuru tutulması gerektiğinden bahsetmiş, kuru ve temiz pansuman yapılmasının, immobilizasyonun, cerrahın el temizliğinin önemini belirtmiştir.<sup>8</sup> Ambroise Pare (1510-1590) orduya cerrah olarak girdiği dönemde birçok askeri yumurta kabuğu, gül yağı ve reçine ile hazırladığı pansuman ile tedavi etmiştir.<sup>8,9</sup>

Rudolph Virchow (1821-1902) mikroskop ile incelemesi esnasında yara iyileşmesinde hücreyel olayların ve özellikle fibroblastların etkili rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. 1910 yılında Nobel ödüllü Alexis Carrel yaptığı hayvan çalışmalarına dayanarak yara iyileşmesini sessiz, granülatöz reaksiyon, epidermalizasyon ve skatrisyel olmak üzere dört evrede değerlendirmiştir.<sup>10</sup>

1806'da Alibert, Yunanca 'chele' den türetilmiş ve 'yengeç pençesi' anlamına gelen 'cheloide' terimini kullanmıştır.<sup>11,12</sup> Keloidin pençe gibi uzantıları ve yengeç benzeri yanal hareketlerle karakterize büyümesi yengeç pençesine benzetilebilir. Alibert' in dermatolojik metninin 1825 yılında yayımlanan ikinci baskısında 'Les cancroides o kelloides' başlıklı bir bölüm açılmış ve günümüz terminolojisini oluşturmuştur.<sup>13</sup>

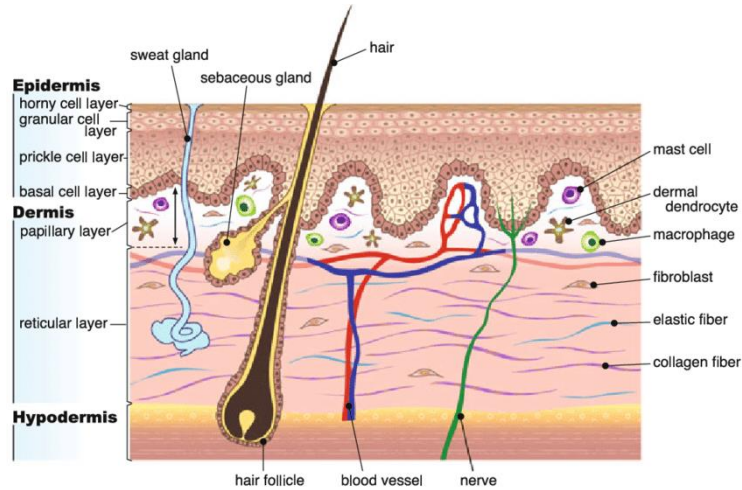
Cosman 1961'de keloidlerin ilk sistemik incelemesinde keloidin görünümü, özellikleri ve tedavisini dökümanete etmiştir.<sup>14</sup> 1962 yılında Mancini ve ve 1970 yılında Peacock patolojik skarları, keloid ve hipertrofik skar olarak 2 ayrı başlıkta

sınıflandırmıştır. Buna göre her ikisi de ciltten kabarıktır; fakat hipertrofik skarlar yara sınırından taşmazken keloidler yara sınırından dışarı taşmaktadır.<sup>15,16</sup>

Özetle ilk yara ve yara tedavileri 5000 yıl önce tariflenmiştir. O zamandan bu yana yara bakımı nesilden nesile aktarılmıştır. Son yüzyıl içinde teknolojik gelişmelerle birlikte yara iyileşmesinde ve yara bakımında da ilerlemeler olmaktadır. İlerlemenin gelecekte de devam etmesini sağlamak ve yeni tedavilere yön vermek için yara tedavisinde tüm başarı ve başarısızlıkları ile tarihsel yönleri bilmek önemlidir.<sup>17</sup>

## 2.2. Deri Anatomisi ve Fizyolojisi

Deri, ektodermal kaynaklı epidermis ve mezodermal kaynaklı dermisten oluşan vücudun en büyük organıdır. Duyu cisimcikleri, ter bezleri, yağ bezleri ve kıl kökleri gibi özel yapılar bulundurur. Deri, duyu organı olmasının yanı sıra; vücudu mekanik, kimyasal, ısı, ışık ve osmotik etkilerden korur, vücut sıcaklığını dengelemeye yardımcı olur, D vitamini sentezler ve çeşitli maddelerin vücuttan atılmasını sağlar. Deri, epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç tabakadan meydana gelmektedir.<sup>18</sup> (Şekil 3)



Şekil 3. Derinin katmanları<sup>19</sup>

Epidermis, en dış tabakadır ve keratinize çok katlı yassı epitelden oluşur. Damar yapısı içermez, bu nedenle dermisten difüzyon ile beslenmektedir. Epidermisin, en alt

tabakasındaki dermis ile komşu olan hücreleri canlıdır, yüzeyel tabakalara doğru bu hücreler şekil değiştirir ve canlılığını yitirir. Epidermis, 5 tabakadan oluşmaktadır.

Bunlar derinden yüzeyele doğru;

1. Stratum bazale
2. Stratum spinozum
3. Stratum granülozum
4. Stratum lucidum
5. Stratum korneum'dur.

Epiderminin en dışında yassı, çekirdeksiz, keratinden zengin 'stratum korneum' tabakası vardır. Bu hücreler keratini salgıladıktan sonra boynuzsu hücrelere dönüşürler ve yüzeyden dökülmeye başlarlar. Stratum korneum tabakasının altında bulunan 'stratum lucidum' tabakası ayak tabanı ve avuç içi derisinin epiderminde yer alır. Bunun altındaki 'stratum granülozum' tabakası, sitoplazmalarında keratohyalin bulunan hücrelerden oluşur. Ayrıca lipit içeren ve hücreler arası boşlukta bariyer görevi yapan granüller bulundurur. D vitamini sentezi bu tabakada gerçekleşmektedir. Stratum granülozumun altında 'stratum spinozum' tabakası bulunur. Bu tabakadaki hücreler poligonaldir ve sitoplazmaları tonofibrillerle doludur. Sürtünme ile baskıya karşı direnç oluştururlar. Bu yüzden ayak tabanında daha fazla miktarda bulunur. En alt tabaka epiderminin en derin tabakası olan 'stratum bazale'dir. Bu tabaka yoğun mitotik aktiviteye sahip olup epiderminin sürekli yenilenmesinden sorumludur. Epidermis, lokalizasyon ve yaşa bağlı olarak değişmekle beraber her 15-20 günde bir yenilenmektedir. Spinozum ve bazale tabakaları hücre üretiminden sorumludur, ayrıca bu tabakalarda melanin üreterek deriye rengini veren melanositler ve immünolojik savunmada görev alan dendritik hücreler bulunur.<sup>18,20</sup>

Dermis, bazal membran ile epidermisten ayrılan, derinin mezenkimal bileşenidir. Dermiste fibroblastlar, mast hücreleri, histiositler, monositler, lenfositler ve Langerhans hücreleri bulunur. Çok kuvvetli bir gerilme gücü olan kollajen derminin ana komponentini oluşturur. Elastin ise hacim olarak daha az yer tutar.<sup>21</sup> Dermis; papiller ve retiküler dermis olarak adlandırılan yapısal olarak farklı iki tabakadan oluşur. Cilt yüzeyine daha yakın konumlanan papiller tabaka üst kısımda beslenme ve innervasyon için gerekli sinir uçlarını ve mikrovasküler damarları içerir. Papiller dermis, daha yüksek hücre yoğunluğu, daha yüksek proteoglikan içeriği ve kollajen liflerinin daha

zayıf hizalanması ile retiküler dermisten farklıdır. Düzensiz bir polar yapıya sahiptir. Yoğunluğu retiküler dermise doğru azalır. Retiküler dermis vasküler pleksus ve rete subpapillaları içerir.<sup>22</sup> Elastik lifler ve düz kas hücrelerinden zengin, bol miktarda yağ ve ter bezleri, kıl kökleri, duyu cisimcikleri ve serbest sinir sonlanmaları bulundurulur.<sup>21</sup> Ekstraselüler matrisi (ECM) daha belirgin bir yapıdadır. Kollajen demetleri, elastin ile birlikte düzenli bir ağ oluşturan yoğun lifler halinde düzenlenir. Yaşlanma ile papiller dermisenin hacmi azalır, incelik ve yavaş yavaş retiküler dermis ile değiştirilir.<sup>22</sup>

Hipodermis, bağ dokusundan oluşur. Bünyesinden yağ dokusu, sinirler ve deri altı kasları bulundurulur.<sup>21</sup>

### **2.3. Yara İyileşmesi**

Yara, herhangi bir nedenle doku bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanır. Kutanöz yaralanma kişiyi enfeksiyon, sıvı kaybı ve elektrolit dengesizliği gibi patolojik durumlara karşı savunmasız hale getirebilir. Bu nedenle vücudun yaralanma sonrasında fizyolojik bir yanıt olarak başlattığı yara iyileşme süreci kritik öneme sahiptir.<sup>23</sup>

Yara iyileşme süreci inflamasyon fazı, proliferasyon fazı, matürasyon ve remodeling fazı olarak fazlara ayrılmıştır fakat bu aşamaların hiçbiri kesin olarak tanımlanmış bir zaman dilimine karşılık gelmez ve tüm aşamalar birbiriyle belli bir dereceye kadar örtüşür.<sup>23</sup>

Kutanöz iyileşme yapısal ve işlevsel olarak normal deriye benzeyen ancak tam olarak aynı olmayan skar dokusu ile sonuçlanır.<sup>24</sup>

#### **2.3.1. İnflamasyon Fazı**

İnflamasyon fazı yaralanma oluşuktan sonra akut dönemde hemostaz ile başlar ve normal koşullarda 48-72 saat sürer. İnflamasyon; ısı artışı, eritem, ödem ve ağrı ile karakterizedir. Bu fazın temel hücreleri trombositler, nötrofiller ve makrofajlardır. Aktif kanamanın durdurulması, ortamda bulunan ölü dokuların, bakterilerin ve yabancı cisimlerin uzaklaştırılması hedeflenir.<sup>25</sup>

### **2.3.1.1. Hemostaz**

Epidermis ve dermis bütünlüğü bozulduğunda, travma sonrası damar rüptürü nedeni ile gerçekleşen ilk olay kanamadır. Vücudun hasarlanmadan hemen sonra yaptığı ilk eylem kanama kontrolü olur. Endotel hasarını takiben vazokonstriksiyon gerçekleşir, endotel ve yakındaki plateletler koagülasyon kaskadının intrinsik kısmını aktive eder.<sup>26</sup> Trombosit tıkaç meydana gelir. Bu olay primer hemostaz olarak isimlendirilir. Trombosit stimülasyonunun amplifikasyonu prokoagülan aktiviteye, trombin oluşumuna, ardından pıhtı retraksiyonu ile stabil bir trombosit fibrin tıkaçı oluşumuna yol açar. Koagülasyon sistemiyle meydana gelen bu süreç de sekonder hemostazdır.<sup>27</sup>

### **2.3.1.2. İnflamasyon**

Endotel hücrelerinin hasarıyla vasküler geçirgenliği artıran sitokinler salınır. Koagülasyon kaskadının başlatılması ve trombositlerin degranülasyonu ile trombositlerden platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) gibi sitokinler ve büyüme faktörleri salınır. Bu sitokinler ve büyüme faktörleri, sadece hemostaz için değil, yara iyileşmesinin diğer aşamaları için de önemlidir.<sup>28</sup>

Hemostazla oluşan fibrin pıhtı aynı zamanda hücre çoğalması ve göçünü uyaran geçici bir hücre dışı matris oluşturur. Nötrofiller, monositler, fibroblastlar gibi hücreler için skafold görevi görür. Yetersiz pıhtı oluşumu veya fibrin matrisin çıkarılması kemotaksisin ve inflamatuvar bölgedeki hücrelerin yapışmasının azalmasına bağlı olarak yara iyileşmesini bozar.<sup>27,29</sup>

Bu süreç içinde kompleman kaskadı başlatılır. Kompleman sistemi karaciğerde üretilen ve hücrelerarası boşluğa sızan inaktif proteinlerden oluşur. Patojen mikroorganizma varlığında aktifleşen bu proteinlerden C3a ve C5a hem vazodilatasyon yapar hem de dolaşımdaki inflamatuvar hücrelerin diapedez (ekstravazasyon) ile yara bölgesine gelmesini sağlar. Aktif kompleman sistemi patojen hücrenin fagosite

edilmesinde rol alır, ayrıca fagositoz mekanizmasından bağımsız olarak bu hücreleri öldürebilir. Bu sayede patojenlerin kolonizasyonu engellenir.<sup>30</sup>

#### **2.3.1.2.1. Nötrofiller**

Pıhtı oluşur oluşmaz üretilen hücrel sinyallerle nötrofil tepkisi başlar. Travma sonrası ilk iki gün predominat hücre polimorfonükleer lökositlerdir (PNL). İnflamatuar mediyatörler biriktikçe, Interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ), platelet faktör 4 (PF4) ve bakteriyel ürünlerle nötrofiller hasarlı alana çekilir.<sup>31,32</sup> Mast hücrelerinden ortama salınan histamin ve hücre zarında hasar oluşması halinde tüm hücrelerin zarında üretilen lökotrien C4, lökotrien D4 ve prostaglandinler vazodilatasyonu başlatır. Kininler ve pıhtılaşma proteinlerinden trombin, kapiler permeabiliteyi artırır.<sup>33</sup> Nötrofillerin yara bölgesine girmesiyle, bakterileri ve cansız dokuları sindirecek olan kostik proteolitik enzimler salınır. Nötrofil, tercih edilen hedefe göre birkaç farklı proteaz tipine sahiptir. Örneğin elastaz gibi serin proteazların geniş bir özgüllüğü varken; çinko iyonu içeren metalloproteinaz özellikle kollajeni sindirir. Hasarlanmamış dokudaki matris, proteaz inhibitörleri ile korunur. Nötrofiller ayrıca reaktif serbest oksijen radikalleri ile kontamine yarayı sterilize etmeye yardımcı olabilir.<sup>34</sup> Nötrofiller kısa süre sonra yerini makrofajlara bırakır. Nötrofiller yara iyileşmesi için şart değildir. Enfeksiyonu azaltmalarına karşın, yoklukları yara iyileşmesinin bütünsel ilerlemesini durdurmaz. Bununla birlikte yara yerinde uzun süre kalmaları akut yaraların kronik yaraya dönüşümüne neden olur.<sup>35,36</sup> Yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler, normal dokularda da tahribata neden olur, serbest oksijen radikallerinin salınımıyla oksidatif stres yaratır. Doku hasarı ve iyileşmede gecikmeye yol açar.<sup>35</sup>

#### **2.3.1.2.2. Makrofajlar**

Üçüncü günden itibaren makrofajlar predominat hücre haline gelir. Dolaşımdaki monositler; fibronektin, elastin, C3a, C5a, trombin gibi kemoatraktan maddeler ve PDGF, TGF- $\alpha$ , VEGF, IGF-1, TGF- $\beta$ , monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gibi büyüme faktörleriyle yaraya çekilir.<sup>37</sup> Yaralanma bölgesine ulaşan monositler, monosit

kemoatraktan protein 1 (MCP-1) aracılığı ile dokuya girerek yaralanmadan yaklaşık 48-96 saat sonra makrofajları oluşturur. İnflamatuar hücrelerin aktivasyonu özellikle makrofajlar için kritiktir. Aktif bir makrofaj ise proliferatif faza geçiş için önemlidir. Aktive edilmiş makrofaj vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve TNF- $\alpha$  sentezleyerek anjiogeneze aracılık eder. TGF- $\beta$ , EGF, PDGF, IL-1 ve TNF- $\alpha$  sentezleyerek fibroplaziye aracılık eder. FGF-2, TGF- $\beta$  ve IGF üreterek fibroblastları kollajen yapımı için uyarır. TGF- $\beta$  üreterek fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü sağlar. İndüklenebilir nitrik oksit sentazın (iNOS) IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  tarafından aktivasyonu ile nitrik oksit (NO) sentezler.<sup>29,38</sup> Makrofajlar myeloperoksidaza sahip değildir ancak NO üreterek patojenleri öldürmeye devam ederler. Peroksit iyonu oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek daha toksik peroksinitrit ve hidroksil radikalleri verir.<sup>39</sup>

Makrofajlar, nötrofillerin aksine yara iyileşmesi için esansiyeldir ve yokluğu yara iyileşmesini bozar. Makrofajların yaraya gelmemesi durumunda granülasyon dokusunun oluşumu, anjiogenez, kollajen sentezi, büyüme faktörlerinin salınımı, miyofibroblast dönüşümü olumsuz etkilenir ve yara kapanması gecikir.<sup>40</sup>

### **2.3.1.2.3. Lenfositler**

Yaralanmanın ardından son olarak lenfositler interlökin-1 (IL-1) aracılığı ile yaralanma bölgesine gelir ve yaklaşık 7. günde pik yaparlar. Yara iyileşmesinin başlaması için lenfositler gerekli değildir, ancak doku onarımının normal bir sonucu için sağlam hücresel bağışıklık tepkisi gereklidir.<sup>41</sup> IL-1, IL-2, TGF- $\beta$ , EGF, TNF- $\alpha$ , fibroblast aktivatör faktör (FAF) gibi sitokinlerin salınımından sorumluluğu olduğu için özellikle CD4 pozitif lenfositler yara iyileşmesi için önemlidir. Otokrin olarak T hücre diferansiyasyonu ve proliferasyonunun yanında diğer fonksiyonları da mevcuttur.<sup>42,41</sup> İmmatür CD4+ T hücreleri; inflammatuar T hücresi ya da yardımcı T hücresine diferansiye olma potansiyeline sahiptir. İki hücre tipinin ayrı sitokin profilleri vardır. Her iki T hücre tipi de IL-3 ve granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF) eksprese eder. İnflamatuar T hücreleri ayrıca IL-2, interferon (IFN), TNF sentezlerken; yardımcı T hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 sentezler. CD4+ ve CD8+ hücreleri karşılatıran histolojik çalışmalar T hücrelerinin yara iyileşmesini regüle

ettiğini göstermektedir. İnflamatuar T hücreleri proinflamatuardır, yardımcı T hücreleri baskılayıcıdır. CD4+ hücrelerin artması yukarı regülasyona ve CD8+ hücreler aşağı regülasyona yol açar.<sup>43</sup>

### **2.3.2. Proliferasyon fazı**

Bu faz, keskin bir geçiş olmamakla beraber inflamasyon fazının son döneminde başlar ve yaralanmanın 4. gününden 21. gününe kadar sürdüğü kabul edilir.<sup>29</sup>

Fibroblastların, endotel hücrelerinin ve keratinositlerin rol aldığı proliferasyon fazında ölü boşlukları dolduran fibrin matris yıkılırken eş zamanlı olarak bağ dokusu üretilir. Yeni oluşturulan damarlar ile bölgeye yeniden kan akışı sağlanır, bunun sonucunda oluşan granülasyon dokusunun epitel hücreleri ile örtülmesiyle yara kapanır.<sup>44</sup>

#### **2.3.2.1. Fibroblastlar**

Proliferasyon fazının anahtar hücresi fibroblastlardır. İyileşmekte olan yarayı dolduran ekstraselüler matrisi (ECM) yaparak keratinosit migrasyonu için uygun ortam oluştururlar. Bu matris, kutanöz skarlaşmanın en belirgin ögesi olacaktır.<sup>45</sup> Trombositlerden ve makrofajlardan üretilen PDGF ve EGF fibroblastları stimüle eder. Fibroblastlar çevre dokudan yara bölgesine göç eder, aktive olur ve kollajen sentezlemeye başlar. Yara bölgesinde zaten var olan fibroblastlar, yara fibroblastları, makrofajlar tarafından salgılanan TGF- $\beta$ 1 tarafından indüklenir ve yara kontraksiyonunu sağlayan myofibroblastlara dönüşür.<sup>46-48</sup> Fibroblastlar tarafından PDGF ekspresyonu, otokrin ve parakrin sinyallerle amplifiye edilir. PDGF'ye yanıt olarak fibroblastlar; kollajen tip III, glikozaminoglikanlar ve fibronektinden oluşan geçici bir matris sentezlemeye başlar.<sup>49</sup>

Bu aşamada, yaradaki granülasyon dokusunda baskın olan tip 3 kollajen, yeniden şekillendirme aşamasında yerini tip 1 kollajene bırakır. Normal dermiste tip 3 kollajen % 20 oranındayken, tip 1 kollajen % 80 oranındadır.<sup>45</sup>

Normal bir insizyonel yarada, TGF- $\beta$  7 ila 14. günlerde pik yapar, ekstraselüler matris üretimini indükler ve bozunmasında azalma sağlar. TGF- $\beta$ ; fibroblastların tip I

kollajen sentezlemesine, matris metalloproteinaz (MMP) üretiminin azalmasına, metalloproteinaz doku inhibitörlerinin (TIMPs) artmasına ve hücre adezyon proteinlerinin üretiminin artmasına neden olur.<sup>50</sup>

Sekonder iyileşen daha büyük yaralarda, TGF- $\beta$  yara fibroblastlarının myofibroblastlara dönüşümü ile yara kontraktürüne ve epitelizasyona neden olur.<sup>51</sup>

Yara kavitesi kollajen matris ile dolduğunda, apoptoz ile fibroblastlar ortamdaki kaybolur ve yeni oluşmuş kan damarları regrese olur. Bu süreçteki düzensizliğin, hipertrofik skar gibi fibrotik bozukluklara neden olduğu düşünülmektedir.<sup>52</sup>

### **2.3.2.2. Keratinositler**

Sıvı kayıplarına ve bakteri istilasına karşı koruyucu bariyerin yeniden oluşturulması için deri kenarlarında bulunan epitel hücreleri çoğalmaya başlar. Aktive trombositler ve makrofajlar tarafından üretilen EGF ve TGF- $\alpha$  epitel proliferasyonu ve kemotaksiyi stimüle eder.<sup>53,54</sup> Fibroblastlar, komşu keratinositlerin yara bölgesine göç etmesini, çoğalmasını ve epidermiste farklılaşmasını stimüle eden keratinosit büyüme faktörü (KGF-1), KGF-2 ve IL-6 sentezler.<sup>55,56</sup> İnsanlarda bu süreci yönlendirmek için KGF-2'nin önemi vurgulanmaktadır.<sup>57</sup>

Keratinosit göçü aynı zamanda ekstraselüler matris ortamına duyarlıdır. Kollajen tip I, tip IV ve fibronektin keratinosit göçünü kolaylaştırmaktadır. Uyarılmış keratinositler ayrıca diğer keratinositlerin göç etmesi ve çoğalması için pozitif uyarım sağlayarak süreci devam ettirir. Keratinositler proliferasyon olarak yarası kapatmaya başladıkça yeni kapiller ağa ihtiyaç duyacaktır. Bu nedenle yara kenarlarındaki keratinositler VEGF sentezleyerek neovaskülarizasyonu başlatır.<sup>43</sup>

### **2.3.2.3. Endotel hücreleri ve Anjiyogenez**

Endotel hücreler, granülasyon dokusunun kritik ögesidir. Anjiyogenez ve vaskülogenez aracılığı ile yeni kan damarlarını meydana getirir. Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2), anjiyopoyetin-1 ve trombostin salınan proanjyotik faktörlerdir. Ağırlıklı olarak yara kenarındaki keratinositlerden olmak üzere makrofajlar, fibroblastlar, trombositler ve endotel

hücrelerinden salınan VEGF; sağlam venüllerde bulunan endotel hücrelerini migrasyon ile ayrılarak yeni kapiller oluşturması için uyarır. Hipoksi, hipoksi ile indüklenebilir faktör 1- $\alpha$  (HIF1- $\alpha$ ) aracılığı ile proanjiotik faktörlerin gen ekspresyonunu artırır.<sup>58,59</sup> NO, hipoksiye yanıt olarak endotel hücreleri tarafından endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ile yapılır ve bu daha fazla VEGF üretimini uyarır. Artan NO konsantrasyonu ayrıca yeni dokuyu iskemi reperfüzyon hasarından korur ve endotelin vazodilatasyonuna neden olur.<sup>60</sup>

#### **2.3.2.4. Ekstraselüler Matris**

Kollajen, glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlardan oluşan ekstraselüler matris (ECM) fibroblastlar tarafından üretilir. Fibroblastlar sadece kollajen sentezlemekle kalmaz, büyüme faktörleri üreterek matristeki diğer hücrelerin regülasyonunu da sağlar. Kollajen üretimi doku yaralanmasından yaklaşık 3 ila 5 gün sonra başlar ve bir dizi büyüme faktörü tarafından uyarılır. Endoplazmik retikulumda lizin ve prolin hidroksilasyonu ile prokollajen üretilir ve bu işlemde C vitamini kofaktör olarak kullanılır. Prokollajen zincirleri ekstraselüler matrise salınır, işlenir ve fibrillerde toplanmak üzere hazırlanır. Agregasyon süreci proteoglikanlar tarafından kolaylaştırılır. Hücre dışına bırakılan kollajen molekülleri birleşerek fibrilleri oluşturur. Kollajen, yaranın dayanıklılığını sağlamasının yanında endotel hücreleri ve makrofajların hareketini kolaylaştırır.<sup>23</sup> Proteoglikanlar (dekorin ve versikan), glikozaminoglikanların (hiyalüronik asit, dermatan sülfat, kondroitin sülfat, heparin sülfat) bağlandığı zincirlerdir. Proteoglikan çekirdeği ve ona bağlı glikozaminoglikan, ekstraselüler matriste yer alan hücreleri, sitokinleri ve başta TGF- $\beta$  olmak üzere büyüme faktörlerinin etkilerini düzenler, kollajen moleküllerinin polimerizasyonunu ve dizilimini kolaylaştırır.<sup>23,61</sup> Cildin normal bileşenlerinden biri olan elastin skar dokusunda üretilmez. Ekstraselüler matrisin bu bileşenin yokluğu, skar dokusunda gözlenen sertlik ve esneklik kaybını açıklayabilir.<sup>23</sup>

### 2.3.2.5. Granülasyon Dokusu

Yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra geçici ekstraselüler matris granülasyon dokusu ile yer değiştirmeye başlar. Bu morfolojik değişim yeni oluşan damar sayısının, kollajen miktarının ve fibroblast sayısının bölgede artmasıyla sağlanır. Granülasyon dokusunda çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinleri üreterek inflamatuvar faz ile proliferatif faz arasında önemli bir köprü oluşturan makrofajlar da yer alır. Bu da yara iyileşmesinin başarılı bir şekilde tamamlanmasına yardımcı olur.<sup>23,59</sup>

### 2.3.3. Olgunlaşma Fazı ve Yeniden Şekillendirme

Bu aşama, insanlarda 21 gün ila 1 yıl arasında sürebilen, yara iyileşmesinin en uzun bölümüdür.<sup>29</sup> Yeniden modelleme, matrisin birikimi ve zaman içindeki değişikliklerinden oluşur.<sup>59</sup>

Başlangıçta, yara matrisi hemostaz ve makrofaj aktivasyonu ile esas olarak fibrin ve fibronektinden oluşur. Glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar ve diğer proteinler fibroblastlar tarafından sentezlenir. Düzensiz glikan topluluğu, yeni matris için bir ön çerçeve sağlar. Bu geçici matris, kollajenden yapılmış daha güçlü ve organize bir matris ile değiştirilir.<sup>29</sup>

Erken inflamatuvar fazda oluşan fibrin pıhtısı, proliferatif fazda tip III kollajen ve granülasyon dokusu, ardından tip I kollajenin baskın olduğu skar ile yer değiştirme tüm yara iyileşme süreci boyunca remodelinge etki eder.<sup>59</sup> Kollajen lifler, normal derminin %80'ini oluşturur ve dermal yapıya güç sağlayan başlıca proteindir. Erken yara iyileşmesi sırasında tip III kollajen granülasyon dokusunda fibroblastlar tarafından sentezlenen baskın kollajendir. Tip III kollajen ilk olarak 48-72 saat sonra ortaya çıkar ve maksimum 5-7 gün arasında salgılanır. Toplam kollajen miktarı, onarımın erken döneminde artar ve 2-3 hafta sonra maksimumuna ulaşır. 1 yıl veya daha uzun bir süre boyunca, dermis kademeli olarak büyük ölçüde tip I kollajenden oluşan stabil yara iyileşme öncesi fenotipine döner. Kollajenin fonksiyonel bir değerlendirilmesi olan tensil kuvveti, 1 ayda yaralanmadan önceki gücünün %40'ına yükselir ve 1 yıl boyunca artmaya devam edebilir.<sup>62</sup> Yara kapanmasıyla, tip III kollajen bozulmaya başlar ve tip I kollajen sentezi arttıkça kademeli bir kollajen döngüsü meydana gelir. Dermisin bu

dönüşüm süreci, esas olarak matriks metalloproteinazlar (MMP) ile düzenlenen kollajenin yapım ve yıkımıyla gerçekleştirilir.<sup>63</sup> MMP'ler sağlıklı dinlenme dokusunda genellikle saptanamaz veya çok düşük seviyelerdedir. Yara onarımı sırasında sitokinlere, büyüme faktörlerine ve ekstraselüler matris ile hücre temasına yanıt olarak indüklenir. MMP'lerin katalitik aktivitesi de metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMPs) tarafından kontrol edilir. MMP'lerin aktiviteleri ile TIMPs arasındaki denge yara onarımı ve yeniden şekillenmesi için kritik öneme sahiptir.<sup>63</sup>

Matriks remodeling proteinazları, MMP'ler (her biri bir kollajen tipine özel ve farklı sitokinlerin etkisi ve kontrolü altında olan), değişen TGF- $\beta$ , PDGF, IL-1 ve EGF konsantrasyonlarından etkilenir. MMP aktivitesi, fibroblastlar tarafından üretilen TGF- $\beta$  ve IL-6 tarafından yukarı regüle edilen TIMPs tarafından baskılanır; TNF- $\alpha$ , fibroblastlar tarafından IL-6 salınımını uyarır.<sup>29</sup>

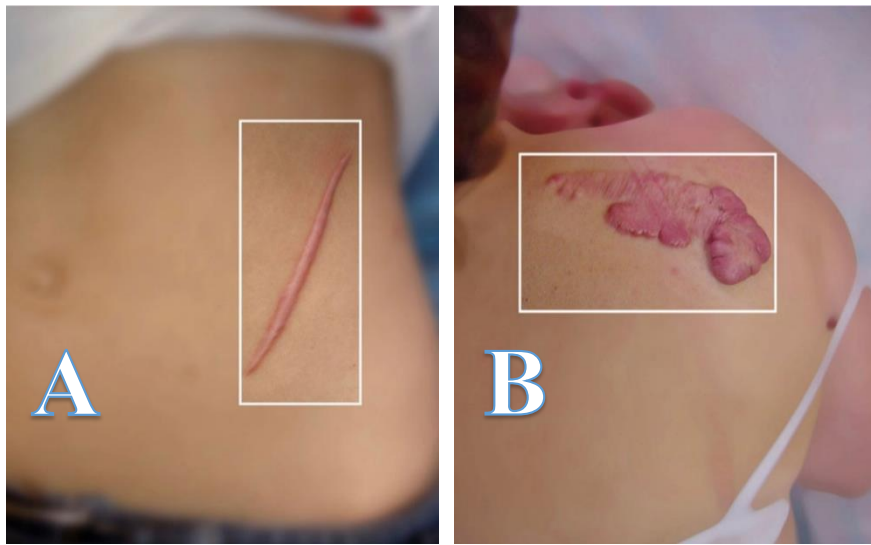
Granülasyon dokusunda bulunan kollajen, hasarlanmamış sağlam ciltteki kollajenden biyokimyasal olarak farklıdır. Granülasyon dokusu kollajeni, lizin kalıntılarının daha büyük bir hidroksilasyonu ve glikozilasyonuna sahiptir ve bu glikozilasyon artışı, daha ince lif boyutu ile ilişkilidir. Yara izindeki kollajen bir yıl olgunlaştıktan sonra bile asla zarar görmemiş ciltte bulunan kollajen kadar organize olmayacaktır. Yara gücü de asla yüzde yüze dönmez. 1 haftada, yara nihai gücünün yalnızca % 3'üne sahiptir; 3 haftada % 30'dur ve 3 ayda yaklaşık % 80'dir.<sup>29</sup>

#### **2.4. Patolojik Skar**

Patolojik skarlar; doku hasarına yanıt olarak aşırı yara iyileşmesiyle ortaya çıkan, ağrılı, kaşıntılı, kozmetik açıdan şekil bozukluğu gösteren anormal izlerdir. Patolojik izler için çok çeşitli tedavi seçenekleri olmasına karşın, hepsinin etkinliği çeşitli derecelerde değişmekle birlikte hiçbiri tam olarak tatmin edici sonuç sağlamaz. Patolojik skarlar; hipertrofik skar ve keloid olmak üzere iki türdür ve her ikisi de aşırı dermal fibrozis ile karakterizedir (Şekil 4). Klinik olarak spektrumun en kötü ucunda keloidler bulunmaktadır. Her ikisi de sık görülmekle birlikte, farklı patogenezleri, kliniği, tedavisi ve prognozu vardır. Koyu tenli bireylerde keloid yaranılmayı takiben %6-16 arasında görülmektedir.<sup>64</sup> Derin dermal yanıkları takiben %90 oranında hipertrofik skar ile iyileşme görülmektedir.<sup>65</sup> Hipertrofik skarlar zamanla geriler ve

eksizyon sonrası rekürrens daha azdır, fakat keloidler zamanla gerilemez ve hemen her zaman eksizyon sonrası rekürrens görülür.<sup>66</sup> Muir, keloidler gibi davranan ancak orijinal lezyon sınırları içinde kalan üçüncü bir ara grup önermiştir.<sup>67</sup>

Keloidler ve hipertrofik skarlar ayrı klinik ve histokimyasal oluşumlardır. Klinik olarak, hipertrofik skarlar orijinal skarın sınırları içinde kalırken, keloidler bitişik normal dermisi istila eder. Hipertrofik skarlar genellikle 4 hafta içinde ortaya çıkar, birkaç ay boyunca yoğun bir şekilde büyür ve sonra geriler. Aksine, keloidler ilk yara izinden sonra ortaya çıkabilir ve daha sonra yavaş yavaş süresiz olarak büyüyebilir.<sup>68,69</sup> Hem keloidler hem de hipertrofik skarlar artmış fibroblast yoğunluğu gösterse de sadece keloidlerde fibroblast proliferasyon oranlarında artış olur. Keloidlerdeki kollajen lifler, hipertrofik veya normal skarlarda bulunanlardan daha büyük, daha kalın ve daha dalgalıdır, rastgele bir yönelim gösterir. Hipertrofik skarlardakiler ise epidermal yüzeye paralel yönelir. Alanin transaminaz gibi enzim konsantrasyonları ve adenosin trifosfat tarafından işaretlenen metabolik aktiviteler, normal skar dokusu ve hipertrofik skarlara kıyasla keloidlerde yükselir. Keloid ve hipertrofik skar dokusundan izole edilen fibroblastlarda,  $\alpha 1(I)$  prokollajenin gen transkripsiyonunun arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, artan mRNA konsantrasyonu, hipertrofik skarlarda transkripsiyon sonrası seviyede kompanse edilir, ancak keloidlerde dengelenmez.<sup>70</sup>



Şekil 4. Patolojik skar örnekleri A)Hipertrofik skar B)Keloid<sup>71</sup>

### 2.4.1. Hipertrofik Skar

Klinik olarak hipertrofik skarlar, sert, kırmızı ve ince bir epitel ile kaplı lezyonlardır (Şekil 4A). Vücudun herhangi bir yerinde görülebilirler de keloidler gibi göğüs, omuz ve sırtta görülme ihtimali daha yüksektir. Ayak tabanında ise çok nadir görülür. Cildin direk olarak kemiği örttüğü alanlarda hipertrofik skar oluşmaz. Bası ülserlerinin görüldüğü yerlerde gelişmezler. Normal bir dermal yapı olan ancak sadece hipertrofik skar gelişebilen alanlarda bulunan “Cilt konileri” olarak adlandırılan histolojik bir temele sahip olabilirler.<sup>72</sup> Doğal gerim çizgilerini geçen skarlar hipertrofiye daha eğilimlidir. Eklem ve diğer mobil bölgelerin dahil olduğu bölgelerde daha sık görülür. Mekanik faktör predominant gibi görünmektedir. Prevalans ırklar arası farklılık göstermektedir. Histolojik olarak hipertrofik skarlar, orijinal yara sınırlarıyla sınırlı olan, aşırı kollajen içeren fibril kitleleri olarak tanımlanabilir.<sup>73</sup>

Hipertrofik süreç yaralanmadan 4 ila 8 hafta sonra başlar, genişleme 3 ila 6 aylarda meydana gelir ve sonra stabilize olur. Yaklaşık 1 yıl veya yıllar sonra regrese olabilir.<sup>74</sup>

Hipertrofik skar patogenezi ele alınacak olursa, klinik uygulamada yara enfeksiyonu, gerginlik, gecikmiş iyileşme, yanık, genç erişkin yaş grubu, kalıtım, zayıf cerrahi teknik gibi faktörler, artmış hipertrofik skar riskiyle ilişkilidir.<sup>75</sup>

Afro-Amerikalılarda, pigmentasyondaki artışın derideki D-3 vitamini sentezini azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle koyu tenli bireylerde yaralanmaya cevap olarak daha fazla inflamasyon ve ardından patolojik skar eğiliminde artış görülür.<sup>76</sup>

Yaralanmaya cevap olarak başlayan inflamatuvar sürecin uzaması hipertrofik skara eğilimi artırır. Hipertrofik skar sürecinde görülen fibroblastlar normal fibroblastlardan farklı davranırlar.<sup>77</sup>

TGF- $\beta$ ; TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, ve TGF- $\beta$ 3 olmak üzere ayrı izoformlara sahip bir proteindir.<sup>78</sup> TGF- $\beta$ 1 ve TGF- $\beta$ 2 degranüle plateletlerden, monosit ve makrofajlardan salgılanırken TGF- $\beta$ 3 keratinositlerde üretilir. TGF- $\beta$ 'nın pulmoner fibrozis, skleroderma, hipertrofik skar gibi çeşitli fibrotik düzensizliklerde mediyatör olarak önemli rol oynadığı gösterilmiştir.<sup>77</sup> Hipertrofik skar gelişen yanık hastalarında serum TGF- $\beta$  düzeyi lokal ve sistemik olarak yüksek bulunmuştur.<sup>79</sup>

Shah ve arkadaşları TGF- $\beta$ 1 ve TGF- $\beta$ 2 izoformlarının hipertrofik skar formasyonunu indüklediğini göstermiştir.<sup>80</sup> Yine Shah ve arkadaşları tarafından yürütülen başka bir çalışmada TGF- $\beta$ 3'ün skar oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu da TGF- $\beta$ 3'ün diğer iki izoformun antagonisti olabileceğini göstermektedir.<sup>81</sup>

TGF- $\beta$ 1 için çeşitli sinyal yolları vardır. Bunlardan en önemlisi SMAD yolağıdır. SMAD TGF- $\beta$  reseptör kompleksinin aktivasyonuna cevap veren hücre içi düzenleyici sinyal iletim proteinidir. Fibroblastlarda SMAD 7 ekspresyonunun azalmasının fibrozise yol açan bir dizi inflamatuvar hastalıkta tip 1 kollajen ve tip 3 kollajen ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir.<sup>77</sup>

Bağ dokusu büyüme faktörünün (CTGF) mRNA ekspresyonu, TGF- $\beta$ 1'e yanıt olarak normal fibroblastlara kıyasla hipertrofik skarlar fibroblastlarında 150 kat artar. TGF- $\beta$ 1 inhibitörü olan hücre içi sinyal proteinlerinden SMAD 6 ve 7 mRNA ekspresyonu keloidde normal skar fibroblastlarına oranla belirgin derece düşük bulunmuştur. Bu veriler, keloidlerin patogeneğinde SMAD6 ve 7'nin olası rolünü desteklemektedir.<sup>82</sup> Ayrıca meme ameliyatı olan hastalarla yapılan bir çalışmada, dermis ve epidermin TGF- $\beta$  izoform ekspresyon profillerinin, normal ve hipertrofik skar gelişimini etkilediği gösterilmiştir.<sup>83,82</sup>

Sonuç olarak hipertrofik skar fibroblastlarında TGF- $\beta$ 1 üretimi normal fibroblastlardan daha fazladır.<sup>77,84</sup> TGF- $\beta$ 1'in uzamış artan aktivitesi, fibroblastların aşırı kollajen üretimine ve depolamasına neden olur, bu da genellikle hipertrofik skar formasyonu ile sonuçlanır.<sup>85</sup> Normal fibroblastlarla karşılaştırıldığında hipertrofik skar fibroblastlarında kollajenaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir.<sup>86</sup> Ayrıca antimikrobiyal ve antiproliferatif etkileriyle yara iyileşmesini ve kollajenazı düzenleyen, büyüme faktörü sinyal mediyatörü nitrik oksiti sentezleme yeteneklerinin azalmış olduğu bulunmuştur.<sup>77</sup>

Hipertrofik skar ve keloidler için, apoptoz yetersizliği de bir neden olarak öne sürülmüştür. Hipertrofik skarlar, yağ asidi sentaz aracılı (FAS-FAS ligand aracılı) apoptozu karşı oldukça dirençli fibroblastlara sahiptir. Bunun yanı sıra apoptozu karşı koruyucu Bcl-2 gibi genlerin ekspresyonunun hipertrofik skarda arttığı gösterilmiştir.<sup>87</sup> Keloidlerdeki fibroblastlarda normal dermal fibroblastlarla karşılaştırıldığında en az 6 genin down-regüle edildiği ve en az iki genin up-regüle edildiği gözlenmiştir.<sup>88</sup> Ayrıca, proapoptotik TNF- $\alpha$  seviyeleri hipertrofik skarlarda anlamlı derecede düşüktür.<sup>89</sup>

Yaralanmanın derinliği hipertrofik skar formasyonu için kritiktir ve klinik olarak büyük önem taşır. Yüzeysel yaralanmalar genellikle iki hafta içinde hipertrofik skar formasyonu oluşmadan iyileşirken, derin yaralar hipertrofik skarlaşma eğilimindedir ve sıklıkla cerrahi müdahalelere gereksinim olmaktadır.<sup>77</sup>

Yüzeysel ve derin dermal fibroblastlar sırasıyla papiller ve retiküler dermiste üretilir. İki ayrı katmandan gelen fibroblastlar fenotipik olarak da farklılık gösterirler. Yüzeysel dermal, derin dermal ve hipertrofik skar fibroblastları karşılaştırıldığında, hipertrofik skar fibroblastlarının, derin dermal fibroblastlara benzediği görülmüştür.<sup>90</sup>

Dunkin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüzeyselden derine doğru artan derinlikte hasar oluşturulmuş ve yüzeysel yaralanma minimum skar ile iyileşirken daha derin hasarlarda derinlikle doğru orantılı olarak skar formasyonunun arttığı gözlenmiştir.<sup>91</sup> Derin dermal fibroblastların hipertrofik skardan sorumlu olduğu, belki de daha önce tanımlanan hipertrofik skar fibroblastlarının kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Bu durum, fibrojenik sitokin uyarımıyla dermal fibroblastların aşırı çoğalması ve yaralanmaya bağlı yüzeysel dermal fibroblastların hasar görmesiyle derin dermal fibroblastların baskın hale gelmesi ile açıklanmıştır.<sup>77,92</sup>

Hipertrofik skar fibroblastları miyofibroblastlara diferansiye olur, ekstraselüler matris (ECM) sentezi ve doku kontraksiyonu artar. Bunlar normal fibroblastlardan alfa düz kas aktini ( $\alpha$ -SMA) ekspresyonuyla ayrılırlar.<sup>93</sup>

Derin dermal fibroblastlar yüzeysel fibroblastlarla karşılaştırıldığında daha fazla kollajen üretir, daha yavaş proliferer olur ve daha az kollajenaz aktivitesine sahiptir. Ayrıca derin dermal fibroblastlar yüzeysel fibroblastlardan daha fazla  $\alpha$ -SMA üretir. Hipertrofik skar fibroblastlarının artmış kollajen sentezi ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonuyla karakterize olduğu bilinmektedir. Tüm bunlar derin dermal fibroblastlarla hipertrofik skar fibroblastlarının benzer davranışta olduğunu desteklemektedir ve benzer biyolojik fonksiyonları belirgin bir şekilde yüzeysel fibroblastlardan farklıdır.<sup>77</sup>

Matris metalloproteinaz 1, 2, 9 (MMP-1, 2, 9), doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMPs) ile birlikte hipertrofik skar regülasyonunu düzenlemede yer alır. MMP doku remodelinginde görev aldığı bilinen çinko bağımlı proteinazlardır.<sup>77</sup>

MMPIler kollajenin proteolitik bölünmesini ve ECM'nin diğer bileşenlerinin bozunmasını sağlar.<sup>94</sup> En az 23 tip MMP vardır. MMP'nin aşırı ekspresyonu ECM

üretimi ile degradasyonu arasında dengesizlikle sonuçlanır ve bu da kronik ülserlere yol açar.<sup>95</sup>

TIMPs MMP fonksiyonun regüle eden spesifik proteinlerdir ve MMP aktivitesini 1:1 oranında bağlanarak bloklayan 4 tip spesifik TIMP tanımlanmıştır.<sup>96</sup> MMP ve TIMP üretiminde değişiklikler kollajen degradasyonunda azalma ve ECM birikiminde artmaya neden olur.<sup>97</sup> Belirtildiği gibi, TGF- $\beta$ 1,  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu stimüle ederek miyofibroblastların farklılaşmasının güçlü bir indükleyicisidir ve fibroblastlarda TIMPs sentezini uyararak MMP aktivitesini azaltır. Bu şekilde, ECM'nin MMP tarafından bozunma süreci ortadan kalkar. Bu sırada, fibroblastlar tarafından ECM birikimi TGF- $\beta$ 1 ile desteklenir. Tüm bunlar hipertrofik skar formasyonu oluşmasına katkıda bulunur.<sup>98</sup>

Birçok çalışma hipertrofik skarda MMP1 ekspresyonunun azaldığını göstermiştir. Bunun geri çevrilmesi hipertrofik skar tedavisinde terapötik bir yaklaşım sunar.<sup>77,99</sup> Sonraki çalışmalarda MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinin fibroblastlar ve keratinositler arasındaki etkileşimle up regüle edildiği gösterilmiştir, bu birikmiş ECM komponentlerinin bozunmasını destekleyebilir.<sup>100</sup> Hipertrofik skarı olan hastalarda MMP-2, MMP-9 düzeylerinde azalma ve TIMP-1 düzeylerinde artış görülmesi, sistemik TIMP-1 konsantrasyonunda yükselmenin fibrozise katkıda bulunduğunu ve hipertrofik skar formasyonuna yol açtığını desteklemektedir.<sup>101</sup> Farklı hastalarda farklı vücut bölgelerinde hipertrofik skar, keloid, atrofik skar üzerine yapılan insan çalışmaları MMP-9'un skarsız yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığını öne sürmektedir.<sup>102</sup> Son zamanlarda yapılan bir deneyde normal cilt ve hipertrofik skarda TIMP-1 ekspresyonu karşılaştırılmış ve normal ciltte çok düşük seviyelerde TIMP-1 bulunmasına karşın hipertrofik skar biyopsilerinde güçlü TIMP-1 ekspresyonu gösterilmiştir.<sup>103</sup>

Hipertrofik skar gelişimi inflamasyon ve immün cevap arasındaki karmaşık iletişimi içerir. Bu sadece inflamasyonun şiddeti ile değil fibrotik koşullara bağlı immün yanıt tipi ile de ilişkilidir.<sup>104</sup> CD4+ lenfositleri olmayan timektomize ratların yaralarının nihai gücünde, esnekliğinde ve dayanıklılığında azalma gösterilirken CD8+ lenfositleri tüketilmiş hayvanların yaralarında nihai güçte, esneklikte ve dayanıklılıkta önemli ölçüde artış gösterilmiştir. Bu CD4+ lenfositlerin yara iyileşmesinde önemli bir rolü olduğunu desteklemektedir.<sup>105</sup>

CD4+ T lenfositler hipertrofik skar dokusunda baskındır.<sup>106</sup> Makrofaj ve dendritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerle aktive olduklarında CD4+ T lenfositler 5 sub tipe diferansiye olabilir. Bunlar Th1, Th2, Th3, Th17 ve T regülatör hücrelerdir. Th1 hücreleri interlökin 2 (IL-2), IFN- $\gamma$  ve IL-12 eksprese ederken Th2 hücreleri IL-4, IL-5 ve IL-10 eksprese eder. Th1 sitokinleri kollajenaz aktivitesinin artmasına ve matriks remodelingine katkıda bulunur. Th2 sitokinlerinin profibrotik olarak bilinmesinin aksine Th1 antifibrotiktir. Hipertrofik skar fibroblastları düşük kollajenaz ve nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesiyle Th2 etkisindedir.<sup>77</sup> Yanık fare modelinde Th1 fonksiyonu üzerinde inhibitör etkiye bağlı Th2 fenotipe kayma, IL-4 ve IL-10'da artmayla birlikte azalmış IL-2 gösterilmiştir.<sup>107</sup>

Yanık sonrası dördüncü haftada hipertrofik skarları olan 12 yanık hastasında Th1/Th2 sitokin oranı incelenmiş ve 13 kontrol hastasıyla karşılaştırıldığında Th1/Th2 oranında ciddi azalma saptanmıştır.<sup>77</sup> Hasta grubunda IL-4 seviyesi önemli ölçüde artmış ve IFN- $\gamma$  düzeyleri azalmış bulunmuştur.<sup>77,108</sup>

Başka bir çalışmada 22 yanık hastasında serum sitokin düzeyleri ölçülmüş, yüksek Th 2 düzeyiyle IL-4 ve IL-10'un artmış olduğu, azalmış Th1 düzeyiyle IFN- $\gamma$  ve IL-12'nin düştüğü saptanmıştır. Normal ciltle karşılaştırıldığında hipertrofik skarda IFN- $\gamma$  mRNA düzeyleri azalırken IL-4 mRNA düzeyleri artmıştır.<sup>109</sup> Yanık hastalarının CD4+ T lenfositleri dermal fibroblastları tedavi etmek için kullanılmış ve sonuçlar normal deneklerin CD4+ T lenfositleri ile tedavi edilmiş fibroblastlarla karşılaştırılmıştır. Yanık hastalarındaki fibroblastlarda TGF- $\beta$ 'nin önemli ölçüde yukarı regülasyonu ile birlikte hücre proliferasyonunun, kollajen sentezinin ve  $\alpha$ -SMA'nın arttığı gösterilmiştir.<sup>77</sup>

Hipertrofik skar patogenezinde rol alan bir başka protein olan kemokinler monositleri yaralanma alanına çekerek hipertrofik skar formasyonuna katkıda bulunur. Kemokinler moleküldeki sistein (C) amino asidinin pozisyonuna göre sınıflandırılarak isimlendirilirler. CC, CXC, C ve CX3C gibi subtipleri vardır.<sup>110</sup>

CXCL12 olarak da bilinen stromal hücre kaynaklı faktör-1 (SDF-1), CXC grubuna aittir, perisitler, endotel ve fibroblastlar tarafından üretilir. CXCR4, CXC kemokin reseptörüdür ve özellikle SDF-1'e bağlanır. SDF-1/CXCR4 sinyal yolu hemotopoetik hücrelerin fetal karaciğerden kemik iliğine göçüne aracılık eder ve anjiogenezi stimüle eder.<sup>77</sup> Erken dönemlerde yapılan çalışmalar SDF-1/CXCR4 sinyal

fonksiyonunun stem/progenitör hücre düzenlenmesine özellikle de tümör hücrelerinin metastazı ve tümör vaskülarizasyonuna odaklanmıştır.<sup>111</sup> Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda SDF-1/CXCR4 sinyalizasyonunun akciğer hasarı ve fibrozis patogenezinde de rol oynadığı gösterilmiştir.<sup>112</sup> Yanık hastalarının ciltlerinin kullanıldığı bir deneyde bül sıvısında SDF-1 ekspresyonunun arttığı ve SDF-1/CXCR4 yolağı bloklandığında ciltteki yenilenmenin daha iyi olduğu gösterilmiştir.<sup>113</sup> Daha güncel çalışmalarda yanık hastalarında SDF-1/CXCR4 sinyalizasyonunun up regüle edildiği, hipertrofik skar ve serumda SDF-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. SDF-1/CXCR4 sinyalizasyonu hipertrofik skar patogenezinde aktive CD14+ CXCR4+ hücrelerin hasarlı dokuya migrasyonunu stimüle ederek önemli rol oynamaktadır.<sup>77</sup> Bu migratuar hücreler fibrosit ve miyofibroblastlara diferansiye olarak hipertrofik skar patogenezine katkıda bulunabilir.<sup>114,115</sup>

Hipertrofik skar formasyonu ile bağlantılı bir başka kemokin monosit kemotaktik protein-1'dir (MCP-1). CC kemokin subailesine aittir ve CCR2 ve CCR4 olmak üzere 2 reseptörü vardır.<sup>77</sup> Majör kemoatraktan olarak makrofajlar, endotel hücreleri ve fibroblastlardan salınır. Monosit ve dendritik hücreleri inflamatuvar alana çeker.<sup>77</sup> Önceki çalışmalar MCP-1'in akciğerde fibroblastlarda endojen TGF- $\beta$  up regülasyonu aracılığıyla kollajen üretimini stimüle ettiğini göstermiştir.<sup>116</sup> Sonraki çalışmalarda MCP-1'in fibrozisteki rolü araştırılmış ve MCP-1 knockout farelerde bleomisin kaynaklı fibrozis kontrol grubuyla karşılaştırıldığında fibrozisin azaldığı gösterilmiştir.<sup>117</sup> Keloidde CD14+ hücreleri tarafından salınımı artan MCP-1, fibroblast proliferasyonunu protein kinaz B (PKB) sinyal yolağı vasıtasıyla stimüle eder ve keloid gelişimini tetikler.<sup>118</sup>

Normal fibroblastlarla karşılaştırıldığında hipertrofik skar fibroblastlarında MCP-1'in önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir.<sup>77,119</sup>

Interferon (IFN), Th1 sitokini olarak bilinmektedir ve 3 subtipe ayrılabilir. Bunlar; Tip 1 IFN (IFN- $\alpha$  ve IFN- $\beta$ ), tip 2 IFN (IFN- $\gamma$ ) ve tip 3 IFN (IFN- $\lambda$ )'dır. IFN- $\alpha$  lökosit ve fibroblastlar tarafından üretilirken, IFN- $\gamma$  T lenfositler tarafından üretilir. IFN- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  normal fibroblastlarda ve hipertrofik skar fibroblastlarında hücre proliferasyonunu ve kollajen sentezini azaltabilir.<sup>77</sup> IFN- $\alpha$ 2b viral enfeksiyonlarda ve bazı kanser türlerinde kullanılabilen bir ilaçtır, kollajenaz düzeylerini artırdığı ve TIMP-1 aktivitesini azalttığı gösterilmiştir.<sup>120</sup> Böylece hipertrofik skar formasyonunu azaltır.

Şiddetli hipertrofik skarı olan hastalar IFN- $\alpha$ 2b ile tedavi edilidğinde skar kalitesinde ciddi iyileşme ve serum TGF- $\beta$  düzeyinde ciddi azalma gözlenmiştir.<sup>121</sup> Ayrıca IFN- $\alpha$ 2b tedavisinin hipertrofik skarda anjiogenezi azalttığı gösterilmiştir.<sup>122</sup> 21 yanık hastasında yapılan bir çalışmada plasebo ile karşılaştırıldığında IFN- $\alpha$ 2b uygulanmasının hipertrofik skarda SDF-1/CXCR4 sinyalizasyonunu down regüle ettiği ve hipertrofik skar formasyonunu sınırlandırdığı gösterilmiştir.<sup>123</sup> Bu da IFN- $\alpha$ 2b'nın hipertrofik skar formasyonunu inhibe eden antifibrotik bir protein olduğunu desteklemektedir.<sup>77</sup>

#### 2.4.2. Keloid

Keloidal skarlar yara iyileşme sürecinde en zor klinik problemlerden biridir. Keloidler dermal yaralanmayı takiben oluşur ve kollajenin aşırı ve belirsiz büyümesi ile kendini gösterir. Orjinal yara sınırlarını aşan, ilerleyici, yalancı tümoral skar dokusu birikimidir.<sup>124</sup> (Şekil 4B) Koyu tenli kişilerde, ailesel yatkınlığı olanlarda ortaya çıkma eğilimindedir. Tek bir neden, keloid oluşumunu yeterince açıklayamaz. Tedavide cerrahi eksizyon, steroid enjeksiyonu, radyoterapi, lazer, silikon, basınç tedavisi denenebilir. Keloidler için çok çeşitli tedavi seçenekleri olması bu hastalık süreci hakkında ne kadar az şey anlaşıldığının altını çizmektedir.<sup>70</sup>

Keloid patogenezinde değişen büyüme faktör ortamı, büyüme faktörü farklılıkları, ekstraselüler matris farklılıkları, kollajen devri, gerilim, genetik immün disfonksiyon ve sebum reaksiyonundan söz edilebilir.

Keloidlerde bulunan eksübaran skar dokusu, artırılmış büyüme faktörü aktivitesine (TGF- $\beta$  ve PDGF) ve hücre dışı matristeki (fibronektin, hyaluronik asit ve biglikan) değişikliklere bağlanmıştır.<sup>70</sup>

TGF- $\beta$  ve PDGF, yara iyileşmesinin proliferatif fazı sırasında normal olarak üretilmektedir ancak aktiviteleri keloidlerde önemli ölçüde anormallik göstermektedir. Keloid fibroblastlarının, TGF- $\beta$ 'ya duyarlılığı artmıştır ancak regülasyon işlevsizdir. Keloid içinde proliferasyon ve kollajen birikimi olan alanlar, belirgin şekilde yüksek TGF- $\beta$  seviyelerine sahiptir. Benzer şekilde, keloid fibroblastlarında PDGF reseptörü dört ila beş kat artmış seviyelerdedir ve büyüme uyarıcı etkiler, TGF- $\beta$  ile sinerjiktir.<sup>70</sup>

Hücre dışı matrisin bileşenleri, büyüme faktörü aktivitesini düzenler. Keloidlerin hücre dışı matrisinde, yüksek fibronektin ve proteoglikanlar ve düşük hyaluronik asit seviyeleri görülür.<sup>22</sup> Fibronektin ve hyaluronik asit, normal yara iyileşmesi sırasında eksprese edilen proteinlerdir ve keloiddeki işlevsiz düzenlemeleri fibrotik fenotipe katkıda bulunur. Biglikan ve dekorin, kolajen fibrillerini bağlayan ve kolajen mimarisini etkileyen proteoglikanlardır. Keloidler, bu proteoglikanların anormal üretimine sahiptir, bu da düzensiz hücre dışı matris ve kollajen mimarisi ile sonuçlanır.<sup>70</sup>

Kollajenin anormal regülasyonu, onu normal skardan ayıran büyük kollajenöz kütle olan keloidin karakteristik fiziksel görünümüne yol açar. Keloidlerdeki kolajen içeriği, normal doku veya skar ile karşılaştırıldığında yüksektir ve düzensizdir. Kollajen demetleri daha kalın ve daha dalgalıdır ve keloidler mikroyapısal düzeyde ayırt edici “kollajen nodülleri” içerir.<sup>125</sup> Normal deri ve skar ile karşılaştırıldığında keloidlerde tip I kollajenin tip III kollajene oranı önemli ölçüde artmıştır ve bu fark hem transkripsiyon öncesi hem de transkripsiyon sonrası seviyelerden kaynaklanmaktadır.<sup>70</sup>

Kollajen esas olarak fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından üretilir. Keloid fibroblastları otonom bir şekilde daha fazla kollajen üretmek için daha düşük bir eşikle ve daha yüksek çoğalma kapasitesine sahiptir.<sup>70</sup>

Matriks metalloproteinazlar ve matriks metalloproteinazların doku inhibitörleri potansiyel olarak keloid oluşumunda önemli bir rol oynar. Kollajen, fibroblastlarda ve inflamatuvar hücrelerde üretilen kollajenaz tarafından parçalanır. Kollajenaz inhibitörleri,  $\alpha$ -globulinler ve plazminojen aktivatör inhibitörü-1 konsantrasyonları hem *in vitro* hem de *in vivo* keloid çalışmalarında yükselirken, parçalayıcı enzimlerin seviyeleri sıklıkla azalır.<sup>126,127</sup> MMP aktivitesi, keloid ve normal fibroblastlar arasında farklılık gösterir ve bu farklılıkların fenotipi doğrudan etkilediği görülmektedir.<sup>128</sup> Keloidlerin fenotipik görünümünde kollajen baskın olduğu için, kollajen metabolizması ve özellikle matriks metalloproteinazların modülasyonu, terapötik müdahalenin hedefleridir.<sup>70</sup>

İyileşen yaraya uygulanan mekanik gerilim, kolajen oluşumunun yönünü yanlış hizalar ve keloid oluşumuna neden olur. Mekanik gerilim, fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini yönlendirir. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar, esneme ve gerginliğin sadece kolajen üretimini desteklemekle kalmayıp aynı zamanda kolajen yapısını, oryantasyonunu ve dermal remodelingi etkilediğini ileri sürmüştür.<sup>70</sup> Kollajen, kas kasılmasına dik olarak yönlendirilir; bu nedenle kas liflerine dik kesiler teorik olarak

doğal olarak y6nlendirilmiş kolajen ile iyileşir.<sup>129</sup> Cilt gerilim hatlarına paralel olarak oluşturulan insizyonlar nadiren anormal skarlar oluşturur, oysa eklem hareket b6lgelerine yerleştirilen insizyonlar sıklıkla anormal skarlaşma g6sterir.<sup>130</sup>

Keloid ve hipertrofik skar oluşumu, kesintili emilmeyen s6t6r yerine emilebilir subk6tik6ler s6t6r kapama kullanılarak en aza indirilebilir, b6ylece cilde s6t6r travması sınırlandırılır.<sup>131</sup> Ayrıca, cildi karakteristik olarak zayıf gerginliğe sahip olan yaşlı hastalarda anormal yara izi nadiren gelişir.<sup>70</sup>

Kulak memesi ve g6đ6s duvarı gibi sık keloid oluşum b6lgelerinin gergin olup olmadığı konusunda anlaşmazlık vardır. Germe ve gerilim nihai skar g6r6n6m6n6n 6nemli belirleyicileri olmasına karşın hipertrofik skarlaşmanın patogenezinde keloid oluşumunda olduğundan daha baskın bir rol oynayabilirler. Bununla birlikte, t6m cilt iyileştirme modellerinde esneme ve gerilim kuvvetleri dikkatli bir şekilde dikkate alınmalıdır.<sup>70</sup>

Keloidler belirli insan l6kosit antijenleri ile ilişkili olduğundan, deri hasarına karşı kalıtsal bir anormal bağışıklık tepkisi keloid oluşumuna neden olabilir.<sup>132</sup>

Keloidler daha koyu tenli bireylerde ortaya 6ıkma eğilimindedir ve ailesel eğilimlerin poligenik bir kalıtım modeli vardır. Bununla birlikte, 175 Malezyalı keloid hastası 6zerinde yapılan bir 6alışmada, daha koyu ten renginin, y6ksek bir keloid oranı ile doğrudan ilişkili olmadığı g6sterilmiştir.<sup>133</sup> Genetik bir etki muhtemelen bağışıklık fenotipi aracılığıyla ortaya 6ıkar. 6alışmalar, keloid diyatezi olan hastalarda A kan grubu ile insan l6kosit antijeni B14, 21, BW35, DR5 ve DQW3 arasında ilişki olduğunu d6ř6nd6rmektedir.<sup>70</sup> Keloid gelişen hastalarda alerji insidansı orantısız olarak y6ksektir ve serum imm6noglobulin E seviyeleri y6ksek bulunmuştur.<sup>134,135</sup> 6ok sayıda 6alışmada, keloidli hastalarda serum kompleman, imm6nglobulin G ve imm6nglobulin M paternlerinde eğilim bulunmuştur, bu da genetik olarak keloid oluşumuna yatkın sistemik bir imm6n durumu d6ř6nd6r6r.<sup>70</sup>

Keloid oluşumu bir otoimm6n bağ dokusu hastalığı olarak kabul edilebilir. Dolaşımdaki antifibroblast antikorları, Hashimoto tiroiditindeki antitiroid antikorlara benzer şekilde fibroblastlara bağlanabilir ve proliferasyonu ve kollajen 6retimini uyarabilir. Keloidlerin, Rubinstein-Taybi sendromu, Ehlers-Danlos sendromu, progeria, osteopoikilosis, skleroderma ve pakidermoperiostoz dahil olmak 6zere bir dizi başka genetik bağ dokusu hastalığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Klinik kanıtlar ayrıca

keloid geliştiren hastaların aşırı duyarlı hücre aracılı bir immün sisteme sahip olduğunu göstermektedir.<sup>70</sup>

Yavaş bir başlangıç fazı ve ardından hızlı ikincil büyüme ile karakterize keloidlerin büyümesi, lokal immün reaksiyonunun meydana geldiğini düşündürür.<sup>70</sup> Cerrahi insizyonların kapatılmasında monofilamentöz sütün kullanılması, muhtemelen daha az lokal inflamasyona bağlı olarak, multifilamentöz sütün ile karşılaştırıldığında daha az anormal yara izi ile sonuçlanır.<sup>136</sup> Ayrıca, immün sistemi olmayan farelere yerleştirilen aktif olarak büyüyen keloid eksplantları, başlangıçta büyür ve sonra revaskularizasyona rağmen geriler. Bu gerileme, sistemik bir bağışıklık tepkisinin, eksplantasyondan önce büyümelerini etkilediği teorisini desteklemektedir.<sup>137-139</sup>

Keloidler, sebuma karşı bir bağışıklık reaksiyonundan kaynaklanabilir. Dermal hasar pilosebase üniteyi sistemik dolaşıma maruz bırakır ve sebuma duyarlı T lenfositleri olan kişilerde hücre aracılı bir immün yanıt başlatılır. Sitokinlerin, özellikle interlökinlerin ve TGF- $\beta$ 'nin salınımı, mast hücre kemotaksisini ve fibroblast kollajen üretimini uyarır. Keloid genişledikçe, ilerleyen sınırdaki diğer pilosebase üniteleri bozulur ve süreç yayılır. Keloidler daha sık olarak göğüs duvarı, omuz ve kasık bölgesi gibi yağ bezlerinin yüksek yoğunlukta olduğu anatomik bölgelerde ortaya çıkar ve nadiren avuç içi ve ayak tabanı gibi yağ bezlerinin bulunmadığı anatomik bölgelerde görülür.<sup>140</sup> Sebum reaksiyonu hipotezi aynı zamanda neden sadece insanların, yani gerçek sebaceöz glandlara sahip tek memelilerin keloidal skardan etkilendiğini de açıklar.<sup>70</sup>

## **2.5. Hipertrofik Skar ve Keloid Tedavi Protokolleri**

Patolojik skar formasyonu için fiziksel, farmasötik ve cerrahi birçok tedavi protokolü olmasına karşın hiçbirisi skarın normal bir cilde dönüşümünü sağlayamaz. Bu tedavi protokolleri skarın görünümünü hafifletmeye yöneliktir ve birçoğunun kullanımını destekleyen kanıtlar yetersizdir. Skar yönetiminde sadece silikon jel ve intralezyonel steroid enjeksiyonu için yeteri kadar kanıt olduğu bildirilmiştir. Ancak bu tedavi protokollerinin bile yetersiz olduğu kısımlar mevcuttur. Uzun süreli kullanımda silikon jel tedavisi hipertrofik skarların düzleşmesine ve yumuşamasına yardımcı olur

fakat keloidler için etkisi yetersizdir. Steroid enjeksiyonlarının ise dermiste incelme, telenjektazi, pigmentasyon değişiklikleri gibi yan etkileri mevcuttur. Bu nedenle, etkili bir tedavi protokolü arayışı, bir klinik ihtiyaç olarak önümüzde durmaya devam etmektedir.<sup>141,142</sup>

### **2.5.1. Cerrahi Tedavi**

Patolojik skarın cerrahi eksizyonu en eski tedavi yöntemi olmasına karşın, tek başına kullanıldığında rekürrens oranı % 50-80'dir.<sup>143</sup> Başarı oranını artırmak için, cerrahi; intralezyonel steroid enjeksiyonu, radyoterapi, bası giysisi veya silikon jel uygulaması gibi diğer tedavi protokolleri ile kombine edilmelidir. Cerrahi skar revizyonunda, yara mümkün ise gevşek deri gerilim çizgilerine paralel kapatılmalı, inflamasyonu tetikleyecek sütür materyallerinden kaçınılmalıdır. Cerrahi alandaki epitelyal traktlar ve kistler gibi dokular ortamdan uzaklaştırılmalı, yara gerginliği minimumda tutulmalı, gerekir ise lokal flepler, z plastiler veya seri eksizyonlar yapılmalıdır.<sup>70,144,145</sup>

### **2.5.2. İntralezyonel Kortikosteroid Enjeksiyonu**

İntralezyonel kortikosteroid enjeksiyonu patolojik skar tedavisinde en sık uygulanan yöntemdir.<sup>146</sup> Enjeksiyonlar tek başına veya diğer tedavi modelleri ile kombine şekilde uygulanabilir. Klinik pratikte sıklıkla cerrahi ile kombine edilir. Cerrahi tedaviye intralezyonel kortikosteroid eklenmesi ile % 50-100'lik bir cevap ve % 9-50' ye varan rekürrens bildirilmiştir. Kortikosteroid tek başına kullanıldığında henüz oluşmuş hipertrofik skarları düzleştirebilir. Eski lezyonlarda ise semptomatik olarak düzleşme ve yumuşama sağlar.<sup>147</sup> En sık kullanılan ilaç Triamsinolon asetonid olup gelişmekte olan hipertrofik skar veya keloid için 5-10 mg/ml dozunda, 3 ile 6 hafta aralıklarla; önceden var olan hipertrofik skar veya keloid için ise 10-40 mg/ml dozunda ayda 3 kez intradermal uygulanabilir.<sup>148</sup> Sıklıkla 3-4 hafta ara ile 3-4 seans şeklinde 10-40 mg/ml intralezyonel uygulanmaktadır.<sup>149</sup> Derin dermise geçişi kısıtlığı olduğu için topikal uygulamanın etkili olmadığı gösterilmiştir.<sup>150</sup> Steroidler inflamatuvar yanıtı baskılayarak çalışır ve hücrel proliferasyonu azaltır, bu yüzden aktif skarlarda daha

etkilidir.<sup>151</sup> Triamsinolon, normal ve keloid fibroblastların proliferasyonunu inhibe eder, kollajen sentezini baskılar, kollajenaz üretimini artırır.<sup>132</sup> Carrol, Triamsinolonun normal ve keloid fibroblast kültürlerinde hücre dışı matris sentezini artıran TGF- $\beta$ 1 seviyelerini azaltırken, kollajen sentezini inhibe eden ve kollajen yıkımını uyaran FGF'yi arttırdığını göstermiştir. Bu sonuç intralezyonel steroid enjeksiyonlarından sonra görülen keloidlerin klinik düzleşmesini kısmen açıklayabilir.<sup>152</sup> Bununla birlikte, intralezyonel uygulama ağırlıdır ve ciltte incelme, depigmentasyon ve telenjektazi gibi yan etkileri mevcuttur.<sup>153</sup>

### **2.5.3. Silikon Jel Uygulaması**

Silikon materyaller sentetik polimerlerdir. Polimer zincirin uzunluğu ve çapraz bağların miktarına göre akışkan jel veya lastik yapısında olabilir.<sup>154</sup> 1982'de ilk kez ortaya çıkmasından bu yana, silikon tabaka ve silikon içeren pomadlar, var olan hipertrofik skarların küçültülmesi ve yeni hipertrofik skarların oluşumunun engellenmesi amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır. Hipertrofik skar üzerindeki etkileri birçok çalışmada bildirilmiştir.<sup>155</sup> Günümüzde silikonun skar önleyici bir özelliği bulunmadığı, silikon tabakanın oklüzyon yaparak hidrasyonu artırması sayesinde etki gösterdiği düşünülmektedir.<sup>156</sup> Kapiller aktiviteyi ve kollajen depolanmasını azaltır.<sup>154</sup> Silikon jel, hipertrofik skarın kızarıklık, kaşıntı, sertlik ve kalınlığında azalmayı sağlar ancak tam olarak iyileşmeyi sağlayamamaktadır. Skar volümünü azaltırken, elastisiteyi % 60-100 oranında komplikasyon olmadan artırır.<sup>157</sup> 12 saatlik periyodlarla yaklaşık 4-6 ay kullanımı önerilmektedir. Tedavi amaçlı ya da cerrahi sonrası profilaktik amaçlı kullanılabilir.<sup>158</sup> Topikal silikon tedavisi kullanılabilirliği, fiyatı, uygulama kolaylığı, ciddi yan etkilerinin az olması ve göreceli etkisi ile hipertrofik skarlar için ilk basamak tedavilerden olmaya devam edecektir. Hasta uyumu ve tercihine bağlı olarak silikon jel tabaka ya da silikon bazlı jellerden biri kullanılabilir.<sup>159</sup>

#### 2.5.4. Basınç Tedavisi

Kompresyon giysileri özellikle hipertrofik yanık izleri için yaygın olarak kullanılmaktadır. Skarın yumuşamasında ve incelmesinde etkilidir. Basınç genellikle süngerler, plastik plaklar, silikon jel ve tabakalar aracılığı ile skara uygulanır.<sup>160</sup> Bası tedavisi yaranın reepitelizasyonu tamamlandığında başlanmalı, günde 8- 23 saat, 12-18 ay boyunca skar matür hale gelene kadar kullanılmalıdır. Başarı oranı genellikle hasta uyumuna bağlıdır.<sup>161</sup> Uygulanacak basıncın, doğal kapiller basıncı aşan 24 mmHg ile periferik kan akımını engellemeyen 30 mmHg basıncı arasında olmasına dikkat edilmelidir.<sup>162</sup>

Uyguladığı 24-30 mm-Hg basınç skar içindeki kapillerlerde oklüzyona yol açarak dokuda hipoksi oluşturmaktadır. Lokal hipoksi nedeniyle fibroblastlar baskılanır, kondroitin-4 sülfat miktarı ve interkollajen bağlarda azalma olur. Apoptoz sürecinin devamı ile skar dokusu daha avasküler hale gelir. Bu oksijen ihtiyacını artırırken, lizozomlardan proteaz salınımı ve fibroblast ölümüne neden olur.<sup>163,164</sup> Fibroblastlarda ve kollajen sentezinde azalma ile kollajenaz aktivitesini artırarak hipertrofik skarı önlemekte veya tedavi etmekte olduğu belirtilmiştir. Fakat etkinliği açısından literatürde güçlü kanıtlar mevcut değildir. Her anatomik bölgede istenilen basınç elde edilememesi ve hasta uyumu açısından zahmetli bir tedavi yöntemi olması dezavantajlarındanır.<sup>165</sup>

#### 2.5.5. Radyoterapi

Hipertrofik skar ve keloidlerde radyoterapi monoterapi şeklinde uygulanabilse de yüksek rekürrens nedeni ile sıklıkla cerrahi ile birlikte kombine edilmektedir. Monoterapide cevap oranı % 10-94 iken nüks oranı % 50-100'dür. Bu nedenle genellikle cerrahi sonrası erken dönemde birkaç seansta verilir.<sup>166,167</sup> Radyoterapinin etkisini apoptozisi artırarak gösterdiği düşünülmektedir. Shenkang, keloid fibroblast hücre kültüründe yaptığı çalışmada, 8 Gy dozunda verilen gamma ışınlarının keloid fibroblastlarında apoptozisi iki kat arttırdığını göstermiştir.<sup>168</sup> 100- 1200 cGy, 3 veya 4 boyutta, 3-6 doz şeklinde geniş bir tedavi protokol aralığı mevcuttur ve erken postopertatif dönemde kullanılmaktadır. 30 Gy'den yüksek dozlarda optimal lokal kontrol sağlandığı gösterilmiştir.<sup>169</sup> Yara iyileşmesinin bozulması, eritem,

hipopigmentasyon ve hiperpigmentasyon gibi pigmentasyon bozuklukları, deskuamasyon, ülserasyon, alopesi, atrofi gibi yan etkileri mevcuttur.<sup>169</sup> Kullanımı teorik olarak malignensiye yol açma riski nedeniyle kısıtlıdır.<sup>170</sup> Literatürde radyoterapiyle keloid tedavisi sonrası gelişen malignitelerle ilgili çok az sayıda bildiri mevcuttur. Yine de bu tedaviyi alacak hastalara potansiyel tehlike hakkında bilgi verilmelidir.<sup>171,172</sup>

### **2.5.6. Lazer Tedavisi**

Lazerler, dokuda termal reaksiyona neden olarak etki göstermektedir.<sup>173</sup> İlk olarak karbondioksit (CO<sub>2</sub>) lazer (dalga boyu; 10,600 nm) ve argon lazer (dalga boyu; 488 nm) hipertrofik skar ve keloid tedavisinde kullanılmıştır ancak yüksek rekürrens oranları nedeniyle artık kullanılmamaktadır.<sup>149,174</sup> Bu konuda en umut verici sonuçlar, 585-nm pulsed dye lazer uygulamasıyla görülmektedir. Etkinlik oranı %75 olarak bildirilmiştir. Nd:YAG ve pulse dye lazerlerde rekürrenste % 60 azalma olduğu bildirilmiştir. Pulse-dye lazerler hemoglobin moleküllerinin selektif termolizisine yol açarak mikrovasküler hasara ve koagülatif nekroza neden olur. Kan damarlarında direk destrüksiyona yol açarak ve çevre kollajeni indirek olarak etkileyerek kollajen modelingi ve yara kontraksiyonuyla skarı düzgünleştirir.<sup>175</sup> Melanin pigmentinin hemoglobinle bu konuda yarışması, keloidlerin daha çok görüldüğü koyu tenli kişilerde bu metodun etkinliğini azaltmaktadır.<sup>173</sup> Diğer yöntemler ile birlikte kombine kullanılabilir.<sup>166</sup>

### **2.5.7. Kriyoterapi**

Kriyoterapi uygulaması, hücre hasarı ve mikrosirküler bozukluğa neden olur. Hipoksi sonucu doku nekrozu görülür. Hipertrofik skarlar kriyoterapiye keloidlerden daha iyi yanıt verirler. Kriyoterapinin kullanımı, pigmentasyon değişiklikleri, cilt atrofisi ve ağrı gibi yan etkileri nedeniyle küçük skarların tedavisi ile sınırlıdır. Zouboulis, keloid ve hipertrofik skarların tedavisi için bir intralezyonel kriyoterapi cihazı geliştirmiş ve 12 hasta üzerinde yaptığı çalışmada, lezyon boyutlarında ortalama % 51 oranında küçülme; ağrı, kaşıntı, lezyon sertliği ve skar rengi gibi belirtilerde

iyileşme saptadığını bildirmiştir.<sup>176</sup> Kalıcı hipopigmentasyon, hiperpigmentasyon, cilt atrofisi ve ağrı sık görülen yan etkileridir.<sup>166</sup>

### **2.5.8. İnterferon Tedavisi (IFN)**

Kollajen sentezini azaltan, TGF- $\beta$ 'yı ve histamini azaltarak antiproliferatif etkiler gösteren IFN, hipertrofik skar ve keloid tedavisinde intralezyonel enjeksiyonlar ile uygulanmaktadır. Yan etkileri arasında grip benzeri semptomların gelişmesi, pahalı olması ve enjeksiyon sırasında oluşan ağrı IFN kullanımını kısıtlamaktadır. Keloidlerde kullanıldığında keloidin yüzey alanını azaltmasına rağmen nüks ve IFN direnci görülmektedir.<sup>177,178</sup>

### **2.5.9. İmiquimod Tedavisi**

İmiquimod, genital siğiller, bazal hücreli karsinom ve aktinik keratoz tedavisi için geliştirilmiş immun sistem modülatörü topikal bir ajandır. Etkisi, proinflamatuvar sitokinlerin, özellikle de IFN- $\alpha$ 'nın stimülasyonudur. İnterferon- $\alpha$ , kollajen yıkımını artırır. İmiquimod, bunun yanında apoptozisle ilgili genlerin ekspresyonunu arttırmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle, keloid ve hipertrofik skarların tedavisinde kullanılmıştır.<sup>179</sup> Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, redüksiyon mammoplasti sonrası imiquimod kullanılan hastalarda, kullanılmayan hastalara göre skar kalitesinin daha iyi olduğu bildirilmiştir<sup>180</sup>. İmiquimod % 5 krem ile yapılan çalışmalar olumlu sonuçlar vermiş olsa da hem bu çalışmaların azlığı ve yapılan çalışmalardaki örnek yetersizliği, hem de takip süresinin kısalığı nedeniyle kesin etkileri hakkında karar vermek için henüz erken görünmektedir.<sup>181</sup>

### **2.5.10. Retinoik Asit Tedavisi**

Retinoidler epidermal proliferasyonu artırırken fibroblastları inhibe ederler ve iyileşme sürecini normal rejenerasyona kaydırırlar. *In vitro* veriler retinoidlerin normal ve keloid fibroblastlarının proliferasyonunu ve kollajen üretimini modüle edebildiğini

göstermektedir. Retinoidler ayrıca keloid patogenezinde rol alabilecek sebum üretimini de baskılar.<sup>182</sup>

Oral vitamin A'nın keloid skarların görünümünde iyileşme yarattığı gözlemine dayanarak % 0.05'lik retinoik asidin yara iyileşmesine ve anormal skar oluşumuna etkisini araştıran bazı çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar olumlu olsa da vitamin A'nın deriden absorbe edilebilmesi ve buna bağlı gelişebilecek hipervitaminoz ve teratojenik etkiler nedeniyle kullanımı önerilmemektedir.<sup>183</sup> Ayrıca ışığa duyarlılık, ciltte tahriş, cilt atrofisi gibi yan etkileri mevcuttur.<sup>182</sup>

### **2.5.11. 5-Florourasil (5-FU)**

5-FU, fibroblastlar üzerinde proliferasyon azaltıcı etkisi olan bir antimetabolittir ve glokom cerrahisi sonrası skar oluşumunu ve buna bağlı rekürrensi engellemek için kullanılmıştır.<sup>184</sup> İntralezyonel 5-florourasil (5-FU) enjeksiyonu hipertrofik skar ve keloid tedavisinde denenmiştir.<sup>185</sup> Yapılan çalışmalarda, 5-FU'nun etkisini sadece fibroblast proliferasyonunu engelleyerek değil, aynı zamanda migrasyon, büyüme faktörleri, kollajen ve fibronektin üretimi gibi fibroblast fonksiyonlarını inhibe ederek de ortaya koyduğu gösterilmiştir.<sup>186</sup> Enjeksiyonlar ağrılı olabilir; purpura ve ülser oluşumu gibi ciltte yan etkiler görülebilir. 5-FU tedavisi kortikosteroid kullanımı ile kombine edildiği zaman enjeksiyonların daha az ağrılı olduğu, tedaviye yanıt hızının arttığı ve yan etkilerin azaldığı tespit edilmiştir.<sup>166,185</sup>

### **2.5.12. Diğer Tedaviler**

Etkileri sınırlı olan daha farklı tedavi yöntemleri de yayınlanmıştır. İntralezyonel formalin, pepsin, hidroklorik asit, intralezyonel kreosot yağı, nitrojen mustard, metotreksat ve ultrason uygulamaları çeşitli kombinasyonlarda kullanılmıştır. Cerrahiden sonra alfatakoferol, intramusküler asiatikosis, topikal tiotepa, nitrat, medekassol, oral beta amino propionitril ve topikal çinko bantları ile iyi sonuçlar elde edilememiştir.<sup>149,187</sup> Hipertrofik skar ve keloidlerdeki kollajen sentezini inhibe etmek için birçok ajan denenmiştir. Protein sentez önleyicileri penisilamin ve kolşisin de

araştırılmıştır.<sup>188</sup> Hayvan modellerinde anti-TGF- $\beta$  antikorları kullanılmış ve hipertrofik skar dokusunda ve kollajen içeriğinde azalma saptanmıştır.<sup>189</sup>

## 2.6. Bu Çalışmada Kullanılan Medikal Ajanlar

### 2.6.1. Regorafenib

Regorafenib, kanserleşme sürecinde, onkogeneze, tümör anjiyogenezinde ve tümör mikroçevresinin modülasyonu gibi patolojik süreçlerde yer alan tirozin kinazların aktivitesini bloke ettiği gösterilen bir oral multi-kinaz inhibitörüdür.<sup>23</sup>

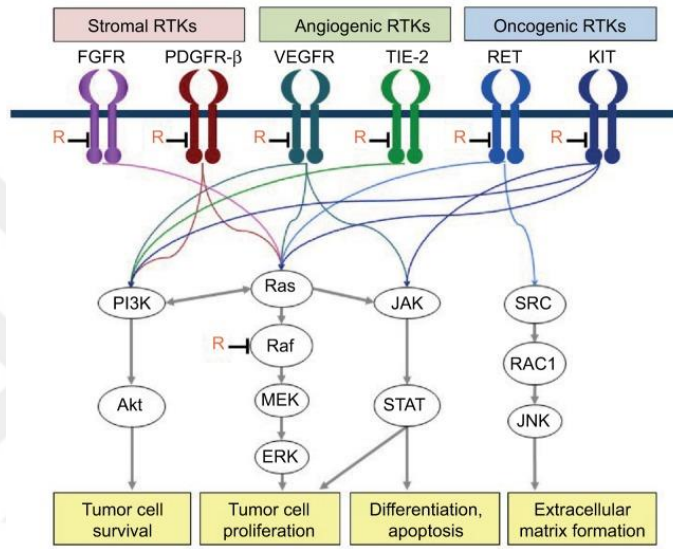
Regorafenib (BAY 73-4506, Stivarga®), anjiyolitik (VEGFR1-3, TIE2), stromal (PDGFR, FGFR) ve onkojenik (KIT, RET, RAF) reseptör tirozin kinazı hedefler. Tüm standart terapilerden sonra progrese olan metastatik kolorektal kanserde surviye katkısı olan ilk küçük molekül multi kinaz inhibitördür. 2012’de bu endikasyonla Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onay almıştır. Ayrıca standart tedaviden sonra progrese olan metastatik gastrointestinal stromal tümörü (GİST) olan hastalarda Regorafenib tedavisi plaseboyla karşılaştırıldığında progresyonsuz sağkalımda önemli gelişme sağlamıştır ve 2013’te bu endikasyonla FDA’dan onay almıştır. 2017’de daha önce Sorafenib ile tedavi edilmiş ileri evre hepatoselüler karsinomu olan hastaların tedavisinde FDA tarafından onaylanmıştır. Regorafenib ayrıca çoğunluğu faz 2 olmak üzere çeşitli klinik deneylerde farklı tümörlerde (renal hücreli karsinom, yumuşak doku sarkomu, medullar tiroid karsinom) incelenmektedir.<sup>3</sup> (Şekil 5)



Şekil 5. Regorafenib (BAY 73-4506, Stivarga®)

### 2.6.1.1. Etki Mekanizması

*In vitro* biyokimyasal veya hücresel çalışmalarda, Regorafenib ya da majör insan aktif metabolitleri M-2 ve M-5'in RET, VEGFR 1-3, KIT, PDGFR, FGFR1,2, TIE2, DDR2, TrkA, Eph2A, RAF-1, BRAF, BRAFV600E, SAPK2, PTK5, Abl aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>3</sup> (Şekil 6)



Şekil 6. Regorafenib'in etki mekanizması<sup>190</sup> (Goel, 2018)

### 2.6.1.2. Farmakokinetik ve Eliminasyonu

Regorafenib standart dozu oral olarak günlük 160 mg'dır. Oral alınan Regorafenib'in ortalama biyoyararlanımı % 69'dur. Enterohepatik dolaşıma girer ve 24 saatlik doz aralığı boyunca çoklu plazma konsantrasyon pikleri gösterir. İnsan plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır ve CYP3A4 ve UGT1A9 tarafından metabolize edilir. Regorafenibin insan plazmasında ana metabolitleri M-2 (N-oxide) ve M-5 (N-oxide ve N-desmetil)'dir. Her iki metabolit benzer *in vitro* farmakolojik aktivite gösterir. Regorafenib'in ve M-2 metabolitinin plazmada eliminasyon yarılanma ömrü 28 ve 25 saattir. M-5 51 saatle daha uzun eliminasyon yarılanma ömrü gösterir. Radyoaktif olarak işaretlenmiş bir Regorafenib dozunun yaklaşık %

71'i feçes ile ve % 19'u üriner olarak atılır. Regorafenib farmakokinetiği üzerinde yaş, cinsiyet veya kilonun klinik olarak anlamlı bir etkisi yoktur.<sup>3</sup>

### **2.6.1.3. Preklinik Veri**

Regorafenibin rat uyluğunda intramuskuler olarak büyütülen GS9L glioblastom ksenogreftinde tümör vaskülaritesi üzerindeki farmakodinamik etkisi Gadomer-17 kullanılarak dinamik kontrastlı manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile *in vivo* olarak gösterilmiştir. Gadomer-17, vasküler geçirgenlikteki değişiklikleri göstermek için kullanılabilen kolay ekstravaze olan preklinik makromoleküler MRI kontrast maddesidir. Bir kez 10 mg/kg dozda oral olarak uygulanan Regorafenib rat GS9L glioblastom tümör ksenograftlarının damar sisteminde intravasküler Gadomer ekstravazyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Ekstravazyonun modülasyonu, bu modelde terapötik antitümör etkinliği ile korele olduğu bulunan 10 mg/kg doz ile 4 günlük Regorafenib uygulamasıyla da analiz edilmiştir ve tek doz çalışmasına benzer bir farmakodinamik etki gözlenmiştir. Günlük dozlama çalışmasında farmakodinamik etkilerin son dozdan sonra 48 saat daha devam ettiği ve tümör büyüme inhibisyonu ile korele olduğu gösterilmiştir.<sup>191</sup>

Yapılan bir hayvan deneyinde 10 ve 30 mg/kg günlük dozlama sonrası bir insan kolorektal ksenogreftinde tümör mikrodamarlanmasında önemli azalma gözlenmiştir. Regorafenib, çeşitli preklinik insan ksenograft modellerinde güçlü doza bağlı tümör büyüme inhibisyonu sergilemiştir.<sup>191</sup>

### **2.6.1.4. Klinik Veri**

28 günde bir tekrarlanan 21 gün tedavi 7 gün ara programıyla günde bir kez 160 mg tablet dozu, tek ajan Regorafenib için maksimum tolere edilen doz olarak belirlenmiştir.<sup>190</sup>

Daha önce tedavi görmüş metastatik kolorektal karsinomda Regorafenib monoterapisi (CORRECT) çalışması, onaylanmış tüm standart tedavilerden sonra tümörü ilerleyen metastatik kolorektal kanserli hastalarda Regorafenib'in etkinliğini değerlendirmek için yapılan bir Faz III çalışmasıdır. Bu deneme, dört farklı kıtada 16

ülkede 114 merkezi kapsayan randomize, plasebo kontrollü, çift kör bir çalışmadır. Kabul edilemez toksisite nedeniyle mevcut tüm standart tedavilerde ilerleme gösteren veya tedaviyi bırakan metastatik kolorektal karsinomlu hastalar, Regorafenib veya plaseboyla tedavi edilmiştir. Regorafenib, 21 gün boyunca günde bir kez 160 mg'lık dozda verilmiş, ardından 7 gün istirahat edilmiştir. Bu şekilde 28 günlük döngülerle ilaç uygulanmıştır. Genel sağkalım Regorafenib grubunda 6,4 ay iken plasebo grubunda 5,0 aydır. Bu çalışma, standart sitotoksik ve hedefe yönelik tedavilerden sonra ilerleyici kolorektal kanserli hastalarda Regorafenib'in plaseboya kıyasla sağkalımı önemli ölçüde uzatabildiğini göstermektedir. Hedefe yönelik tedavilerin rolü için daha fazla kanıt sağlamakta ve tedaviye dirençli popülasyonda potansiyel yeni bir tedavi sunmaktadır.<sup>192</sup>

Ayrıca, Regorafenib, standart tedavilerle progrese olan metastatik gastrointestinal stromal tümörlü (GIST) hastalarda plaseboya kıyasla progresyonsuz sağkalımda önemli bir iyileşme sağlamıştır ve 2013'te bu endikasyonda FDA'dan onay almıştır. 2017'de, Regorafenib, daha önce Sorafenib ile tedavi edilen ilerlemiş hepatoselüler karsinomlu (HCC) hastaların tedavisi için FDA tarafından onaylanmıştır. Bu durumda Regorafenib, plaseboya kıyasla progresyonsuz sağkalımı ve genel sağkalımı önemli ölçüde iyileştirmiştir. Ayrıca renal hücreli karsinom, yumuşak doku sarkomu ve medüller tiorid kanseri gibi diğer kanser türleri için devam eden çoğunlukla faz II çalışmaları mevcuttur.<sup>3</sup>

#### **2.6.1.5. Toksisite Analizi**

##### **2.6.1.5.1. Dermatolojik Toksisite**

CORRECT çalışmasında metastatik kolorektal kanserli 760 hastada, Regorafenib cilt ve subkutan dokuyu içeren el ayak cilt reaksiyonu ve doz modifikasyonu gerektiren şiddetli döküntülü yan etkiye sebep olmuştur. (% 72-% 24).<sup>193</sup>

Eritema multiforme (% 0,2) ve Steven Johnson sendromu (% 0,2) içeren ciddi deri reaksiyonları Regorafenib ile tedavi edilen hastalarda daha sık görülmüştür. Tüm klinik çalışmalarda Regorafenib ile tedavi edilen 1200 hastanın % 0,17'sinde toksik epidermal nekrozis meydana gelmiştir.

Bir meta analizde mCRC, GİST, RCC ve HCC olan 1078 hasta Regorafenib ile tedavi edilmiş ve el ayak sendromu insidansının tümör tipine göre değiştiği gösterilmiştir. El ayak sendromu insidansı RCC’de % 71,4, GİST’te % 60,2, HCC’de % 50, mCRC’de % 46,6 olarak bulunmuştur.<sup>194</sup>

#### **2.6.1.5.2. Hipertansiyon, Kardiyak İskemi, İnfarkt**

CORRECT çalışmasında Regorafenib’in hipertansiyon (% 30), miyokardiyal iskemi ve infarkt (% 1,2 ve % 0,4) insidansını artırdığı gösterilmiştir.<sup>193</sup>

#### **2.6.1.5.3. Hepatotoksisite**

CORRECT çalışmasında metastatik karaciğer hastalığı olan hastalarda Regorafenib grubunda % 1,6 ve plasebo grubunda % 0,4 fatal hepatik yetmezlik görülmüştür.<sup>193</sup>

#### **2.6.1.5.4. Gastrointestinal Perforasyon ve Fistül**

Yapılan bir çalışmada Regorafenib ile tedavi edilen 199 GİST hastasının % 2,1’inde gastrointestinal fistül veya perforasyon gelişmiştir, 2 vaka fataldir.<sup>195</sup>

#### **2.6.1.5.5. Hemoraji**

CORRECT çalışmasında Regorafenib’in hemoraji insidansını artırdığı gösterilmiştir.<sup>193</sup>

Regorafenib grubunda % 21, plasebo grubunda % 8 hemoraji görülmüştür. Fatal hemoraji Regorafenib ile tedavi edilen hastaların % 0,6’sında respiratuar, gastrointestinal ve genitoüriner traktta meydana gelmiştir.<sup>3</sup>

### 2.6.1.5.6. Embriyo-Fetal Toksite

Regorafenib önerilen dozda elde edilen konsantrasyondan daha düşük konsantrasyonlarda rat ve tavşanlarda embriyonik letal ve teratojenik bulunmuştur.<sup>3</sup>

### 2.6.2. Triamsinolon Asetonid

İntralezyonel kortikosteroid enjeksiyonu patolojik skar tedavisinde uygulanan en sık yöntemdir.<sup>146</sup> Keloidlerin ve hipertrofik skarların tedavisinde ve profilaksisinde tek başına veya diğer yöntemlerle kombine olarak kullanılmaktadır. Kortikosteroidler kollajen sentezini, glikozaminoglikan sentezini, inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu ve yara iyileşmesi sırasında fibroblast proliferasyonunu azaltarak aşırı skar oluşumunu baskılar. Kollajen dejenerasyonunu artırır. Triamsinolon asetonid lezyon içi uygulamada iyi belgelenmiş bir kortikosteroiddir.<sup>196</sup> İntralezyonel Triamsinolon asetonid enjeksiyonunun hastalarda kısmi semptomatik iyileşmeye yol açtığı rapor edilmiştir. İntralezyonel kortikosteroidlerin hipopigmentasyon, dermal atrofi, telenjiektazi ve enjeksiyonla ağrı gibi istenmeyen etkileri bulunmaktadır.<sup>197</sup>

Çalışmamızda 28 ve 35'inci günlerde 40 mg/ml dozunda intralezyonel olarak uygulanan Kenacort-A ®, hipertrofik skarda en yaygın kullanılan ajan olan Triamsinolon asetonid preparatıdır (Şekil 7).



Şekil 7. Triamsinolon Asetonid (Kenacort-A Retard 40 mg ampul, Deva®)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'nın 08.07.21 tarihli onayı ve TTU-2021-14324 proje numarası ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu desteği alınarak yürütüldü.

Çalışmamız, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Bu çalışmada 16 adet, ağırlıkları 2000-2600 gr olan 8 haftalık Yeni Zelanda türü tavşan kullanıldı (Şekil 8). İstatiksel araştırma için gerekli olan her grupta olması gereken minimum hayvan sayısı ilkesi doğrultusunda her grupta 4 hayvan olacak şekilde sham grubu, kontrol grubu, Triamsinolon asetonid grubu ve Regorafenib grubu olmak üzere 4 adet grup oluşturuldu.



Şekil 8. Kullanılan deney hayvanı (Yeni Zelanda tavşanı)

Seçilen hayvanlar daha önce başka deneyler için kullanılmadı. Bu hayvan türünün seçilmesinin nedeni, deney modelinin insan çalışmaları ile korele bilgiler sağlaması ve bu konu ile ilgili önceki verilerle karşılaştırma yapmayı olanaklı kılan veri tabanları bulunmasıdır.

Deney hayvanları Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından sağlandı. Deney hayvanları araştırma süresince etik kurallara uygun olacak şekilde çelik kafeslerde, her kafeste en fazla 4 tavşan olacak şekilde tutuldu. Hayvanlar bu süre içinde istedikleri kadar su içip yem yiyebildiler. Barındırıldıkları oda, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Ayrıca laboratuvarın oda sıcaklığı termometre ile ve nemi higrometre ile ölçülerek, sıcaklığın  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'yi aşmaması için sürekli olarak aspiratör ile havalandırıldı.

### **3.1. Cerrahi Yöntem**

Morris ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, tavşan kulaklarında yaratılan kritik boyuttaki tam kalınlıkta defektlerin hipertrofik skara benzer yapıda iyileşme paterni gösterdiği bulunmuş ve kantitatif ölçüm yapılabilecek şekilde deneysel hayvan modeli oluşturulmuştur<sup>198</sup>. Bu hipertrofik skar modelinde, tavşanların kulaklarının iç yüzlerine birbirlerine eşit ve uzak mesafede cilt, cilt altı doku ve perikondriumun dahil edildiği, zeminde perikondriyumsuz kartilaj bırakıldığı defektler oluşturulmaktadır. 6mm'lik perikondriyumsuz defektler hipertrofik skar benzeri iyileşme paterni gösterir. Oluşturulan hipertrofik skar dokusu miktarı histolojik inceleme yapılarak ölçülebilmektedir ve bu sayede oluşturulacak deney grupları sayısal olarak karşılaştırılabilmektedir.

Çalışmamızda anestezi, 40 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketasol®, Richter Pharma ag) ve 5 mg/kg Ksilazin (Xylazinbio®, Bioveta) intramuskuler uygulanarak yapıldı ve yaklaşık 10 dakika sonra derin sedasyon sağlandı (Şekil 9).



**Şekil 9. Ketamin hidroklorür (Ketasol®, Richter Pharma ag), Ksilazin hidroklorür (Xylazinbio®, Bioveta)**

Sham grubu hariç tüm tavşanların kulaklarının minimal kıl folikülü bulunan ventral yüzleri standardize povidon iodinli solüsyon ve serum fizyolojik ile temizlendi. Steril olarak örtüldü. (Şekil 10)



**Şekil 10. Operasyon öncesi tavşan kulağının görünümü**

Deneklerin her bir kulağında ventral yüzde 4 adet birbirine eşit uzaklıkta 6 mm'lik punch biyopsi aleti ile dairesel deri insizyonları yapıldı. Bistüri yardımıyla 4 adet

eksizyonel yara tabanda perikondrium eksizyona dahil olacak şekilde oluşturuldu. Zeminde çıplak kıkırdağın olduğu 4'er adet 6 mm çaplı defekt elde edildi. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra yaralara pansuman yapılarak yaralar sekonder iyileşmeye bırakıldı (Şekil 11), (Şekil 12).



**Şekil 11. Kullanılan cerrahi malzemeler**



**Şekil 12. Defektlerin oluşturulması**

16. gün epitelizasyon tamamlanıp hipertrofik skarlar oluştuğundan sonra denekler her biri 4 tavşandan oluşan 4 gruba ayrıldı (Şekil 13).



Şekil 13. 16. gün hipertrofik skar oluşumunun gözlenmesi

### 3.2. Çalışma Grupları

Grup 1: Sham grubu olarak planlanmış olup 4 adet tavşandan oluşmaktadır. Bu gruptaki deneklerin kulaklarına herhangi bir cerrahi işlem ve tedavi uygulanmadı. Deney sonunda histopatolojik inceleme için örnekler alındı.

Grup 2: Kontrol grubu olarak planlanmış olup 4 adet tavşandan oluşmaktadır. Bu gruptaki deneklerin her bir kulağının ventral kısmında cilt, cilt altı ve perikondrium eksize edilip zeminde kartilaj bırakılarak 4 adet 6 mm çaplı sirküler defektler oluşturuldu. 16. günde epitelizasyonun tamamlanıp hipertrofik skar formasyonlarının olduğu gözlemlendi. Bu gruptaki deneklere herhangi bir tedavi uygulanmadı. Hipertrofik skarlar oluşturulduktan sonra 28 gün tedavisiz takip edildi. Deney sonunda histopatolojik inceleme için örnekler alındı.

Grup 3: İntralezyonel Triamsinolon asetonid enjeksiyonu uygulanan grup olup 4 adet tavşandan oluşmaktadır. Bu gruptaki deneklerin her bir kulağının ventral kısmında cilt, cilt altı ve perikondrium eksize edilip zeminde kıkırdak bırakılarak 4 adet 6 mm çaplı sirküler defektler oluşturuldu. Bu gruptaki deneklere 28 ve 35'inci günlerde 40 mg/ml Kenacort-A ® (Triamsinolon asetonid) süspansiyonu intralezyonel olarak uygulandı. Uygulama 28 gauge iğne ile skarın periferinde birbirine 180° olan 2 noktadan girilip intradermal seviyede skarın santraline gelindiğinde her bir girişte 10µl süspansiyon enjekte edilmesiyle yapıldı. 44. günde deney sonlandırılarak histopatolojik inceleme için örnekler alındı.

Grup 4: Regorafenib grubu olarak planlanmış olup 4 adet tavşandan oluşmaktadır. Bu gruptaki deneklerin her bir kulağının ventral kısmında cilt, cilt altı ve perikondrium

eksiz edilip zeminde kırıldak bırakılarak 4 adet 6 mm çaplı sirküler defektler oluşturuldu. 16. gün epitelizasyon tamamlanıp hipertrofik skar oluşumu gözlemlendikten sonra 28 günde bir tekrarlanan 21 gün tedavi, 7 gün ara programına uyacak şekilde 21 gün boyunca Regorafenib tablet 10 mg/kg/gün dozunda gavaj ile verildi ve 7 gün ara verilerek tek bir 28 günlük siklus tamamlandı. Deneyin 44. gününde histopatolojik inceleme için örnekler alındı.

16. günde skarların gözlenmesinin ardından başlanan tedavi süreçlerinin 28 gün sonra tamamlanmasıyla, deneyin 44. gününde, skarlar ve skarlardaki gerilemeler fotoğraf çekimi ve makroskobik bakı ile değerlendirildi. Histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için örnekler toplandı.

Alınan doku örnekleri elektron mikroskopisi ile incelendi. Işık mikroskopisi ile skar elevasyon indeksi, kollajenizasyon değerlendirildi. İmmünohistokimyasal olarak VEGF ve  $\alpha$ -SMA düzeyleri değerlendirildi.

### 3.3. Elektron Mikroskopik Yöntemler

Elektron mikroskopik değerlendirme için alınan skar doku parçaları Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 5'lik glutaraldehit solüsyonunda 1 saat bekletildikten sonra üzerinde birkaç damla glutaraldehit olan dışı mumuyla kaplı petri üzerinde jilet yardımıyla 1 mm<sup>3</sup>'lük parçalara ayrıldı. Doku parçaları tekrar glutaraldehit solüsyonuna alınarak 3 saat kadar tespit edildi. Böylece dokular toplam 4 saat tespit edilmiş oldu. Daha sonra dokular Millonig fosfat tamponunda 10 dk çalkalandı. Dokular ikinci kez Millonig fosfat tamponuyla yıkandıktan sonra, Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 1'lik osmium tetraoksit solüsyonu ile ikinci defa tespit edildi ve yine fosfat tamponu ile iki kez 10'ar dk yıkandı. Dokular daha sonra aşağıdaki sıraya göre dehidrate edildi:

- % 50 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika
- % 70 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika
- % 86 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika
- % 96 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika
- % 100 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika
- % 100 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika

Buraya kadar olan işlemler buzdolabında + 4° C’de gerçekleştirildi. Daha sonra aşağıdaki işlemler oda ısısında gerçekleştirildi:

- % 100 Etil alkolde 15 dakika
- Propilen oksitte 15 dakika
- Propilen oksitte 15 dakika

Dehidrate edilen doku parçaları daha sonra aşağıdaki solüsyonlar içerisinde bekletildi:

- Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika
- Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika

Bu işlemlerden sonra doku parçaları içerisinde yeni hazırlanmış gömme materyali (rezin) bulunan tüplere alındı ve bir gece süreyle rotatorda karıştırıldı.

Gömme Materyali :

- Araldit CY 212 20 ml
- Sertleştirici HY 964 20 ml
- Hızlandırıcı DY 064 0.6 ml
- Plastikleştirici – Dibütil Fitalat 1 ml

Ertesi gün rotatordan alınan doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak Beem kapsüllere gömüldü ve 60 °C etüvde 48 saat polimerize edildi. Daha sonra bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Ultracut S ultramikrotomu ile 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve doku bloklarında uygun alanların seçimi yapıldı. Belirlenen alanlardan ultramikrotom ile 50 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere alınarak % 70'lik etil alkolde hazırlanan doymuş uranil asetat ile Reynolds'un kurşun sitrat solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler JEOL-JEM 1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu (Japan) ile incelendi ve mikrograflar elde edildi.

### 3.4. Işık Mikroskopik Yöntemler

Histopatolojik inceleme için alınan skarlar kenarı 1 cm olan kare şeklinde sağlam cilt içeren bloklar halinde kartilajla birlikte alındı. Alınan skar doku örnekleri %10'luk nötral formalin içerisine konulup 3 gün bekletilerek tespit olmaları sağlandı. Daha sonra Leica TP 1020 (Leica Biosystems, Germany) ototeknikon cihazı ile Tablo 1'de belirtilen rutin doku takipleri yapıldı.

**Tablo 1. Işık mikroskopik doku takip işlemi**

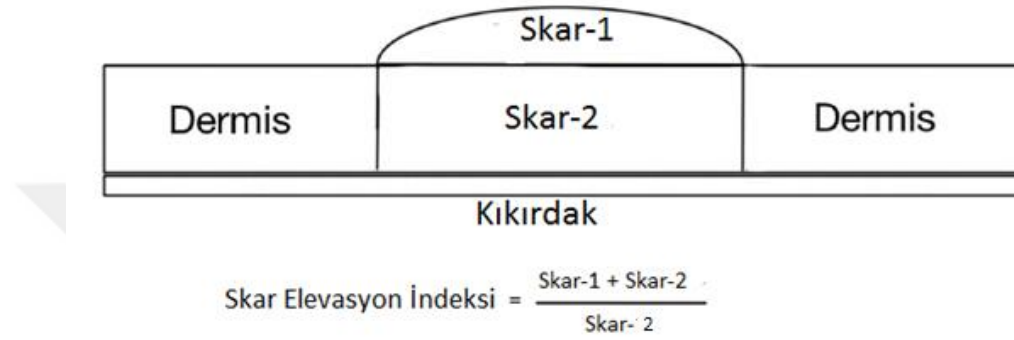
Oda Sıcaklığında	Formalin	30 dakika
Oda Sıcaklığında	% 70'lik etil alkol	1 saat
Oda Sıcaklığında	% 80'lik etil alkol	1 saat
Oda Sıcaklığında	% 90'lik etil alkol	1 saat 30 dakika
Oda Sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda Sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda Sıcaklığında	Saf alkol	1 saat 30 dakika
Oda Sıcaklığında	Saf alkol + Ksilol	1 saat
Oda Sıcaklığında	Ksilol	1 saat
Oda Sıcaklığında	Ksilol	1 saat 30 dakika
60°C'de	Parafin	1 saat
60°C'de	Parafin	1 saat 30 dakika

Doku takibinden sonra skar doku örnekleri parafin bloklar haline getirildi ve 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson Trikrom (MT) ile boyandı. Olympus BX53 (Tokyo, Japonya) ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi. Bloklardan ayrıca immünohistokimyasal incelemeler için de doku kesitleri alındı ve uygun yöntemlerle hazırlandı.

### 3.5. Skar Elevasyon İndeksi (SEİ)

Skar elevasyon indeksi (SEİ), skar dokusundaki hipertrofinin derecesini kantitatif olarak değerlendirebilmek için kullanılır. Skar elevasyon indeksi, skarlı alanda yeni oluşmuş dermis (neodermis) alanının, yaralanmamış dermis alanına oranıdır. SEİ >1 olması skarın hipertrofik olarak iyileştiğini, SEİ <1 olması ise skarın atrofik olarak iyileştiğini göstermektedir.

Skar elevasyon indeksi, ışık mikroskopisiyle ölçülmüş olup, hipertrofik skarlarda tabanda kartilajdan en tepe noktada skar yüzeyini örten epitele uzanan dik çizginin mikrometre cinsinden uzunluğunun, skarsız alandaki kartilaj ve intakt yüzey epiteli arasına çizilen dik çizginin mikrometre cinsinden uzunluğuna oranı olarak tanımlanmıştır<sup>199</sup>. (Şekil 14)



Şekil 14. Skar elevasyon indeksinin hesaplanması

Kollajen yoğunluğu, MT ile boyalı preparatlarda hafif, orta ve yoğun olmak üzere semikantitatif olarak 1-3 arasında skorlanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Semikantitatif kollajen yoğunluğu skorlaması

Skor	Kollajen yoğunluğu
1	Hafif
2	Orta
3	Şiddetli

### 3.6. İmmünohistokimyasal Yöntemler

$\alpha$ -SMA ve VEGF immünoaktivitesinin belirlenmesi amacı ile elde edilen histolojik kesitler, polilizin kaplı lamalar üzerine alındı. Buzdolabında bekletilen kesitler işaretleme işlemine geçilmeden önce kurutularak, tekrar buzdolabına alındı ve 15 dakika kadar bekletildi. Buzdolabından çıkarıldıktan sonra tekrar kurutulan kesitler, 60 °C’de etüvde ksilol içerisinde 15 dakika deparafinize edildi. Daha sonra doku kesitleri,

oda ısısında ksilol serilerinden geçirildi ve derecesi giderek azalan alkol serileri içerisinde hidrate edildi ve distile su içerisine alındı. Kesitler daha sonra, sitrat solüsyonu (pH=6) içerisine alınıp 95 °C'lik su banyosunda 30 dakika süreyle bekletilerek antijenlerin açığa çıkarılması sağlandı. Oda ısısında 45 dakika soğutulan kesitler, distile suda yıkandı ve endojen peroksitleri engellemek amacıyla % 3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) içerisine alınarak yaklaşık 10 dk kadar bekletildi. Kesitler, saf su ve fosfat tamponundan (PBS, pH=7,2-7,4) geçirildi. Her bir kesitin etrafı dikkatlice silinip, kurulandıktan sonra, üzerine nonspesifik bağlanmayı engellemek amacıyla blocking solüsyonu (ab93705, Abcam, USA) damlatıldı ve oda ısısında 15 dakika bekletildikten sonra kesitler, distile su ve fosfat tamponundan geçirildi ve dokuların etrafı kurulandı. Daha sonra 1/200 oranında sulandırılan anti- $\alpha$ -SMA (MA5-11547, İnvitrogen, USA), 1/100 oranında dilüe edilen anti-VEGF (MA5-12184, İnvitrogen, USA) primer antikörleri damlatıldı. Primer antikör damlatılan tüm kesitler +4°C'de, nemli ortamda bir gece bekletildi. Negatif kontrol için alınan kesitlere primer antikörler yerine, dilüsyon solüsyonu damlatıldı. Primer antikörle muamele edilip 1 gece +4 °C'de ve ardından 1 saat oda bekletilen kesitler, daha sonra distile su ve PBS'den geçirildi ve üzerlerine Biotin (ab93705, Abcam, USA) damlatılarak 15 dk süreyle oda ısısında tutuldu. 15 dk sonra distile su ve PBS'de yıkanan kesitlerin etrafı kurulanıp Avidin (ab93705, Abcam, USA) damlatılarak, 20 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Distile su ve PBS'den geçirilen kesitler üzerine, aminoetilkarbozol (AEC, ab93705, Abcam, USA) solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika bekletildi, çeşme suyu içerisinde yıkandı ve doku kesitleri, zıt boyama için hematoksilin ile 30 saniye boyandı. Boyama işleminden sonra kesitler, çeşme suyunda yıkanarak kurumaya bırakıldı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak dokular lamel ile kapatıldı, Olympus BX53 ışık mikroskobu (Japan) ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

### **3.7. İmmünohistokimyasal Skorlama Yöntemi**

$\alpha$ -SMA ve VEGF ekspresyonlarını araştırmak amacıyla immunohistokimyasal skorlama yöntemi uygulandı. İmmünohistokimyasal skorlama için 40'lık objektifte rastgele seçilen 10 alanda H Skorlama sistemi kullanıldı. H skoru, pozitif hücre yüzdesiyle birlikte 4 farklı boyama yoğunluğunun çarpımı toplanarak hesaplandı.

Bu sisteme göre;

Boyanma derecesi;

0 (Hiç boyanma yok)

1 (Zayıf derecede boyanma)

2 (Orta derecede boyanma)

3 (Güçlü derecede boyanma) şeklinde değerlendirildi.

H Skor değerini hesaplamak için 'I x PC' formülü kullanıldı.

I: Intensity (Yoğunluk)

PC: Percentage of positive cells (Her derecede boyanan hücre yüzdesi)

### **3.8. İstatistiksel Yöntem**

Çalışma verilerinin analizinde GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc. USA) programı kullanıldı. Değerlendirme sonuçlarının tanımlayıcı istatistikleri; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortanca, standart sapma, minimum, maksimum olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılımda olup olmadıklarının değerlendirilebilmesi için Shapiro-Wilk Testi kullanılmıştır. Normal dağılım koşulları sağlanmadığından bağımsız üç veya daha fazla grup arasında sayısal değişkenlerin karşılaştırmalarında 'Mann Whitney U' testi kullanılmıştır.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmamızda literatürdeki çalışmalara dayanarak hipertrofik skarlardaki klinik bulgular gözlemlenmiş, ışık mikroskopisi ile skar elevasyon indeksi ve kollajen yoğunluğu değerlendirilmiş, elektron mikroskopik inceleme yapılmış, VEGF ve  $\alpha$ -SMA düzeyleri için immünohistokimyasal değerlendirme yapılmıştır.

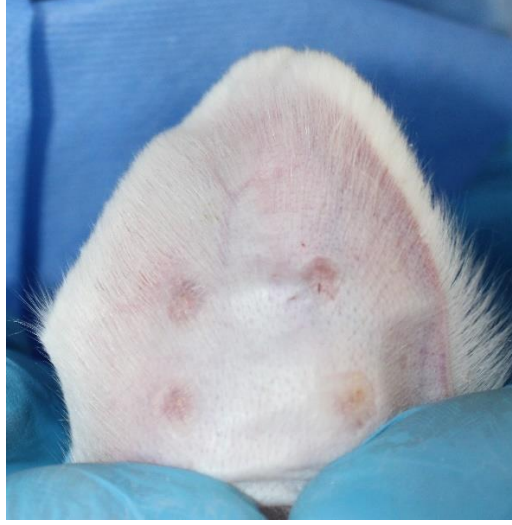
### 4.1. Klinik Bulgular

Klinik gözlemde kontrol grubundaki tavşanların kulaklarındaki skarların diğer gruplara göre palpasyonla daha sert, kabarıklık olduğu ve hiperemik olduğu gözlemlendi. (Şekil 15)



Şekil 15. Kontrol grubu 44. gün

Triamsinolon asetonid grubundaki tavşanların kulaklarındaki skarların kontrol grubuna göre daha düz, daha yumuşak olduğu ve renginin daha soluk olduğu gözlemlendi. (Şekil 16)



**Şekil 16. Triamsinolon asetonid grubu 44. Gün**

Regorafenib grubundaki tavşanların kulaklarındaki skarlar sham grubuna yakın görünümdeydi. Kontrol grubuna göre daha düz, oldukça yumuşak ve rengi soluk gözlemlendi. (Şekil 17)



**Şekil 17. Regorafenib grubu 44. gün**

## **4.2. Histopatolojik Bulgular**

### **4.2.1. Skar Elevasyon İndeksi (SEİ)**

Her bir skar dokusu için H&E ile boyanan kesitlerde skar elevasyon indeksi ve MT ile boyanan kesitlerde fibrozis için semikantitatif değerlendirmeler yapılmıştır.

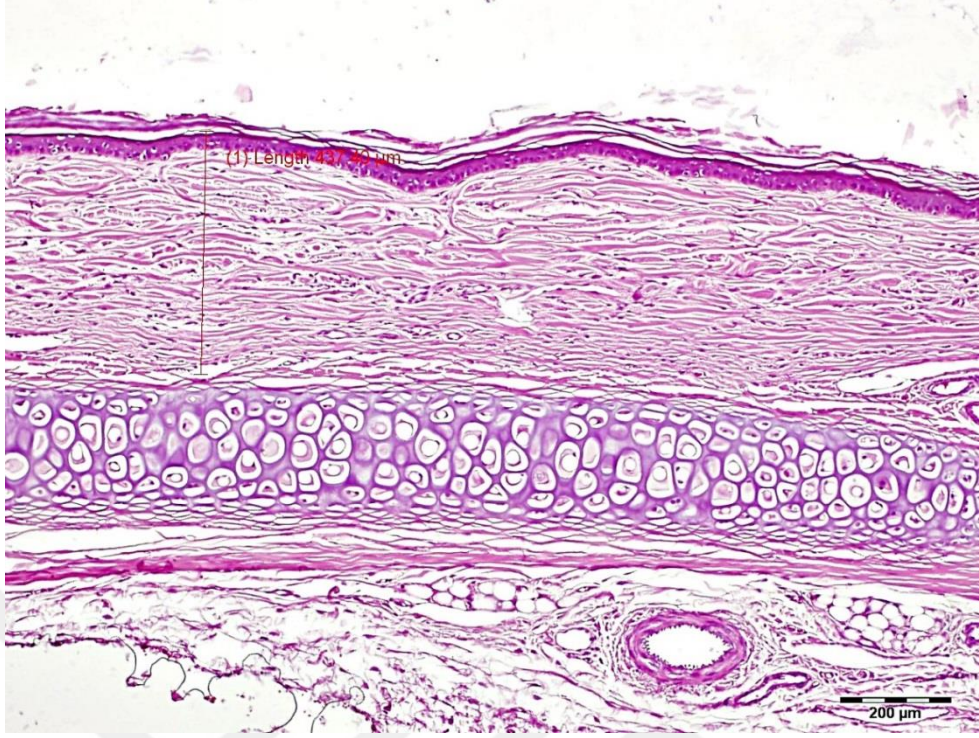
SEİ bulguları karşılaştırıldığında; kontrol grubundaki indeks 1,80 ile 2,18 arasında, ortalama  $2,048 \pm 0,17$ , Triamsinolon Asetonid grubundaki indeks 1,02 ile 1,37 arasında, ortalama  $1,16 \pm 0,33$ , Regorafenib grubundaki indeks ise 1,11 ile 1,5 arasında, ortalama  $1,28 \pm 0,15$  olarak bulunmuştur (Tablo 3). Bu değerler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, Triamsinolon Asetonid ve Regorafenib grubu SEİ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ). Bununla birlikte, Triamsinolon Asetonid grubunun SEİ değerinin, Regorafenib grubundan daha düşük olmasına rağmen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p = 0.83$ ).

**Tablo 3. Skar elevasyon indekslerinin gruplara göre karşılaştırılması**

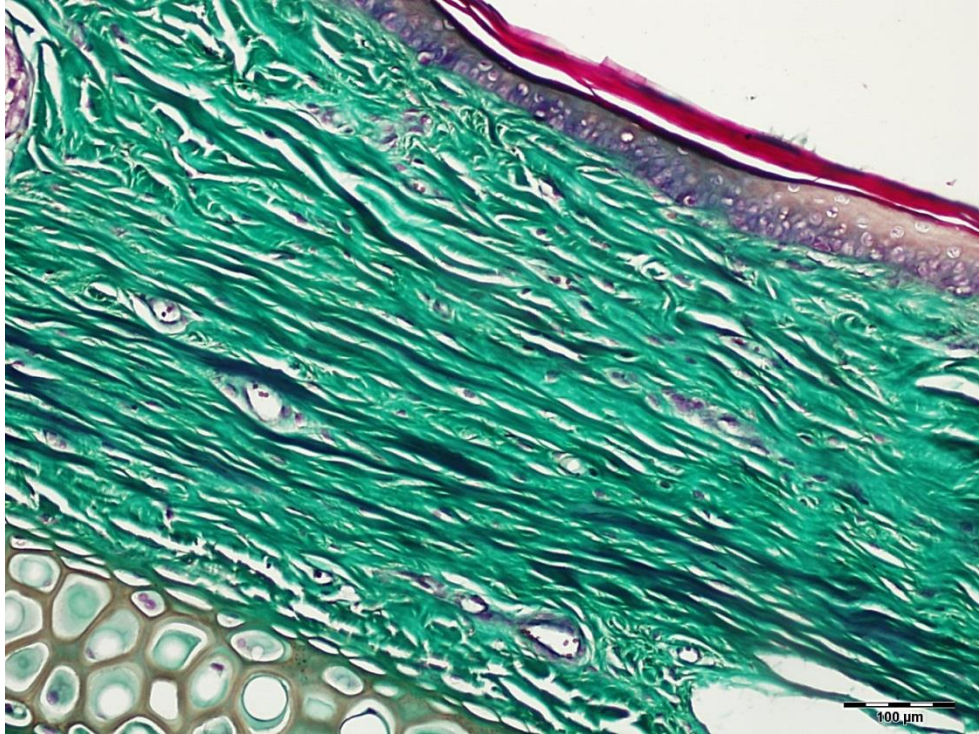
SEİ	Min.	Maks.	Median	Ort±Sd
Kontrol	1.80	2.18	2.08	2,048±0,17
Regorafenib	1.11	1.5	1.2	1,28±0,15
Triamsinolon Asetonid	1.02	1.37	1.12	1,16±0,33

#### **4.2.1.1. Sham Grubu**

Herhangi bir işlem yapılmayan ve tamamen sağlam bırakılan sham grubuna ait deri örneklerinin ışık mikroskopik incelemesinde, epidermin keratinize çok katlı yassı epitel yapısında olduğu ve stratum bazale, stratum spinozum, stratum granulozum ve stratum korneum olmak üzere dört tabakadan oluştuğu görüldü. Epidermin daha alt kısmında yer alan dermisin düzensiz sıkı bağ dokusu yapısında olduğu izlendi. Dermis içerisinde farklı yönlere uzanan kollajen ve elastik lifler, bol miktarda kıl follikülü, yağ bezleri, kapillerler ve düz kas lifleri normal morfolojik görüntüde izlendi (Şekil 18 ve 19).



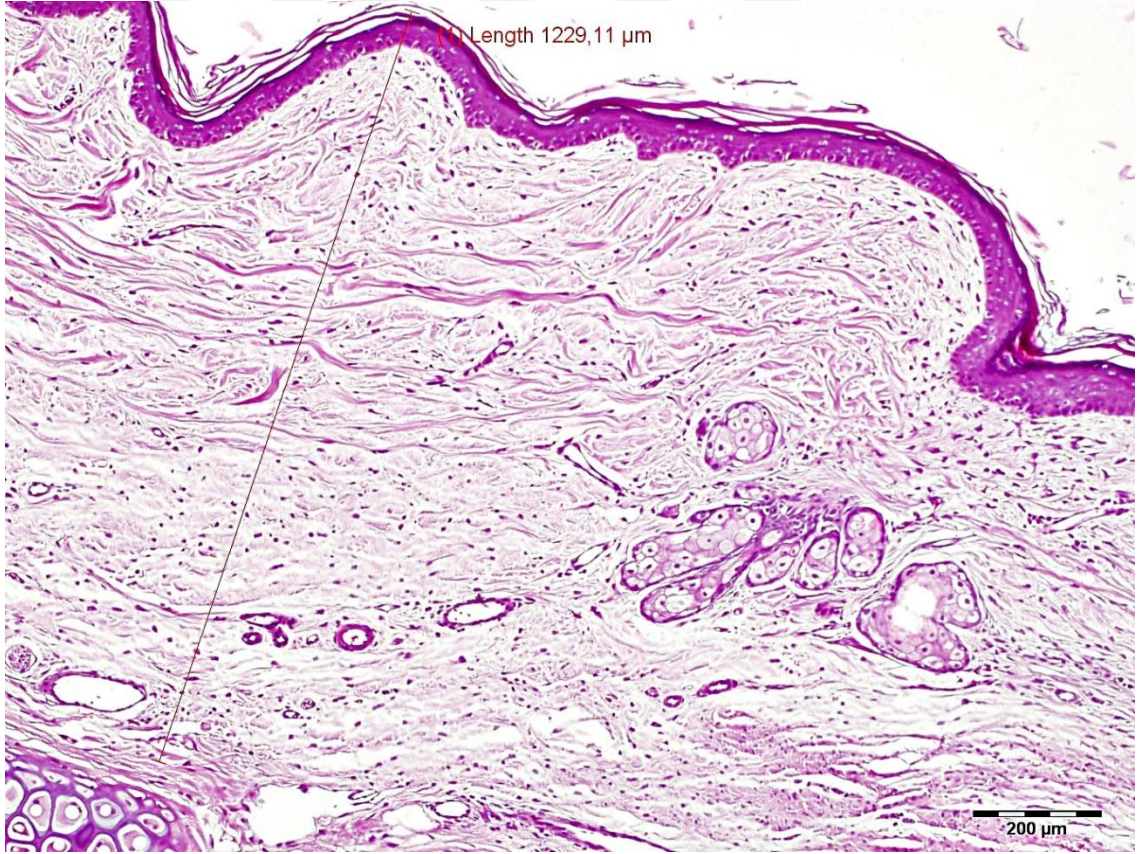
Şekil 18. Sham grubu ışık mikroskopik görünümü (H&E).  
Epidermis ve dermis tabakalarının normal yapıda olduğu görülmektedir. Bar=200 µm.



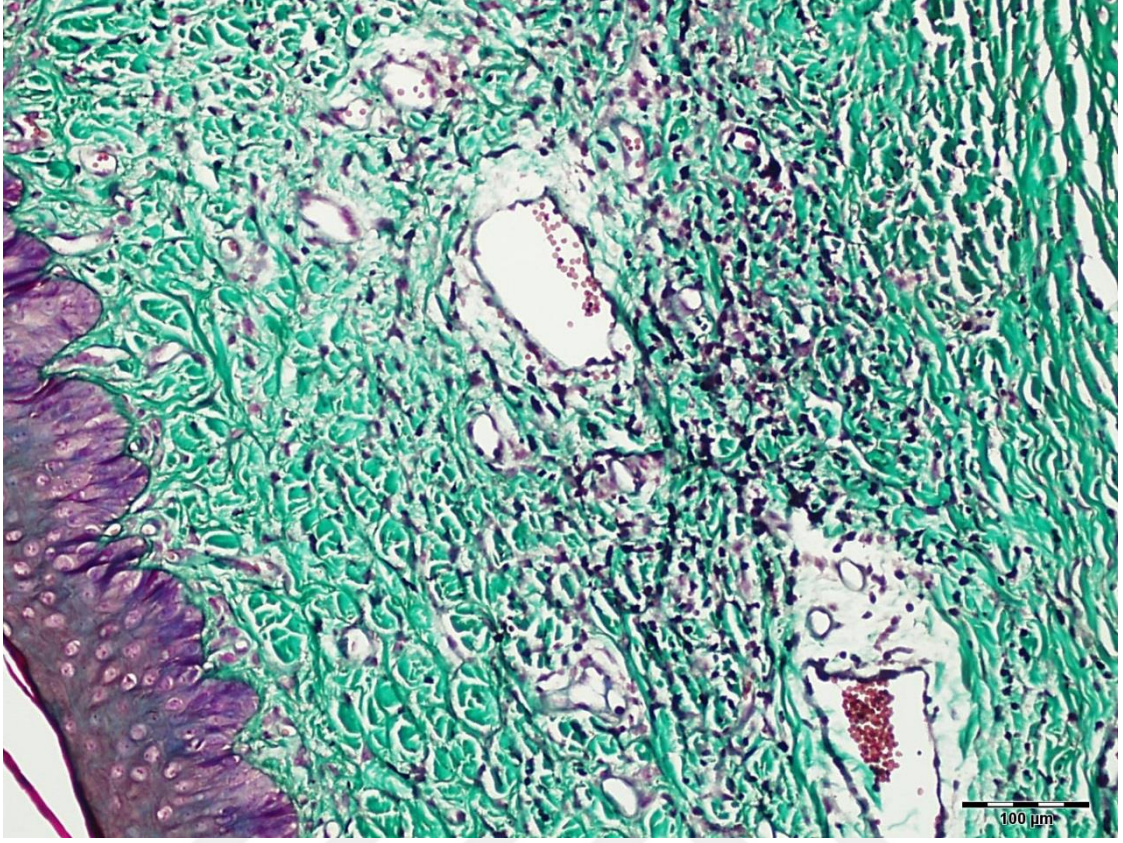
Şekil 19. Sham grubu ışık mikroskopik görünümü (MT)  
Dermis tabakasında bulunan kollajen lif dağılımı ve yapısının normal yapıda olduğu görülmektedir. Bar=100 µm.

#### 4.2.1.2. Kontrol Grubu

Hipertrofik skar oluşturulup, herhangi bir tedavi yöntemi uygulanmayan kontrol grubuna ait deri örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, epitelizasyonun tamamlandığı, ancak epidermis total kalınlığında azalma olduğu izlendi. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında, bu grupta skar elevasyon indeksinin oldukça yüksek olduğu belirlendi. Dermiste diğer gruplara göre oldukça fazla sayıda fibroblast, lenfosit infiltrasyonu, artmış vaskülarizasyon ve damarlarda dilatasyon izlendi (Şekil 20). MT boyalı örneklerde düzensiz, çok sayıda kalın ve kısa kollajen lifler görüldü (Şekil 21). Kontrol grubunda % 33,33'ünde orta şiddetli, % 66,67'inde belirgin şiddetli kollajenizasyon gözlenirken, hafif şiddetli kollajenizasyon gözlenmemiştir (Tablo 4).



**Şekil 20. Kontrol grubu ışık mikroskopik görünümü (H&E). Dermiste bulunan lif dağılımında düzensizlikler olduğu, vaskülarizasyonun arttığı ve enflamatuvar hücre sayısının arttığı görülmektedir. Bar=200 µm**

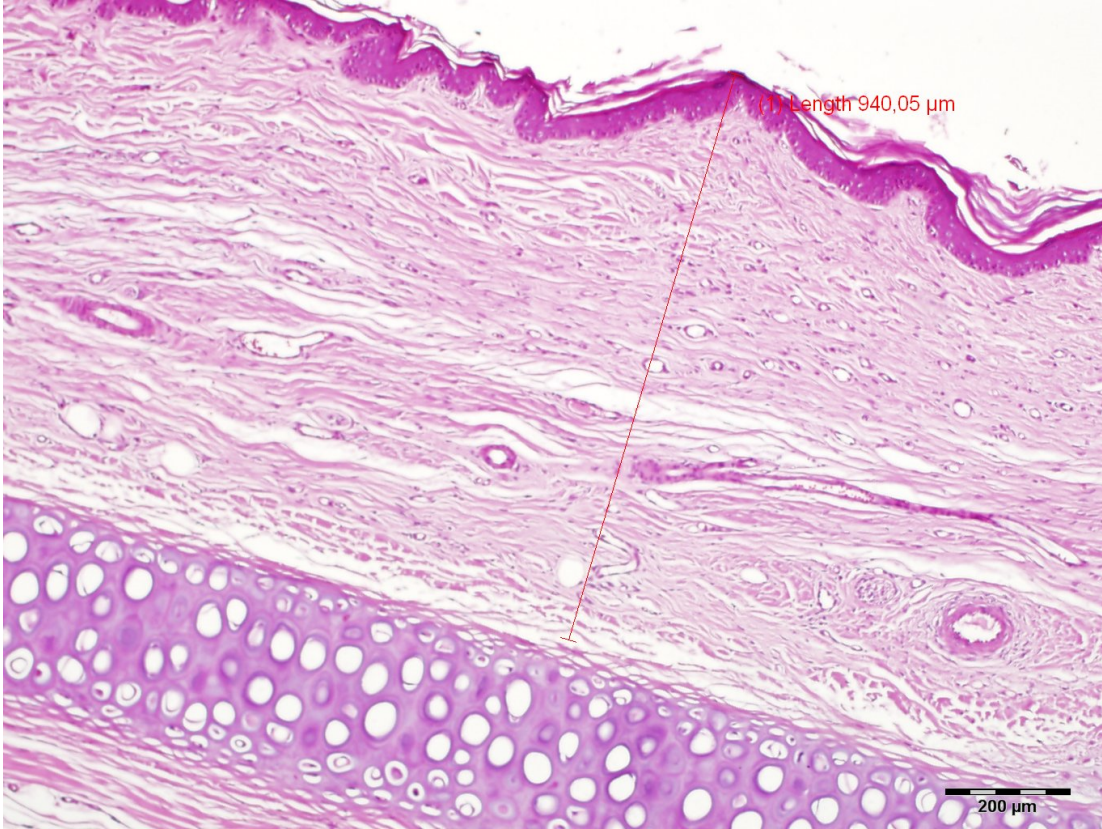


**Şekil 21. Kontrol grubu ışık mikroskopik görünümü (MT)**  
Dermiste bulunan kollajen liflerin kalınlaştığı, lif dağılımında düzensizlikler olduğu, yoğun şiddette kollajenizasyon ve lenfosit infiltrasyonunun varlığı görülmektedir. Bar=100 µm.

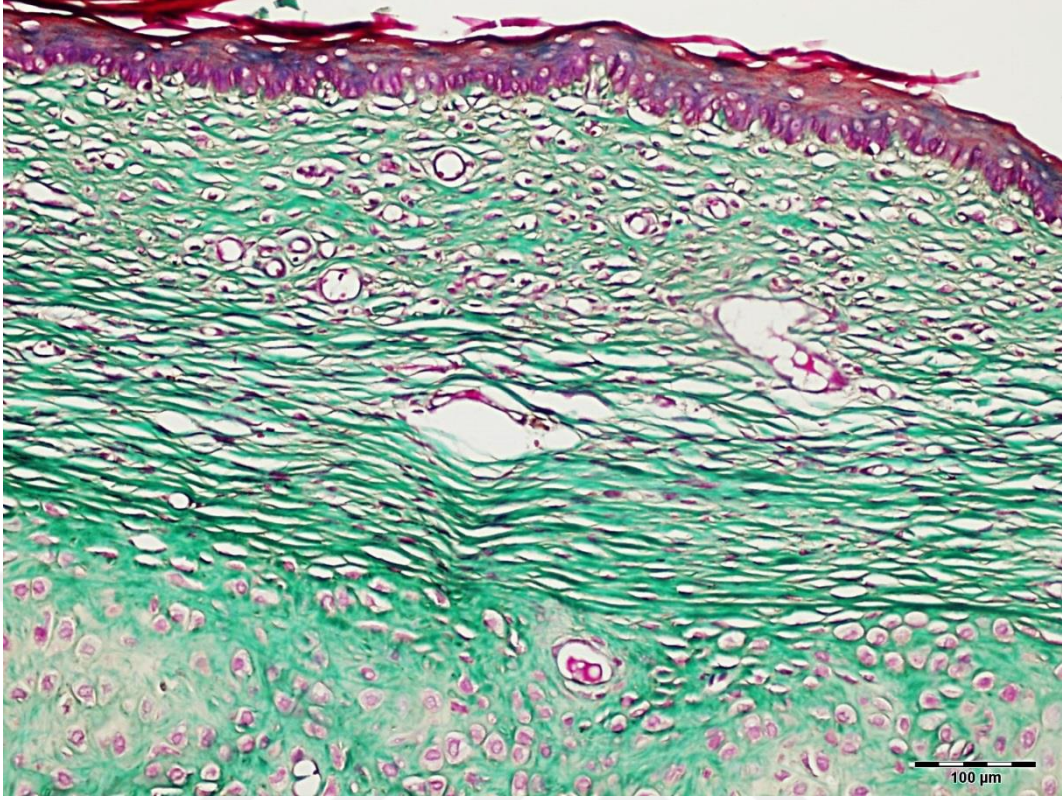
#### **4.2.1.3. Triamsinolon Asetonid Grubu**

Hipertrofik skar oluşturulduktan sonra intralezyonel Triamsinolon Asetonid uygulanan tavşanların kulaklarından alınan deri örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, epidermis ve dermisi oluşturan yapılarda kısmi dejeneratif değişiklikler görüldü. Bu gruba ait örneklerin tümünde tüm gruplarda olduğu gibi epitelizasyon tamamlanmıştı. Skar elevasyon indeksinin kontrol grubu ve Regorafenib uygulanan gruptan düşük olduğu tespit edildi (Tablo 3). Epidermis ve dermiste bazı bölgelerde nekroz, ödem, lenfosit infiltrasyonu ve fibroblast proliferasyonunun varlığı izlendi (Şekil 22). Vaskülarizasyonun kontrol grubuna göre azaldığı görüldü. MT boyalı preparatlarda dermiste bulunan kollajen lif miktarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı görüldü (Şekil 23). Bu grupta % 22,22 hafif şiddetli, % 33,33 orta şiddetli ve % 44,5 belirgin şiddetli kollajenizasyon bulunduğu gözlemlendi.

(Tablo 4). Gruplar arasında hafif-orta şiddetli ve belirgin şiddetli kollajenizasyon karşılaştırıldığında, Regorafenib ve Triamsinolon asetonid gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde hafif-orta şiddetli kollajenizasyonun varlığı gözlenmiştir ( $p<0.05$ ).



**Şekil 22. Triamsinolon Asetonid uygulanan grubun ışık mikroskopik görünümü (H&E). Epidermis ve dermis tabakalarının kontrol grubuna benzer özelliklerde olduğu görülmektedir. Bar=200 µm.**



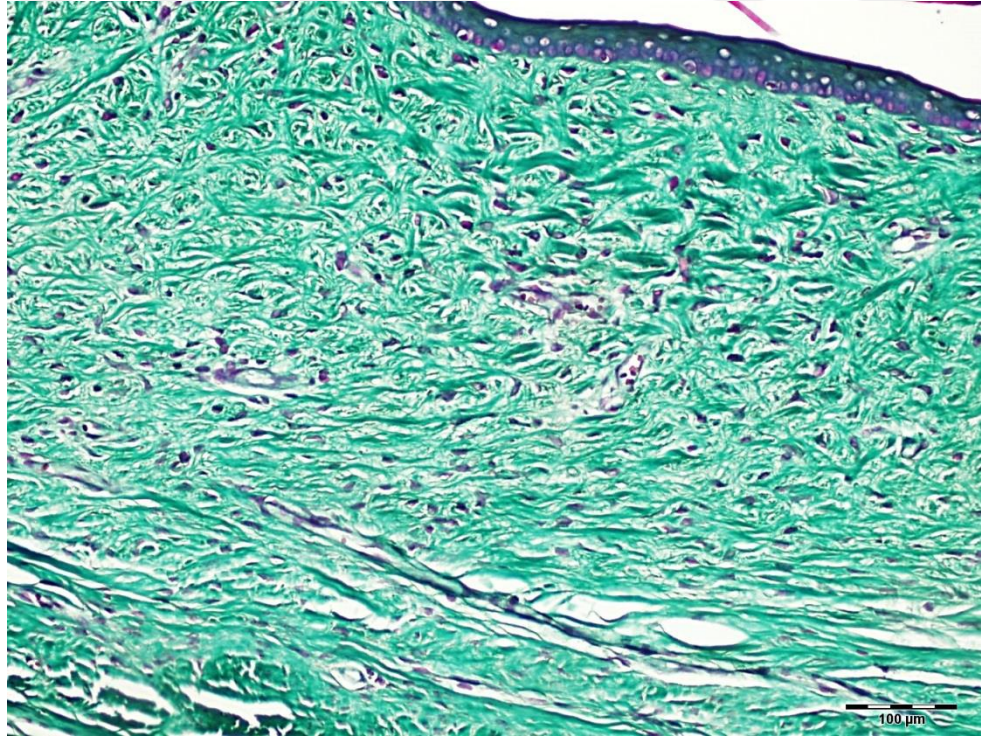
Şekil 23. Triamsinolon Asetonid uygulanan grubun ışık mikroskopik görünümü (MT). Dermiste orta şiddette kollajenizasyon olduğu görülmektedir. Bar=100 µm.

#### 4.2.1.4. Regorafenib Grubu

Hipertrofik skar oluşturulduktan sonra Regorafenib verilen tavşanların kulaklarından alınan deri örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, epidermis ve dermisen nispeten normal yapıda olduğu görüldü. Ancak epidermis total kalınlığındaki azalma devam etmekteydi. Bu gruba ait örneklerin tümünde tüm gruplarda olduğu gibi epitelizasyon tamamlanmıştı. Bu grup skar elevasyon indeksinin kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi. Dermiste orta yoğunlukta fibroblast bulunduğu ve diğer gruplara göre daha az vaskülarizasyon olduğu izlendi (Şekil 24). MT boyalı preparatlarda kollajen liflerin ince ve uzun fibriler şeklinde düzenlendiği, kontrol ve Triamsinolon Asetonid gruplarına göre daha az sayıda ince kollajen fibriller içerdiği tespit edildi. Bu grupta, % 16,67 hafif şiddetli, % 44,44 orta şiddetli ve % 38,88 belirgin şiddetli kollajenizasyon gözlenmiştir (Tablo 4). Dermiste çok sınırlı bölgelerde ödem, kollajen lif miktarının artışı, lenfosit infiltrasyonu ve fibroblast proliferasyonu bulunduğu belirlendi (Şekil 25).



Şekil 24. Regorafenib uygulanan grubun ışık mikroskopik görünümü (H&E). Epidermis ve dermis tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu görülmektedir. Epidermisin normal kalınlıkta olduğu izlenmektedir. Bar=200 µm.



Şekil 25. Regorafenib uygulanan grubun ışık mikroskopik görünümü. Dermis tabakasının normal histolojik yapıda olduğu ve hafif şiddette kollajenizasyon bulunduğu görülmektedir. Bar=100 µm.

**Tablo 4. Kollajen yoğunluğunun gruplara göre karşılaştırılması**

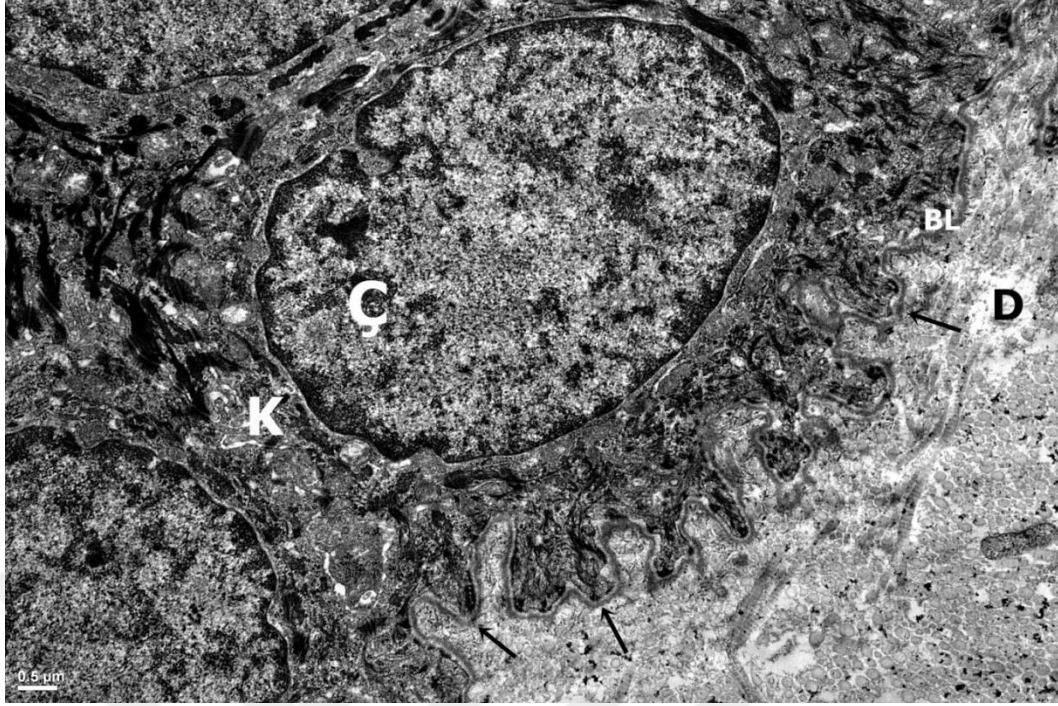
Kollajen yoğunluğu skoru		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Şiddetli)	Toplam
Kontrol	Sayı	0	0	6	12	18
	Yüzde	0	0	33,33	66,67	100
Regorafenib	Sayı	0	3	8	7	18
	Yüzde	0	16,67	44,44	38,88	100
Triamsinolon Asetonid	Sayı	0	4	6	8	18
	Yüzde	0	22,22	33,33	44,5	100

## 4.2.2. Elektron Mikroskopik Bulgular

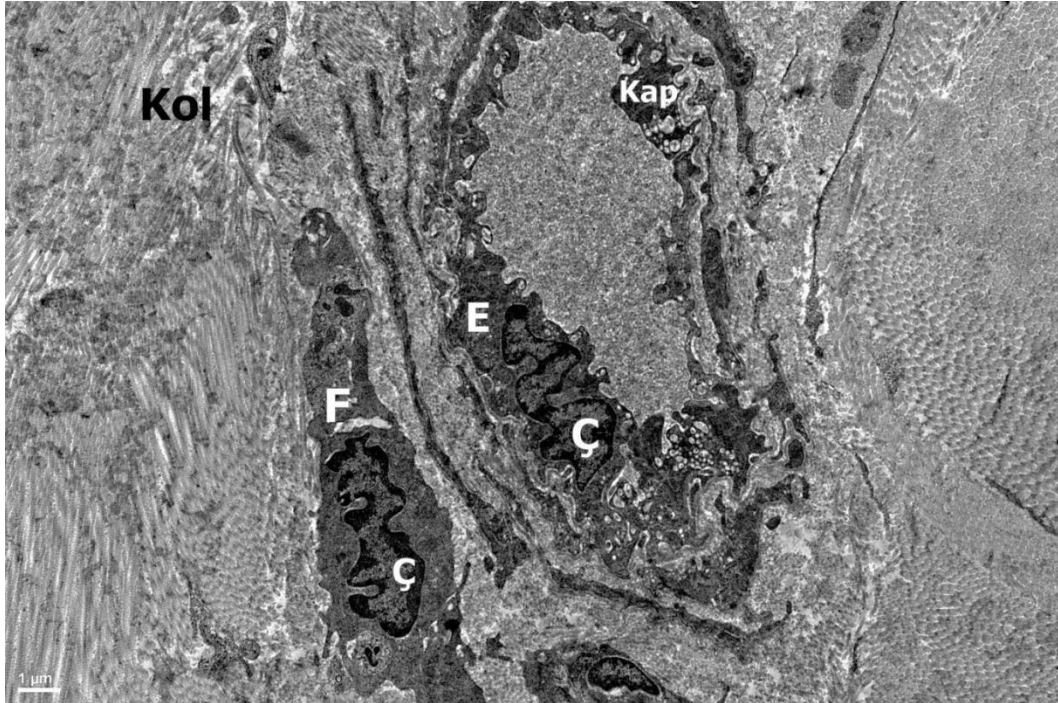
### 4.2.2.1. Sham Grubu

Sham grubuna ait deneklerden alınan deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, epidermis ve dermisin tüm tabakalarının normal yapıda olduğu görüldü. Epidermis, stratum bazale, stratum spinosum, stratum granulozum ve stratum korneum olmak üzere dört tabakadan oluşmaktaydı. Epitel hücrelerinin büyük çoğunluğunu oluşturan keratinositlerin birbirlerine desmozom tipi bağlantılarla bağlı oldukları, merkezi yerleşimli, yuvarlak veya yassı, hafif indentasyonlar gösteren bir çekirdeğe sahip oldukları görüldü. Keratinositlerin normal dağılıma sahip kromatin içeren çekirdekleri içerisinde 1-2 çekirdekçik bulunmaktaydı. Keratinositlerin sitoplazmaları içerisinde bol miktarda tonofilaman bulunduğu izlendi. Stratum bazale tabakasındaki keratinositler ile bazal lamina arasında fokal adhezyon bölgeleri ve hemidesmozomlar bulunduğu izlendi. Stratum granulozumdaki keratinositlerin çekirdeklerinin yassılaştığı ve sitoplazmalarında çok sayıda keratohyalin granülleri içerdiği görüldü. Epidermisin en yüzeyel tabakası olan stratum korneum tabakasının organel içermeyen ölü hücrelerden oluştuğu görüldü (Şekil 26).

Düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki dermis içerisinde fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar, kollajen lifler, elastik lifler ve kan damarları izlendi. Kapillerler normal yapıda olup, lümeni döşeyen tek katlı yassı şekilli endotel hücreleri ve endotel hücreleri ile aynı bazal laminaya sahip perisitlerden oluşmaktaydı (Şekil 27).



**Şekil 26. Sham grubu elektron mikroskopik görünümü.**  
Epidermisi oluşturan hücrelerin normal yapıda olduğu izlenmektedir. Keratinositler (K), çekirdek (Ç), hemidesmozomlar (oklar), bazal lamina (BL) ve dermis (D) görülmektedir. Bar= 0.5 µm.

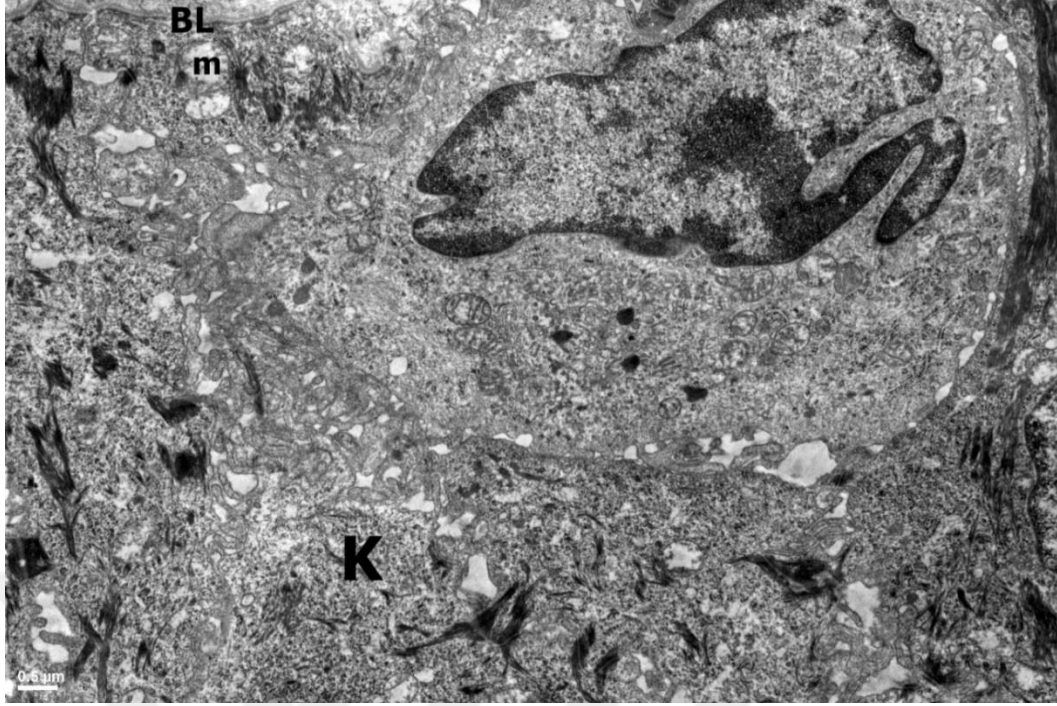


**Şekil 27. Sham grubu elektron mikroskopik görünümü**  
Dermiste kollajen (Kol) liflerin aralarında yer alan fibroblastların (F) normal yapıda çekirdek (Ç) ve sitoplazmaya sahip olduğu görülmektedir. Dermiste kapillerleri (Kap) döşeyen endotel hücrelerinin (E) çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organellerinin normal yapıda oldukları izlenmektedir. Bar= 1 µm.

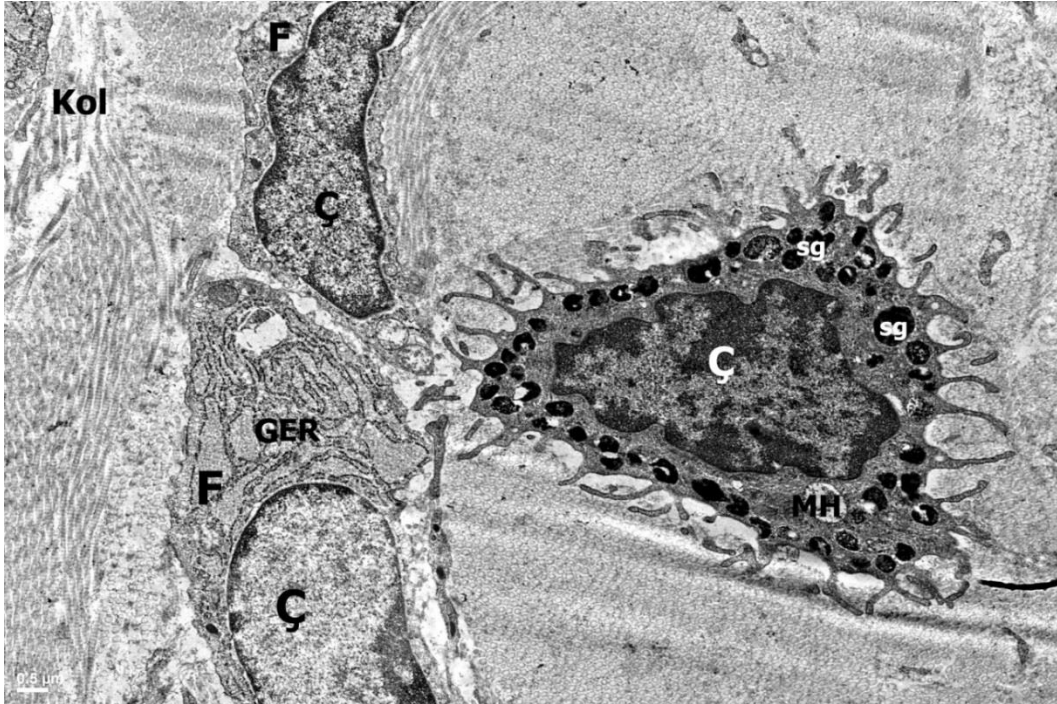
#### 4.2.2.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubuna ait deneklerden alınan deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, epidermiste bazı alanlarda keratinositlerin aralarındaki desmozom tipi bağlantıların bütünlüğünün bozulduğu ve intersellüler aralıklarda genişlemelerin meydana geldiği izlendi. Keratinositlerin sitoplazmalarında bulunan mitokondriyonların şiştiği ve krista yapılarının bozulduğu görüldü. Bazal lamina normal yapıda izlendi (Şekil 28).

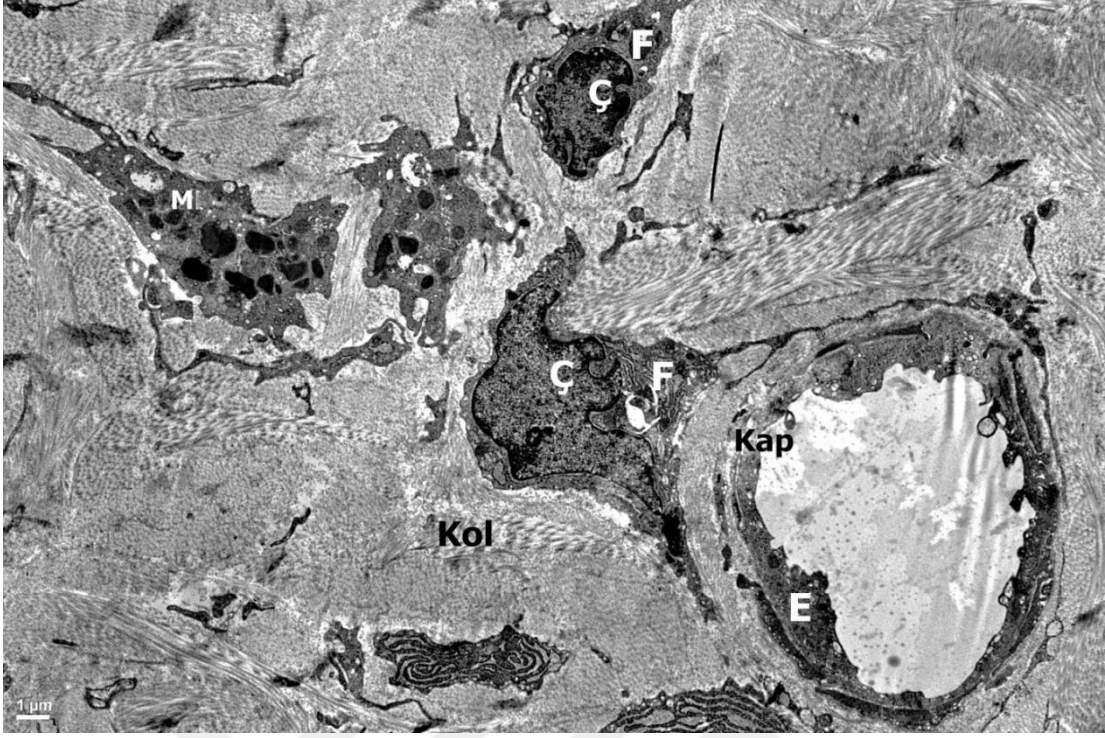
Dermiste çok miktarda kollajen lif bulunduğu ve fibroblastların arttığı dikkati çekti. Fibroblastlarda perinükleer sisternaların genişlediği, sitoplazmaları içerisinde çok miktarda, sisternaları genişlemiş granüler endoplazmik retikülüm sisternalarının bulunduğu dikkati çekti (Şekil 29). Kan damarlarının duvarında yer alan endotel hücrelerinin çekirdeklerinde heterokromatin artışı, sitoplazmalarında vakuollerin varlığı görüldü. Bazı alanlarda endotel hücreleri arasındaki bağlantı komplekslerinin bütünlüğünü kaybettiği tespit edildi. Dermis içerisinde, özellikle kapillerlere yakın alanlarda çok sayıda makrofajın ve mast hücrelerinin bulunduğu dikkati çekti. Mast hücrelerine ait granüllerde yer yer degranülasyon nedeniyle oluşan vakuoller izlendi. (Şekil 30).



**Şekil 28. Kontrol grubu elektron mikroskopik görünümü.**  
Epidermiste yer alan keratinositler (K) ve bazal lamina (BL) görülmektedir. Keratinositlerin sitoplazmalarında bulunan mitokondriyonların (m) şiştiği görülmektedir. Bar= 0,5 µm.



**Şekil 29. Kontrol grubu elektron mikroskopik görünümü.**  
Dermis içerisinde yer alan fibroblastlarda perinükleer sisternaların genişlediği, sitoplazmaları içerisinde çok miktarda, sisternaları genişlemiş granüler endoplazmik retikülüm sisternalarının (GER) bulunduğu izlenmektedir. Mast hücresinin (MH) sitoplazması içerisinde, periferal olarak yerleşmiş elektron dens salgı granüllerinin (sg) varlığı dikkati çekmektedir. Hücreler arasında, farklı yönlere doğru uzanan, enine ve boyuna kollajen lif (Kol) kesitleri görülmektedir. Çekirdek (Ç) gösterilmektedir. Bar= 0,5 µm.

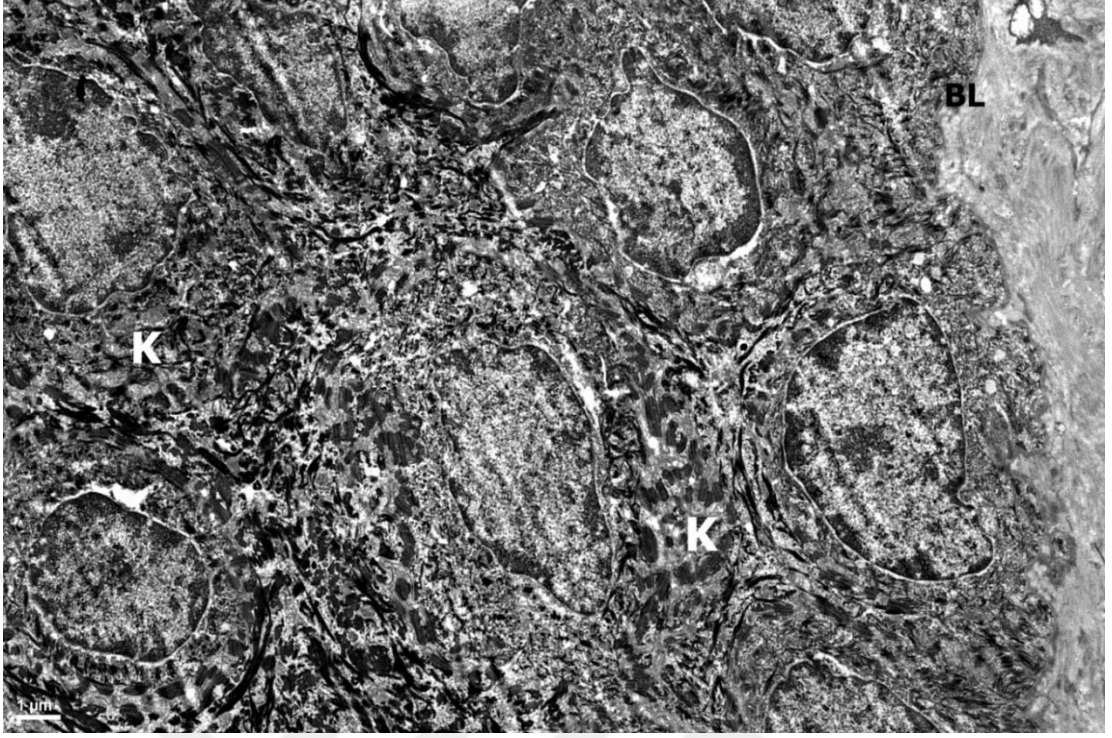


**Şekil 30. Kontrol grubu elektron mikroskopik görünümü**  
Dermiste yer alan kapillerlerin (Kap) duvarını oluşturan endotel hücrelerinin (E) sitoplazmalarında vakuollerin varlığı izlenmektedir. Kapillere yakın alanlarda yer alan Fibroblast (F) ve Makrofajlar (M) gösterilmiştir. Hücre çekirdekleri (Ç) ve kollajen lifler (Kol) görülmektedir. Bar= 1 µm.

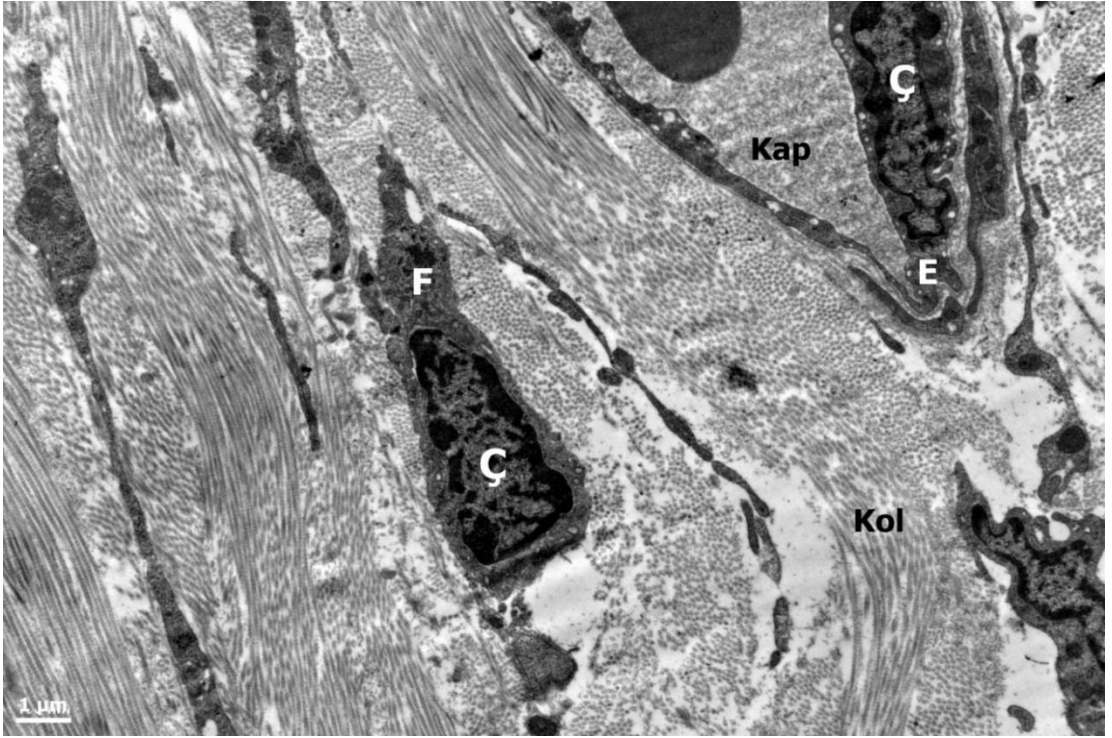
#### 4.2.2.3. Triamsinolon Asetonid Grubu

Triamsinolon Asetonid uygulanan gruba ait deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde kısmi dejeneratif değişiklikler olmakla birlikte, epidermis ve dermis tabakalarının genellikle sham grubuna benzer özelliklerde olduğu gözlemlendi. Keratinize çok katlı yassı epitel özelliğinde olan epidermiste keratinositlerin birbirlerine desmozom tipi bağlantılarla bağlı oldukları, merkezi yerleşimli, yuvarlak hafif indentasyonlar gösteren bir çekirdeğe sahip oldukları görüldü. Keratinositlerin sitoplazmaları içerisinde bol miktarda tonofilaman bulunduğu izlendi. Epiderminin en alt tabakasında bulunan keratinositler ile bazal lamina arasında fokal adhezyon bölgeleri ve hemidesmozomlar bulunduğu izlendi (Şekil 31).

Düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki dermis içerisinde fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar, kollajen lifler ve kan damarları normal yapıda izlendi (Şekil 32).



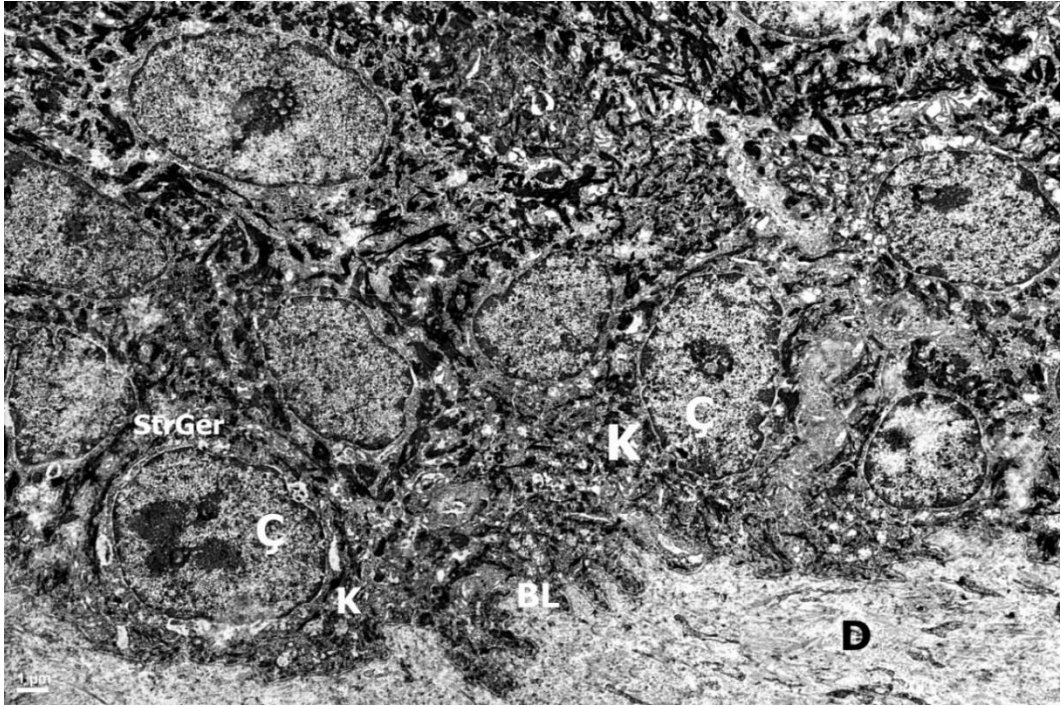
Şekil 31. Triamsinolon Asetonid uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü Epidermis içerisinde keratinositler (K) ve bazal lamina (BL) normal yapıda izlenmektedir. Bar= 1 µm.



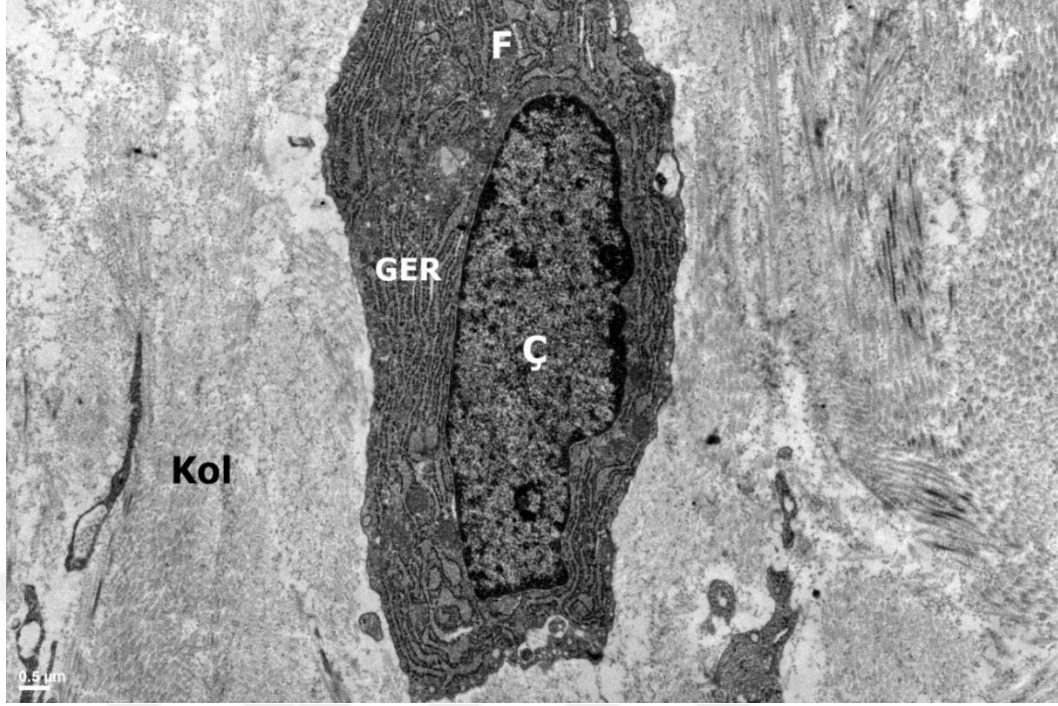
Şekil 32. Triamsinolon Asetonid uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü Dermis içerisinde fibroblastlar (F), kapillerler (Kap) ve kollajen lifler (Kol) normal yapıda görülmektedir. Çekirdek (Ç), endotel hücresi (E) gösterilmektedir. Bar= 1 µm.

#### 4.2.2.4. Regorafenib Grubu

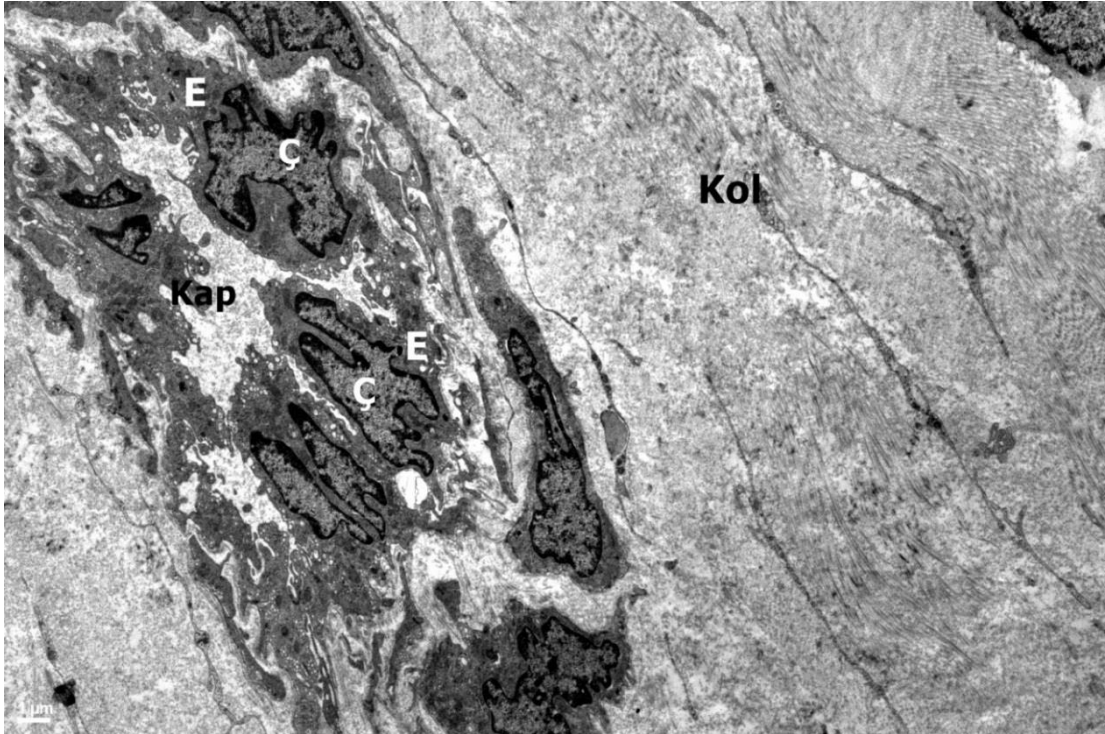
Regorafenib uygulanan gruba ait deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde bazı alanlarda kısmi dejeneratif değişiklikler gözlenmekle birlikte, epidermis ve dermisin sham grubuna benzer özelliklerde olduğu izlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında keratinosit çekirdeklerinin ve sitoplazmik organellerinin normal yapıda olduğu görüldü. Komşu keratinositler arasındaki desmozomal bağlantıların bütünlüğünü koruduğu, intersellüler genişlemelerin azaldığı izlendi (Şekil 33). Dermiste yer alan fibroblastların çekirdek ve sitoplazmalarının sham grubuna benzer özelliklerde ve normal yapıda oldukları tespit edildi (Şekil 34). Kapillerleri döşeyen endotel hücreleri normal yapıda izlendi (Şekil 35).



Şekil 33. Regorafenib uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü. Epiderminin Stratum Germinativum (StrGer) tabakasında bulunan keratinosit (K) çekirdeklerinde (Ç) kromatin dağılımı ile sitoplazmik organellerin normal olduğu görülmektedir. Hücreler arası bağlantılar ve bazal laminanın (BL) normal yapıda olduğu görülmektedir. Dermis (D) gösterilmiştir. Bar= 1 µm.



Şekil 34. Regorafenib uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü. Fibroblast (F) çekirdeği (Ç) ve sitoplazma içerisinde granüler endoplazmik retikülüm sisternaları (GER) normal yapıda izlenmektedir. Kollajen lifler (Kol) görülmektedir Bar= 0,5 µm.



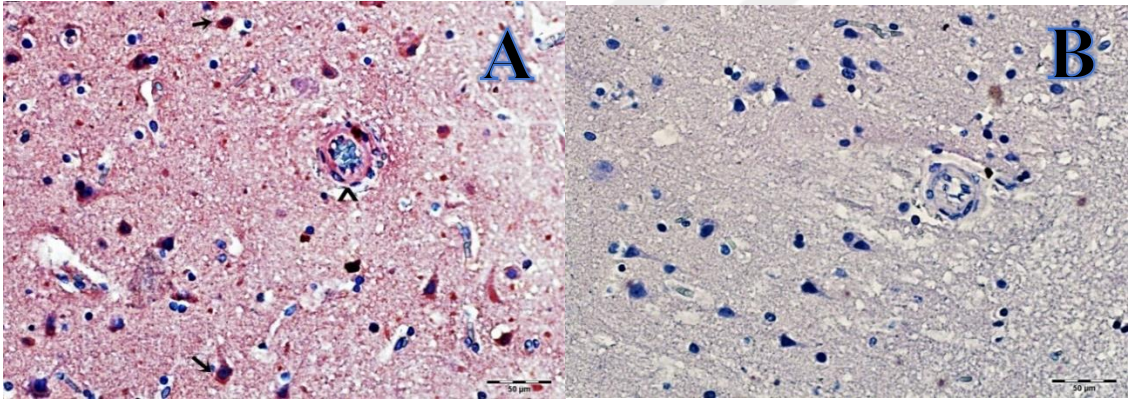
Şekil 35. Regorafenib uygulanan grubun elektron mikroskopik görünümü. Kapiller (Kap), endotel hücreleri (E) çekirdekleri (Ç) ve kollajen lifler (Kol) normal yapıda görülmektedir. Bar= 1 µm.

### 4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

VEGF ve  $\alpha$ -SMA immünreaktivitesinin gösterilmesi için öncelikle VEGF için beyin dokusu,  $\alpha$ -SMA için kalın bağırsak dokusu olmak üzere bu dokularda kontrol boyama yapıldı.

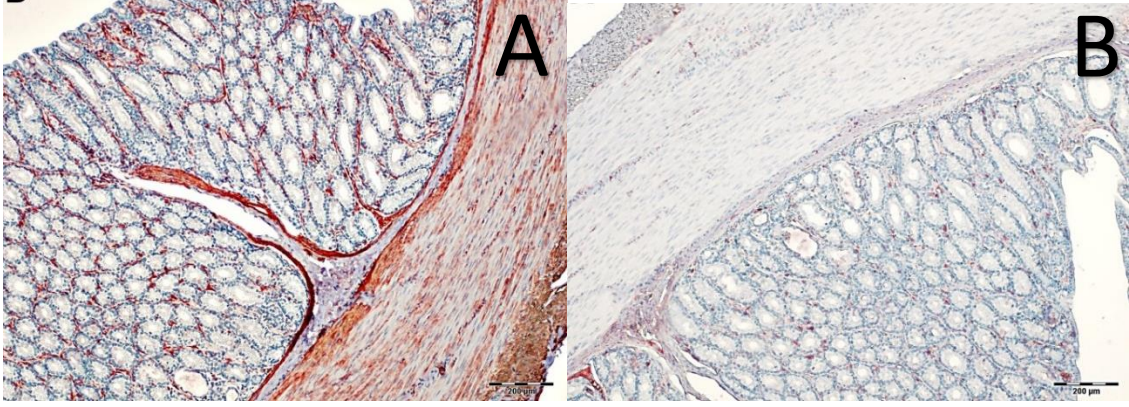
Beyinden elde edilen biyopsi örnekleri VEGF immünreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla pozitif kontrol olarak (Şekil 36A), primer antikor damlatılmayan doku kesitleri ise negatif kontrol amacıyla boyandı (Şekil 36B).

Kalın bağırsaktan elde edilen biyopsi örnekleri  $\alpha$ -SMA immünreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla pozitif kontrol olarak (Şekil 37A), primer antikor damlatılmayan doku kesitleri ise negatif kontrol amacıyla boyandı (Şekil 37B).



Şekil 36. VEGF immünreaktivitesi.

A) Pozitif Kontrol. Beyin korteksinde yer alan nöron (oklar) ve kapiller damarlarda (ok başı) VEGF immünreaktivitesi izlenmektedir (oklar). Bar=50  $\mu$ m. B) Negatif kontrol. VEGF için, primer antikor damlatılmamış beyin dokusuna ait kesitte herhangi bir işaretlemenin olmadığı görülmektedir. Bar= 50  $\mu$ m

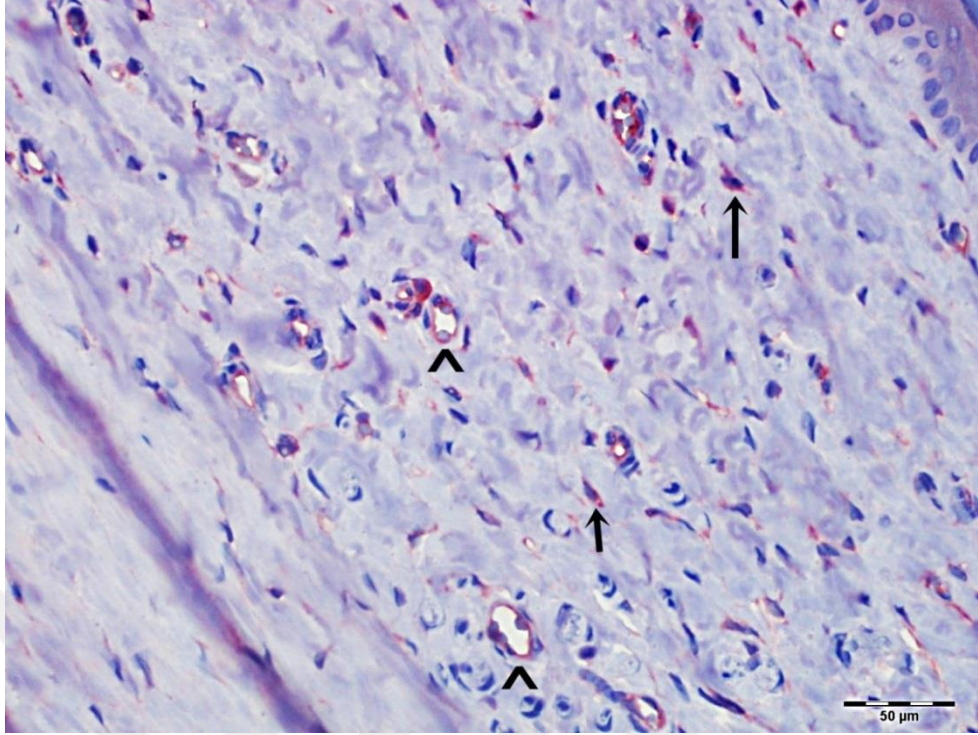


**Şekil 37.  $\alpha$ -SMA immünoaktivitesi.**

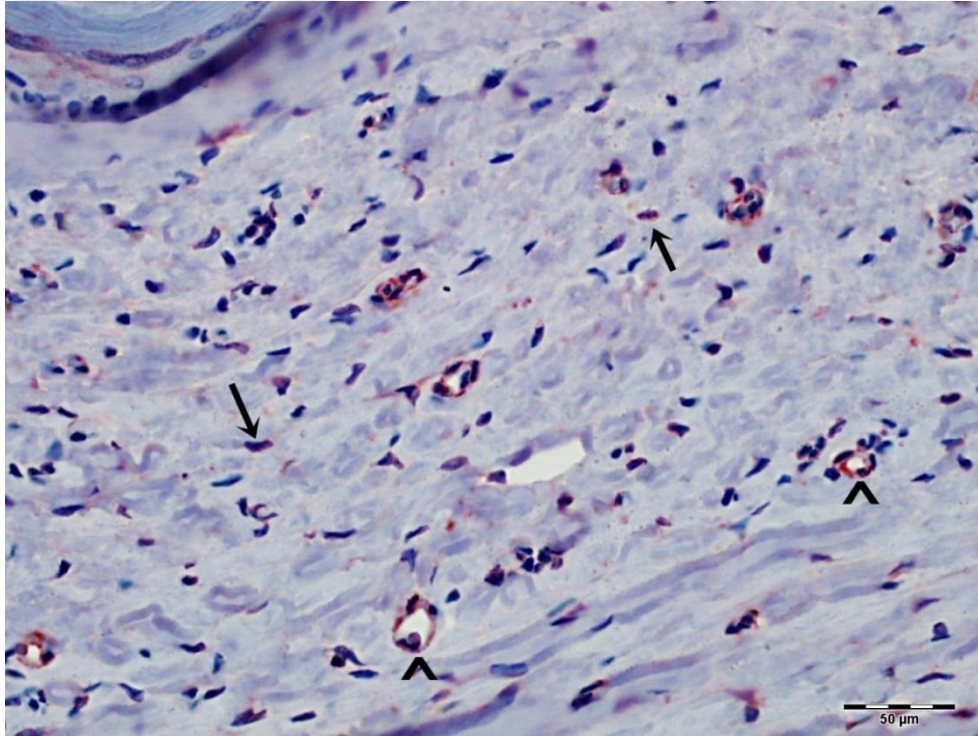
**A) Pozitif Kontrol. Beyin korteksinde yer alan nöron ve kapiller damarlarda  $\alpha$ -SMA immünoaktivitesi izlenmektedir (oklar). Bar=200  $\mu$ m. B) Negatif kontrol.  $\alpha$ -SMA için, primer antikor damlatılmamış beyin dokusuna ait kesitte herhangi bir işaretlemenin olmadığı görülmektedir (oklar). Bar= 200  $\mu$ m.**

#### **4.3.1. Sham Grubu**

Herhangi bir işlem uygulanmayan, tamamen sağlam deneklerden elde edilen deri doku örneklerinde,  $\alpha$ -SMA ve VEGF ekspresyonunu araştırmak amacıyla immünohistokimyasal yöntemler uygulandı. Deri kesitlerinde dermiste kollajen lifleri arasında bulunan bağ dokusuna ait hücrelerde minimum seviyede VEGF ekspresyonu tespit edildi. Küçük çaplı kapiller damar endotel hücrelerinde ve daha büyük çaplı damar endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonunun az düzeyde olduğu izlendi (Şekil 38).  $\alpha$ -SMA ekspresyonun ise dermiste kollajen lifleri arasında bulunan miyofibroblastlarda ve kas liflerinde minimal düzeyde eksprese olduğu tespit edildi (Şekil 39).



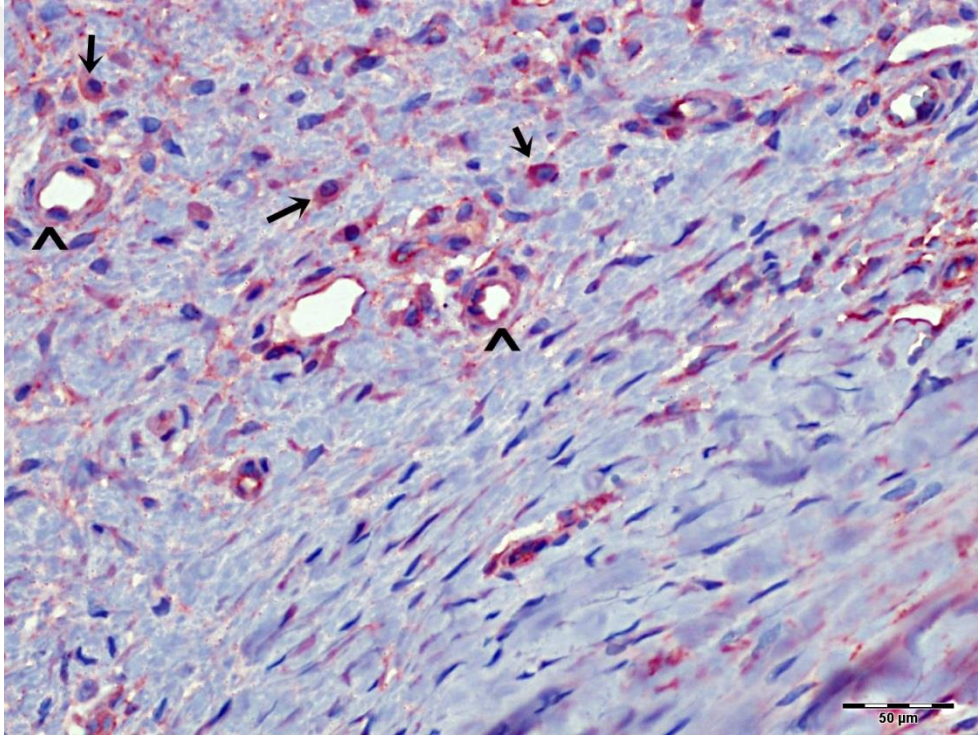
**Şekil 38. Sham grubunda VEGF immünoreaktivitesi.**  
Deri dokusunda VEGF immünoreaktivitesinin, dermis hücrelerinde (oklar) ve damar endotel hücrelerinde (ok başı) zayıf ekspresyonu görülmektedir. Bar= 50 μm.



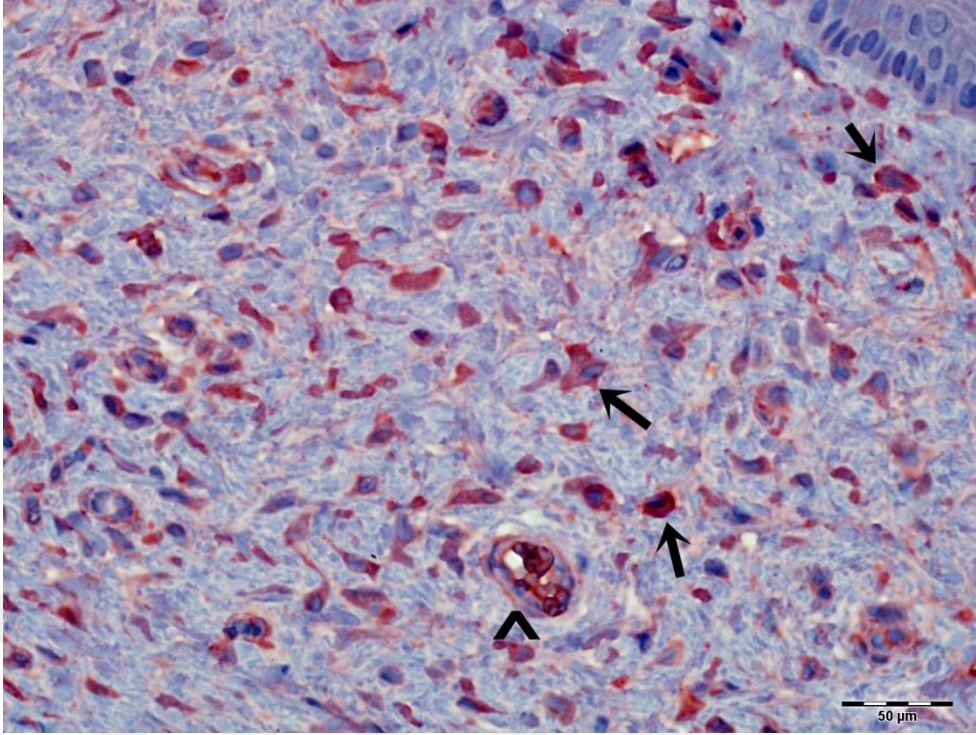
**Şekil 39. Sham grubunda α-SMA immünoreaktivitesi.**  
Deri dokusunda α-SMA immünoreaktivitesinin, dermiste bulunan miyofibroblastlarda (oklar) ve damar duvarında (ok başı) az düzeyde ekspresyonu görülmektedir. Bar= 50 μm.

#### 4.3.2. Kontrol Grubu

Hipertrofik skar oluşturulup herhangi bir tedavi yöntemi uygulanmayan kontrol grubundaki deneklerden alınan deri dokusuna ait örneklerde,  $\alpha$ -SMA ve VEGF ekspresyonu immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Kollajen lifleri arasında yer alan hücrelerde ve kapiller damar endotel hücrelerinde yoğun VEGF ekspresyonu görüldü (Şekil 40).  $\alpha$ -SMA ekspresyonunun ise dermiste bulunan kas lifleri ile miyofibroblast hücrelerinde ve damar duvarında oldukça yüksek olduğu tespit edildi (Şekil 41).



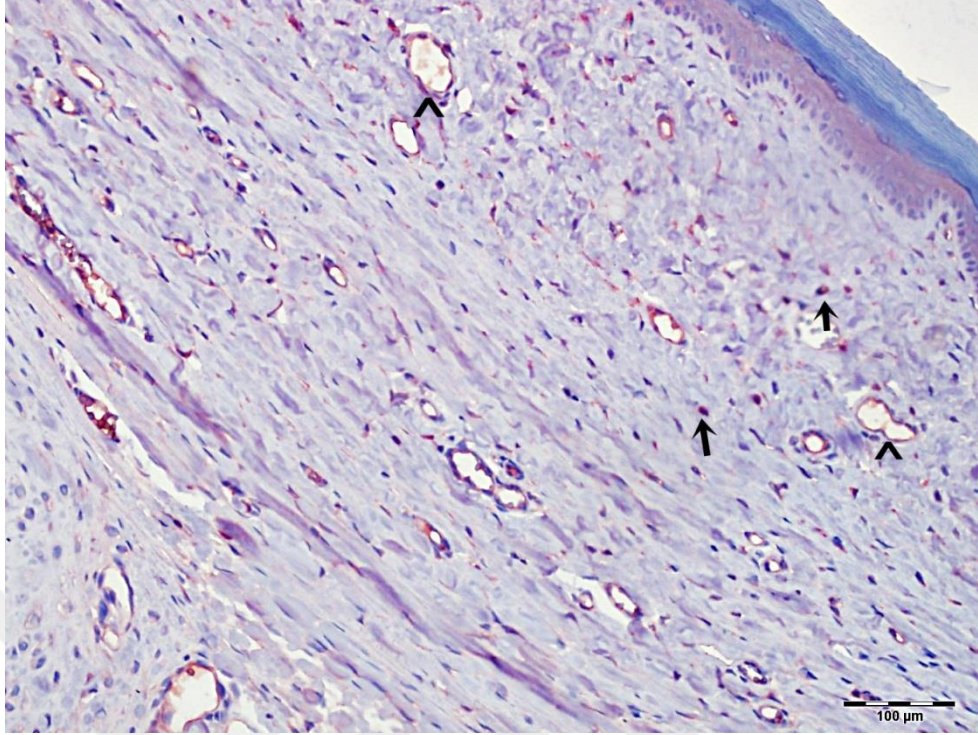
**Şekil 40. Kontrol grubunda VEGF immünoreaktivitesi. İncelenen deri dokusuna ait kesitte hücrelerde (oklar) ve damar duvarlarında (ok başı) çok güçlü VEGF ekspresyonunun varlığı izlenmektedir. Bar= 50 µm.**



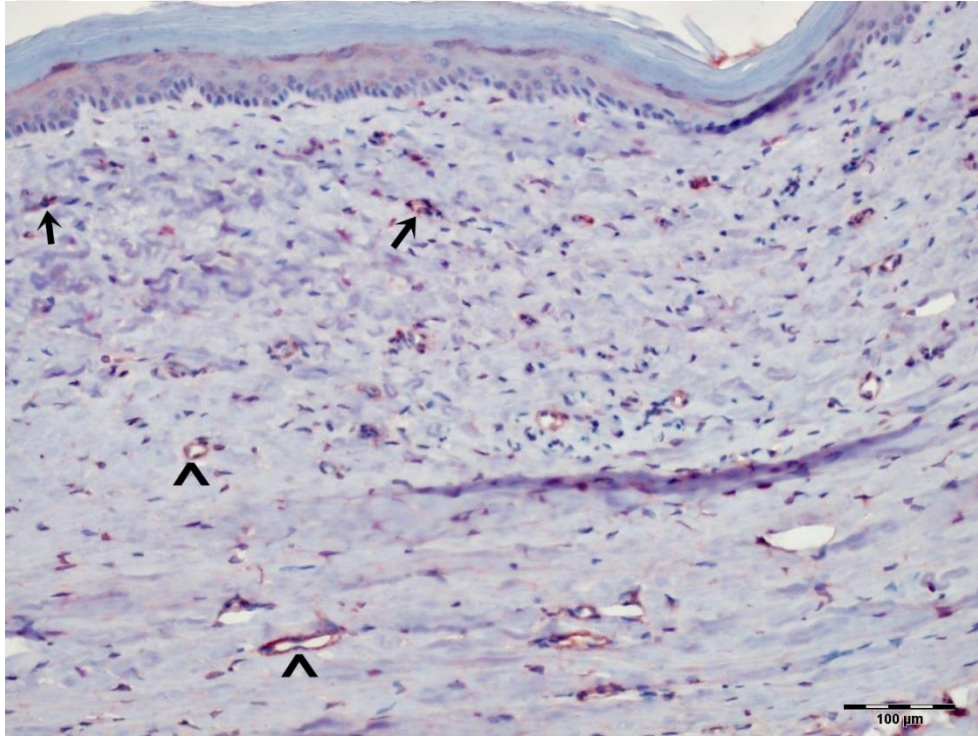
**Şekil 41. Kontrol grubunda  $\alpha$ -SMA immünoreaktivitesi.**  
İncelenen deri dokusuna ait kesitte miyofibroblastlarda (oklar) ve damar duvarlarında (ok başı) güçlü  $\alpha$ -SMA ekspresyonu (ok) izlenmektedir. Bar= 50  $\mu$ m.

#### 4.3.3. Triamsinolon Asetonid Grubu

Hipertrofik skar oluşturulduktan sonra Triamsinolon Asetonid verilen tavşanların kulaklarından alınan deri örneklerinde,  $\alpha$ -SMA ve VEGF immünoreaktivitesi değerlendirildi. Dermis tabakasında bulunan hücrelerde ve kapiller damar endotel hücrelerinde orta şiddette VEGF ekspresyonu görüldü. Orta düzeydeki VEGF ekspresyonunun küçük ve büyük çaplı damar duvarlarında da aynı düzeyde olduğu tespit edildi (Şekil 42).  $\alpha$ -SMA ekspresyonu ise kontrol grubuna göre azalmış olsa da Regorafenib uygulanan gruba göre, bu grupta yer alan miyofibroblastlarda belirgindi (Şekil 43).



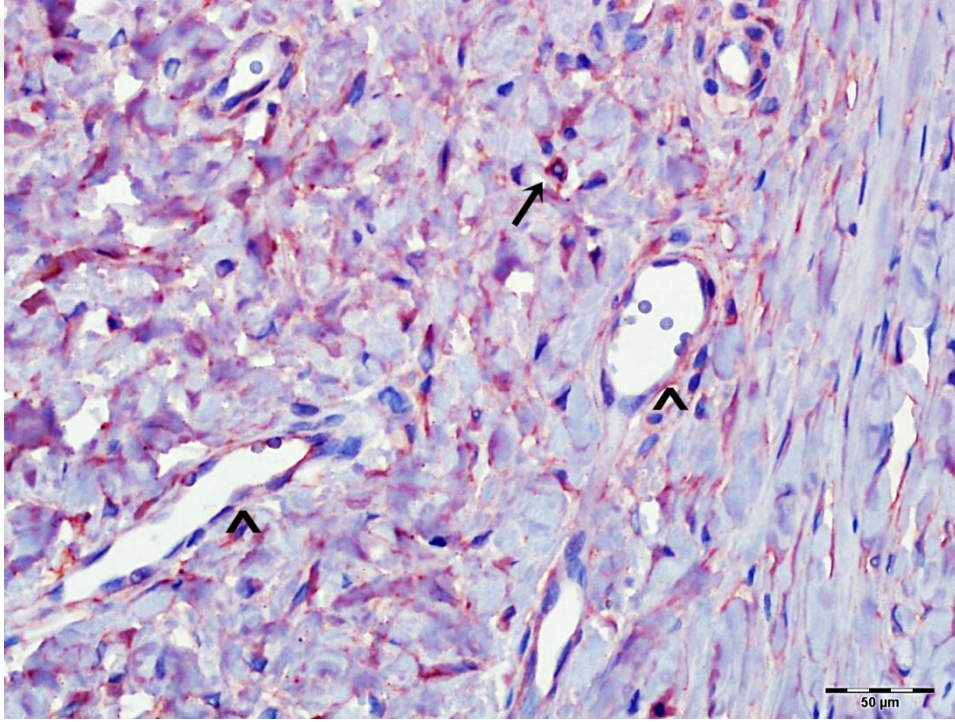
**Şekil 42. Triamsinolon Asetonid uygulanan grupta VEGF immünreaktivitesi.**  
İncelenen deri dokusuna ait kesitte küçük ve büyük çaplı damar duvarlarında (ok başı) ve hücrelerde (oklar) orta düzeyde VEGF ekspresyonunun varlığı izlenmektedir. Bar= 50 µm.



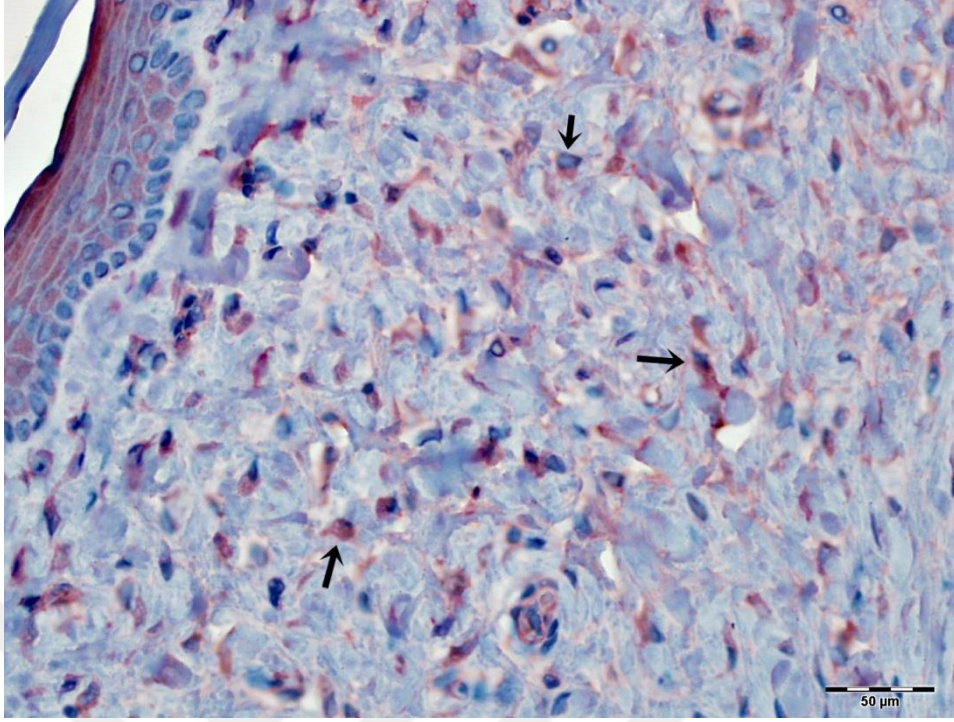
**Şekil 43. Triamsinolon Asetonid uygulanan grupta α-SMA immünreaktivitesi.**  
İncelenen deri dokusuna ait kesitte miyofibroblastlarda (oklar) ve kan damarlarında (ok başı) orta düzeyde α-SMA ekspresyonu (oklar) izlenmektedir. Bar= 50 µm.

#### 4.3.4. Regorafenib Grubu

Hipertrofik skar oluşturulduktan sonra Regorafenib verilen tavşanların kulaklarından alınan deri örneklerinde,  $\alpha$ -SMA ve VEGF immünoreaktivitesi değerlendirildi. Dermiste kollajen liflerin arasında yer alan hücrelerde az düzeyde VEGF ekspresyonu tespit edildi. Ek olarak, kapiller damar endotel hücrelerinde zayıf VEGF ekspresyonu görüldü (Şekil 44).  $\alpha$ -SMA ekspresyonunun sham grubuna benzer şekilde, dermiste yer alan miyofibroblastlarda ve kas liflerinde belirgin olarak azaldığı tespit edildi (Şekil 45).



Şekil 44. Regorafenib uygulanan grupta VEGF immünoreaktivitesi. İncelenen deri dokusuna ait kesitte küçük ve büyük çaplı damar duvarlarında (ok başı) ve hücrelerde (oklar) çok zayıf VEGF ekspresyonu izlenmektedir. Bar= 50 µm.

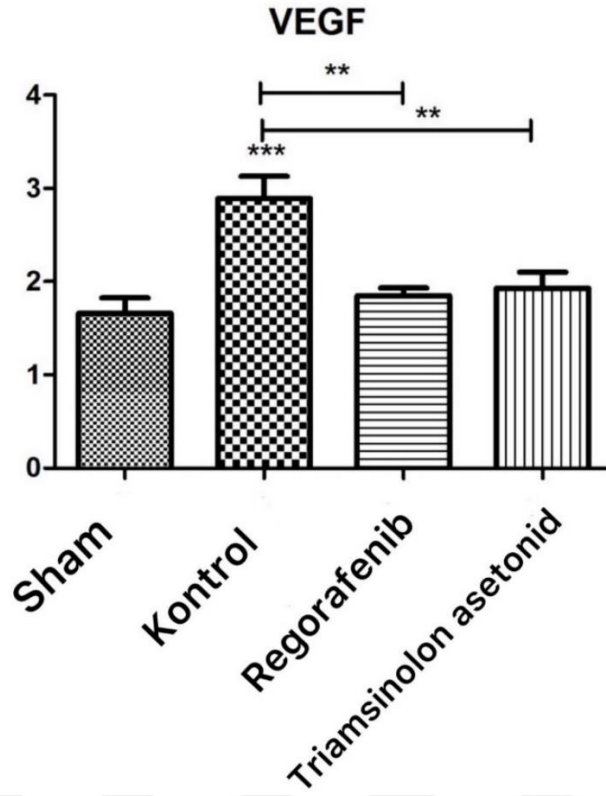


**Şekil 45. Regorafenib uygulanan grupta  $\alpha$ -SMA immünoreaktivitesi.** İncelenen deri dokusuna ait kesitte miyofibroblastlarda (oklar) minimum seviyede  $\alpha$ -SMA ekspresyonu izlenmektedir. Bar= 50  $\mu$ m.

#### **4.4. İmmünohistokimyasal Skorlama**

##### **4.4.1. VEGF İmmünreaktivitesi İstatistiksel Analizi**

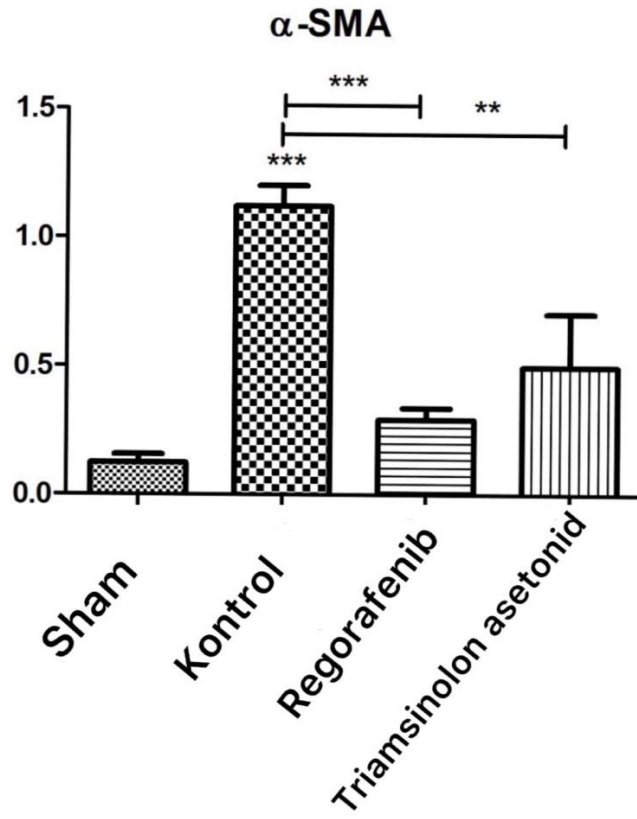
VEGF ekspresyonu değerlendirildiğinde, kontrol grubunda yüksek VEGF ekspresyonu olduğu izlendi. Sham, Triamsinolon Asetonid ve Regorafenib gruplarında, kontrol grubuna kıyasla yüksek oranda bir azalma olduğu görüldü ( $p < 0,0001$ ). Regorafenib ve Triamsinolon Asetonid gruplarında VEGF ekspresyonunun sham grubuna benzer şekilde düşük seviyede olduğu ve aralarında anlamlı fark olmadığı bulundu. ( $p < 0,01$ ) (Şekil 46).



Şekil 46. VEGF için immünohistokimyasal skorlama.  
 \*\*\*P< 0,0001, \*\*P< 0,001.

#### 4.4.2. $\alpha$ -SMA İmmünreaktivitesi İstatistiksel Analizi

$\alpha$ -SMA ekspresyonunun sham grubunda düşük seviyede olduğu görüldü. Kontrol ve Triamsinolon Asetonid gruplarında  $\alpha$ -SMA seviyesinin sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu ( $p < 0,0001$ ). Regorafenib grubunda ise sham grubuyla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (Şekil 47).



Şekil 47.  $\alpha$ -SMA için immünohistokimyasal skora. \*\*\*P< 0,0001, \*\*P< 0,001, \*P< 0,01.

## 5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve remodeling fazlarından oluşur.<sup>200</sup> Bu evrelerde büyüme faktörleri, proteolitik enzimler, ekstraselüler matris proteinleri gibi profibrotik ve antifibrotik moleküllerin kompleks ağı içinde karmaşık etkileşimler meydana gelir.<sup>201,202</sup> Hasarlanmayı takiben hemostaz başlar, plateletlerde agregasyon olur. Oluşan fibrin pıhtı kanamanın durdurulmasına yardım eder ve aynı zamanda hücrelerin proliferasyonu ve tutunması için skafold görevi görür. Büyüme faktörleri ve sitokinler esas olarak inflamatuvar hücrelerden salınır ve proliferatif fazın başlamasına katkıda bulunur. Daha sonra anjiogenez, kollajen sentezi, ardından doku yeniden şekillenmesi ile yara iyileşme sürecinin aşamaları tamamlanır. Kollajen, proteoglikanlar ve fibronektinin fibroblastlar tarafından aşırı üretimi ya da ekstraselüler matris remodelinginde yetersiz bozunma, ekstraselüler matriksin hassas yapım yıkım dengesini bozacaktır. Bu durum yara iyileşme sürecinin patolojik olarak tamamlanmasına ve hipertrofik skarlaşmaya neden olur.<sup>203</sup> Hipertrofik skar inflamatuvar yanıt uzadığında vaskülarizasyon artışı, hiperselülarite, artmış kollajen depozisyonu ile ortaya çıkar.<sup>204-206</sup> Ayrıca artmış TGF- $\beta$ 1 ekspresyonunun hipertrofik skar oluşumu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>207</sup> Hipertrofik skar fibroproliferatif hastalıkların dermal formu olup genellikle derin dermiste termal veya travmatik hasar sonrası gelişir. Hipertrofik skarlar kozmetik problemlere neden olmakla birlikte kaşıntı, ağrı, eklemlerde kontraksiyon gelişimi gibi fonksiyonel problemlere de yol açmaktadır.<sup>90</sup>

Hipertrofik skara yol açan olaylar kapsamlı bir şekilde araştırılmasına karşın etyopatogenezi hala net olarak anlaşılamamıştır. Literatürde pek çok tedavi şekli tanımlanmışsa da hipertrofik skarların önlenmesi en iyi strateji olmaya devam etmektedir; bu nedenle, aşırı skar geliştirmeye yatkın olan bireyler zorunlu olmayan ameliyatlardan kaçınmalıdırlar.<sup>208</sup> Bununla birlikte hastaların çoğu matür hipertrofik skarların tedavisi için hekimlere başvurmaktadır. Günümüzde hipertrofik skar ve keloidlerin en çok kabul gören ve en yaygın kullanılan konservatif tedavi seçenekleri intralezyonel steroid enjeksiyonu, topikal silikon jel uygulaması ve basınç tedavisidir. Kullanılan diğer tedavi yöntemleri arasında cerrahi eksizyon, kriyoterapi, radyoterapi, lazer tedavisi, interferon uygulanması, kolşisin, A ve E vitaminleri, kalsiyum kanal

blokörleri, antihistaminikler, pentoksifilin, bleomisin, siklosporin, allantoin ve soğan ekstresi içeren kremler bulunur.<sup>141,209-220</sup> Etyopatogenezin tam olarak ortaya konamamış olması, tedavide genel olarak tatminkâr olmayan sonuçların alınmasına ve bu alanda yeni arayışların olmasına neden olmaktadır.

Hipertrofik skar ve keloid oluşumunda rol alan basamakları öğrenmek için veya yeni geliştirilen tedavi modalitelerinin denenmesi amacıyla hücre kültürleri gibi *in vitro* modeller ve hayvan modelleri gibi *in vivo* modeller kullanılmaktadır.

Hücre veya doku kültürü çalışmaları keloid veya hipertrofik skarlardan izole edilen fibroblastların veya keratinositlerin laboratuvar ortamında çoğaltılmasıyla yapılmaktadır. Çevresel etkilerden izole edilen hücelere etki eden spesifik değişkenler bu sayede daha kolay kontrol edilir. Hücre kültürü çalışmaları genellikle biyolojik yolları ve biyoaktif molekülleri araştırmak için kullanılır. Cruz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada izotretinoin ve triamsinolon asetonidin keloid fibroblastları ve normal fibroblastlar üzerine etkisini incelemiş, her iki ajanın da hücre büyümesini inhibe ettiğini ve kombine kullanımda etkinin arttığını göstermiştir.<sup>221</sup> Oikarinen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada trans-retinoik asit ve 13 cis-retinoik asitin keloid fibroblast kültüründe prokollajen üretimini azalttığı gösterilmiştir.<sup>222</sup> Kikuchi ve arkadaşlarının çalışmasında ise PDGF, TGF- $\beta$ 1,  $\gamma$ -IFN ve histaminin hücre kültüründe keloid fibroblastlarına etkileri incelenmiş ve  $\gamma$ -IFN'un kollajen üretimini yavaşlattığı gösterilmiştir.<sup>223</sup> Hücre kültürü çalışmaları bir ilacın etkin doz aralığını tespit etmek için de kullanılabilen, hayvan çalışmalarına kıyasla daha ekonomik bir yöntem olmasına karşın yara veya skar ortamının karmaşık yapısını, hücrelerin ve moleküllerin birbirleriyle etkileşimini tam olarak taklit edemediği için tedavinin insanlardaki etkisini öngörmek mümkün değildir. Ayrıca profilaktik tedaviler hücre kültürlerinde test edilemez.<sup>224</sup>

Bunun için birçok yeni hayvan çalışması yapılmaktadır. Hayvan çalışmaları insandaki skarları birebir yansıtmasa da insan çalışmalarındaki ciddi kısıtlılıklar nedeniyle karşılaştırılmalı çalışmalar için iyi modellerdir. Literatürde birçok hayvan modeli kendi kısıtlılıkları ile tanımlanmıştır. Domuzlarda yanık veya kısmi kalınlıkta yara modeli,<sup>225,226</sup> tavşan kulağında hipertrofik skar modeli,<sup>227-230</sup> immun yetmezlikli fareye heterolog hipertrofik skar implantasyon modeli<sup>231</sup> en sık kullanılan hipertrofik skar modelleridir.

Atimik yani immünyetmezlikli sıçan veya fareye insan keloid dokuları implante edilebilir ve tedavi modalitesinin uygulanması sonrasında implante edilen keloid veya hipertrofik skarda histolojik ve biyokimyasal incelemeler yapılabilir.<sup>224</sup> Waki ve arkadaşları, atimik farelere implante ettikleri keloid dokularına penisilamin, asetilsistein, kolşisin ve triamsinolon uygulamış, keloid büyümesinin durduğunu ve keloidlerin küçüldüğünü göstermiştir.<sup>232</sup> Wang ve arkadaşları, atimik sıçanlara hipertrofik skar ve keloid dokuları implante ettikten sonra sistemik olarak TGF- $\beta$  ve anti TGF- $\beta$  uygulaması yapmış; TGF- $\beta$  uygulanan sıçanlardaki dokularda endojen üretilen TGF- $\beta$ , kollajen I ve III miktarında artış, anti TGF- $\beta$  uygulanan sıçanlarda ise bu parametrelerde azalma tespit etmiştir.<sup>233</sup> Atimik nüde farelerin hayvan modeli olarak kullanıldığı başka bir çalışmada MMP-9'un skarsız yara iyileşmesinde up regüle edildiği gösterilmiştir.<sup>234</sup> Benzer deneylerde MMP-1 ve MMP-9 ekspresyonunun skarsız fetal rat yaralarında yüksek düzeyde regüle edildiği kanıtlanmıştır.<sup>235</sup>

Atimik hayvan modellerinde implante edilen dokuların immün sistemden bağımsız olarak farklı bir vücut içinde farklı davranışlar gösterme ihtimali vardır. Bu nedenle klinik çalışmalarda farklı sonuçlar alınabilir.

1966'da geliştirilen tavşan kulağı modelinde, tavşanın kulağının ventral yüzeyinde elektrokoter, insizyonel tıraşlama veya eksizyon yoluyla büyük bir yara oluşturulmuştur. Tavşan kulağındaki skarlaşmanın boyutu, insanlarda hipertrofik skar oluşumu ile karşılaştırılmıştır ve travma sonrası 2-3 hafta kadar erken bir sürede benzer yapının meydana geldiği gözlenmiştir.<sup>236,198,237</sup> İncelemede lezyonlar; kabarık ve sert papüler görünümündedir, bu kabarıklığın 40 günden fazla sürdüğü bilinmektedir, bazı vakalarda 60 günden fazla sürebilmektedir.<sup>198,237,238</sup> Histopatolojik özellikler artmış kollajen lifleri, artmış vasküler doku ve artmış inflamasyon bulgularını içermektedir. Kortikosteroid tedavisinin, insanlardaki hipertrofik skarda gözlendiği gibi, tavşan kulak modelinde de dermal kalınlık ve fibrozisi azalttığı gösterilmiştir. Bu model iyi belgelenmiştir ve hipertrofik skar tedavisi için önerilen birçok antifibrotik tedavinin etkinliğini incelemek için kullanılmıştır.<sup>198,236,239</sup>

Yaptığımız çalışmada Morris ve arkadaşlarının<sup>198</sup> 1997 yılında yayınladığı tavşan kulağı hipertrofik skar modeli esas alınmıştır. Morris ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tavşan kulaklarında oluşturulan tam kalınlıkta defektlerin hipertrofik skara

benzer yapıda iyileşme paterni gösterdiğinin saptanması üzerine kantitatif ölçüm yapılabilecek şekilde bu hayvan modeli oluşturulmuştur.<sup>229</sup>

Çalışmamızda bu modele uygun olarak deneklerin her bir kulağının ventral yüzlerine birbirlerine eşit uzaklıktaki mesafede 4 adet 6 mm'lik punch biyopsi aleti ile dairesel deri insizyonları yapıldı. Bistüri ve dissektör yardımıyla cilt ve perikondriyumun dâhil edildiği, zeminde perikondriyumsuz kartilajın bırakıldığı defektler oluşturuldu. Hipertrofik skar ile iyileşmeyi sağlayan mekanizmanın perikondriyumun uzaklaştırılmasıyla meydana gelen epitelizasyondaki gecikme olduğu düşünülmektedir.<sup>220</sup>

Tavşan kulağı modeli hipertrofik skarın patofizyolojisinin araştırılmasında ilerlemeler sağlasa da modeli oluşturmak için perikondriyumun da alınmasının gerekliliği ve gecikmiş yara iyileşemesinin ardından görülen kabarık skar oluşumunda cilt hücreleri ile birlikte kondrositlerin yer alması dezavantajdır. Ayrıca insanlarda görülen hipertrofik skar her zaman kıkırdak üzerinde bulunmamaktadır ve derin dermis hasarında oluşmaktadır.<sup>231,240</sup>

Literatürde hipertrofik skar üzerinde farklı moleküllerin etkilerini incelemek ve karşılaştırma yapmak için tavşan kulağı modelinin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur. Leonard Lu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada tavşan kulağında oluşturulan yaralar intradermal olarak anti TGF- $\beta$ 1, 2, 3 antikoru ile 3 farklı noktada tedavi edilmiş, yara iyileşme sürecinin farklı periyodlarında farklı etkilerin olduğu gösterilmiştir. Erken tedavi gecikmiş yara iyileşmesi gösterirken, yara iyileşmesinin orta veya geç dönemlerindeki tedavilerde hipertrofik skarların önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur.<sup>241</sup> Saulis ve arkadaşlarının bir çalışmasında soğan ekstresi ve antiproliferatif etkisi olan Quersetin içeren topikal jel formundaki Mederma'nın tavşan kulağında oluşturulan hipertrofik skar modelinde etkisi incelenmiş, hipertrofik skarlar oluşturulduktan sonra verilen 4 haftalık tedavinin ardından skar elevasyon indeksinde, vaskülaritede ve inflamasyonda önemli azalma saptanmamış ancak Mederma ile tedavi edilen grupta dermal kollajen organizasyonunda iyileşme gözlenmiştir.<sup>242</sup> Ren ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tavşan kulaklarında tanımlanan şekilde defektler oluşturulduktan 15 gün sonra tedavi grubuna günlük intraperitoneal Endostatin uygulanmış, 35. günde yapılan değerlendirmede sistemik endostatin verilen grupta skarların daha ince, mikrodamar yoğunluğunun daha az, kollajen liflerinin daha düzenli

olduğu görülmüştür. Skar elevasyon indeksi kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuş olup tip I kollajen ve Bcl-2 ekspresyonlarının Endostatin enjeksiyonu ile baskılandığı gösterilmiştir.<sup>243</sup>

Domuzların ülkemizde temin ve bakımlarının zor ve maliyetlerinin yüksek olması, farelerde transplant reddinin olma ihtimali ve insandaki skarı tam olarak yansıtmaması gibi nedenlerden dolayı literatürde sık kullanılan tavşan kulağında hipertrofik skar modeli bu çalışmada tercih edilmiştir. Tavşan kulaklarında oluşturulan defektler insanlardaki hipertrofik skara benzer paternde iyileşmekte olup benzer histopatolojik özellikler göstermektedir. Kortikosteroid tedavisinin de insandaki hipertrofik skar tedavisine benzer etki gösterdiği gözlenmiş ve bu model iyi belgelenmiştir.<sup>198</sup> Kantitatif ölçüm yapılabilecek şekilde standardize model olarak kullanılabilirdiğinden çalışmamızda tavşan kulağında oluşturulan hipertrofik skar modeli kullanılmıştır.

Tümör mikroçevresi ile ilişkili biyolojik programların inhibisyonu, kanserin teşhisi, önlenmesi ve tedavisi için kritiktir. Öte yandan, uygun bir yara mikroçevresi doku onarımını hızlandıracak ve geniş skar oluşumunu önleyecektir. Kanser hastalarında genel sağkalımı azaltan ve ilaç direncini artıran tümör mikroçevresinin oluşumunda yer alan anahtar sinyal molekülleri (büyüme faktörleri, sitokinler, kemokinler ve galektinler) tanımlanmıştır. Bu düzenleyiciler doku rejenerasyonu ve yara yönetiminde de yer almaktadır. Tüm genom transkriptom profili oluşturma, *in vitro* deneyler ve hayvan deneyleri göstermektedir ki; interlökin 6, interlökin 8, kemokin (CXC motifi) ligandı-1, galektin-1 ve hücre dışı matrisin (örneğin, fibronektin) seçilmiş proteinleri, yara iyileşmesi ve tümör büyümesi sırasında benzer düzenlemeye sahiptir. Yayınlanmış veriler, tümör ve yara mikroçevreleri arasında dikkate değer benzerlikler göstermektedir. Kanser hücre-stroma etkileşiminin daha iyi anlaşılması, granülasyon dokusu oluşumunun ve geniş, kronik yaraların yeniden epitelizasyon sürecinin de anlaşılmasını destekleyecek bulgular sağlar. Bu bulgular hipertrofik skar ve keloid oluşumunun önlenmesiyle yara iyileşme sürecini iyileştirmeye yardımcı olabilir.<sup>4</sup>

İlerlemiş malignitelerde konservatif tedavinin etkinliği, hızla çoğalan kanser hücrelerinin ortadan kaldırılmasına ve tümör invazivliğinin azalmasına dayanmaktadır.<sup>4</sup> Dvorak, 1986'da yayınlanan makalesinde yaralardaki ve tümörlerdeki bağ dokusu reaksiyonu arasında dikkate değer benzerlikler bildirmiştir.<sup>244</sup> Doku onarımı ve

rejenerasyonunu malignite yönleriyle karşılaştıran daha ileri çalışmalar, bu iki sürecin daha fazla ortak noktaya sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle, her iki patolojinin tedavi stratejisi, yara/tümör mikro ortamlarının modülasyonunu içeren karmaşık bir yaklaşımı gerektirir.<sup>4</sup>

Fibroblastların tümör stroması ve granülasyon dokusu oluşumunda anahtar rolü oynadığı iyi bilinmektedir. Yara kontraksiyonunda önemli bir rol oynayan ve tümörlerin biyolojik özelliklerini önemli ölçüde modüle eden myofibroblastlara farklılaşmaları dikkat çekicidir. Fibroblastlar çeşitli büyüme faktörleri (örneğin, IGF-2, kemik morfogenetik proteini 4 (BMP-4)), sitokinler (IL-6, IL-8), kemokinler (CXCL1) ve hücre dışı matrisi (ECM) oluşturan kollajen, fibronektin gibi önemli yapısal makromolekülleri salgılar.<sup>4</sup>

Özellikle, yara iyileşmesinin proliferasyon aşamasına, mimarisi bir tümör stromasınıninkine çok benzeyen granülasyon dokusu üretimi eşlik eder. Burada fibroblastlar, bir yandan anjiyogenezi uyaran ve diğer yandan yeniden epitelizasyon sürecini destekleyen sitokin, kemokin ve büyüme faktörleri üretir. Her iki süreç, yani kanser büyümesi ve yara onarımı karşılaştırıldığında, granülasyon dokusu ve tümör stroması, az diferansiye epitel hücrelerinin proliferasyonunun sürdürülmesinde güçlü destekleyici rollere sahiptir. İyileşme süreci; immatür kollajen aşırı üretiminin bir sonucu olarak hipertrofik ve keloid skarların oluşumuyla sona erdirilebilir. İnflamasyon keloid orijinli mikro ortamı sağlar ve progresyonu artırır. Bu bağlamda fibroblast aktivasyon proteini alfa (FAP- $\alpha$ ) ve dipeptidil peptidaz IV (DPPIV), hücre invazivliğini, tümör büyümesini ve keloid skar oluşumunu indükleyen plazma zarında bulunan proteazlardır. Normal yetişkin dokularının genellikle FAP- $\alpha$  negatif olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, FAP- $\alpha$ /DPPIV aktivitesinin inhibe edilmesi, keloid skarlaşmasını önlemenin yeni bir yolu olabilir.<sup>245</sup> Bu bakış açısından, FAP'ye karşı bir monoklonal antikor (örneğin, sibrotuzumab) tarafından kanserle ilişkili fibroblastlar ve hipertrofik skar fibroblastları dahil fibroblastların hedeflenmesi, tümör ve hipertrofik skar mikroçevresinin modüle edilmesinde ve hastaların hayatta kalma oranlarının artırılmasında önemli etkilere sahip olabilir.<sup>4</sup>

İnflamatuar hücreler, büyüme faktörleri, aktive edilmiş stroma ve DNA hasarını teşvik eden ajanlar açısından zengin bir ortamda sürekli hücre proliferasyonu neoplazi riskini potansiyelize eder. Kanserle ilişkili fibroblastlar, farklı karsinomlarda en bol

bulunan stromal hücre tiplerinden biridir ve heterojen bir hücre popülasyonu içerir. Fizyolojik koşullarda, normal fibroblastlar inaktif durumda kalır. Kansere ilişkili fibroblastlar büyüme faktörleri, sitokinler, kemokinler ve bağışıklık modulatorleri üreten fibroblastları uyararak doku fibrozisini aktive eder. Kansere ilişkili fibroblastların ana kaynağı, lokal olarak yerleşik fibroblastlar gibi görünmektedir, ancak bunlar aynı zamanda kemik iliği mezankimal hücreleri, perisitler, endotelial hücreler ve düz kas hücrelerinden de üretilebilir.<sup>4</sup> Ayrıca kansere ilişkili fibroblastlar alfa düz kas aktin ( $\alpha$ -SMA) ve vimentin ekspresyon eden fenotipik olarak heterojen bir fibroblast grubudur.<sup>246</sup> Hipertrofik skar fibroblastlarında da  $\alpha$ -SMA üretilmesi bu bağlamda kansere ilişkili fibroblastlara benzerlik göstermektedir.

Kansere ilişkili fibroblastlar vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), TGF- $\beta$ , hepatosit büyüme faktörü (HGF), EGF veya fibroblast büyüme faktörü (FGF) dahil olmak üzere çeşitli anjiyogenez düzenleyicileri salgılar. En güçlü proanjiyogenik büyüme faktörleri arasında, birçok tümörde up-regüle olan ve tümör stromasında kritik bir rol oynayan VEGF yer alır. Kansere ilişkili fibroblastlar ayrıca trombosit bağımlı büyüme faktörü reseptörü-alfa (PDGFR- $\alpha$ ) ve trombosit bağımlı büyüme faktörü reseptörü-beta (PDGFR- $\beta$ ) gibi reseptörleri de ekspresyon eder. Ayrıca tip I kollajen, fibronektin veya matris metalloproteinaz 1/stromelin gibi çok çeşitli matris bileşenlerini ve matris yeniden şekillendirme enzimlerini ekspresyon ederek ECM'nin yeniden modellenmesinde önemli bir rol oynar.<sup>4</sup> Hipertrofik skar fibroblastlarının da anjiyogenez artışına ve ekstraselüler matris aşırı birikimine sebep olan benzer özellikleri bulunmaktadır.

VEGF'nin yanında, anti-neoplastik stratejiler tirozin kinazları bloke etmeye odaklanmıştır. Bu bağlamda PDGFR, c-KIT ve VEGF reseptörü (VEGFR) en yaygın olarak inhibe edilen kinazlardır.<sup>4</sup>

Multi target tirozin kinaz inhibitörü olan Regorafenib'in blokladığı VEGF, PDGF gibi büyüme faktörlerinin hipertrofik skarlaşma sürecinde de yer alması, aynı zamanda tümör stromasının oluşumunda kritik rolü olan kansere ilişkili fibroblastlarla hipertrofik skar fibroblastlarının benzer özellikler göstermesi nedeniyle tavşan kulağında hipertrofik skar modeli oluşturduğumuz çalışmamızda birçok karsinomun tedavi protokolünde olan Regorafenib kullanılmıştır.

Yapılan bir çalışmada rat uyluğunda intramuskuler olarak büyütülen bir rat GS9L glioblastoma ksenogreftinde Regorafenib'in tümör damar sistemi üzerine etkisi Gadomer-17 kullanılarak dinamik kontrastlı manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile değerlendirilmiştir. Tümör taşıyan sıçanları, 10 mg/kg'lık tek bir oral Regorafenib dozu ile tedavi etmek, tümör perfüzyonunda ve kontrast ajanın ekstrasvazyonunda önemli bir azalmaya neden olmuştur. Bu modelde Regorafenib'in terapötik antitümör etkinliği 10 mg/kg ile korele bulunmuştur.<sup>247</sup>

Regorafenib'in *in vivo* antitümör aktivitesi, farelerde insan ksenograft modellerinde analiz edilmiş; kolorektal karsinom, meme kanseri ve renal hücreli karsinom tümörlerinden türetilen modeller dahil olmak üzere çoklu ksenograft modellerinde doza bağlı olarak tümör büyümesini oral olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. 10-100 mg/kg doz aralığında kolorektal karsinom ksenogreftlerinin büyümesini etkili bir şekilde inhibe etmiş, 10 mg/ kg dozda 14. günde tümör büyüme inhibisyonunun %75'e ulaştığı gösterilmiştir.<sup>247</sup>

Prelinik çalışmalarda Regorafenib'in terapötik antitümör etkinliği 10 mg/kg ile korele bulunduğu için çalışmamızda 10 mg/kg doz kullanılmıştır.

Literatürde kanser tedavisinde kullanılan ajanlarla yapılan hipertrofik skar çalışmaları bulunmaktadır. Bir kemoterapötik ajan olan Bleomisin'in hipertrofik skarda kullanıldığı bir çalışmada intralezyonel Bleomisin uygulanan grupta klinik olarak % 84'lük gerileme gösterilmiştir. Kriyoterapi ile kombine Triamsinolon enjeksiyonları ile karşılaştırıldığında, Bleomisin büyük keloidler için önemli ölçüde daha başarılı sonuç vermiştir.<sup>248</sup>

Steroidler kollajen sentezini azaltır, kollajenaz inhibitörlerini artırır. Fibroblast glukokortikoid reseptörleri aracılığıyla çalışan steroidler ayrıca kollajen demetlerinin organizasyonunda rol alan ve karakteristik keloidal kollajen nodüllerini dejenere eden değişiklikleri indükler. Klinikte en sık kullanılan steroid olan Triamsinolon asetonid, normal ve keloid fibroblastların proliferasyonunu baskılar, kollajen sentezini inhibe eder, kollajenaz üretimini artırır ve kollajenaz inhibitörlerinin seviyelerini azaltır.<sup>132</sup> Klinik pratikte sık kullanıldığı ve hipertrofik skar çalışmalarında karşılaştırma yapabilecek geniş veritabanları sağladığı için çalışmamızda Triamsinolon asetonid kullanılmıştır.

Morris ve arkadaşlarının tavşan kulağında oluşturdukları hipertrofik skar modelinde yaptığı çalışmada epitelizasyonun tamamlandığı ve skarın palpe edilebilir şekilde hipertrofiye olduğu 16. günde tek doz intralezyonel Triamsinolon asetonid 40 mg/ml her bir skara 20µl olarak uygulanmıştır. Uygulama sonrası 6. günde hipertrofinin azaldığı gösterilmiştir.<sup>198</sup> Çalışmamızda benzer şekilde her bir skara 20 µl olacak şekilde 40 mg/ml Triamsinolon asetonid intralezyonel uygulanmıştır.

Çalışmamızda literatürdeki çalışmalara dayanarak klinik bulgular değerlendirilmiş, elektron mikroskopik inceleme yapılmış, ışık mikroskobisi ile skar elevasyon indeksi, kollajen yoğunluğu incelenmiş, VEGF ve α-SMA için immünohistokimyasal değerlendirme yapılmıştır.

Klinik gözlemlerde kontrol grubundaki tavşanların kulaklarındaki hipertrofik skarlar ciltten kabarık, palpasyonla sert ve hiperemik görünümdeydi. Triamsinolon asetonid grubuna bakıldığında skarların daha düz, daha yumuşak ve daha soluk görünümde olduğu gözlemlendi. Regorafenib grubundaki skarların da Triamsinolon asetonid grubundaki skarlar gibi daha düz, daha yumuşak olduğu ve görünümünün neredeyse sham grubuna yakın olduğu görüldü.

Her bir skar için skar elevasyon indeksi ve fibrozis histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda SEİ ortalama 2,048, Triamsinolon asetonid grubunda 1,16, Regorafenib grubunda 1,28 bulunmuştur. Triamsinolon asetonid ve Regorafenib grubundaki değerler kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, Triamsinolon Asetonid grubunun SEİ değerinin, Regorafenib grubundan daha düşük olmasına karşın bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, oral olarak verilen Regorafenib tedavisinin intralezyonel uygulanan Triamsinolon asetonid'e benzer şekilde skar elevasyon indeksini azalttığı gösterilmiştir.

Huang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tavşan kulağında oluşturulan hipertrofik skar modelinde *Centella asiatica* bitkisinden ekstrakte edilen Asiaticoside oral olarak kullanılmış ve doza bağımlı olarak hipertrofik skar formasyonunu inhibe ettiği ve skar elevasyon indeksini kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşürdüğü gösterilmiştir.<sup>199</sup>

Herhangi bir işlem yapılmayan ve tamamen sağlam bırakılan sham grubuna ait deri örneklerinin ışık mikroskopik incelemesinde, epidermisin keratinize çok katlı yassı

epitel yapısında olduğu ve stratum bazale, stratum spinozum, stratum granulozum ve stratum korneum olmak üzere dört tabakadan oluştuğu görüldü. Epidermisin daha alt kısmında yer alan dermisin düzensiz sıkı bağ dokusu yapısında olduğu izlendi. Dermis içerisinde farklı yönlere uzanan kollajen ve elastik lifler, bol miktarda kıl follikülü, yağ bezleri, kapillerler ve düz kas lifleri normal morfolojik görüntüde izlendi.

Hipertrofik skar oluşturulup, herhangi bir tedavi yöntemi uygulanmayan kontrol grubuna ait deri örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, dermiste diğer gruplara göre oldukça fazla sayıda fibroblast, lenfosit infiltrasyonu, artmış vaskülarizasyon ve damarlarda dilatasyon izlendi. MT boyalı örneklerde düzensiz, çok sayıda kalın ve kısa kollajen lifler görüldü. % 33,33'ünde orta şiddetli, % 66,67'inde belirgin şiddetli kollajenizasyon gözlenirken, hafif şiddetli kollajenizasyon gözlenmemiştir. Kollajenizasyonun düzensiz ve şiddetli olması hipertrofik skar için karakteristik bulgulardır.

Hipertrofik skar oluşturulduktan sonra Regorafenib verilen tavşanların kulaklarından alınan deri örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, epidermis ve dermisin nispeten normal yapıda olduğu görüldü. Dermiste orta yoğunlukta fibroblast bulunduğu ve diğer gruplara göre daha az vaskülarizasyon olduğu izlendi. MT boyalı preparatlarda kollajen liflerin ince ve uzun fibriler şeklinde düzenlendiği, kontrol ve Triamsinolon Asetonid gruplarına göre daha az sayıda ince kollajen fibriller içerdiği tespit edildi. Bu grupta, % 16,67 hafif şiddetli, % 44,44 orta şiddetli ve % 38,88 belirgin şiddetli kollajenizasyon gözlenmiştir. Dermiste çok sınırlı bölgelerde ödem, kollajen lif miktarının artışı, lenfosit infiltrasyonu ve fibroblast proliferasyonu bulunduğu belirlendi.

Hipertrofik skar oluşturulduktan sonra Triamsinolon Asetonid verilen tavşanların kulaklarından alınan deri örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, epidermis ve dermisi oluşturan yapılarda kısmi dejeneratif değişiklikler görüldü. Epidermis ve dermiste bazı bölgelerde nekroz, ödem, lenfosit infiltrasyonu ve fibroblast proliferasyonunun varlığı izlendi. Vaskülarizasyonun kontrol grubuna göre azaldığı görüldü. MT boyalı preparatlarda dermiste bulunan kollajen lif miktarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı görüldü. Bu grupta % 22,22 hafif şiddetli, % 33,33 orta şiddetli ve % 44,5 belirgin şiddetli kollajenizasyon bulunduğu gözlendi.

Gruplar arasında hafif, orta ve belirgin şiddetli kollajenizasyon karşılaştırıldığında, Regorafenib ve Triamsinolon asetonid gruplarında kollajen yoğunluğu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Regorafenib grubunda kollajen yoğunluğunu azalmış olması, kontrol ve Triamsinolon Asetonid gruplarına göre daha az sayıda ince kollajen fibriller görülmesi Regorafenib'in hipertrofik skar görünümünü iyileştirdiğini kanıtlamaktadır.

Vaskülarizasyon, Triamsinolon Asetonid grubunda kontrol grubuna göre azalmış olarak bulunmuştur. Regorafenib grubunda ise vaskülarizasyonun diğer gruplara göre daha az olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda herhangi bir cerrahi işlem ve tedavi uygulanmayan sham grubuna ait deneklerden alınan deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, epidermis ve dermisen tüm tabakalarının normal yapıda olduğu görüldü. Epidermis, stratum bazale, stratum spinosum, stratum granülozum ve stratum korneum olmak üzere dört tabakadan oluşmaktaydı. Epitel hücrelerinin büyük çoğunluğunu oluşturan keratinositlerin birbirlerine desmozom tipi bağlantılarla bağlı oldukları, merkezi yerleşimli, yuvarlak veya yassı, hafif indentasyonlar gösteren bir çekirdeğe sahip oldukları görüldü. Keratinositlerin normal dağılıma sahip kromatin içeren çekirdekleri içerisinde 1-2 çekirdekçik bulunmaktaydı. Keratinositlerin sitoplazmaları içerisinde bol miktarda tonofilaman bulunduğu izlendi. Stratum bazale tabakasındaki keratinositler ile bazal lamina arasında fokal adhezyon bölgeleri ve hemidesmozomlar bulunduğu izlendi. Stratum granülozumdaki keratinositlerin çekirdeklerinin yassılaştığı ve sitoplazmalarında çok sayıda keratohiyalin granülleri içerdiği görüldü. Epidermisen en yüzeysel tabakası olan stratum korneum tabakasının organel içermeyen ölü hücrelerden oluştuğu görüldü.

Düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki dermis içerisinde fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar, kollajen lifler, elastik lifler ve kan damarları izlendi. Kapillerler normal yapıda olup, lümeni döşeyen tek katlı yassı şekilli endotel hücreleri ve endotel hücreleri ile aynı bazal laminaya sahip perisitlerden oluşmaktaydı.

Hipertrofik skar formasyonu oluşturulup tedavisiz takip edilen kontrol grubuna ait deneklerden alınan deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, epidermiste bazı alanlarda keratinositlerin aralarındaki desmozom tipi bağlantıların bütünlüğünün

bozulduğu ve intersellüler aralıklarda genişlemelerin meydana geldiği izlendi. Keratinositlerin sitoplazmalarında bulunan mitokondriyonların şiştiği ve krista yapılarının bozulduğu görüldü. Bazal lamina normal yapıda izlendi.

Dermiste çok miktarda kollajen lif bulunduğu ve fibroblastların arttığı dikkati çekti. Fibroblastlarda perinükleer sisternaların genişlediği, sitoplazmaları içerisinde çok miktarda, sisternaları genişlemiş granüler endoplazmik retikülüm sisternalarının bulunduğu dikkati çekti. Bu görünüm kollajen sentezinin arttığını göstermektedir. Kan damarlarının duvarında yer alan endotel hücrelerinin anjiogenez lehine çekirdeklerinde heterokromatin artışı, sitoplazmalarında vakuollerin varlığı görüldü. Bazı alanlarda endotel hücreleri arasındaki bağlantı komplekslerinin bütünlüğünü kaybettiği tespit edildi. Dermis içerisinde, özellikle kapillerlere yakın alanlarda çok sayıda makrofajın ve mast hücrelerinin bulunduğu dikkati çekti. Mast hücrelerine ait granüllerde yer yer degranülasyon nedeniyle oluşan vakuoller izlendi.

Triamsinolon Asetonid uygulanan gruba ait deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde kısmi dejeneratif değişiklikler olmakla birlikte, epidermis ve dermis tabakalarının genellikle sham grubuna benzer özelliklerde olduğu gözlemlendi. Keratinize çok katlı yassı epitel özelliğinde olan epidermiste keratinositlerin birbirlerine desmozom tipi bağlantılarla bağlı oldukları, merkezi yerleşimli, yuvarlak hafif indentasyonlar gösteren bir çekirdeğe sahip oldukları görüldü. Keratinositlerin sitoplazmaları içerisinde bol miktarda tonofilaman bulunduğu izlendi. Epidermisin en alt tabakasında bulunan keratinositler ile bazal lamina arasında fokal adhezyon bölgeleri ve hemidesmozomlar bulunduğu izlendi.

Düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki dermis içerisinde fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar, kollajen lifler ve kan damarları normal yapıda izlendi.

Regorafenib uygulanan gruba ait deri örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde bazı alanlarda kısmi dejeneratif değişiklikler gözlenmekle birlikte, epidermis ve dermisin sham grubuna benzer özelliklerde olduğu izlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında keratinosit çekirdeklerinin ve sitoplazmik organellerinin normal yapıda olduğu görüldü. Komşu keratinositler arasındaki desmozomal bağlantıların bütünlüğünü koruduğu, intersellüler genişlemelerin azaldığı izlendi. Dermiste yer alan fibroblastların çekirdek ve sitoplazmalarının sham grubuna benzer özelliklerde ve normal yapıda oldukları tespit edildi. Kapillerleri döşeyen endotel hücreleri normal

yapıda izlendi. Bu bulgular Regorafenib'in hipertrofik skar gelişiminde anahtar rol oynayan fibroblastları, kollajen sentezini ve anjiogenezi inhibe ettiğini göstermektedir.

Uzun ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tavşan kulaklarında hipertrofik skar formasyonu üzerinde anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (ACE-I) Enalapril'in etkisi araştırılmıştır. İlk grup tavşanların kulaklarında defektler oluşturulduktan hemen sonra oral Enalapril başlanmış, ikinci grupta hipertrofik skar formasyonları oluşturduktan sonra oral Enalapril başlanmış, üçüncü gruba da 28. ve 35. Günlerde 40 mg/ml intralezyonel Triamsinolon asetonid uygulanmıştır. Erken Enalapril uygulanmasının kontrol grubuna göre skar elevasyon indeksini, fibroblast ve kapiller sayılarını önemli ölçüde azalttığı, geç Enalapril uygulanmasının skar elevasyon indeksini üzerine anlamlı etkisi bulunmadığı gösterilmiştir. Erken Enalapril uygulamasıyla steroid tedavisi arasında skar elevasyon indeksi, kapiller ve fibroblast sayısı arasında fark bulunmamıştır. Bununla birlikte erken ve geç Enalapril grupları, steroid ve kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında daha düşük kollajen tip 3 immünreaktivitesi sergilemiştir.<sup>249</sup>

Tavşan kulağında hipertrofik skar modelinde yapılan başka bir çalışmada anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (ACE-I), anjiotensin reseptör blokörü (ARB) ve intralezyonel kortikosteroid tedavilerinin skarlar üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. 20 tavşan sham, kontrol, ACE-I, ARB ve intralezyonel kortikosteroid olmak üzere her grupta 4 tavşan olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır. Tavşan kulaklarında 6mm çaplı perikondriumun da eksizyona dahil edildiği defektler oluşturulmuş, ACE-I grubuna Enalaprilat ve ARB grubuna Candesartan cilexetil 40 gün boyunca oral yolla verilmiştir. İntralezyonel kortikosteroid grubuna 28. ve 35. günlerde intralezyonel Triamsinolon asetonid uygulanmıştır. 40. günün sonunda SEİ hesaplanmıştır. SEİ kontrol grubunda en yüksek, steroid grubunda ACE-I ve ARB gruplarına göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Tip 3 kollajen liflerinin yoğunluğu kontrol grubunda en yüksek bulunmuştur. ACE-I ve ARB grupları tip 1 ve tip 3 kollajen lifleri yoğunlukları açısından benzer bulunmuştur. Tip 1 kollajen steroid grubunda en yüksek, tip 3 kollajen en düşük bulunmuştur. Vaskülarizasyon açısından 3 tedavi grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır.<sup>250</sup>

Önceki literatüre benzer şekilde çalışmamızda da intralezyonel Triamsinolon asetonid tedavisi 28. ve 35. günlerde uygulanmıştır. Skar elevasyon indeksi,

kollajenizasyon ve vaskülarizasyon üzerine etkileri değerlendirilip Regorafenib ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır. Literatürdeki bulgulara benzer şekilde Triamsinolon asetonidin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hipertrofik skarda iyileştirici etkisi çalışmamızda da desteklenmektedir. Regorafenib ile yapılan karşılaştırmada skar elevasyon indeksi ve kollajenizasyon üzerinde Regorafenib'in etkisi Triamsinolon asetonid ile benzer bulunmuştur.

İnsan kan hücrelerinin en küçüğü olan trombositler, hemostaz ve tromboz süreçlerinde merkezi oyunculardır. Ek olarak, trombositler doğuştan gelen bağışıklık savunmasının özel hücreleridir, inflamatuvar yanıtın modülatörleridir ve hematojenik metastazın yanı sıra yara iyileşmesinde rol oynarlar. Regorafenib PDGF'yi inhibe eder.<sup>27</sup> Böylece hem metastatik karsinom hem de hipertrofik skar tedavi sürecinde PDGF üzerinden etkili olduğu düşünülebilir.

Kanserle ilişkili fibroblastlarda normal fibroblastlardan farklı olarak  $\alpha$ -SMA eksprese edilmektedir. Hipertrofik skarda bulunan fibroblastlarda da benzer şekilde  $\alpha$ -SMA eksprese edildiğinden Regorafenib'in  $\alpha$ -SMA üzerindeki etkisini gözlemlemek için çalışmamızda immünohistokimyasal olarak  $\alpha$ -SMA düzeyleri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte güçlü proanjyogenik büyüme faktörü olan birçok tümörde up-regüle olan ve tümör stromasında kritik bir rol oynayan VEGF, hipertrofik skar patogeneğinde de yer almaktadır. Anjiogenezi baskılayan ajanlarla yapılan deneysel hipertrofik skar çalışmaları bulunmaktadır. Regorafenib'in VEGF üzerindeki inhibe edici etkisi bilinmektedir ve bu etkinin hipertrofik skar modelinde gözlenmesi için çalışmamızda immünohistokimyasal olarak VEGF düzeyleri değerlendirilmiştir.

Herhangi bir işlem uygulanmayan sham grubunda, tamamen sağlam deneklerden elde edilen deri doku örneklerinde,  $\alpha$ -SMA ve VEGF ekspresyonunu araştırmak amacıyla immünohistokimyasal yöntemler uygulandı. Deri kesitlerinde dermiste kollajen lifleri arasında bulunan bağ dokusuna ait hücrelerde minimum seviyede VEGF ekspresyonu tespit edildi. Küçük çaplı kapiller damar endotel hücrelerinde ve daha büyük çaplı damar endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonunun az düzeyde olduğu izlendi.  $\alpha$ -SMA ekspresyonun ise dermiste kollejen lifleri arasında bulunan miyofibroblastlarda ve kas liflerinde minimal düzeyde eksprese olduğu tespit edildi.

Hipertrofik skar oluşturulup herhangi bir tedavi yöntemi uygulanmayan kontrol grubundaki deneklerden alınan deri dokusuna ait örneklerde,  $\alpha$ -SMA ve VEGF

ekspresyonu immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Kollajen lifleri arasında yer alan hücrelerde ve kapiller damar endotel hücrelerinde yoğun VEGF ekspresyonu görüldü.  $\alpha$ -SMA ekspresyonunun ise dermiste bulunan kas lifleri ile miyofibroblast hücrelerinde ve damar duvarında oldukça yüksek olduğu tespit edildi. Çalışmamızda tavşan kulağında oluşturduğumuz hipertrofik skar modelinde, insandaki hipertrofik skar dokusundakine benzer şekilde yoğun VEGF ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonunun gösterilmesi, modelimizin hipertrofik skar formasyonunun temsil edebildiğini histopatolojik olarak da desteklemektedir.

Hipertrofik skar oluşturulduktan sonra Regorafenib verilen tavşanların kulaklarından alınan deri örneklerinde, dermiste kollajen liflerin arasında yer alan hücrelerde az düzeyde VEGF ekspresyonu tespit edildi. Ek olarak, kapiller damar endotel hücrelerinde zayıf VEGF ekspresyonu görüldü.  $\alpha$ -SMA ekspresyonunun sham grubuna benzer şekilde, dermiste yer alan miyofibroblastlarda ve kas liflerinde belirgin olarak azaldığı tespit edildi.

Hipertrofik skar oluşturulduktan sonra Triamsinolon Asetonid verilen tavşanların kulaklarından alınan deri örneklerinde, dermis tabakasında bulunan hücrelerde ve kapiller damar endotel hücrelerinde orta şiddette VEGF ekspresyonu görüldü.  $\alpha$ -SMA ekspresyonu ise kontrol grubuna göre azalmış olsa da Regorafenib uygulanan grupla kıyaslandığında, bu grupta yer alan miyofibroblastlarda belirgindi.

Yara iyileşme sürecinde hasarlı alana oksijen ve nutrisyon sağlanması için yeni kan damarlarına ihtiyaç vardır. En güçlü ve iyi çalışılmış proanjiogenik mediatörlerden biri vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF). VEGF endotelial hücre proliferasyonunu, migrasyonunu, diferansiyasyonunu stimüle eder. VEGF ailesine ait üyeler farklı tirozin kinaz reseptörlerine bağlanır. Son yıllarda, artan kanıtlar VEGF'in skar dokusunu düzenlemede önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Çok sayıda çalışma, yüksek VEGF seviyelerini hipertrofik skar ve keloid oluşumu ile ilişkilendirmiştir. Ek olarak, VEGF inhibisyonunun skar dokusu birikimini azaltabileceğine dair deneysel kanıtlar vardır.<sup>251</sup>

Çalışmamızda VEGF ekspresyonu değerlendirildiğinde, kontrol grubunda yüksek VEGF ekspresyonu olduğu izlendi. Sham, Triamsinolon Asetonid ve Regorafenib gruplarında, kontrol grubuna kıyasla anlamlı oranda azalma olduğu görüldü. Regorafenib ve Triamsinolon Asetonid gruplarında VEGF ekspresyonunun sham

grubuna benzer şekilde düşük seviyede olduğu ve aralarında anlamlı fark olmadığı bulundu.

Bu bağlamda VEGF-A monoklonal antikoru (Bevacizumab), 2004 yılında Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilk anti-anjiyogenik ilaçtır. Bevacizumab, metastatik kolorektal kanser, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, renal hücreli karsinom, glioblastoma multiforme, over kanseri ve metastatik serviks kanserinde klinik aktivite göstermiştir. Anjiyogenez, normotrofik skarlaşmaya göre hipertrofik skarda daha sık ortaya çıkar. Anjiyogenezin düzenlenmesi, hipertrofik skar yönetiminde anahtar faktörlerden biridir.<sup>252</sup> Kwak, Bevacizumab ile yaptığı çalışmada VEGF seviyesinin düşürülmesinin hipertrofik skar oluşumunun tedavisinde etkili olup olmadığını araştırdı.<sup>252</sup> Tavşan kulağında 6mm punch biyopsi aleti kullanılarak her bir kulakta 4 adet defekt oluşturuldu. Bir kulağa Bevacizumab (Avastin, Roche Pharma, Basel, İsviçre), diğer kulağa normal salin uygulandı. Tedavi 2. günden başlayarak, 2 günde bir, 14. güne kadar uygulandı. Bevacizumab uygulanan defektler kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha az hipertrofik skarlaşma gösterdi. Damar sayısı ve VEGF düzeyi daha düşük bulundu.<sup>252</sup> Çalışmamızda kullanılan Regorafenib'in de VEGF üzerinde etkisi bulunmaktadır. Çalışmamızda VEGF ekspresyonu, kontrol grubu ile kıyaslandığında Regorafenib grubunda anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Kwak'ın çalışmasında tedaviye, defektler oluşturulduktan 2 gün sonra başlanmış ve profilaktik etki gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise hipertrofik skar oluştuktan sonra tedaviye başlanmıştır.

Alfa-düz kas aktin ( $\alpha$ -SMA), vasküler düz kas hücrelerinde baskın olan bir aktin izoformudur ve fibrojenizde önemli rol oynar. TGF- $\beta$  etkisiyle fibroblastlardan dönüşen miyofibroblastlar metabolik ve morfolojik olarak normal fibroblastlardan farklıdır ve  $\alpha$ -SMA eksprese eder. Aktivasyonları fibrotik cevap gelişiminde anahtar rol oynamaktadır. Aktive durumda miyofibroblastlar çoğalmayı durdurur ve büyük miktarlarda ekstraselüler matris proteinleri sentezlemeye başlar.  $\alpha$ -SMA ekspresyonu miyofibroblast aktivitesi ile koreledir. Miyofibroblastlar tarafından oluşturulan yüksek kontraktil güç fizyolojik doku remodelingi için gereklidir ancak hipertrofik skar, neredeyse tüm fibrotik hastalıklar ve tümörlerde stroma reaksiyonu sürecinde olduğu gibi aşırı hale gelmesi doku fonksiyonu için zararlıdır.<sup>253</sup> Hipertrofik skar fibroblastlarının artmış kollajen sentezi ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonuyla karakterize olduğu

bilinmektedir. Ayrıca kanserle ilişkili fibroblastlar da  $\alpha$ -SMA eksprese eden fenotipik olarak heterojen bir fibroblast grubudur.

Çalışmamızda  $\alpha$ -SMA ekspresyonunun sham grubunda beklendiği gibi düşük seviyede olduğu görüldü. Hipertrofik skar formasyonu oluşturulup tedavisiz takip edilen kontrol grubunda ise  $\alpha$ -SMA anlamlı ölçüde yüksekti. Diğer bulgulardan farklı olarak Triamsinolon Asetonid grubunda  $\alpha$ -SMA seviyesinin kontrol grubunda olduğu gibi sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu. Regorafenib grubunda ise sham grubuyla karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. Regorafenib'in  $\alpha$ -SMA ekspresyonu üzerinde Triamsinolon asetamid'den daha etkili olduğu gözlemlenmiş olup hipertrofik skar formasyonunu hiçbir cerrahi işlem yapılmamış normal cilde yakın duruma getirdiği gösterilmiştir.

Bir tienopiridin türevi olan LCB 03-0110, immün yanıtta ve inflamatuvar reaksiyonlarda önemli olan birçok tirozin kinazı inhibe etmektedir. Bu bileşiğin, TGF- $\beta$ 1 ve tip I kollajen tarafından indüklenen primer dermal fibroblastların proliferasyonunu ve migrasyonunu bastırdığı gösterilmiştir. Bu sonuç  $\alpha$ -SMA ekspresyonuna karşı olan inhibisyon yeteneğiyle koreledir. Sun ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada tavşan kulaklarında oluşturulan eksizyonel yaralara topikal olarak uygulanan LCB 03-0110'ın, yara kapanma sürecini geciktirmeden iyileşen yaradaki miyofibroblast ve makrofaj hücrelerinin birikimini baskıladığı ve hipertrofik skar oluşumunu azalttığı gösterilmiştir.<sup>254</sup> Çalışmamızda kullanılan Regorafenib'in de benzer etkisi olduğu düşünülmüştür ancak hipertrofik skar üzerindeki etki mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Plastik cerrahlar için hipertrofik skar önemli bir sorundur. Hipertrofik skar tedavisinde hem fonksiyonel hem de estetik sonuçların tatmin edici olması için deneysel ve klinik çalışmalara devam edilmektedir. Literatürde tedavide birçok farmakolojik ajanın araştırıldığı deneysel çalışmalar bulunmaktadır. Biz bu çalışmada hipertrofik skar tedavisinde klinikte yaygın olarak kullanılan ve en önemli ajanlardan biri olan Triamsinolon asetonid ile metastatik kolorektal karsinomla birlikte birçok kanser türünde kullanılan Regorafenib'in etkinliğini araştırdık.

1. Çalışmamızda hipertrofik skarlar ve tedaviler sonrası skarlardaki gerilemeler klinik olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda hipertrofik skarların sert, ciltten kabarık nodüler şekilde olduğu, Triamsinolon asetonid ve Regorafenib gruplarında skarların kontrol grubuna göre daha düz, daha yumuşak ve renklerinin daha soluk olduğu görülmüştür. Sham grubuna en yakın görünümdeki skarların Regorafenib grubunda olduğu gözlemlenmiştir.
2. Çalışmamızda skar elevasyon indeksi değerlendirilmiş olup Triamsinolon asetonid ve Regorafenib gruplarında kontrol grubuna göre SEİ anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Çalışma sonucunda SEİ en düşük grup intralezyonel Triamsinolon asetonid uygulanan grup olmakla birlikte Regorafenib grubu ile arasında anlamlı fark olmaması Regorafenib'in de hipertrofik skarda skar elevasyon indeksini önemli ölçüde düşürdüğünü göstermektedir.
3. Gruplar arasında hafif, orta ve belirgin şiddetli kollajenizasyon karşılaştırıldığında, Regorafenib ve Triamsinolon asetonid gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde kollajen yoğunluğunun azaldığı gösterilmiştir.
4. İmmünohistokimyasal olarak VEGF düzeyleri değerlendirildiğinde Triamsinolon asetonid ve Regorafenib ile tedavi edilen gruplarda VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşük bulunmuştur.
5.  $\alpha$ -SMA düzeyleri ise Regorafenib grubunda, Triamsinolon asetonid ve kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur. Regorafenib grubu ile sham grubu arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür.

## Öneriler;

1. Çalışmamızda Regorafenib sistemik olarak uygulanmış olup sistemik ciddi yan etkileri olabileceğinden topikal veya intralezyonel uygulanabileceği başka deneysel çalışmalar yapılabilir.
2. Bunun yanında doza bağımlı etkinin değerlendirilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.
3. Çalışmamızda Regorafenib hipertrofik skarlar oluşuktan sonra başlanmış olup, cerrahi sonrası profilaktik olarak kullanımına yönelik çalışmalar yapılabilir.
4. Hipertrofik skar ve tümör mikroçevresinde benzer görülen, çalışmamızda değerlendirilememiş olan başka mediyatörler ve biyokimyasal markerların değerlendirilmesi için mevcut çalışma tekrarlanabilir.
5. Çalışmamızda Regorafenib'in hipertrofik skar tedavisinde oldukça etkili olduğu görülmüş olup, patolojik skar spektrumunun en zorlu ucunda yer alan keloid üzerindeki etkisini gözlemlemek için çalışma keloid modeliyle tekrarlanabilir.
6. Vücudun büyük kısmını içine alan geniş derin dermal yanıklı hastalarda hipertrofik skar gelişimi kaçınılmaz olmaktadır. Bu ve benzeri durumlarda hipertrofik skar yönetiminde uygulanan topikal tedaviler yetersiz kalmaktadır. Regorafenib'in sistemik kullanımı bu hastaların tedavi algoritmasında yer alabilir. Endikasyonlar, kontrendikasyonlar ve mevcut yan etkiler göz önüne alınarak geniş derin dermal hasarı olan ve buna bağlı vücut yüzey alanının büyük kısmında hipertrofik skar gelişen hastalarda sistemik tedavi modalitesi olarak Regorafenib'in kullanılabilceği çalışmalar yapılabilir.
7. Çalışmamızda Regorafenib'in hipertrofik skar tedavisinde oldukça etkili olduğu klinik olarak gözlemlenip histopatolojik bulgularla da desteklenmiştir. Ancak uygun tedavi modalitesini geliştirebilmek için farklı modellerde ve farklı dozlarda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Berman B, Flores F.** The treatment of hypertrophic scars and keloids. *European Journal of Dermatology*. **1999**;8(8):591-596.
2. **Wilhelm SM, Dumas J, Adnane L, et al.** Regorafenib (BAY 73-4506): a new oral multikinase inhibitor of angiogenic, stromal and oncogenic receptor tyrosine kinases with potent preclinical antitumor activity. *Int J Cancer*. **2011**;129(1):245-255.
3. **Ettrich TJ, Seufferlein T.** Regorafenib. *Small Molecules in Oncology*. Published online **2018**:45-56.
4. **Gál P, Varinská L, Fáber L, et al.** How signaling molecules regulate tumor microenvironment: parallels to wound repair. *Molecules*. **2017**;22(11):1818.
5. **Breasted JH.** The Edwin Smith Surgical Papyrus: published in facsimile and hieroglyphic transliteration with translation and commentary in two volumes. Published online **1930**.
6. **Omo-Dare P.** Yoruban contributions to the literature on keloids. *J Natl Med Assoc*. **1973**;65(5):367.
7. **Eaglstein WH.** Historical aspects of wound healing. *Basic and clinical dermatology*. **2005**;33:1.
8. **Santoni-Rugiu P, Sykes PJ.** *A History of Plastic Surgery*. Springer Science & Business Media; **2007**.
9. **Forrest RD.** Development of wound therapy from the Dark Ages to the present. *J R Soc Med*. **1982**;75(4):268.
10. **George B, Jeffrey EJ, Christopher EA.** A Brief History of Wound Care Plast. *Reconstr Surg*. Published online **2002**:117-130.
11. **Addison T.** On the Keloid of Alibert, and on True Keloid. *Med Chir Trans*. **1854**;37:27-47. doi:10.1177/095952875403700106
12. **Al-Attar A, Mess S, Thomassen JM, Kauffman CL, Davison SP.** Keloid Pathogenesis and Treatment. *Plastic and Reconstructive Surgery*. **2006**;117(1). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/01000/Keloid\\_Pathogenesis\\_and\\_Treatment.45.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/01000/Keloid_Pathogenesis_and_Treatment.45.aspx)

13. **Alibert JL.** *Description Des Maladies de La Peau: Observées à l'Hôpital Saint-Louis, et Exposition Des Meilleures Méthodes Suivies Pour Leur Traitement.* Vol 2. Auguste Wahlen; **1825.**
14. **Cosman B, Crikelair GF, JU Dmc, Gauln JC, Lattes R.** The surgical treatment of keloids. *Plastic and Reconstructive Surgery.* **1961**;27(4). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/1961/04000/THE\\_SURGICAL\\_TREATMENT\\_OF\\_KELOIDS.1.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/1961/04000/THE_SURGICAL_TREATMENT_OF_KELOIDS.1.aspx)
15. **RE M, JV Q.** Histogenesis of experimentally produced keloids. *The Journal of Investigative Dermatology.* **1962**;38:143-181.
16. **Peacock Jr EE, Madden JW, Trier WC.** Biologic basis for the treatment of keloids and hypertrophic scars. *Plastic and Reconstructive Surgery.* **1973**;51(6):709.
17. **Moues CM, Heule F, Legerstee R, Hovius SE.** Five millennia of wound care products--what is new? A literature review. *Ostomy Wound Manage.* **2009**;55(3):16-18.
18. **Kanitakis J.** Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European journal of dermatology.* **2002**;12(4):390-401.
19. **Kawasumi A, Sagawa N, Hayashi S, Yokoyama H, Tamura K.** Wound healing in mammals and amphibians: toward limb regeneration in mammals. *New Perspectives in Regeneration.* Published online **2012**:33-49.
20. **Wilson PK.** William Cowper's Anatomy of human skin. *International Journal of Dermatology.* **1992**;31(5):361-364. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1992.tb03960.x>
21. **Fenner J, Clark RA.** Anatomy, physiology, histology, and immunohistochemistry of human skin. *Skin tissue engineering and regenerative medicine.* **2016**;1.
22. **Rippa AL, Kalabusheva EP, Vorotelyak EA.** Regeneration of dermis: scarring and cells involved. *Cells.* **2019**;8(6):607.
23. **Baum CL, Arpey CJ.** Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic surgery.* **2005**;31(6):674-686.
24. **Li J, Chen J, Kirsner R.** Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology.* **2007**;25(1):9-18. doi:<https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2006.09.007>
25. **Li J, Chen J, Kirsner R.** Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.* **2007**;25(1):9-18.

26. **Broughton GII, Janis JE, Attinger CE.** The Basic Science of Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*. **2006**;117(7S). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/06001/The\\_Basic\\_Science\\_of\\_Wound\\_Healing.5.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/06001/The_Basic_Science_of_Wound_Healing.5.aspx)
  
27. **Jurk K, Kehrel BE.** Platelets: physiology and biochemistry. In: *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. Vol 31. Copyright© **2005** by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New ...; 2005:381-392.
  
28. **Strecker-McGraw MK, Jones TR, Baer DG.** Soft Tissue Wounds and Principles of Healing. *Emergency Medicine Clinics of North America*. **2007**;25(1):1-22. doi:<https://doi.org/10.1016/j.emc.2006.12.002>
  
29. **Broughton GII, Janis JE, Attinger CE.** The Basic Science of Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*. **2006**;117(7S). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/06001/The\\_Basic\\_Science\\_of\\_Wound\\_Healing.5.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/06001/The_Basic_Science_of_Wound_Healing.5.aspx)
  
30. **Janeway Jr CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ.** The complement system and innate immunity. In: *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th Edition*. Garland Science; **2001**.
  
31. **Bevilacqua MP, Pober JS, Wheeler ME, Cotran RS, Gimbrone MA.** Interleukin 1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines. *J Clin Invest*. **1985**;76(5):2003-2011.
  
32. **Pohlman TH, Stanness KA, Beatty PG, Ochs HD, Harlan JM.** An endothelial cell surface factor (s) induced in vitro by lipopolysaccharide, interleukin 1, and tumor necrosis factor-alpha increases neutrophil adherence by a CDw18-dependent mechanism. *The Journal of Immunology*. **1986**;136(12):4548-4553.
  
33. **Baum CL, Arpey CJ.** Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic surgery*. **2005**;31(6):674-686.
  
34. **Yager DR, Nwomeh BC.** The proteolytic environment of chronic wounds. *Wound Repair and Regeneration*. **1999**;7(6):433-441.
  
35. **Yager DR, Nwomeh BC.** The proteolytic environment of chronic wounds. *Wound Repair and Regeneration*. **1999**;7(6):433-441.
  
36. **Simpson DM, Ross R.** The neutrophilic leukocyte in wound repair: a study with antineutrophil serum. *J Clin Invest*. **1972**;51(8):2009-2023.
  
37. **Werner S, Grose R.** Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*. **2003**;83(3):835-870.

38. **Witte MB, Barbul A.** Role of nitric oxide in wound repair. *The American Journal of Surgery*. **2002**;183(4):406-412.
39. **Goldman R.** Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Adv Skin Wound Care*. **2004**;17(1):24-35.
40. **Snyder RJ, Lantis J, Kirsner RS, Shah V, Molyneaux M, Carter MJ.** Macrophages: a review of their role in wound healing and their therapeutic use. *Wound Repair and Regeneration*. **2016**;24(4):613-629.
41. **Schäffer M, Barbul A.** Lymphocyte function in wound healing and following injury. *British journal of surgery*. **1998**;85(4):444-460.
42. **Hart J.** Inflammation 1: its role in the healing of acute wounds. *J Wound Care*. **2002**;11(6):205-209.
43. **George Broughton II, Janis JE, Attinger CE.** The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg*. **2006**;117(7S):12S-34S.
44. **Baum CL, Arpey CJ.** Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic surgery*. **2005**;31(6):674-686.
45. **Clark RAF.** Regulation of Fibroplasia in Cutaneous Wound Repair. *The American Journal of the Medical Sciences*. **1993**;306(1):42-48. doi:<https://doi.org/10.1097/00000441-199307000-00011>
46. **Desmoulière A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G.** Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol*. **1993**;122(1):103-111.
47. **Ehrlich HP, Krummel TM.** Regulation of wound healing from a connective tissue perspective. *Wound repair and regeneration*. **1996**;4(2):203-210.
48. **Regan MC, Kirk SJ, Wasserkrug HL, Barbul A.** The wound environment as a regulator of fibroblast phenotype. *Journal of Surgical Research*. **1991**;50(5):442-448.
49. **Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A.** Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem*. **1991**;45(4):319-326.
50. **Goldman R.** Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Adv Skin Wound Care*. **2004**;17(1):24-35.
51. **Yang CC, Lin SD, Yu HS.** Effect of growth factors on dermal fibroblast contraction in normal skin and hypertrophic scar. *J Dermatol Sci*. **1997**;14(2):162-169.

52. **Greenhalgh DG.** The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol.* **1998**;30(9):1019-1030.
53. **Grotendorst GR, Soma Y, Takehara K, Charette M.** EGF and TGF-alpha are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptides are present at sites of tissue regeneration. *J Cell Physiol.* **1989**;139(3):617-623.
54. **Lawrence WT, Diegelmann RF.** Growth factors in wound healing. *Clin Dermatol.* **1994**;12(1):157-169.
55. **Smola H, Thiekötter G, Fusenig NE.** Mutual induction of growth factor gene expression by epidermal-dermal cell interaction. *J Cell Biol.* **1993**;122(2):417-429.
56. **Xia Y, Zhao Y, Marcus J, et al.** Effects of keratinocyte growth factor-2 (KGF-2) on wound healing in an ischaemia-impaired rabbit ear model and on scar formation. *J Pathol.* **1999**;188(4):431-438.
57. **Jimenez PA, Rampy MA.** Keratinocyte growth factor-2 accelerates wound healing in incisional wounds. *Journal of Surgical Research.* **1999**;81(2):238-242.
58. **Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al.** Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science (1979).* **1997**;275(5302):964-966.
59. **Li J, Chen J, Kirsner R.** Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.* **2007**;25(1):9-18.
60. **Witte MB, Barbul A.** Role of nitric oxide in wound repair. *The American Journal of Surgery.* **2002**;183(4):406-412.
61. **Scott PG, Dodd CM, Tredget EE, Ghahary A, Rahemtulla F.** Chemical characterization and quantification of proteoglycans in human post-burn hypertrophic and mature scars. *Clin Sci.* **1996**;90(5):417-425.
62. **Abercrombie M, Flint MH, James DW.** Wound contraction in relation to collagen formation in scorbutic guinea-pigs. Published online **1956**.
63. **Visse R, Nagase H.** Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* **2003**;92(8):827-839.
64. **Lee JYY, Yang CC, Chao SC, Wong TW.** Histopathological differential diagnosis of keloid and hypertrophic scar. *The American journal of dermatopathology.* **2004**;26(5):379-384.
65. **Macintyre L, Baird M.** Pressure garments for use in the treatment of hypertrophic scars—a review of the problems associated with their use. *Burns.* **2006**;32(1):10-15.

66. **Rockwell WB, Cohen IK, Ehrlich HP.** Keloids and hypertrophic scars: a comprehensive review. *Plast Reconstr Surg.* **1989**;84(5):827-837.
67. **Muir IFK.** On the nature of keloid and hypertrophic scars. *Br J Plast Surg.* **1990**;43(1):61-69.
68. **Muir IFK.** On the nature of keloid and hypertrophic scars. *Br J Plast Surg.* **1990**;43(1):61-69.
69. **Murray JC.** Keloids and hypertrophic scars. *Clin Dermatol.* **1994**;12(1):27-37.
70. **Al-Attar A, Mess S, Thomassen JM, Kauffman CL, Davison SP.** Keloid Pathogenesis and Treatment. *Plastic and Reconstructive Surgery.* **2006**;117(1). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/01000/Keloid\\_Pathogenesis\\_and\\_Treatment.45.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/01000/Keloid_Pathogenesis_and_Treatment.45.aspx)
71. **Safonov I.** *Atlas of Scar Treatment and Correction.* Springer Science & Business Media; **2012.**
72. **Matsumura H, Engrav LH, Gibran NS, et al.** Cones of skin occur where hypertrophic scar occurs. *Wound Repair and Regeneration.* **2001**;9(4):269-277.
73. **Téot L.** Scar evaluation and management: recommendations. *Journal of Tissue Viability.* **2005**;15(4):6-14. doi:[https://doi.org/10.1016/S0965-206X\(05\)54001-4](https://doi.org/10.1016/S0965-206X(05)54001-4)
74. **Li J, Wang J, Wang Z, et al.** Experimental models for cutaneous hypertrophic scar research. *Wound Repair and Regeneration.* **2020**;28(1):126-144.
75. **Bayat A, McGrouther DA, Ferguson MWJ.** Skin scarring. *Bmj.* **2003**;326(7380):88-92.
76. **Cooke GL, Chien A, Brodsky A, Lee RC.** Incidence of hypertrophic scars among African Americans linked to vitamin D-3 metabolism? *J Natl Med Assoc.* **2005**;97(7):1004-1009. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16080671>
77. **Zhu Z, Ding J, Shankowsky HA, Tredget EE.** The molecular mechanism of hypertrophic scar. *J Cell Commun Signal.* **2013**;7(4):239-252.
78. **Yu H, Zitron S, Bayat A, Ferguson MWJ, Mrowietz U.** Studies of transforming growth factors beta 1–3 and their receptors I and II in fibroblast of keloids and hypertrophic scars. *Acta Derm Venereol.* **2005**;85(3):216-220.
79. **Tredget EE, Shankowsky HA, Pannu R, et al.** Transforming growth factor- $\beta$  in thermally injured patients with hypertrophic scars: effects of interferon  $\alpha$ -2b. *Plast Reconstr Surg.* **1998**;102(5):1317-1328.

80. **Shah M, Foreman DM, Ferguson MW.** Neutralising antibody to TGF-beta 1, 2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. *J Cell Sci.* **1994**;107(5):1137-1157.
81. **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(3):985-1002.
82. **Yu H, Bock O, Bayat A, Ferguson MWJ, Mrowietz U.** Decreased expression of inhibitory SMAD6 and SMAD7 in keloid scarring. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery.* **2006**;59(3):221-229.
83. **Colwell AS, Phan TT, Kong W, Longaker MT, Lorenz PH.** Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor- $\beta$  stimulation. *Plast Reconstr Surg.* **2005**;116(5):1387-1390.
84. **Scott PG, Dodd CM, Tredget EE, Ghahary A, Rahemtulla F.** Immunohistochemical localization of the proteoglycans decorin, biglycan and versican and transforming growth factor- $\beta$  in human post-burn hypertrophic and mature scars. *Histopathology.* **1995**;26(5):423-431.
85. **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(3):985-1002.
86. **Ghahary A, Shen YJ, Nedelec B, Wang R, Scott PG, Tredget EE.** Collagenase production is lower in post-burn hypertrophic scar fibroblasts than in normal fibroblasts and is reduced by insulin-like growth factor-1. *Journal of Investigative Dermatology.* **1996**;106(3):476-481.
87. **Nedelec B, Shankowsky H, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE.** Myofibroblasts and apoptosis in human hypertrophic scars: The effect of interferon- $\alpha$ 2b. *Surgery.* **2001**;130(5):798-808.
88. **Cohly HHP, Scott H, Ndebele K, Jenkins JK, Angel MF.** Differential gene expression of fibroblasts: keloid versus normal. *International Journal of Molecular Sciences.* **2002**;3(11):1162-1176.
89. **Zhang J lin, Lin Z hao, Jiang H, et al.** [The dynamic expression of TNF-alpha mRNA of hypertrophic scars and its roles]. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi.* **2004**;20(1):57-59. <http://europepmc.org/abstract/MED/15131869>
90. **Zhu Z, Ding J, Shankowsky HA, Tredget EE.** The molecular mechanism of hypertrophic scar. *J Cell Commun Signal.* **2013**;7(4):239-252.
91. **Dunkin CSJ, Pleat JM, Gillespie PH, Tyler MPH, Roberts AHN, McGrouther DA.** Scarring occurs at a critical depth of skin injury: precise measurement in a graduated dermal scratch in human volunteers. *Plast Reconstr Surg.* **2007**;119(6):1722-1732.

92. **Scott PG, Ghahary A, Tredget EE.** Molecular and cellular aspects of fibrosis following thermal injury. *Hand Clinics*. **2000**;16(2):271-287.
93. **Nedelec B, Shankowsky H, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE.** Myofibroblasts and apoptosis in human hypertrophic scars: The effect of interferon- $\alpha$ 2b. *Surgery*. **2001**;130(5):798-808.
94. **Chakraborti S, Mandal M, Das S, Mandal A, Chakraborti T.** Regulation of matrix metalloproteinases: an overview. *Mol Cell Biochem*. **2003**;253(1):269-285.
95. **Saito S, Trovato MJ, You R, et al.** Role of matrix metalloproteinases 1, 2, and 9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in chronic venous insufficiency. *J Vasc Surg*. **2001**;34(5):930-938.
96. **Stamenkovic I.** Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. **2003**;200(4):448-464.
97. **Lichtinghagen R, Michels D, Haberkorn CI, et al.** Matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-7, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are closely related to the fibroproliferative process in the liver during chronic hepatitis C. *J Hepatol*. **2001**;34(2):239-247.
98. **Desmoulière A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G.** Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol*. **1993**;122(1):103-111.
99. **Eto H, Suga H, Aoi N, et al.** Therapeutic potential of fibroblast growth factor-2 for hypertrophic scars: upregulation of MMP-1 and HGF expression. *Laboratory investigation*. **2012**;92(2):214-223.
100. **Sawicki G, Marcoux Y, Sarkhosh K, Tredget EE, Ghahary A.** Interaction of keratinocytes and fibroblasts modulates the expression of matrix metalloproteinases-2 and-9 and their inhibitors. *Mol Cell Biochem*. **2005**;269(1):209-216.
101. **Ulrich D, Noah EM, von Heimburg D, Pallua N.** TIMP-1, MMP-2, MMP-9, and PIINP as serum markers for skin fibrosis in patients following severe burn trauma. *Plast Reconstr Surg*. **2003**;111(4):1423-1431.
102. **Tanriverdi-Akhisaroglu S, Menderes A, Oktay G.** Matrix metalloproteinase-2 and-9 activities in human keloids, hypertrophic and atrophic scars: a pilot study. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*. **2009**;27(2):81-87.
103. **Simon F, Bergeron D, Larochelle S, et al.** Enhanced secretion of TIMP-1 by human hypertrophic scar keratinocytes could contribute to fibrosis. *Burns*. **2012**;38(3):421-427.

104. **Wynn TA.** Fibrotic disease and the TH1/TH2 paradigm. *Nature Reviews Immunology*. **2004**;4(8):583-594.
105. **Davis PA, Corless DJ, Aspinall R, Wastell C.** Effect of CD4+ and CD8+ cell depletion on wound healing. *British journal of surgery*. **2001**;88(2):298-304.
106. **Castagnoli C, Stella M, Magliacani G.** Role of T-lymphocytes and cytokines in post-burn hypertrophic scars. *Wound repair and regeneration*. **2002**;10(2):107-108.
107. **O'Sullivan ST, Lederer JA, Horgan AF, Chin DH, Mannick JA, Rodrick ML.** Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection. *Ann Surg*. **1995**;222(4):482.
108. **Kilani RT, Delehanty M, Shankowsky HA, Ghahary A, Scott P, Tredget EE.** Fluorescent-activated cell-sorting analysis of intracellular interferon- $\gamma$  and interleukin-4 in fresh and frozen human peripheral blood T-helper cells. *Wound repair and regeneration*. **2005**;13(4):441-449.
109. **Tredget EE, Yang L, Delehanty M, Shankowsky H, Scott PG.** Polarized Th2 cytokine production in patients with hypertrophic scar following thermal injury. *Journal of interferon & cytokine research*. **2006**;26(3):179-189.
110. **Fernandez EJ, Lolis E.** Structure, function, and inhibition of chemokines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. **2002**;42(1):469-499.
111. **Balkwill F.** Cancer and the chemokine network. *Nature Reviews Cancer*. **2004**;4(7):540-550.
112. **Xu J, Mora A, Shim H, Stecenko A, Brigham KL, Rojas M.** Role of the SDF-1/CXCR4 axis in the pathogenesis of lung injury and fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. **2007**;37(3):291-299.
113. **Avniel S, Arik Z, Maly A, et al.** Involvement of the CXCL12/CXCR4 pathway in the recovery of skin following burns. *Journal of Investigative Dermatology*. **2006**;126(2):468-476.
114. **Ding J, Hori K, Zhang R, et al.** Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) and its receptor CXCR 4 in the formation of postburn hypertrophic scar (HTS). *Wound Repair and Regeneration*. **2011**;19(5):568-578.
115. **Wang J, Jiao H, Stewart TL, Shankowsky HA, Scott PG, Tredget EE.** Increased TGF- $\beta$ -producing CD4+ T lymphocytes in postburn patients and their potential interaction with dermal fibroblasts in hypertrophic scarring. *Wound repair and regeneration*. **2007**;15(4):530-539.
116. **Gharaee-Kermani M, Denholm EM, Phan SH.** Costimulation of fibroblast collagen and transforming growth factor  $\beta$ 1 gene expression by monocyte chemoattractant protein-1 via specific receptors. *Journal of Biological Chemistry*. **1996**;271(30):17779-17784.

117. **Ferreira AM, Takagawa S, Fresco R, Zhu X, Varga J, DiPietro LA.** Diminished induction of skin fibrosis in mice with MCP-1 deficiency. *Journal of Investigative Dermatology.* **2006**;126(8):1900-1908.
118. **Liao W, Yu H, Arbiser JL, et al.** Enhanced MCP-1 release by keloid CD14+ cells augments fibroblast proliferation: role of MCP-1 and Akt pathway in keloids. *Exp Dermatol.* **2010**;19(8):e142-e150.
119. **Wang J, Hori K, Ding J, et al.** Toll-like receptors expressed by dermal fibroblasts contribute to hypertrophic scarring. *J Cell Physiol.* **2011**;226(5):1265-1273.
120. **Ghahary A, Shen YJ, Nedelec B, Scott PG, Tredget EE.** Interferons gamma and alpha-2b differentially regulate the expression of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 messenger RNA in human hypertrophic and normal dermal fibroblasts. *Wound Repair and Regeneration.* **1995**;3(2):176-184.
121. **Tredget EE, Shankowsky HA, Pannu R, et al.** Transforming growth factor- $\beta$  in thermally injured patients with hypertrophic scars: effects of interferon  $\alpha$ -2b. *Plast Reconstr Surg.* **1998**;102(5):1317-1328.
122. **Wang J, Chen H, Shankowsky HA, Scott PG, Tredget EE.** Improved scar in postburn patients following interferon- $\alpha$ 2b treatment is associated with decreased angiogenesis mediated by vascular endothelial cell growth factor. *Journal of Interferon & Cytokine Research.* **2007**;28(7):423-434.
123. **Ding J, Hori K, Zhang R, et al.** Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) and its receptor CXCR 4 in the formation of postburn hypertrophic scar (HTS). *Wound Repair and Regeneration.* **2011**;19(5):568-578.
124. **Rockwell WB, Cohen IK, Ehrlich HP.** Keloids and hypertrophic scars: a comprehensive review. *Plast Reconstr Surg.* **1989**;84(5):827-837.
125. **Luo S, Benathan M, Raffoul W, Panizzon RG, Egloff DV.** Abnormal balance between proliferation and apoptotic cell death in fibroblasts derived from keloid lesions. *Plast Reconstr Surg.* **2001**;107(1):87-96.
126. **Tuan TL, Zhu JY, Sun B, Nichter LS, Nimni ME, Laug WE.** Elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 may account for the altered fibrinolysis by keloid fibroblasts. *Journal of investigative dermatology.* **1996**;106(5):1007-1011.
127. **Diegelmann RF, Bryant CP, Cohen IK.** Tissue alpha-globulins in keloid formation. *Plast Reconstr Surg.* **1977**;59(3):418-423.
128. **Uchida G, Yoshimura K, Kitano Y, Okazaki M, Harii K.** Tretinoin reverses upregulation of matrix metalloproteinase-13 in human keloid-derived fibroblasts. *Exp Dermatol.* **2003**;12:35-42.

129. **Courtiss EH, Longacre JJ, Destefano GA, Brizio L, Holmstrand KAJ.** The placement of elective skin incisions. *Plast Reconstr Surg.* **1963**;31(1):31-44.
130. **Reiffel RS.** Prevention of hypertrophic scars by long-term paper tape application. *Plast Reconstr Surg.* **1995**;96(7):1715-1718.
131. **Anate M.** Skin closure of laparotomy wounds: absorbable subcuticular sutures vs. non-absorbable interrupted sutures. *West African Journal of Medicine.* **1991**;10(2):150-157.
132. **Al-Attar A, Mess S, Thomassen JM, Kauffman CL, Davison SP.** Keloid pathogenesis and treatment. *Plast Reconstr Surg.* **2006**;117(1):286-300.
133. **Alhady SMA, Sivanantharajah K.** Keloids in various races a review of 175 cases. *Plast Reconstr Surg.* **1969**;44(6):564-566.
134. **Placik OJ, Lewis Jr VL.** Immunologic associations of keloids. *Surg Gynecol Obstet.* **1992**;175(2):185-193.
135. **Smith CJ, Smith JC, Finn MC.** The possible role of mast cells (allergy) in the production of keloid and hypertrophic scarring. *J Burn Care Rehabil.* **1987**;8(2):126-131.
136. **Niessen FB, Spauwen PH, Kon M.** The role of suture material in hypertrophic scar formation: Monocryl vs. Vicryl-rapide. *Ann Plast Surg.* **1997**;39(3):254-260.
137. **Shetlar MR, Shetlar CL, Hendricks L, Kischer CW.** The use of athymic nude mice for the study of human keloids. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* **1985**;179(4):549-552.
138. **Estrem SA, Domayer M, Bardach J, Cram AE.** Implantation of human keloid into athymic mice. *Laryngoscope.* **1987**;97(10):1214-1218.
139. **Waki EY, Crumley RL, Jakowatz JG.** Effects of pharmacologic agents on human keloids implanted in athymic mice: A pilot study. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery.* **1991**;117(10):1177-1181.
140. **Fong EP, Bay BH.** Keloids—the sebum hypothesis revisited. *Med Hypotheses.* **2002**;58(4):264-269.
141. **Mustoe TA, Cooter RD, Gold MH, et al.** International clinical recommendations on scar management. *Plast Reconstr Surg.* **2002**;110(2):560-571.
142. **Teot L.** Scar evaluation and management: recommendations. *J Tissue Viability.* **2005**;15(4):6-14.

143. **Darzi MA, Chowdri NA, Kaul SK, Khan M.** Evaluation of various methods of treating keloids and hypertrophic scars: a 10-year follow-up study. *Br J Plast Surg.* **1992**;45(5):374-379.
144. **Thomas JR, Prendiville S.** Update in scar revision. *Facial Plastic Surgery Clinics.* **2002**;10(1):103-111.
145. **Melis P, van Noorden CJF, van der Horst CMAM.** Long-term results of wounds closed under a significant amount of tension. *Plastic and Reconstructive Surgery.* **2006**;117(1):259-265.
146. **Téot L.** Scar evaluation and management: recommendations. *Journal of Tissue Viability.* **2005**;15(4):6-14. doi:[https://doi.org/10.1016/S0965-206X\(05\)54001-4](https://doi.org/10.1016/S0965-206X(05)54001-4)
147. **Boyadjiev C, Popchristova E, Mazgalova J.** Histomorphologic changes in keloids treated with Kenacort. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery.* **1995**;38(2):299-302.
148. **Wolfram D, Tzankov A, Pülzl P, Piza-Katzer H.** Hypertrophic scars and keloids—a review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management. *Dermatologic surgery.* **2009**;35(2):171-181.
149. **Niessen FB, Spauwen PHM, Schalkwijk J, Kon M.** On the nature of hypertrophic scars and keloids: a review. *Plast Reconstr Surg.* **1999**;104(5):1435-1458.
150. **Cha HW, Jung HJ, Lim HJ, Lee SJ, Kim DW, Lee WJ.** The Efficacy of Complete Surgical Excision of Keloid and Piercing Sinus Tract on Earlobe Keloid. *ad.* **2013**;25(3):370-373. doi:10.5021/ad.2013.25.3.370
151. **Berman B, Bieleley HC.** Adjunct therapies to surgical management of keloids. *Dermatologic surgery.* **1996**;22(2):126-130.
152. **Carroll LA, Hanasono MM, Mikulec AA, Kita M, Koch RJ.** Triamcinolone stimulates bFGF production and inhibits TGF- $\beta$ 1 production by human dermal fibroblasts. *Dermatologic surgery.* **2002**;28(8):704-709.
153. **Carroll LA, Hanasono MM, Mikulec AA, Kita M, Koch RJ.** Triamcinolone stimulates bFGF production and inhibits TGF- $\beta$ 1 production by human dermal fibroblasts. *Dermatologic surgery.* **2002**;28(8):704-709.
154. **Niessen FB, Spauwen PHM, Schalkwijk J, Kon M.** On the Nature of Hypertrophic Scars and Keloids: A Review. *Plastic and Reconstructive Surgery.* **1999**;104(5). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/1999/10000/On\\_the\\_Nature\\_of\\_Hypertrophic\\_Scars\\_and\\_Keloids\\_\\_A.31.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/1999/10000/On_the_Nature_of_Hypertrophic_Scars_and_Keloids__A.31.aspx)
155. **Zurada JM, Kriegel D, Davis IC.** Topical treatments for hypertrophic scars. *J Am Acad Dermatol.* **2006**;55(6):1024-1031. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2006.03.022>

156. **Gauglitz GG, Korting HC, Pavicic T, Ruzicka T, Jeschke MG.** Hypertrophic Scarring and Keloids: Pathomechanisms and Current and Emerging Treatment Strategies. *Molecular Medicine*. **2011**;17(1):113-125. doi:10.2119/molmed.2009.00153
157. **Dockery GL, Nilson RZ.** Treatment of hypertrophic and keloid scars with SILASTIC Gel Sheeting. *J Foot Ankle Surg*. **1994**;33(2):110-119. <http://europepmc.org/abstract/MED/7912605>
158. **Poston J.** The use of silicone gel sheeting in the management of hypertrophic and keloid scars. *Journal of Wound Care*. **2000**;9(1):10-16. doi:10.12968/jowc.2000.9.1.26342
159. **Kim S, Choi TH, Liu W, Ogawa R, Suh JS, Mustoe TA.** Update on Scar Management: Guidelines for Treating Asian Patients. *Plastic and Reconstructive Surgery*. **2013**;132(6). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2013/12000/Update\\_on\\_Scar\\_Management\\_\\_Guidelines\\_for\\_Treating.34.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2013/12000/Update_on_Scar_Management__Guidelines_for_Treating.34.aspx)
160. **Murray JC.** Scars and Keloids. *Dermatologic Clinics*. **1993**;11(4):697-708. doi:[https://doi.org/10.1016/S0733-8635\(18\)30222-5](https://doi.org/10.1016/S0733-8635(18)30222-5)
161. **Gauglitz GG, Korting HC, Pavicic T, Ruzicka T, Jeschke MG.** Hypertrophic Scarring and Keloids: Pathomechanisms and Current and Emerging Treatment Strategies. *Molecular Medicine*. **2011**;17(1):113-125. doi:10.2119/molmed.2009.00153
162. 10513931 (3).
163. **Kischer CW, Shetlar MR, Shetlar CL.** Alteration of Hypertrophic Scars Induced by Mechanical Pressure. *Archives of Dermatology*. **1975**;111(1):60-64. doi:10.1001/archderm.1975.01630130062006
164. **Sawada Y.** Alterations in Pressure under Elastic Bandages: Experimental and Clinical Evaluation. *The Journal of Dermatology*. **1993**;20(12):767-772. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.1993.tb01381.x>
165. **Téot L.** Scar evaluation and management: recommendations. *Journal of Tissue Viability*. **2005**;15(4):6-14. doi:[https://doi.org/10.1016/S0965-206X\(05\)54001-4](https://doi.org/10.1016/S0965-206X(05)54001-4)
166. **Mustoe TA, Cooter RD, Gold MH, et al.** International clinical recommendations on scar management. *Plast Reconstr Surg*. **2002**;110(2):560-571.
167. **Naylor MC, Brissett AE.** Current concepts in the etiology and treatment of keloids. *Facial Plastic Surgery*. **2012**;28(05):504-512.
168. **Luo S, Benathan M, Raffoul W, Panizzon RG, Egloff DV.** Abnormal balance between proliferation and apoptotic cell death in fibroblasts derived from keloid lesions. *Plast Reconstr Surg*. **2001**;107(1):87-96.

169. **Zainib M, Amin NP.** Radiation therapy in the treatment of keloids. In: *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing; 2020.
170. **Al-Attar A, Mess S, Thomassen JM, Kauffman CL, Davison SP.** Keloid Pathogenesis and Treatment. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006;117(1). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/01000/Keloid\\_Pathogenesis\\_and\\_Treatment.45.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/01000/Keloid_Pathogenesis_and_Treatment.45.aspx)
171. **Botwood N, Lewanski C, Lowdell C.** The risks of treating keloids with radiotherapy. *The British Journal of Radiology*. 1999;72(864):1222-1224.
172. **Dinh Q, Veness M, Richards S.** Role of adjuvant radiotherapy in recurrent earlobe keloids. *Australasian journal of dermatology*. 2004;45(3):162-166.
173. **George Broughton II, Janis JE, Attinger CE.** Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117(7S):1e-S.
174. **Norris JE.** The effect of carbon dioxide laser surgery on the recurrence of keloids. *Plast Reconstr Surg*. 1991;87(1):44-49.
175. **Lee KK, Mehrany K, Swanson NA.** Surgical revision. *Dermatol Clin*. 2005;23(1):141-150.
176. **Zouboulis CC, Rosenberger AD, Forster T, Beller G, Kratzsch M, Felsenberg D.** Modification of a device and its application for intralesional cryosurgery of old recalcitrant keloids. *Arch Dermatol*. 2004;140(10):1293-1294.
177. **Gauglitz GG, Korting HC, Pavicic T, Ruzicka T, Jeschke MG.** Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Molecular medicine*. 2011;17(1):113-125.
178. **Naylor MC, Brissett AE.** Current concepts in the etiology and treatment of keloids. *Facial Plastic Surgery*. 2012;28(05):504-512.
179. **Berman B, Villa A.** Imiquimod 5% cream for keloid management. *Dermatologic surgery*. 2003;29(10):1050-1051.
180. **Prado A, Andrades P, Benitez S, Umaña M.** Scar management after breast surgery: preliminary results of a prospective, randomized, and double-blind clinical study with aldera cream 5% (imiquimod). *Plast Reconstr Surg*. 2005;115(3):966-972.
181. **Robles DT, Berg D.** Abnormal wound healing: keloids. *Clin Dermatol*. 2007;25(1):26-32.

182. **Al-Attar A, Mess S, Thomassen JM, Kauffman CL, Davison SP.** Keloid Pathogenesis and Treatment. *Plastic and Reconstructive Surgery*. **2006**;117(1). [https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/01000/Keloid\\_Pathogenesis\\_and\\_Treatment.45.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/Fulltext/2006/01000/Keloid_Pathogenesis_and_Treatment.45.aspx)
183. **Zurada JM, Kriegel D, Davis IC.** Topical treatments for hypertrophic scars. *J Am Acad Dermatol*. **2006**;55(6):1024-1031.
184. **Khaw PT, Sherwood MB, MacKay SLD, Rossi MJ, Schultz G.** Five-minute treatments with fluorouracil, floxuridine, and mitomycin have long-term effects on human Tenon's capsule fibroblasts. *Archives of Ophthalmology*. **1992**;110(8):1150-1154.
185. **Wolfram D, Tzankov A, Pülzl P, Piza-Katzer H.** Hypertrophic scars and keloids—a review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management. *Dermatologic surgery*. **2009**;35(2):171-181.
186. **Occleston NL, Daniels JT, Tarnuzzer RW, et al.** Single exposures to antiproliferatives: long-term effects on ocular fibroblast wound-healing behavior. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. **1997**;38(10):1998-2007.
187. **Berman B, Bieleley HC.** Keloids. *J Am Acad Dermatol*. **1995**;33(1):117-123.
188. **Nyska M, Porat S, Nyska A, Rousso M, Shoshan S.** Decreased adhesion formation in flexor tendons by topical application of enriched collagen solution—a histological study. *Archives of orthopaedic and traumatic surgery*. **1987**;106(3):192-194.
189. **Lu L, Saulis AS, Liu WR, et al.** The temporal effects of anti-TGF- $\beta$ 1, 2, and 3 monoclonal antibody on wound healing and hypertrophic scar formation. *J Am Coll Surg*. **2005**;201(3):391-397.
190. **Goel G.** Evolution of regorafenib from bench to bedside in colorectal cancer: Is it an attractive option or merely a “me too” drug? *Cancer Manag Res*. **2018**;10:425-437. doi:10.2147/CMAR.S88825
191. **Wilhelm SM, Dumas J, Adnane L, et al.** Regorafenib (BAY 73-4506): A new oral multikinase inhibitor of angiogenic, stromal and oncogenic receptor tyrosine kinases with potent preclinical antitumor activity. *International Journal of Cancer*. **2011**;129(1):245-255. doi:<https://doi.org/10.1002/ijc.25864>
192. **Grothey A, van Cutsem E, Sobrero A, et al.** Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. **2013**;381(9863):303-312.

193. **Grothey A, Cutsem E van, Sobrero A, et al.** Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. **2013**;381(9863):303-312. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61900-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61900-X)
194. **Belum VR, Wu S, Lacouture ME.** Risk of hand-foot skin reaction with the novel multikinase inhibitor regorafenib: a meta-analysis. *Investigational New Drugs*. **2013**;31(4):1078-1086. doi:10.1007/s10637-013-9977-0
195. **George S, Wang Q, Heinrich MC, et al.** Efficacy and safety of regorafenib in patients with metastatic and/or unresectable GI stromal tumor after failure of imatinib and sunitinib: a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol*. **2012**;30(19):2401-2407. doi:10.1200/JCO.2011.39.9394
196. **Koc E, Arca E, Surucu B, Kurumlu Z.** An open, randomized, controlled, comparative study of the combined effect of intralesional triamcinolone acetonide and onion extract gel and intralesional triamcinolone acetonide alone in the treatment of hypertrophic scars and keloids. *Dermatologic Surgery*. **2008**;34(11):1507-1514.
197. **Leventhal D, Furr M, Reiter D.** Treatment of keloids and hypertrophic scars. *Arch Facial Plast Surg*. Published online **2006**.
198. **Morris DE, Wu L, Zhao LL, et al.** Acute and chronic animal models for excessive dermal scarring: quantitative studies. *Plast Reconstr Surg*. **1997**;100(3):674-681.
199. **Huang J, Zhou X, Xia L, et al.** Inhibition of hypertrophic scar formation with oral asiaticoside treatment in a rabbit ear scar model. *International Wound Journal*. **2021**;18(5):598-607.
200. **Reinke JM, Sorg H.** Wound repair and regeneration. *European surgical research*. **2012**;49(1):35-43.
201. **Miller MC, Nanchahal J.** Advances in the modulation of cutaneous wound healing and scarring. *BioDrugs*. **2005**;19(6):363-381.
202. **Werner S, Grose R.** Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*. **2003**;83(3):835-870.
203. **Tredget EE.** Pathophysiology and treatment of fibroproliferative disorders following thermal injury. *Ann N Y Acad Sci*. **1999**;888(1):165-182.
204. **Armour A, Scott PG, Tredget EE.** Cellular and molecular pathology of HTS: basis for treatment. *Wound Repair and Regeneration*. **2007**;15:S6-S17.
205. **Tredget EE, Nedelec B, Scott PG, Ghahary A.** Hypertrophic scars, keloids, and contractures: the cellular and molecular basis for therapy. *Surgical Clinics of North America*. **1997**;77(3):701-730.

206. **Wang J, Ding J, Jiao H, et al.** Human hypertrophic scar-like nude mouse model: characterization of the molecular and cellular biology of the scar process. *Wound repair and regeneration*. **2011**;19(2):274-285.
207. **Honardoust D, Varkey M, Marcoux Y, Shankowsky HA, Tredget EE.** Reduced decorin, fibromodulin, and transforming growth factor- $\beta$ 3 in deep dermis leads to hypertrophic scarring. *Journal of Burn Care & Research*. **2012**;33(2):218-227.
208. **Forbes-Duchart L, Cooper J, Nedelec B, Ross L, Quanbury A.** Burn therapists' opinion on the application and essential characteristics of a burn scar outcome measure. *Journal of burn care & research*. **2009**;30(5):792-800.
209. **España A, Solano T, Quintanilla E.** Bleomycin in the treatment of keloids and hypertrophic scars by multiple needle punctures. *Dermatologic Surgery*. **2001**;27(1):23-27.
210. **Dudkiewicz I, Brosh T, Perelman M, Salai M.** Colchicine inhibits fracture union and reduces bone strength—in vivo study. *Journal of orthopaedic research*. **2005**;23(4):877-881.
211. **Lee RC, Doong H, Jellema AF.** The response of burn scars to intralesional verapamil: Report of five cases. *Archives of Surgery*. **1994**;129(1):107-111.
212. **Manuskiatti W, Fitzpatrick RE.** Treatment response of keloidal and hypertrophic sternotomy scars: comparison among intralesional corticosteroid, 5-fluorouracil, and 585-nm flashlamp-pumped pulsed-dye laser treatments. *Arch Dermatol*. **2002**;138(9):1149-1155.
213. **Garner WL.** Epidermal regulation of dermal fibroblast activity. *Plast Reconstr Surg*. **1998**;102(1):135-139.
214. **Hillmer MP, MacLeod SM.** Experimental keloid scar models: a review of methodological issues. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery: Incorporating Medical and Surgical Dermatology*. **2002**;6(4):354-359.
215. **Tuan TL, Nichter LS.** The molecular basis of keloid and hypertrophic scar formation. *Mol Med Today*. **1998**;4(1):19-24.
216. **Su CW, Alizadeh K, Boddie A, Lee RC.** The problem scar. *Clin Plast Surg*. **1998**;25(3):451-465.
217. **Tredget EE, Nedelec B, Scott PG, Ghahary A.** Hypertrophic scars, keloids, and contractures: the cellular and molecular basis for therapy. *Surgical Clinics of North America*. **1997**;77(3):701-730.
218. **Peacock Jr EE, Madden JW, Trier WC.** Biologic basis for the treatment of keloids and hypertrophic scars. *Plastic and Reconstructive Surgery*. **1973**;51(6):709.
219. **Rahban SR, Garner WL.** Fibroproliferative scars. *Clin Plast Surg*. **2003**;30(1):77-89.

220. **Saulis AS, Mogford JH, Mustoe TA.** Effect of Mederma on hypertrophic scarring in the rabbit ear model. *Plast Reconstr Surg.* **2002**;110(1):177-183; discussion 184-6. doi:10.1097/00006534-200207000-00029
221. **Cruz NI, Korchin L.** Inhibition of human keloid fibroblast growth by isotretinoin and triamcinolone acetonide in vitro. *Ann Plast Surg.* **1994**;33(4):401-405. doi:10.1097/0000637-199410000-00007
222. **Oikarinen H, Oikarinen AI, Tan EM, et al.** Modulation of procollagen gene expression by retinoids. Inhibition of collagen production by retinoic acid accompanied by reduced type I procollagen messenger ribonucleic acid levels in human skin fibroblast cultures. *J Clin Invest.* **1985**;75(5):1545-1553.
223. **Kikuchi K, Kadono T, Takehara K.** Effects of Various Growth Factors and Histamine on Cultured Keloid Fibroblasts. *Dermatology.* **1995**;190(1):4-8. doi:10.1159/000246625
224. **Hillmer MP, MacLeod SM.** Experimental keloid scar models: a review of methodological issues. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery: Incorporating Medical and Surgical Dermatology.* **2002**;6(4):354-359.
225. **Harunari N, Zhu KQ, Armendariz RT, et al.** Histology of the thick scar on the female, red Duroc pig: final similarities to human hypertrophic scar. *Burns.* **2006**;32(6):669-677.
226. **Cuttle L, Kempf M, Phillips GE, et al.** A porcine deep dermal partial thickness burn model with hypertrophic scarring. *Burns.* **2006**;32(7):806-820.
227. **Caliskan E, Gamsizkan M, Acikgoz G, et al.** Intralesional treatments for hypertrophic scars: comparison among corticosteroid, 5-fluorouracil and botulinum toxin in rabbit ear hypertrophic scar model. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* **2016**;20(8):1603-1608.
228. **Kryger ZB, Sisco M, Roy NK, Lu L, Rosenberg D, Mustoe TA.** Temporal expression of the transforming growth factor-Beta pathway in the rabbit ear model of wound healing and scarring. *J Am Coll Surg.* **2007**;205(1):78-88.
229. **Morris DE, Wu L, Zhao LL, et al.** Acute and chronic animal models for excessive dermal scarring: quantitative studies. *Plast Reconstr Surg.* **1997**;100(3):674-681.
230. **Uzun H, Bitik O, Hekimoglu R, Atilla P, Kaykçoglu AU.** Angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril reduces formation of hypertrophic scars in a rabbit ear wounding model. *Plast Reconstr Surg.* **2013**;132(3):361e-371e.
231. **Momtazi M, Kwan P, Ding J, et al.** A nude mouse model of hypertrophic scar shows morphologic and histologic characteristics of human hypertrophic scar. *Wound repair and regeneration.* **2013**;21(1):77-87.

232. **Waki EY, Crumley RL, Jakowatz JG.** Effects of pharmacologic agents on human keloids implanted in athymic mice: A pilot study. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery.* **1991**;117(10):1177-1181.
233. **Wang X, Smith P, Pu LLQ, Kim YJ, Ko F, Robson MC.** Exogenous transforming growth factor  $\beta$ 2 modulates collagen I and collagen III synthesis in proliferative scar xenografts in nude rats. *Journal of Surgical Research.* **1999**;87(2):194-200.
234. **Manuel JA, Gawronska-Kozak B.** Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) is upregulated during scarless wound healing in athymic nude mice. *Matrix Biology.* **2006**;25(8):505-514.
235. **Dang CM, Beanes SR, Lee H, Zhang X, Soo C, Ting K.** Scarless fetal wounds are associated with an increased matrix metalloproteinase–to–tissue-derived inhibitor of metalloproteinase ratio. *Plast Reconstr Surg.* **2003**;111(7):2273-2285.
236. **Joseph J, Dyson M.** Tissue replacement in the rabbit's ear. *Journal of British Surgery.* **1966**;53(4):372-380.
237. **Tollefson TT, Kamangar F, Aminpour S, Lee A, Durbin-Johnson B, Tinling S.** Comparison of effectiveness of silicone gel sheeting with microporous paper tape in the prevention of hypertrophic scarring in a rabbit model. *Arch Facial Plast Surg.* **2012**;14(1):45-51.
238. **Marttala J, Andrews JP, Rosenbloom J, Uitto J.** Keloids: Animal models and pathologic equivalents to study tissue fibrosis. *Matrix Biology.* **2016**;51:47-54. doi:<https://doi.org/10.1016/j.matbio.2016.01.014>
239. **Kloeters O, Tandara A, Mustoe TA.** Hypertrophic scar model in the rabbit ear: a reproducible model for studying scar tissue behavior with new observations on silicone gel sheeting for scar reduction. *Wound repair and regeneration.* **2007**;15:S40-S45.
240. **Ramos MLC, Gragnani A, Ferreira LM.** Is there an ideal animal model to study hypertrophic scarring? *Journal of burn care & research.* **2008**;29(2):363-368.
241. **Lu L, Saulis AS, Liu WR, et al.** The temporal effects of anti-TGF- $\beta$ 1, 2, and 3 monoclonal antibody on wound healing and hypertrophic scar formation. *J Am Coll Surg.* **2005**;201(3):391-397.
242. **Saulis AS, Mogford JH, Mustoe TA.** Effect of Mederma on hypertrophic scarring in the rabbit ear model. *Plast Reconstr Surg.* **2002**;110(1):177-183.
243. **Ren H Tao, Hu H, Li Y, Jiang H Fei, Hu X Lei, Han C Mao.** Endostatin inhibits hypertrophic scarring in a rabbit ear model. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B.* **2013**;14(3):224-230.
244. **Dvorak HF.** Tumors: wounds that do not heal. *New England Journal of Medicine.* **1986**;315(26):1650-1659.

245. **Dienus K, Bayat A, Gilmore BF, Seifert O.** Increased expression of fibroblast activation protein- $\alpha$  in keloid fibroblasts: implications for development of a novel treatment option. *Arch Dermatol Res.* **2010**;302(10):725-731.
246. **Bremnes RM, Dønnem T, Al-Saad S, et al.** The role of tumor stroma in cancer progression and prognosis: emphasis on carcinoma-associated fibroblasts and non-small cell lung cancer. *Journal of thoracic oncology.* **2011**;6(1):209-217.
247. **Wilhelm SM, Dumas J, Adnane L, et al.** Regorafenib (BAY 73-4506): a new oral multikinase inhibitor of angiogenic, stromal and oncogenic receptor tyrosine kinases with potent preclinical antitumor activity. *Int J Cancer.* **2011**;129(1):245-255.
248. **Juckett G, Hartman-Adams H.** Management of keloids and hypertrophic scars. *Am Fam Physician.* **2009**;80(3):253-260.
249. **Uzun H, Bitik O, Hekimoglu R, Atilla P, Kaykçoglu AU.** Angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril reduces formation of hypertrophic scars in a rabbit ear wounding model. *Plast Reconstr Surg.* **2013**;132(3):361e-371e.
250. **Demir CY, Ersoz ME, Erten R, Kocak OF, Sultanoglu Y, Basbugan Y.** Comparison of enalapril, candesartan and intralesional triamcinolone in reducing hypertrophic scar development: An experimental study. *Aesthetic Plast Surg.* **2018**;42(2):352-361.
251. **Wilgus TA.** Vascular endothelial growth factor and cutaneous scarring. *Advances in Wound Care.* **2019**;8(12):671-678.
252. **Kwak DH, Bae TH, Kim WS, Kim HK.** Anti-Vascular Endothelial Growth Factor (Bevacizumab) Therapy Reduces Hypertrophic Scar Formation in a Rabbit Ear Wounding Model. *Arch Plast Surg.* **2016**;43(6):491-497. doi:10.5999/aps.2016.43.6.491
253. **Cherng S, Young J, Ma H.** Alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA). *J Am Sci.* **2008**;4(4):7-9.
254. **Sun X, Phan TN, Jung SH, et al.** LCB 03-0110, a novel pan-discoidin domain receptor/c-Src family tyrosine kinase inhibitor, suppresses scar formation by inhibiting fibroblast and macrophage activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* **2012**;340(3):510-519.