



T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**PÜRTÜKLÜ VE POLİÜRETAN YÜZEYLİ İMPLANTLARIN, LOKAL
ANTİBİYOTERAPİ ALTINDA KAPSÜL VE BİYOFİLM OLUŞUMU
AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Safa MANAV

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. M. Sühan AYHAN

ANKARA

2018

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

**PÜRTÜKLÜ VE POLİÜRETAN YÜZEYLİ İMPLANTLARIN, LOKAL
ANTİBİYOTERAPİ ALTINDA KAPSÜL VE BİYOFİLM OLUŞUMU
AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Safa MANAV

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. M. Sühan AYHAN

Bu tez, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2018-07
proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2018

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İmplant Materyalleri	4
2.2. İmplant Materyali Olarak Silikon	5
2.3. Meme Büyütme Amaçlı Kullanılan İmplantlar	6
2.3.1. Salin implantlar	6
2.3.2. Silikon jel implantlar	7
2.3.3. Poliüretan kaplı implantlar	8
2.4. Kapsül Formasyonu ve Kontraktürü	9
2.4.1. Kapsül Kontraktürü Nedenleri	11
2.4.1.1. Silikon ve Kapsül Kontraktürü	11
2.4.1.2. İmplant Yerleşimi ve Kapsül Kontraktürü	12
2.4.1.3. İmplant Yüzeyi ve Kapsül Kontraktürü	12
2.4.1.4. Bakteriyel Kolonizasyon ve Kapsül Kontraktürü	13
2.4.2. Kapsülün Histolojik Özellikleri:	19
2.4.3. Kapsül Kontraktürü Oluşumunu Önleme ve Tedavi:	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Gruplar ve Açıklamaları	24
3.2. Cerrahi Prosedür	27
3.3. Kapsül Dokusunun histolojik yöntem ile değerlendirilmesi	35
3.4. Biyofilm Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler	36
3.4.1. Elektron Mikroskopisi	36
3.4.2. Mikrotitrasyon Plaka Yöntemi	37
3.5. İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	40
4.1. Makroskobik Bulgular	40
4.2. Makroskobik Bulguların İstatistiksel Analizi	44
4.3. Histolojik Bulgular	46
4.4. Histolojik Bulguların İstatistiksel Analizi	55
4.5. Biyofilm Tabaka Tespitine İlişkin Bulgular	64
4.5.1. Mikrotitrasyon Plaka Yöntemi ile Elde Edilen Bulgular	64
4.5.2. Mikrotitrasyon Plaka Yöntemi ile Elde Edilen Bulguların İstatistiksel Analizi	65
4.5.3. Elektron Mikroskopisi ile Elde Edilen Bulgular	67
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	71
6. ÖZET	79
7. SUMMARY	82
8. KAYNAKLAR	84

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme büyütme, Amerikan Estetik Plastik Cerrahi Topluluğu (ASAPS) 2016 yılı verilerine göre liposakşından sonra plastik cerrahların en sık uyguladığı ikinci estetik cerrahi girişim olmuştur.

Kapsül kontraktürü her zaman meme büyütme ameliyatlarında yeniden ameliyatlar için başta gelen bir neden olmuştur. Meme büyütme sonrası görülme oranı %4-%60 arasında değişmektedir [1, 2]. Tüm implantların çevresinde fibröz bir kapsül oluşumu doğal bir sonuç olmasına karşın oluşan bazı kapsül dokuları ileri derece kontrakte olarak implantların görülebilir hale gelmesine, distorsiyona uğramasına, sert, gergin ve ağırlı bir meme oluşmasına neden olmaktadır. Bu durum estetik bir işlem için kabul edilemeyecek bir sonuçtur ve revizyon cerrahi işlemlere neden olmaktadır [3].

Klinik olarak belirgin kapsül kontraktürü oluşumu için birçok neden tarif edilmiş olup, silikon jel moleküllerin elastomerik olarak dış kılıfı aşarak göç etmesi, yabancı cisim reaksiyonu, otoimmün bağ doku hastalıkları, kapsül oluşumuna genetik eğilim olması, implantların yüzey karakteristikleri, hematoma gibi birçok etiyolojiden bahsetmek mümkündür [4]. Ancak günümüzde implantlarda bakteri kontaminasyonu sonucu biyofilm tabaka oluşması ve sonrasında oluşan subklinik enfeksiyonun kapsül kontraktürüne neden olduğu düşüncesi, kapsül kontraktürü etiyolojisinde ağırlık kazanmıştır. Yapılan klinik çalışmalarda kapsül kontraktürü gelişmiş implantların çevresinde, olmayanlara göre anlamlı ölçüde artmış biyofilm tabakası olduğu

gösterilmiştir [5-7]. Klinik uygulamalarda silikon implantlar; düz silikon yüzey yapısına sahip, doku uyumu daha iyi olması için pürüzlü hale getirilmiş silikon yüzeye sahip ya da silikon bazlı olup dış yüzeyi poliüretan ile kaplanmış implantlar şeklinde kullanılmaktadır. Klinikte Poliüretan kaplı ve pürüzlü silikon implantlar kendi içinde avantaj ve dezavantajlarına göre tercih edilmektedir. Poliüretan kaplı protezlerde klinik olarak kapsül kontraktürü oranlarının daha az olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir [8-12]. Poliüretan kaplı protezlerin bu başarısı köpüksü yüzeyi sayesinde doku uyumunun daha iyi olmasına bağlanmıştır. Günümüzde kullanılan üç farklı yüzeye sahip protezlerin biyofilm oluşumundaki farklılıkları ve uygulanacak olan lokal antibiyoterapinin üç farklı yüzeyde biyofilm oluşumuna ve dolayısı ile kapsül formasyonuna olan etkileri incelenmemiştir.

Hipotez: Farklı yüzey yapısına ve özelliklerine sahip implantların bakteri kontaminasyonu sonrası implant yüzeyinde oluşturacağı biyofilm tabakaları ve bakteri yükleri farklı oranlarda olacaktır. Lokal antibiyotik ile temas sonrası biyofilm tabaka ve bakteri yükü değişimlerinin de farklı olması beklenmektedir. Hidrofilik özelliği silikon yüzeyli implantlara göre daha fazla olan ve köpüksü yüzeyi sayesinde lokal antibiyotiği içerisinde daha fazla muhafaza edebilen poliüretan kaplı implantlarda, lokal antibiyotik tedavisinin bakteriyel yükü azaltıcı ve biyofilm tabakası oluşumuna önleyici etkisi vardır. Dolayısı ile kapsül histopatolojisinde, kontraktüre yatkınlık özellikleri görülmeyecektir.

Araştırmanın amacı; klinikte kullandığımız silikon bazlı protezlerdeki yüzey farklılığının (pürüzlü silikon yüzeyli ve poliüretan kaplı yüzeyli) biyofilm tabaka

oluşturmasındaki farklılıklar, lokal antibiyoterapi olarak rifamisin kullanımının üç farklı yüzeye sahip implantlarda biyofilm oluşumuna etkisi, biyofilm tabakası oluşan implantlar ile oluşmayan implantlar arasındaki kapsül dokularındaki histopatolojik farklılıkların ortaya koyulmasıdır. Kapsül kontraktörü risk faktörlerinden biyofilm tabakası oluşumu ve subklinik enfeksiyonun farklı yüzeyli implantlarda anlamlı oranda az ya da fazla şekilde ortaya çıkabileceğinin gösterilmesidir. Lokal antibiyoterapi uygulaması ile biyofilm oluşumunun önüne geçilebilirliği araştırılacaktır. Bu sayede meme büyütme operasyonlarındaki en sık görülen komplikasyonlardan olan kapsül kontraktörü riskini en aza indirecek değerli verilere ulaşmak hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İmplant Materyalleri

Plastik cerrahi uygulamalarında otojen dokuların kullanımı genellikle ilk seçenektir. Bildirilen ilk başarılı meme büyütme işlemi 1895 yılında Czerny'nin tariflediği ve gerçekleştirdiği parsiyel mastektomi yapılmış kadının sırtındaki lipom dokusunun deforme olmuş meme dokusuna transfer edilmesidir [13]. Daha sonraki yıllarda ise yine otolog lokal dermal yağ flepleri, omentum dokusu meme büyütme amacıyla kullanılmıştır [14].

Bununla beraber implant materyalleri de pek çok alanda kullanılmaktadır. Seçilecek malzemenin tipine ve malzemenin kullanılacağı alanın ihtiyacına göre karar vermek gerekmektedir. Örneğin radyoterapi hikayesi, çevresel dokularda ciddi kanlanma azlığı ve implant üzerinde yeterli desteğe sahip bir yumuşak doku örtümü olmaması gibi bazı klinik durumların implantın cildi delip açığa çıkmasına ve enfeksiyon gibi pek çok komplikasyonun oluşmasına neden olmaktadır. Bu gibi durumlarda implant kullanılmasından kaçınılarak otojen dokular tercih edilmelidir. Bunun yanında donör sahanın olmaması, ameliyat süresinin ve morbiditesitini az olması, rezorbsiyona daha az uğramaları gibi özelliklerinden dolayı bazı seçilmiş vakalarda ve özel koşullarda implant materyalleri otojen dokulara daha üstün olabilmektedir [15].

İmplant materyallerinin tıpta kullanımı 5000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır. İnkâ öncülerinin kafatasındaki kemik eksikliklerini onarmak için altın ve gümüş plakalar kullandıkları görülmüştür [16].

İdeal bir implant; minimal yabancı doku reaksiyonu gösteren, istenildiği zaman kolaylıkla bükülerek şekillendirilebilen istenildiği zaman ise şeklini muhafaza edebilen özellikler göstermeli, kalıcı doku iyileşmesini uyarmalı, alerjik ve karsinojenik olmamalı, gerilme ve dış travmalara dayanıklı, biyouyumlu ve ekonomik olmalıdır [17, 18].

Kimyasal yapılarına göre implant materyallerini 5 grupta toplanabilir:

1. Metaller
2. Polimerler
3. Seramikler
4. Yapıştırıcılar
5. Biyolojik materyaller

2.2. İmplant Materyali Olarak Silikon

Silikon, polimer implant ailesinin bir üyesi olup meme büyütme amacıyla günümüzde en sık kullanılan implant materyalidir. Silikonlar silikon (Si) ve oksijen (O) moleküllerini belli sıralarla yerleşimi ile oluşan bir polimer üyesidir. Polidimetilsilakson (PDMS) ise silikon omurgasında iki metil yan bağı içeren ve tıbbi amaçlı kullanılan silikon polimeri olup tıbbi aletler içerisinde bilinen en tepkimesiz biyomateryallerden biridir. Farklı uzunluk ve ağırlıktaki PDMS polimerleri silikon jelin mekanik ve davranışsal özelliklerini değiştirmektedir. Düşük molekül ağırlıklı PDMS'nin (< 30 monomer) akışkanlığı bebek yağı kıvamındayken, yüksek molekül ağırlıklı PDMS (>3000 monomer) polimerleri katı kıvama ulaşmaktadır. PDMS'nin

mekanik özelliklerini kontrol etmenin diğer yolları çapraz bağ sayılarını değiştirmek veya üretiminde değişiklikler yapmaktır. Bu işlemde meme implantı olarak kullanılan silikon jeller hidroksilasyona maruz kalmakta ve metil yan bağları (CH_3) yerlerini vinil yan bağlarına ($\text{CH}=\text{CH}_2$) bırakmaktadır. Daha sonra silikon zincirleri karşılıklı çapraz bağ oluşturmaktadır. Silikon meme implantlarının dış kabukları (Shell) amorf, kristal yapıda olmayan, silis dolgusu ile güçlendirilmiş tamamıyla polimerize silikondan yapılmaktadır [15]. 1961 yılında Uchida memeye büyütme amacıyla ilk kez sıvı silikon enjeksiyonunu gerçekleştirmiştir. Ancak takibinde oluşan kronik inflamasyonun, memede yağ ve cilt nekrozlarının sık görülmesi ve yüksek mortaliteye neden olmasından dolayı memeye sıvı silikon enjeksiyonu terkedilmiştir [19].

Modern meme implantlarının evrimi, içerisinde salin solüsyonu ya da silikon jel bulunan stabil dolgu malzemesiyle doldurulmuş ve etrafının daha az geçirgen silikon elastomer kabuk ile çevrelendiği iki komponenti bulunan implantların üretimi ile başlamıştır [20]. İki komponenti bulunan modern meme implantı ilk defa 1962 yılında Cronin ve Gerow tarafından kadın bir hastaya koyulmuştur [21]. Bu tarihten sonrada modern meme implantlarında günümüze kadar birçok gelişme ve iyileştirmeler yapılmıştır.

2.3. Meme Büyütme Amaçlı Kullanılan İmplantlar

2.3.1. Salin implantlar

Şişirilebilen salin implantların kullanımını ilk defa Fransa'da 1965 yılında Arion tarafından bildirmiştir [19]. Bu implantlar daha küçük bir kesiden yerleştirilebilmekte ve cebe yerleştirildikten sonra şişirilmektedir. Uzun dönem komplikasyonları olarak

implantın sönmesi (deflation), hacminden daha fazla sıvı verilmesi durumunda balon hissi ve memenin küremsi şekil alması, daha az sıvı verilmesi halinde ise dalgalanma deformitesi görülebilir, palpasyonda hissiyat olarak naturel meme dokusu yerine sıvının gerçekçi olmayan hissiyatı vardır [20, 22].

2.3.2. Silikon jel implantlar

Birinci nesil silikon jel implantlar (1962-1970) 1962 yılında Cronin ve Brauer tarafından üretilmiş olup, kalın ve düz yüzeyle (smooth) bir kılıfa (shell) sahip, orta viskoz akışkanlıkta jel içeren, anatomik şekilli (teardrop), arka kısmında dakron sabitleme yamaları bulunan implantlardır. Ancak kapsül kontraktür oranları %30-50 oranında geliştiği gösterilmiştir [23].

İkinci nesil silikon jel implantlar (1970-1982) kapsül kontraktür oranlarını düşürmek amacıyla daha ince silikon kılıf (shell) yapısına sahip, dakron yama içermeyen, içerdiği silikon jel yapısı birinci nesil implantlara göre daha akışkan jel özelliği gösteren, yuvarlak şekilli implantlardır. Ancak bu nesil implantların ince kılıf yapısı, akışkan özelliği fazla olan jelin kılıftan periprostetik intrakapsüler alana sızmasına neden olmuştur (bleeding) [24].

Üçüncü nesil silikon jel implantlar 1982 den itibaren kullanılmaya devam etmekte olup, ikinci nesil implantlar ile yaşanan sorunun çözümüne odaklanılmış, silikon jel sızıntısını önlemek amacıyla çok tabakalı silikon elastomerleri kullanılarak kılıf kısmı güçlendirilmiş ve permeabilitesi azaltılmıştır [13]. 1986 dan itibaren ise dördüncü nesil olarak adlandırılan implant yüzeyi kapsül kontraktür oranını azaltması amacıyla pürütüklenmiş (textured) yuvarlak ve anatomik formları bulunan implantlar

kullanıma sunulmuştur [25]. 1993 den sonra ise beşinci nesil olarak adlandırılan ve pürüzlü yüzeye sahip olmasının yanı sıra içerisindeki jelin kohesivitesi arttırılmış ‘formstable’ olarak adlandırılan yuvarlak ve anatomik şekilli implantlar kullanılmaya başlanmıştır [22].

2.3.3. Poliüretan kaplı implantlar

İlk defa poliüretan kaplı silikon implantların kullanımını Ashley 1969 yılında San Francisco da yapılan ‘48th American Association of Plastic Surgeons’ toplantısında bildirmiştir. 1mm’lik poliüretan köpük katman tabaka ile çevrenmesini yanında bu implant iç jel yapısında ‘Y’ şeklinde septum içermesi nedeniyle silikon jel yer değiştirmesini (shifting) önleyerek implantın formunu koruyabildiği bildirilmiştir [26]. Ashley’nin yaptığı 60 hastalık serinin 18 aylık takiplerinde herhangi bir kapsül kontraktürü vakasına rastlanmamıştır. Sonraki iki dekad boyunca poliüretan kaplı implantların kapsül kontraktür oranlarının düz yüzeyle (smooth) ve sonradan pürütülenmiş (textured) implantlara göre daha az olması nedeniyle Birleşik Amerika, Avrupa, Güney Amerika ve Avusturalya’da kullanımı yaygınlaşmıştır [8-12].

1991 yılında poliüretan yıkım ürünü olarak karsinojenik etkili 2,4 TDA (2,4 toluendiamin) metabolitinin oluştuğunun saptanması üzerine poliüretan kaplı implantların A.B.D.’de kullanımdan kaldırılmıştır [27, 28]. Buna karşın Latin Amerika, Avrupa ve Avustralya’da uzun dönem sonuçlarının güvenilir olduğu ve kapsül kontraktür oranlarını % 0,4’e kadar düşürdüğünü belirten çalışmalar mevcuttur [29].

2.4. Kapsül Formasyonu ve Kontraktürü

Poliüretan kaplı implantların kapsül kontraktürüne karşı bu denli koruyucu olmalarındaki başarıyı anlayabilmek için kapsül oluşumu ve sonrasında gelişen kontraktürün mekanizmasının bilinmesi gerekmektedir. Ne zamanki insan vücuduna dışardan yabancı materyal implante edilse, vücut öncelikle bu cismi dışarı atmayı (reject) denemekte ya da fibröz bir membran ile enkapsüle etmeye çalışmaktadır. İmplantasyon sonrası ilk 3-4 haftalık süre reaktif inflamatuvar faz olarak adlandırılır ve bu süreç histolojik olarak içerisinde bol lizozomları bulunan ve aktif fagositik aktivite gösteren makrofajların ve multinükleer dev hücrelerin infiltrasyonu ile karakterizedir [30]. Bu dönemde nispeten daha az oranda fibroblastlar da bulunmakta olup kollajen üretimi az miktarda gerçekleşmektedir. Bu dönem zarfında ana amaç yabancı cisimi yıkıma uğratmak ve vücut dışına atılmasını sağlamaktır. Ancak ilerleyen haftalarda implant materyali yıkıma uğratılamayacak türdence (biodegradable) makrofajlar lizozomal aktivitelerini azaltarak, fibroblastların proliferasyonunu ve kollajen sentezini sağlayan maddeler (substance) salgılamaya başlarlar. 6 ay boyunca üretilen kollajenler uç uca birleşerek birbirlerine paralel lif demetleri şeklinde dizilim gösterirler. Kapsül formu tamamlandığında insan yerli dokusu (native tissue) ile implantın teması engellenmiş olur.

Zamanla yabancı cisim temas yüzey alanını küçültmek amacıyla kapsül dokusu içerisinde bulunan myofibroblastların rol oynadığı ve kollajen liflerin kısalması ile sonuçlanan, içerisinde bulunan yabancı cismin bükülebilir özellikte olmasına bağlı olarak yabancı cismin şeklinin değişmesine neden olabilecek kadar kontraktüre

uğrayabilmektedir. Eğer kontraktıl kuvvetler yeteri kadar kuvvetli ise implantta şekil değişikliğine, sert ve ağırlı meme dokusu oluşmasına kadar varabilen kapsül kontraktürü olarak adlandırılan klinik durum ile karşılaşılabilir [31].

Baker'ın 1975 yılında inspeksiyon, palpasyon ve ağırlı kriterleri göz önüne alınarak yaptığı klinik sınıflama kapsül kontraktürünü derecelendirmek için günümüzde halen daha en sık kullanılan yöntemdir. Daha sonra 1995 yılında Spear ve Baker bu sınıflamayı modifiye etmişlerdir [32].

Baker skorlamasına göre;

Grade 1: Meme normal yumuşaklığında, görünümü natural boyutlarında ve şeklindedir.

Grade 2: Meme dokusu normal kıvamına göre biraz sertleşmiş ancak görünümü doğaldır.

Grade 3: Meme dokusu normal kıvamına göre bariz sertleşmiş olup görünümünde de şekil bozukluğu mevcuttur.

Grade 4: Meme dokusu taş kıvamında olup dokunmakla ağırlıdır, görünümü ileri derecede kontrakte.

Baker sınıflandırmasında Grade 1 ve 2 seviyeleri kontrakte olmuş olarak değerlendirilmez iken Grade 3 ve 4 seviyeler kapsül kontraktürü olarak değerlendirilmektedir ve cerrahi prosedür ile düzeltmeye ihtiyaç duyarlar.

Klinik sınıflandırmadan başka görüntüleme yöntemleriyle de kapsül kalınlık ölçümü yapılarak kapsül kontraktürünü sınıflandırmak mümkündür. Manyetik

rezonans görüntüleme (MRG) ve ultrasonografi (USG) bu amaçla kullanılabilir [33, 34]. Zahavi ve ark. yapmış olduğu çalışmada Baker skoru 1 ve 2 için ortalama 1,14 mm, Baker skoru 3 ve 4 için ise 2,39 mm kapsül kalınlığı belirtilmiş ve MRG değerlendirmesi ile bu değerler Baker skoru 1 ve 2 için 1,39 mm; Baker skoru 3 ve 4 için 2,62 mm olarak bildirilmiştir [35].

Bir diğer kapsül kontraktürü tespit metodu ise memenin kompresyona direncinin ve ne kadar sferik şekil aldığı ölçülmesidir. Bu amaçla kompresometri, aplanometri ve tonometri cihazları kullanılmaktadır [23].

2.4.1. Kapsül Kontraktürü Nedenleri

Kapsül kontraktürü, birçok klinik ve deneysel çalışmaya rağmen etiyolojisi net olarak ortaya konamamış olmakla birlikte muhtemelen multifaktöryel bir etki söz konusudur. Literatüre bakıldığı zaman üzerinde durulan faktörler; kullanılan implant materyalin cinsi (filler material), implantın yerleştirildiği cep, implant yüzeyi, biyofilm tabakası ve bakteriyel enfeksiyondur [36].

2.4.1.1. Silikon ve Kapsül Kontraktürü

Literatürde yapılmış deneysel çalışmalarda silikon implant ya da salin implant kullanıldığında kapsül kontraktürü açısından anlamlı bir farkın olmadığını vurgulayan çalışmalar olmakla birlikte [37], silikon implantlarda daha yüksek oranda kapsül kontraktürü ortaya çıktığını vurgulayan çalışmalar da bulunmaktadır [38-40].

Klinik çalışmalarda ise McKinney ve Tresley'nin yaptığı 111 kadın hastanın retrospektif taramasında; silikon jel içeren implantların kapsül kontraktür oranları (Baker skoru 3-4) ortalama 10,8 aylık takiplerinde %36, salin implant kullanılan

hastaların ortalama 14,5 aylık takiplerinde ise bu oran %24 olarak bulunmuştur [41]. Literatürde buna benzer salin implantlarda kapsül kontraktür oranlarının silikon jel implantlara göre daha az olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur [42-45].

Silikon jel sızıntısının ve mikropartiküllerin myofibroblastların aşırı uyarılmasına neden olduğu bununda ilerleyen dönemlerde kapsül kontraktürüne neden olduğu düşünülmektedir [24, 31, 46, 47]. Nitekim Chang ve ark. yapmış olduğu silikon sızıntısı az olan 'Dow Corning Silastic 2' implantlar ile konvansiyonel silikon implantları karşılaştırdığı çalışmada; 56 tane silikon sızıntısı az olan implantta kapsül kontraktürü görülmezken, 50 tane olan konvansiyonel silikon implantların %14'ünde kapsül kontraktürü gelişmiştir [48]. Bu bulgular silikon jel sızıntısının kapsül kontraktürü için bir risk faktörü oluşturduğunu göstermektedir.

2.4.1.2. İmplant Yerleşimi ve Kapsül Kontraktürü

İmplantın submusküler ya da subglandüler yerleşimli olmasının kapsül kontraktürü açısından bir fark yaratacağı birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır ve birçok çalışmada submusküler plana yerleştirmenin kapsül kontraktür oranını azalttığı vurgulanmıştır [49-54]. Vazquez ve ark. yapmış olduğu klinik retrospektif çalışmada submusküler yerleşimli 96 implantın %9,4'ünde kapsül kontraktürü gelişmiş, subglandüler yerleşimli 100 implantın ise %58'inde kapsül kontraktürü geliştiği gösterilmiştir [55].

2.4.1.3. İmplant Yüzeyi ve Kapsül Kontraktürü

Günümüzde meme implantlarını yüzey yapısı olarak 3 farklı şekilde; düz yüzeyli silikon (smooth), pürüklü yüzeyli silikon (textured) ve poliüretan kaplı olarak

kullanmak mümkündür. Klinikte yapılmış birçok araştırmada pürüzlü yüzeye sahip implantların düz yüzeye sahip implantlara göre daha az oranda kapsül kontraktürü oluşturduğunu göstermiştir [36, 56-60].

Ersek, kollajen liflerin düzensiz dizilmesine yol açarak pürüzlü yüzeyin kapsül kontraktürü azalttığını vurgulamıştır [57].

Hakelius ve Ohlsen 25 kadın üzerinde toplam 50 implant kullanıp, bir tarafa düz yüzeyli diğer tarafa pürüzlü implant yerleştirdiği çalışmasında [61]; ilk 6 haftalık takiplerinde iki grup arasında herhangi bir fark görmezken, 12 haftalık takipte pürüzlü implantların anlamlı oranda daha yumuşak kıvamlı olduğunu belirtmiş ($p<0,05$), 52 haftalık takiplerinde bu anlamlı farklılığın daha da güçlendiğini belirtmiş ($p<0,001$), 5 yıllık takibinde ise 17 tane düz yüzeyli (%68) implantın yerine pürüzlü implantlar yerleştirildiği belirtilmiştir [59].

Poliüretan kaplı implantların kapsül kontraktür oranları düz yüzeyli ve pürüzlü yüzeyli implantlara göre daha az olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Kapsül kontraktürünün daha az olması temelde iki nedene bağlanmıştır. Birinci etken ; poliüretan yüzeyin köpüksü üç boyutlu yapısı oluşan kapsül dokusunda yer alan kollajen liflerin konsantrik özellik gösteremeyecek şekilde birbirine paralel olmayan dizilim göstermelerini sağlamıştır bir diğer etken ise implanttan silikon sızıntısının diğer implantlara oranla daha az olmasıdır [62].

2.4.1.4. Bakteriye Kolonizasyon ve Kapsül Kontraktürü

Biyofilm; ister canlı doku yüzeyine isterse implant gibi medikal materyallerin yüzeyine tutunarak çoğalan mikrobiyal toplulukların oluşturduğu birlikteliktir.

Mikrobiyal biyofilmlerle ilişkilendirilen enfeksiyon tablolarının tedavisi zordur ve kronik hale gelebilmektedir [63-66]. Meme implantları üzerinde oluşan biyofilm tabakasının, kronik inflamatuvar bir cevaba yol açması ve ilerleyen süreç içerisinde kapsüler fibrozis ve kontraktür oluşumuna neden olduğu düşüncesi son yıllarda kapsül kontraktürü etiyolojisi açısından önemi giderek artmaktadır [5, 7, 67-70]. Gerek deneysel gerekse klinik birçok çalışmada biyofilm ile kapsül kontraktürü arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Biyofilm Oluşum Mekanizması: Doğada bulunan birçok bakteri türü serbest yüzen form (free-floating form, planktonic) ya da tutunmuş form (attached, biyofilm) halinde bulunurlar. Serbest yüzen formdaki bakterinin canlıda ya da vücuda yerleştirilen implant materyalinin solid yüzeyine tutunabilmesi ile biyofilm yaşam döngüsü başlar [63-66]. Bu süreç üç aşamada gerçekleşir: Bağlanma (attachment), olgunlaşma (maturation), dağılım (dispersion). İlk aşamada solid bir yüzey ile serbest yüzen bir bakteri formu arasında geri dönüşümlü olan bir etkileşim başlar. İlerleyen süreçte konak ile bakterinin dokuya özgü yapışma yeteneği sayesinde geri dönüşümsüz bir bağlanma, etkileşim gerçekleşerek biyofilm formu ile sonuçlanır [71].

Bir sonraki adım ise bakteriyel çoğalma ve ekstraselüler matriksin (ekstraselüler polymeric substance, EPS) sentezlenmesi ile karakterize olgunlaşma safhasıdır [72]. EPS proteinler, polisakkaritler, lipitler ve nükleik asitlerden oluşmaktadır ve bakterinin bir yüzeye ya da diğer bir bakteriye tutunmasını, besin depolanmasını sağlar ve biyofilm tabaka için koruyucu bariyer görevi gösterir. Ayrıca EPS, biyofilm tabakanın antimikrobiyal direncinde rol oynar [73].

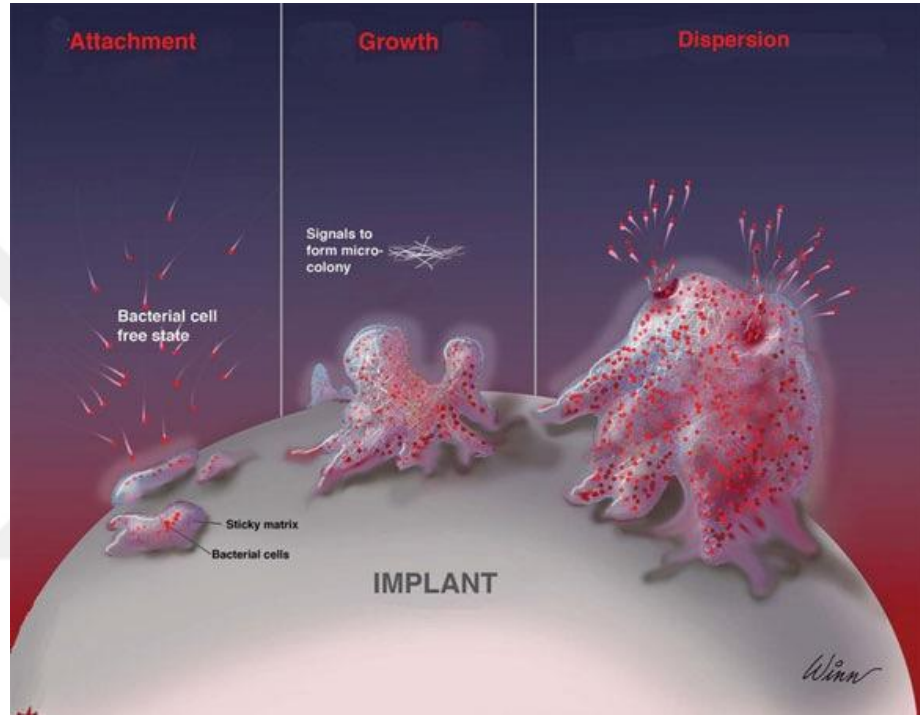
Biyofilm büyümeye ve olgunlaşmaya devam ederken gittikçe kompleks yapıya bürünür, farklı bakteri yapıları besin maddesi ve artık ürünlerin değişimini sağlayan kanallar ile birbiri ile etkileşim halindedir.[74]. Biyofilm içerisinde pH, oksijen konsantrasyonu, besin madde mevcudiyeti, hücre yoğunluğu açısından çeşitlilik gösteren birçok farklı mikroçevreler oluşmaktadır, buda tek bir tedavi modalitesi ile biyofilm tabakasının ortadan kaldırılmasını zorlaştırmaktadır [75-78]. Örneğin penisilin gibi metabolik aktif, bölünebilen bakterilere etkili antimikrobiyal ajanın biyofilm içerisinde inaktif formda bulunan kolonilere etki etmesi söz konusu değildir [75, 76, 79].

Planktonik hücrelerin biyofilmden ayrılması ve bunların çevreye yayılması biyofilm yaşam döngüsünün son aşamasıdır [80].

Biyofilm tabaka sıklıkla polimikrobiyaldir. *Staphylococcus epidermidis* cilt ve endojen meme florasında bulunan bir bakteridir ve kapsül kontraktörü nedeniyle çıkartılan implantlardan en sık izole edilen organizmadır [7, 67, 68, 81, 82]. Diğer izole edilen organizmalar ise *propionibacterium acnes*, *staphylococcus aureus*, *streptokok türleri*, *bacillus türleri*, *escherichia coli*, *mycobacterium türleri*, *cornebacterşum türleri* ve *lactobasillerdir* [67, 68, 83, 84].

Biyofilmler antibiyotiklere karşı oldukça dirençlidirler. Dirençten sorumlu birçok genin ekspresyonu ve farlı stress koşullarına karşı bakterinin direnmesini sağlayan birçok farklı genin ekspresyonu direnç mekanizmasında rol oynar. Örneğin EPS'ler penisilin, sefalosporin ve karbapenem gibi Betalaktam antibiyotikleri yıkan

Beta laktamaz enzimleri biriktirmesi sayesinde bu antibiyotiklere karşı dirençten sorumludur.



Şekil 1. Biyofilm yaşam döngüsünün aşamaları: Tutunma (attachment), Olgunlaşma (growth), Dağılma (dispersion) [85].

Biyofilm Oluşumuna İnflamatuvar Cevap: Konakçının implant materyaline karşı cevabı akut ve kronik inflamatuvar faz, yabancı cisim reaksiyonu ve fibröz enkapsülasyon dönemleri şeklinde belirtilmiştir [65].

Konakçının immün yanıtı doğal (hızlı ve kısa süreli) ve kazanılmış bağışıklıktan (uzun ömürlü) oluşur. Akut inflamatuvar faz sırasında konakçı hücre hasarının koagülasyon kaskatını tetiklemesi sonucu doğal bağışıklık sistemi aktive olur. Ayrıca

patojen mikroorganizmaların varlığı hücre tanıma reseptörleri sayesinde (RRRs) doğal immün sistemi aktive ederek inflamasyon bölgesine nötrofilleri, dendritik hücreleri, makrofajları ve miyofibroblastları çeken sitokinlerin salgılanmasını sağlamaktadır [65, 86].

İmmün yanıt başlangıçta makrofajlar tarafından salgılanan sitokinlerle düzenlenir. İnterlökin, interferon gibi sitokinler sayesinde inflamatuvar yanıt teşvik edilir ve T lenfosit, B lenfosit ve plazma hücrelerinin de olaya dahil olması ile oldukça spesifik, uzun ömürlü ve uyarlanabilen adaptif bağışıklık aktive edilmiş olur. Yabancı cisme karşı verilen immün yanıtta hem doğal hem de sonradan kazanılmış immünite rol oynamaktadır [87, 88].

Farklı türden fibroblastların özellikle myofibroblastların iyileşme döneminde rolü vardır. Myofibroblastların kapsül kontraksiyonu vakalarında sayıları artmaktadır [89, 90]. TGF-B1 (transforming growth factor beta-1) ile myofibroblastların aktivasyonu düzenlenir. Eğer yara iyileşmesinde uzun süre TGF- B1 salgılanmaya devam ederse, aşırı kollajen matriks üretimi, aşırı fibrozis ve bağ doku proliferasyonuna neden olmaktadır [89]. Benzer bir durum hava yolu trakeal stenozu olan hastalar üzerine yapılan bir çalışmada bakteriyel biyofilm, myofibroblast ve fibrozis ile TGF-B1 sitokininin yüksek ekspresyonu arasında anlamlı bir korelasyon olduğu gösterilmiştir [91].

Myofibroblastlar kollajen(tip 1 ve tip 3) ve fibronektin sentezleyerek kapsül oluşumunda rol alırlar [92, 93]. Bakteriler sentezlenen bu ekstraselüler matriks proteinlerini biyofilm tabakasına tutunmada kullanırlar. Bu nedenle artmış

myofibroblast aktivitesi ve sayısı biyofilm ve kapsül kontraktürü oluşumuna katkıda bulunur [85].

Biyofilm oluşumunun kapsül kontraktürü üzerine olan etkisini deneysel çalışma olarak ilk incelenmesi Shah ve ark. tarafından tavşanlar üzerinde yapılan çalışma ile gösterilmiştir. Bilateral implant yerleştirilen tavşanlarda *Staphylococcus Epidermidis* ile inoküle edilen taraflarda Baker grade 3-4 kapsül kontraktürü görülürken, bakteri inoküle edilmeyen taraflarda Baker grade 1-2 kapsül kontraksiyonu gözlenmiştir [81].

Tamboto ve ark. domuzlar üzerinde yaptığı deneysel çalışmada da biyofilm ve kapsül kontraktürü arasındaki ilişki gösterilmiştir. Meme bezi altına yerleştirilen ve *Staphylococcus Epidermidis* ile inoküle edilen ceplerin %72,2 sinde biyofilm tespit edilmiştir. Diğer bir bakış açısıyla ise bakteri inokülasyonu yapılan poşlara yerleştirilen implantlarda %77.8 oranında kapsül kontraksiyonu (Baker grade 3-4) tespit edilmiştir. Bu çalışma ile biyofilm oluşmasının kapsül kontraktürü oluşma riskini dört kat arttırdığı sonucuna varılmıştır [94].

Biyofilm oluşumunun kapsül kontraktürü üzerine olan etkisini klinik çalışma olarak ilk incelenmesi ise Virden ve ark. tarafından yapılmış olup, kapsül kontraksiyonu gelişmiş olan 55 silikon implant ve doku genişletici implant materyali incelenmiştir. %56 implant üzerinde biyofilm tabaka tespiti taramalı elektron misroskopisi (SEM) ile tespit edilmiştir [7].

Pajkos ve ark. yapmış olduğu bir diğer klinik çalışmada 19 tane kapsül kontraksiyonu olan ve 8 tane kapsül kontraksiyonu olmayan implantlar incelenmiştir.

Kapsül kontraksiyonu olan implantların %89,5'inde bakteri tespit edilmiş olup, %57,9'unda biyofilm tespit edilmiştir. Kontrakte olmayan implantların ise sadece 2 tanesinde (%10,5) bakteri tespit edilebilmiştir [67].

Biyofilm Tabakanın Tespiti: İmplant üzerinden oluşan biyofilm tabakanın tespit edilebilmesi için klinikte uygulanan standart bir yöntem yoktur. Bakteriyi geleneksel yöntemlerle kültür ortamında üretmek, bunun için biyofilm tabakadan bakterinin ayrılması için sonik güç dalgalarının kullanılması, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile 16 S RNA dizilimlerinin tespit edilmesi ve taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanarak bakteriyel tabakanın direkt görülmesi yöntemleri kullanılarak biyofilm tabakanın tespit edilmesi mümkündür [85].

2.4.2. Kapsülün Histolojik Özellikleri:

Fibröz kapsüllerin histolojik olarak 3 katmandan oluşmaktadır. En iç tabakada implant yüzeyinde temas halinde bulunan makrofaj ve fibroblastlardan oluşur. Bazı vakalarda psödoepitelyal bir hücre tabakası diğer bir adıyla sinovya benzeri metaplazi (SLM) bulunabilir. Bu tabakada çok çeşitli dev hücreler ve mononükleer makrofajlar bulunmaktadır. Sinovya benzeri metaplazinin günümüzde kapsül formasyonu oluşumunda kritik rol aldığı düşünülmektedir [95, 96]. Bu tabakanın implant çevresinde, kapsülün en iç katmanında bulunma insidansı %40 ila %87 arasında olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur [95-98]. Bu tabakanın kapsüldeki fibrotik remodelling aşamasının başlangıcını oluşturduğunu belirtilmiştir [95]. Kapsülün orta katmanında ise internal vasküler yapısı bulunan gevşek bağ dokusu bulunur. Dış tabakada ise eksternal vasküler yapısı olan yoğun bir bağ dokusu bulunur. Bu

tabakada bulunan kollajenler, fibrotik ve kontrakte kapsüllerde sayıca artmış ve kapsüle paralel olarak dizilim gösterirler.

Kapsül kontraktürü klinik değerlendirmesinde kullanılan Baker derecelendirmesi, değerlendirmeyi yapan uzmanın tecrübesine ve yorumuna göre değişkenlik gösterebilmektedir. Standart histolojik değerlendirme yapılarak kapsül kontraksiyonunun derecelendirilmesi nadiren yapılmaktadır. Kapsül kalınlığı, kollajen miktarı, fibroblast ve miyofibroblastların sayısı, proinflamatuvar hücre yoğunluğu, kapsül içerisine dağılan silikon partikülleri, kalsifikasyon varlığı, sinovya benzeri metaplazi varlığı incelenerek histolojik değerlendirme yapılmaktadır [47, 99-101]. Literatürde Wilflingseder, Baker klinik sınıflandırması ile eşlenen histolojik sınıflandırmayı tariflenmiştir [3].

GRADE	BAKER	WILFINGSEDER
1	İmplant palpabl ve görünür değildir.	İnce ve kontrakte olmamış kapsül
2	İmplant hafif sert, görünür değil	Dev hücrelerin olmadığı konstrikte fibrozis
3	İmplant sert ve görünür halde	Dev hücrelerin olduğu konstrikte fibrozis
4	İmplant çok sert, deforme, palpasyonla ağırlı	İnflamatuvar hücre yoğunluğu, yabancı cisim granüloması, neovaskülarizasyon ve olası nöroma

Tablo 1. Kapsül kontraktürünün klinik ve histolojik sınıflandırılması

2.4.3. Kapsül Kontraktürü Oluşumunu Önleme ve Tedavi:

Kapsül kontraktürü insidansını azaltan birçok farklı önleyici yöntemler tariflenmiştir. Mladick'in tariflediği implantın pudrasız eldiven ile tutulması ve implant yerleştirilmeden önce insizyon sahasının tekrardan dezenfekte edilmesi, 'non-touch' tekniği günümüzde bakteriyel kontaminasyonu önleme açısından yaygın kabul görmüştür [102]. Wixtrom ve ark. 'Tegaderm nipple shield' kullanımının endojen meme florasından implantın kontaminasyonunu azalttığını belirtmiştir [103]. Bir başka önleyici yöntem olarak memede implantın yerleştirileceğin cebin antibiyotik ya da antiseptik solüsyonlar ile yıkanması belirtilmiştir. Povidon iyodin (%5'lik) ile yıkamanın bakteriyel kontaminasyonu etkili bir şekilde azalttığını gösteren Burkhardt'ın çalışmasına rağmen FDA 2000 yılında Povidon iyodin ile yıkamanın implant kılıfını zayıflattığı ve deflasyona neden olduğu belirtilmiştir [104]. Günümüzde etkinliği gösterilen antibiyotikli solüsyon Adam ve ark. yapmış olduğu çalışmada gösterilen 500 ml serum fizyolojik içerisine 50000 ünite Basitrasin, 1 gr Sefazolin ve 80 mg Gentamisin koyulması ile elde edilen solüsyondur [105].

Profilaktik intravenöz antibiyotik kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalarda; lokal antibiyotik solüsyonları ile bakteriyel kolonizasyon ve biyofilm oluşumu açısından koruyuculuğun sistemik antibiyotik profilaksilere göre daha etkili olduğu gösterilmiştir. Hatta lokal kullanımın antibiyotik direncini sistemik kullanıma göre azaltacağı öngörülmüştür [106, 107].

Jacombs ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada antibiyotik emdirilmiş mesh ile implant kullanımının biyofilm formasyonu ve kapsül kontraktürü oluşumu

açısından koruyucu etkisini göstermiştir. *Staphylococcus Epidermidis* ile inoküle edilen 28 implantın yarısı antibiyotik emdirilmiş mesh ile yerleştirilmiştir. Antibiyotik mesh kullanılmayan grupta tüm implantlarda kapsül kontraktürü gözlenmiş (Baker grade 3-4), mesh kullanılan grupta ise hiçbir implantta kapsül kontraktürü izlenmemiştir. (Baker grade 1-2) [108]. Bu çalışma ile biyofilm oluşumunu erken aşamada antibiyotik emdirilmiş implantlar ile önlemenin klinik önemi vurgulanmıştır.

Seçilen cerrahi teknikte insizyon yerleşimi de implantın mikroorganizmalar ile kontaminasyonunda etkilidir [4]. Wiener ve ark. yapmış olduğu retrospektif taramada meme altı oluğu insizyonu kullanımında (inframamarian fold) kapsül kontraktür insidansı %0,59 iken periareolar insizyonda insidans %9,5 olarak bulunmuştur. Periareolar insizyonda transglandüler diseksiyon yapılması meme bezi ve duktal yapılarının hasarlanması sonucu endojen meme florası ile implantın kontamine olmasına neden olmakta iken inframamarian fold insizyonu ile bu risk daha azdır [109].

Kronik inflamasyonu azaltmaya yönelik çeşitli ilaçların kapsül formasyonunu azaltıcı etkisi araştırılmıştır. Zafirlukast, pirfenidone, steroidlerin bu amaçla kullanımı ve kapsül formasyonunu azaltıcı etkileri gösterilmiştir [110, 111]. Veras-castillo Baker evre 3-4 kapsül kontraktürü gelişen hastalarda günde 1800 mg oral pirfenidone kullanılmasının kontraktürleri bir yıllık süre içerisinde Baker evre 1-2'ye kadar indirgediğini göstermiştir [112].

Günümüzde kapsül kontraktürü gelişimini altın standart tedavi yöntemi total kapsülektomi ile birlikte implantın değiştirilmesi ve mümkünse implantın

yerleştirildiği cebin, planın da değiştirilmesidir [4].

Lokal antibiyotik olarak Rifamisin (Rifocin 250 mg/3 ml IM Enjeksiyon İçin

Solüsyon) kullanılması:

Etken madde olarak rifamisin SV (sodyum tuzu) 250 mg ve lidokain hidroklorür monohidrat 10 mg içermektedir. Rifamisinler (rifampin, rifabutin, rifapentin) *Amycolatopsis mediterranei*' den üretilen ve yapısal benzerlik gösteren makrosiklik antibiyotiklerdir. Etki mekanizması DNA'ya bağımlı RNA polimeraz enzimini inhibe ederek gösterirler. Bu etkiyi sadece prokaryotik hücrelerde gösterirler. Ökaryotik hücre polimerazına bağlanamadıkları için bu hücrelerdeki protein sentezini inhibe edemezler. Hücre içi ve hücre dışı mikroorganizmalara karşı bakterisidik etki gösterirler. Rifamisinlerin oral formu rifampin (rifampisin) adıyla anılmakta olup parenteral ve topikal kullanıma elverişli değildir. Rifocin amp. içerisinde ise rifamsin sodyum tuzu bulunmakta olup parenteral ve topikal kullanıma uygun formudur. Ülkemizde Rifocin amp. yara bakımında sıkça kullanılmaktadır. Rifamisin grubu antibiyotikler in vitro olarak pek çok Gram-pozitif ve Gram-negatif mikroorganizmaya etkilidir. *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus türleri*, ***Staphylococcus epidermidis***, *H. Influenza*, *E. Coli*, *Pseudomonas aureginosa*, *Leioenella pneumophila*, *Brucella türleri* ve *Streptococcus pyogenes*'e karşı etkili olduğu gösterilmiştir.

Literatürde rifampisin, vankomisin, fusidik asid kullanımının *Staphylococcus epidermidis*' in oluşturduğu biyofilm tabakasını önlemede etkili olduğunu gösteren

alışmalar bulunmaktadır [113, 114]. Klindamisin, Gentamisin ve tetrasiklin ile rifampisinin kombine kullanılmasının firampisine antagonistik etki oluşturduğu, vankomisinin ise sinerjistik etki oluşturduğu gösterilmiştir [115]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Rektrlğu Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından G..ET-17.047 kod numaralı çalışma etik kurul onayı almış olup, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yerleştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinde (GDAM) gerçekleştirildi. Çalışmada toplam ağırlıkları 235 (+20) gr olan Long Evans türü dişi sıçanlar kullanıldı. Deneyde 4 ana grup ve her grupta 6'şar adet olmak üzere toplam 24 adet deney hayvanı kullanıldı.

3.1. Gruplar ve Açıklamaları

Çalışmada kullanılan implantlar 'POLYTECH Health & Aesthetics' firması tarafından bu çalışma iim özel üretilmiş 2 cm çaplı ve 1 ml hacminde disk şeklindeki implantlardır. Tüm implantların i jel yapısı aynı olup sadece yüzey yapıları farklıdır.

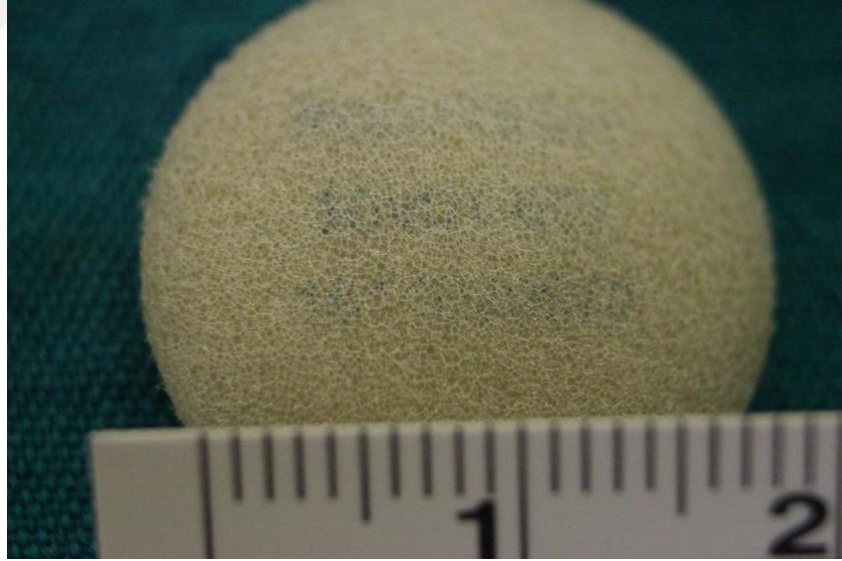
Her bir sıçana 3 farklı yüzey yapısına sahip mini-meme implantları (mikropürtüklü, pürtüklü ve poliüretan kaplı) yerleştirildi. Toplamda 4 farklı sıçan grup oluşturularak farklı yzeeye sahip impantların biyofilm ve kapsül oluşumları arasındaki farklar incelendi.

1. **Grup:** Sıçanların sırtında 3 farklı bölgeye açılan poşa 3 farklı yüzey yapısına sahip olan mini meme implantlarının **steril** olarak yerleştirildiği grup

2. **Grup:** Sıçanların sırtında 3 farklı bölgeye açılan poşa 3 farklı yüzey yapısına sahip olan mini meme implantlarının *Staphylococcus Epidermidis* ile inoküle edildikten sonra yerleştirildiği grup
3. **Grup:** Sıçanların sırtında 3 farklı bölgeye açılan poşa 3 farklı yüzey yapısına sahip olan mini meme implantlarının *Staphylococcus Epidermidis* ile inoküle edildikten sonra implante edilmeden önce *Rifamisin* ile yıkanarak yerleştirildiği grup
4. **Grup:** Sıçanların sırtında 3 farklı bölgeye açılan poşa 3 farklı yüzey yapısına sahip olan mini meme implantlarının *steril* olarak yerleştirilmeden önce *Rifamisin* ile yıkanarak implante edilen grup



Şekil 2. Üç farklı yüzey yapısına sahip mini implantlar. Soldan sağa sırasıyla poliüretan kaplı, mikropürtüklü ve pürtüklü yüzeye sahip implantlar.



Şekil 3. Poliüretan kaplı mini implantın köpüksü yüzey yapısı

GRUP 1-S	Mikropürtüklü yüzeyli mini implant	-	-
GRUP 1-P	Poliüretan kaplı mini implant	-	-
GRUP 1-T	Pürtüklü yüzeyli mini implant	-	-
GRUP 2-S	Mikropürtüklü yüzeyli mini implant	<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	-
GRUP 2-P	Poliüretan kaplı mini implant	<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	-
GRUP 2-T	Pürtüklü yüzeyli mini implant	<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	-
GRUP 3-S	Mikropürtüklü yüzeyli mini implant	<i>Staphylococcus Epiderimidis</i>	Rifamisin
GRUP 3-P	Poliüretan kaplı mini implant	<i>Staphylococcus Epiderimidis</i>	Rifamisin
GRUP 3-T	Pürtüklü yüzeyli mini implant	<i>Staphylococcus Epiderimidis</i>	Rifamisin
GRUP 4-S	Mikropürtüklü yüzeyli mini implant	-	Rifamisin
GRUP 4-P	Poliüretan kaplı mini implant	-	Rifamisin
GRUP 4-T	Pürtüklü yüzeyli mini implant	-	Rifamisin

Tablo 2. Deney grupları

3.2. Cerrahi Prosedür

Tüm gruptaki sıçanlara poş hazırlama işlemi aynı teknikle uygulandı. 45mg/kg ketamin HCL ve 5 mg/kg xylazin intramusküler uygulanarak uygun anestezi şartlarında tüm sıçanların dorsumu tıraş edildi. Povidon iyodin ile tüm sırt bölgesi temizlendikten sonra steril cerrahi alan örtünmesini takiben birbiri ile bağlantısı

olamayan; birisi ense bölgesinde vertikal kesi ile girilerek diğer ikisi ise her iki skapula altında oblik kesi ile girilerek kas altı planda hazırlanan poşlara, 3 farklı yüzey yapısına sahip, bu çalışma için tasarlanan ve her biri yuvarlak ve 2 ml hacminde olan silikon jel mini-implantlar yerleştirildi. 1. Grupta üç farklı yüzeye sahip mini implantlar forseps yardımıyla el değdirilmeden steril olarak yerleştirildi. 2. Grupta üç farklı yüzeye sahip mini implantlar 24 saat öncesinde, biyofilm tabaka oluşturduğu bilinen ve klinikteki biyofilm tabaka yaptığı tespit edilmiş izolattan üretilmiş olan standart miktarda *Staphylococcus Epidermidis* (3.2×10^7 CFU / ml) kültüründe bekletildikten sonra yerleştirildi. 3. Grupta üç farklı yüzeye sahip mini implantlar aynı şartlar altında ve sürede bakteri kültür ortamında bekletildikten sonra implante edilmeden önce steril bir kaptaki Rifocin amp. 250 mg/3 ml içeren antibiyotik solüsyonunda 1 dakika bekletildikten sonra hazırlanan poşlara yerleştirildi. 4. Grupta üç farklı yüzeye sahip mini implantlar steril bir kaptaki Rifocin amp. 250 mg/3 ml içeren antibiyotik solüsyonunda 1 dakika bekletildikten sonra hazırlanan poşlara yerleştirildi.

Tüm gruplar için bekleme süresi olan 3 ay (90 gün) dolduktan sonra uygun anestezi altında ve steril şartlarda sırt bölgesinde bulunan eski insizyon hatlarından girilerek mini implantlar etrafında oluşan kapsül dokusu ile beraber sıçana ait cilt ve ciltaltı dokusu dahil edilmeden sadece kapsül dokusu diseke edilerek örnekler alındı. Makroskopik klinik değerlendirmenin ardından Spesmenlerin bir kısmı biyofilm oluşumu incelenmesi için 50 ml steril konik tabanlı falkon tüplerine aktararak mikrobiyolojik mikrotitrasyon plaka yöntemi ile biyofilm değerlendirilmesi için, diğer bir kısmı %8'lik tamponlu gluteraldehit ile tespit edilerek elektron mikroskopisi ile

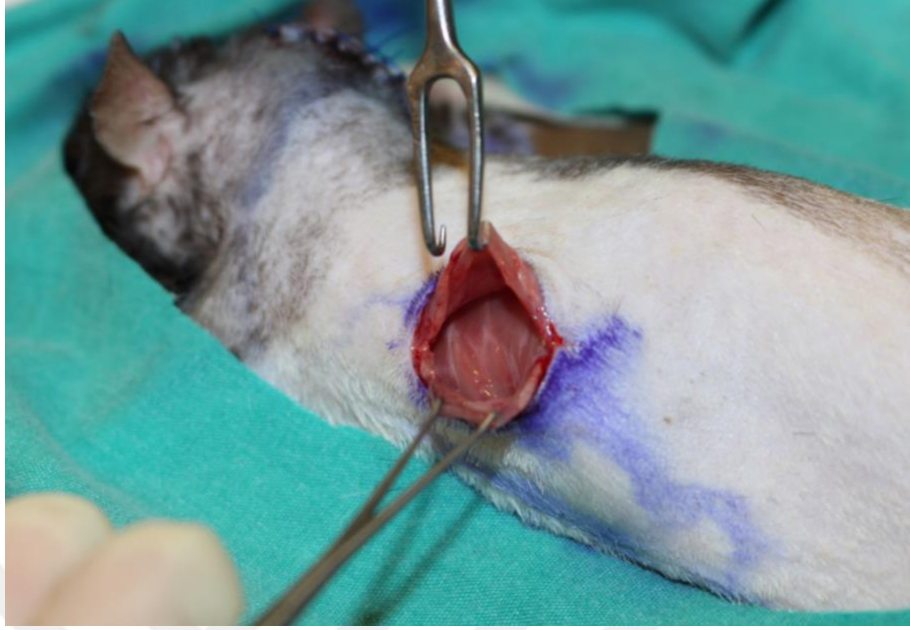
biyofilm değerlendirilmesi için incelemeye alındı. Spesmenlerin kalan yarım kısımları ise kapsül dokusunun histolojik değerlendirilmesi için % 4'lük nötral formaldehitle (pH= 7,4) tespit edildi. Dokular alındıktan sonra intrakardiyal kan alınması ile sıçanların ötenazileri sağlandı.



Şekil 4. Sıçan dorsumu insizyon yerleri pre-op çizimi



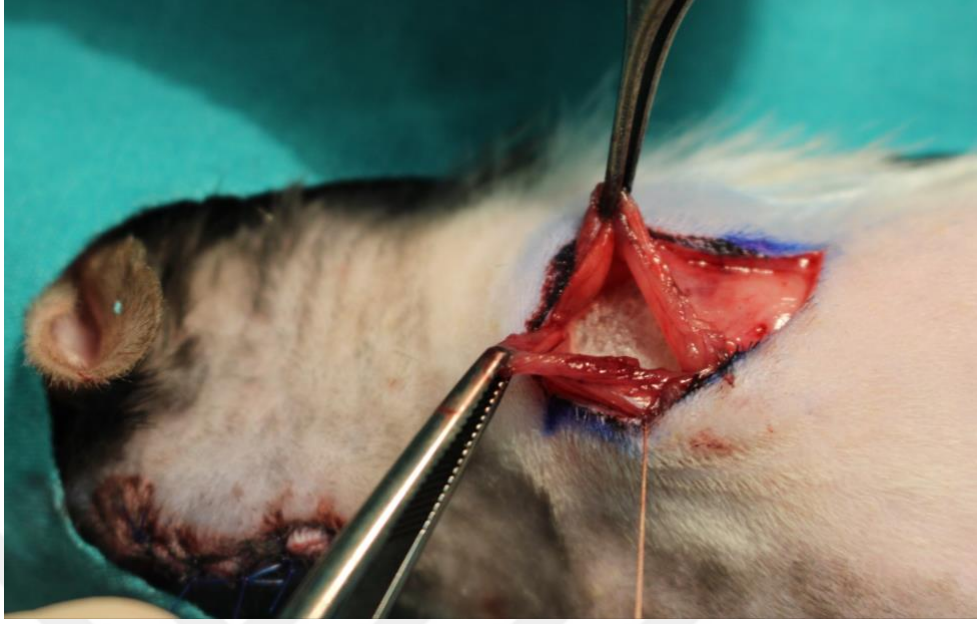
Şekil 5. Sıçan servikal bölgesi kas altı diseksiyon planı



Şekil 6. Sıçan sol taraf sırt bölgesi kas altı diseksiyon planı



Şekil 7. Sıçan sağ taraf sırt bölgesi kas altı diseksiyon planı



Şekil 8. Pürtüklü yüzeye sahip implantın kas altı plana yerleştirilmesi



Şekil 9. Pürtüklü yüzeye sahip implantın kas altı plana yerleştirilmesi



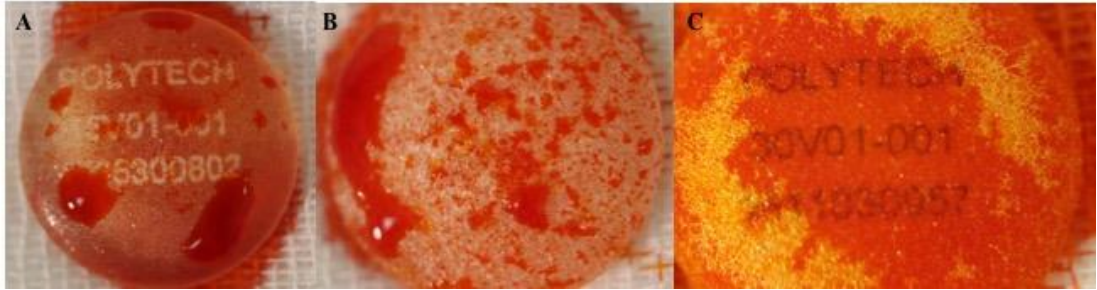
Şekil 10. Poliüretan kaplı implantın kas altı plana yerleştirilmesi



Şekil 11. İmplantlar yerleştirildikten sonra sıçan dorsumu



Şekil 12. Üç farklı yüzeye sahip mini implantların Rifamisin ile yıkandıktan sonraki görünüşleri



Şekil 13. Üç farklı yüzeye sahip mini implantların Rifamisin ile yıkandıktan hemen sonraki görünüşleri. A) mikropürtüklü, B) pürtüklü, C) poliüretan kaplı mini implantlar.



Şekil 14. Üç farklı yüzeye sahip mini implantların Rifamisin ile yıkandıktan 1 dakika sonraki görünüşleri. A) mikropürtüklü, B) pürtüklü, C) poliüretan kaplı mini implantlar.



Şekil 15. Rifamisin ile yıkanmış pürüklü implantın kas altı plana yerleştirilmesi



Şekil 16. Rifamisin ile yıkanmış poliüretan kaplı implantın kas altı plana yerleştirilmesi



Şekil 17. Mini implantların bakteriyel besiyeri içerisinde inkübasyonu

3.3. Kapsül Dokusunun Histolojik Yöntem ile Değerlendirilmesi

Kapsül dokuları % 4'lük nötral formaldehitte (pH= 7,4) tespit edildi. Tespit edilen dokulardan formaldehit akar suyla yıkanarak uzaklaştırıldı. Artan alkol serisinden geçirilen dokular ksilole alındıktan sonra parafin bloklar haline getirildi. Mikropürtüklü ve pürtüklü yüzeyli implantlar kapsül dokusundan ayrıldı ancak poliüretan kaplı implantlar, yapıları dokulara zarar verebileceğinden kapsülden ayrıldı. Parafin bloklardan 4 µm'lik kesitler lama alındı. 56°C'de 2 saat deparafinizasyon sonrası, ksilole alındı. Azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilen kesitler Masson'un üçlü boyası (GBL, LOT: A6374) kullanılarak boyandı. Boyama basamakları şu şekilde gerçekleştirildi:

1. Weigert demirli hematoksilin A ve B solüsyonları eşit oranda karıştırılarak uygulandı. 10 dakika sonra boya silkelenerek uzaklaştırıldı. 45 dakika havada kurutuldu.
2. Pikrik asit alkolik çözeltisi 4 dakika uygulandı. Lam silkelenerek boya uzaklaştırıldı. Distile suyla 3-4 saniye yıkandı.
3. Gelincik kızılı fuksin çözeltisi 4 dakika uygulandı. Lam silkelenerek boya uzaklaştırıldı. Distile suyla 3-4 saniye yıkandı.
4. Fosfomolibdik asit çözeltisi 10 dakika uygulandı. Lam silkelenerek boya uzaklaştırıldı.
5. Yıkamadan 5 dakika kurutuldu.
6. Masson anilin mavisi 5 dakika uygulandı. Lam silkelenerek boya uzaklaştırıldı. Distile suyla 3-4 saniye yıkandı.
7. Artan alkol serisinden geçirilerek ksilole alınan kesitler entellan kullanılarak lamelle kapatıldı.

3.4. Biyofilm Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemler

3.4.1. Elektron Mikroskopisi

İmplant yüzeyinde biyofilm oluşumunun değerlendirilmesi için örnekler %8'lik tamponlu gluteraldehit ile tespit edildi. 0,1 M Sörenson fosfat tamponuyla üç kez onar dakika yıkanan dokular, iki saat boyunca %1'lik osmiyum tetraoksitle tespit edildi. 0,1 M Sörenson fosfat tamponuyla üç kez onar dakika yıkandı. Artan alkol serilerinden geçirildi. Artan konsantrasyonda asetondan geçirilen dokular saf asetona

alındı. Dokular kritik nokta kurutucusunda kurutulup, altın- paladyum partikülleriyle kaplandı. Örnekler Carl Zeiss EVO LS10 (Carl Zeiss Microscopy Ltd.,Cambridge, UK) elektron mikroskopuyla değerlendirildi.

3.4.2. Mikrotitrasyon Plaka Yöntemi

- Ekstrakte edilen implantların yarısı kesildi ve 50 ml steril konik tabanlı falkon tüplerine aktarıldı.
- Tüpler, 37 derecede 24 saat çalkalayıcı inkübatörde bekletilerek, bakterilerin kontraksiyon materyali ve implant üzerinden besiyerine geçerek üremesi sağlandı.
- Her bir deney ve kontrol grubu için farklı mikrotitrasyon plakası kullanıldı.
- Her bir implant için, 180 ul, %2 glikoz ve %2 sükroz içeren brain heart infusion besiyeri 96 kuyucuklu düz tabanlı mikrotitrasyon plakalarında yer alan kuyucuklara aktarıldı.
- Her bir implant için 3 adet kuyucuk kullanıldı. 200 ul besiyeri içeren 6 adet negatif kontrol kuyucuğu kullanıldı.
- Ekstrakte edilen implantların inkübe edildiği tüplerden 20 ul örnek, 180 ul besiyeri içeren kuyucuklara aktarıldı ve totaled 200 ul elde edildi.
- Mikrotitrasyon plakaları 37 derecede 24 saat çalkalayıcı inkübatörde bekletildi.

- İnkübasyon sonrası kuyucuklarda yer alan besiyerleri, biyofilm tabakasına zarar vermemeye özen gösterilerek ve her bir kuyucuk için farklı ve uygun mikropipetler kullanılarak, plakalardan uzaklaştırıldı.
- Besiyerinin uzaklaştırılmasından sonra her kuyucuk 3 kere 300 ul steril PH 7.2 fosfat buffer saline ile yıkandı. Her bir yıkama ve her bir kuyucuk için farklı mikropipetler kullanıldı.
- Yıkama sonrası plakalar 60 derecede 60 dakika sıcak havada bekletilerek, kuyularda kalan bakterilerin fiksasyonu sağlandı.
- Fiksasyon sonrası her bir kuyucuğa 150 ul kristal viyole aktarılarak oda sıcaklığında 15 dakika beklenerek bakterilerin boyanması sağlandı.
- Boyama sonrası kuyucuklarda yer alan boya, her bir kuyucuk için farklı ve uygun mikropipetler kullanılarak, aspire edildi. Aspirasyon sonrası geriye kalan boya çeşme suyu altında yıkanarak uzaklaştırıldı.
- Yıkama sonrası plakaların oda sıcaklığında kuruması beklendi ve spektrofotometrik ölçüm yapılmadan 30 dakika önce, 150 ul %95 etanol solüsyonu kuyucuklara aktarılarak plakaların kapağı kapatıldı.
- Kristal viyole ile boyalı her bir kuyucuğun optik dansitesi mikrotitrasyon plaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü.

3.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 17.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup

olmadığı Shapiro Wilk testi ile varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırıldı.

Tanımlayıcı istatistikler medyan (çeyrekler arası dağılım genişliği) şeklinde gösterildi.

Yüzey türleri sabit tutulduğunda gruplar arasında medyan bakteri yükü, kapsül kalınlığı ve histopatoloji skorları yönünden farkın önemliliği Kruskal Wallis testiyle araştırıldı. Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kruskal Wallis test istatistiği sonuçlarının önemli bulunduğu durumlarda Mann Whitney U testi kullanılarak farka neden olan durum(lar) tespit edildi. Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0028$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Gruplar sabit tutulduğunda yüzey türleri arasında medyan bakteri yükü, kapsül kalınlığı ve histopatoloji skorları yönünden farkın önemliliği Friedman testiyle incelendi. Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Friedman test istatistiği sonuçlarının önemli bulunduğu durumlarda Wilcoxon İşaret testi kullanılarak farka neden olan yüzey tip(ler)i tespit edildi. Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0042$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

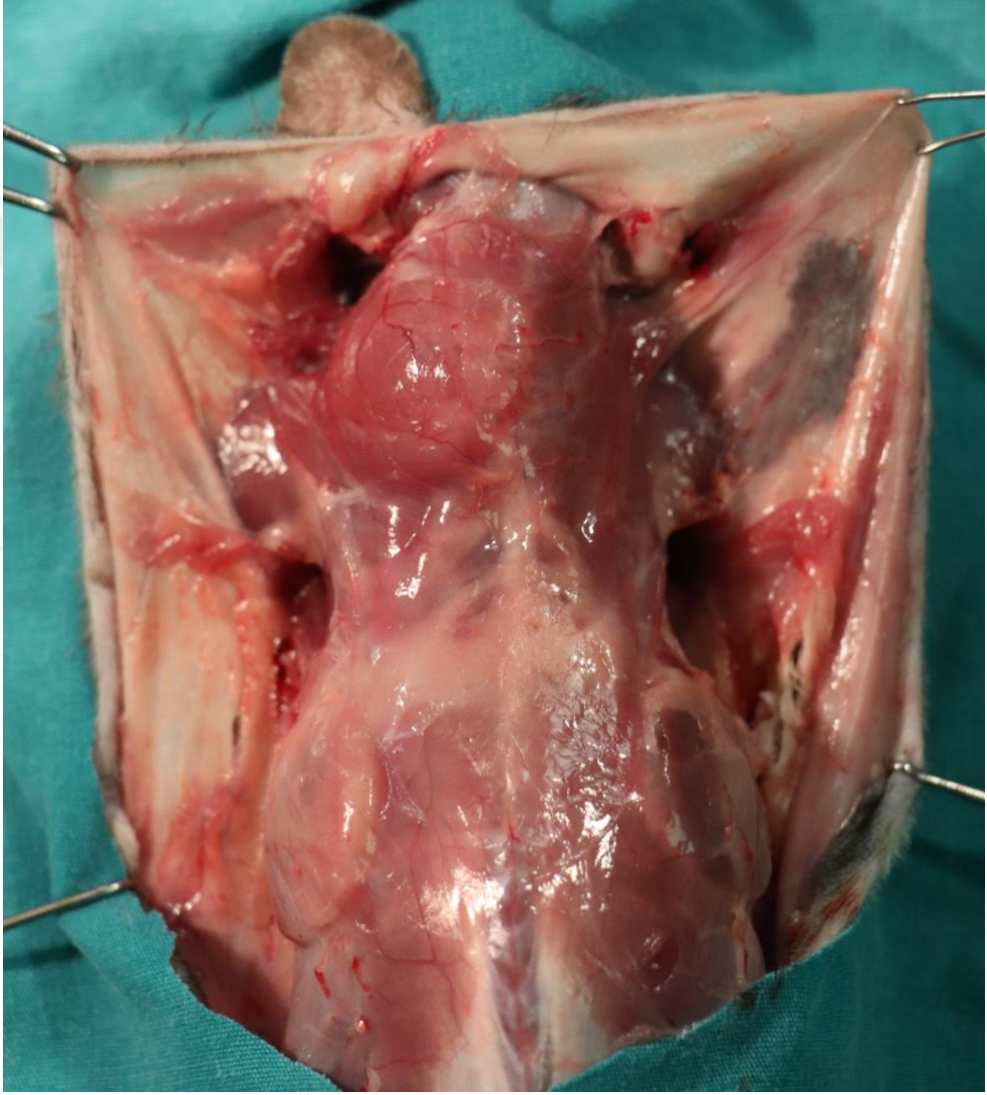
Mevcut çalışmada, yapılan olası tüm çoklu karşılaştırmalarda, Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

Tüm gruplar üç ay boyunca uygun koşullarda takip edildi. Gruplardaki hayvanların çalışmaya dahil edilenlerinde yara yeri açılması, implant ekspozisyonu ve yer değiştirmesi gözlemlenmedi. Üçüncü ay sonun Baker kapsül kontraktürü skorlaması yapılarak klinik değerlendirme gerçekleştirildi; 1. Grup (steril) ve 4. Gruptaki (steril + rifamisin) implantların makroskopisinde belirgin farklılık olmamakla birlikte tüm mikropürtüklü yüzeyli ,poliüretan kaplı ve pürtüklü implantlar Baker skorlaması grade 1 ya da 2 olarak değerlendirildi. Bu karşılık *Staphylococcus Epidermidis* kültüründe bekletildikten sonra implante edilen 2. Gruptaki tüm pürtüklü yüzeye sahip implantlar eksplantasyon öncesi dışardan enfeksiyon belirtisi olmaksızın daha küremsi ve sert görünmekte ve implant kapsül dokusu ile birlikte çıkartıldığında mikropürtüklü yüzeyli ve poliüretan kaplı implantlara göre belirgin daha büyük ve kalın kapsül dokusu oluşturduğu görüldü. (Baker grade 3-4). Üçüncü gruptaki (bakteri + rifamisin) pürtüklü yüzeye sahip implantların ise eksplantasyon öncesi 2.,3.,4.,5. Ve 6. deneklerinde benzer şekilde dışardan enfeksiyon belirtisi olmaksızın daha belirgin ve sert görünmekteydi.(Baker grade 3-4) 3. Grubun 1. Denek pürtüklü implantı ve diğer tüm 3. Grup mikropürtüklü yüzeyli ve poliüretan kaplı implantları ise Baker grade 1-2 ile uyumlu olarak değerlendirildi. Tüm gruplarda kapsül dokusu implant yüzeyinden mikropürtüklü yüzeyli ve pürtüklü implantlarda kolayca ayrılabilirken, poliüretan kaplı implantlarda kapsül dokusu implantın köpüksü

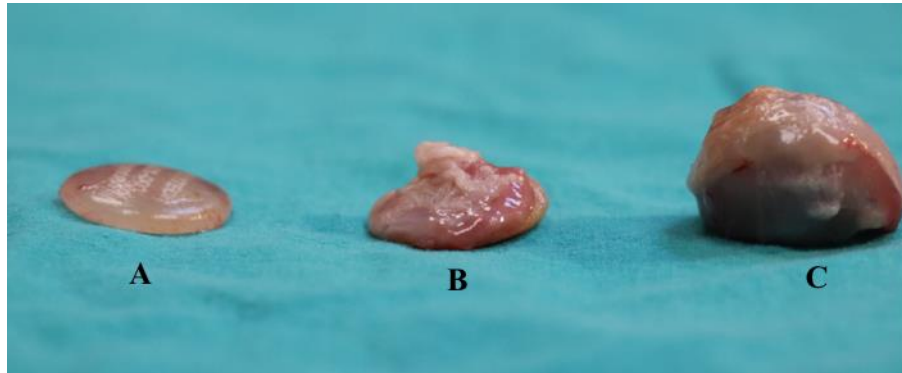
yüzeyi içerisine sıkı bir şekilde integre olduğu için, kapsülü implant yüzeyinden kolayca ayırmak mümkün değildi.



Şekil 18. Sıçan dorsumu mini implantların eksizyon öncesi görünümü



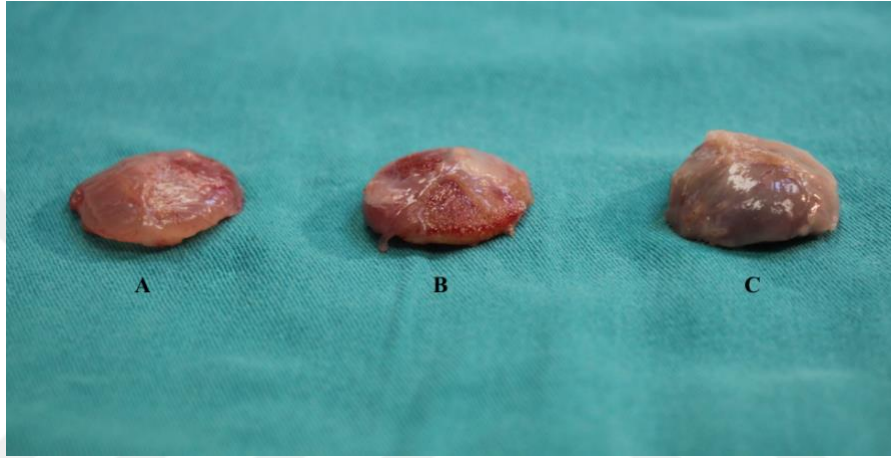
Şekil 19. Sıçan dorsumu mini implantların eksizyon öncesi görünümü. Sağ taraf sırt bölgesindeki pürtüklü yüzeye sahip implantın daha belirgin olduğu dikkat çekmektedir.



Şekil 20. Bakteri inokülasyonu sonrasında implante edilen grubun (Grup 2) mini implantlarının kapsül dokularıyla birlikte eksizyonu sonrası görünümü. A) mikropürtüklü, B) poliüretan, C) pürtüklü mini implantların kapsül dokuları.



Şekil 21. Mini implantlar ve kapsül dokuları. A) mikropürtüklü, B) pürtüklü, C) poliüretan kaplı mini implantlar ve kapsül dokuları.



Şekil 22. Bakteri inokülasyonu ve Rifamisin uygulaması sonrasında implante edilen grubun (Grup 3) mini implantlarının kapsül dokularıyla birlikte eksizyonu sonrası görünüşleri. A) mikropürtüklü, B) poliüretan kaplı, C) pürtüklü mini implantlar ve kapsül dokuları.



Şekil 23. Bakteri inokülasyonu yapılan (Grup 2) pürtüklü yüzeyli ve kalın kapsül dokusu oluşan bir mini implant

4.2. Makroskopik Bulguların İstatistiksel Analizi

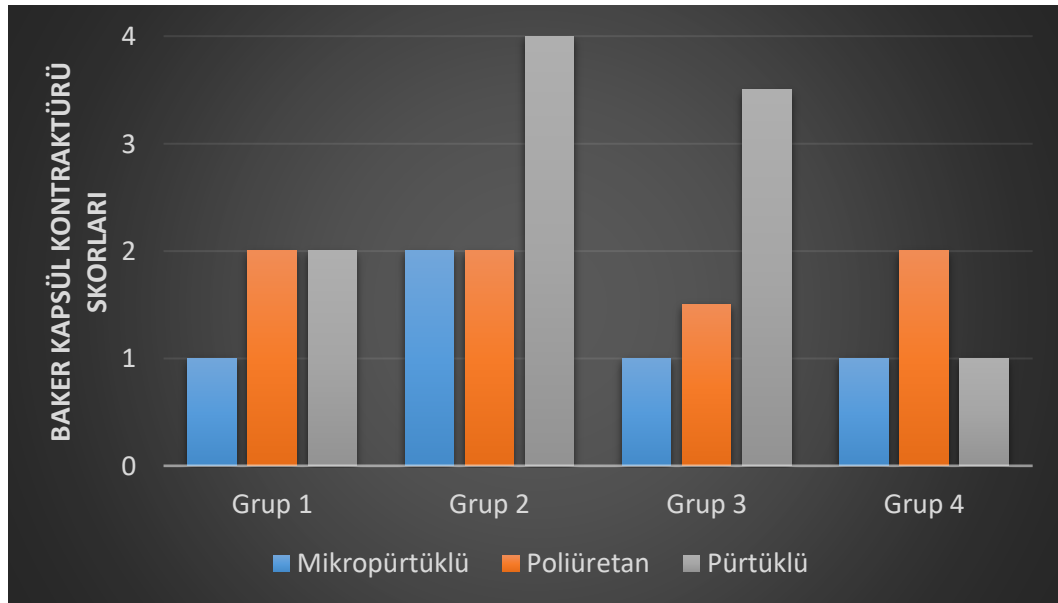
Grup 1 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan Baker kapsül kontraktür skoru yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.264$). Grup 2 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan Baker kapsül kontraktür skoru yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.015$). Grup 3 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan Baker kapsül kontraktür skoru yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.024$). Grup 4 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan Baker kapsül kontraktür skoru yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.174$).

Mikropürtüklü implantlar içerisinde gruplar arasında medyan Baker kapsül kontraktür skoru yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.055$). Poliüretan implantlar içerisinde de gruplar arasında medyan Baker kapsül kontraktür skoru yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.810$). Pürtüklü implantlar içerisinde ise gruplar arasında medyan Baker kapsül kontraktür skoru yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0.009$), söz konusu farka neden olan durum Grup 1 ve 4'e göre Grup 2'nin medyan Baker kapsül kontraktür skorunun daha yüksek olması idi ($p<0.001$ ve $p<0.001$). Ayrıca, Grup 3'e göre Grup 4'ün de medyan Baker kapsül kontraktür skoru daha düşük idi ($p<0.001$).

Tablo 3. Gruplara ve yüzeylere göre Baker kapsül kontraktürü skorları

	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü	p-değeri
				†
Grup 1	1 (1-1)	2 (1-2)	2 (1-2) ^A	0.264
Grup 2	2 (1-2)	2 (1.5-2)	4 (3.5-4) ^{A,B}	0.015
Grup 3	1 (1-1)	1.5 (1-2)	3.5 (2.25-4) ^C	0.024
Grup 4	1 (1-1)	2 (1.25-2)	1 (1-1.75) ^{B,C}	0.174
p-değeri	0.055	0.810	0.009	
‡				

Veriler; medyan (çeyrekler arası dağılım genişliği) biçiminde gösterildi, † Gruplar içerisinde yüzeyler arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, ‡ İmplant yüzeyi sabit tutulduğunda gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), B: Grup 2 ile Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), C: Grup 3 ile Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$).



Grafik 1: Üç farklı yüzey yapısına sahip implantların gruplara göre Baker kapsül kontraktürü skorlarındaki değişimin grafiği

4.3. Histolojik Bulgular

Kesitler DM 4000 Leica Germany Görüntülü Analiz Sistemleriyle değerlendirildi. Kapsül kalınlığı altı farklı yerden ölçüldü (μm). Kapsül dokusu; sıkı düzenli bağ doku (SDBD), gevşek bağ dokusu (GBD) içeriği ve implant komşuluğundaki yüzeyde sinoviyal zar benzeri metaplazi (SZBM) göstermesine göre değerlendirildi. SBZM'nin kapsül yüzeyinde kapladığı alan ve bağ dokusu tiplerinin kapsül kalınlığı boyunca kapladıkları alana göre birden dörde kadar derecelendirildi (Tablo 3). İnflamatuvar hücre infiltrasyonu ve yabancı cisim dev hücrelerinin (YCDH) kapsüldeki dağılımları da benzer şekilde derecelendirildi (Tablo 4).

Tablo 4: Kapsül yapısının değerlendirilmesi (*Sinoviyal zar benzeri metaplazi, sıkı düzenli bağ doku ve gevşek bağ dokusu sınıflandırma değerleri*).

1	<%10
2	% 10-29
3	% 30-50
4	>%50

Tablo 5: İnflamatuvar hücre infiltrasyonu ve yabancı cisim dev hücrelerinin yoğunluğunun değerlendirilmesi

1	<%10
2	% 10-20
3	% 20-30
4	>%30

Sakrifiye edilen hayvanlardan toplam altmış iki adet kapsül yapısı histolojik olarak incelendi. Yapılan üçlü boyama sonucunda kollajen lifleri mavi, sitoplazma kırmızı ve çekirdekler siyah olarak izlendi. Kapsül yüzeyinde görülen SZBM, kapsülü

oluşturan bağ doku tiplerinin oranlarının, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ve yabancı cisim dev hücrelerinin dağılımı belirlendi. (Tablo 6, Tablo 7, Tablo 8, Şekil 24, Şekil 25, Şekil 26 , Tablolarda harfler implant yüzeyini, ilk basamaklar grup numarasını, ikinci basamaklar ise denek numarasını belirtmektedir).

Tüm kapsüllerde baskın doku tip sıkı düzenli bağ dokusu olarak görüldü. Poliüretan kaplı implantlar kapsül dokularından ayrılamadığı için kesitlerde silikon materyal izlendi. İmplant yüzeyinin özelliği nedeniyle implant yüzeyi ve doku arasındaki sınır net olarak izlenmedi. Bu nedenle sinoviyal zar benzeri metaplazi görece az izlendi. Kapsülün genelinde kollajen fibrillerinin gösterdiği koşut düzenlenimin yanında, doku içerisinde izlenen poliüretan madde kalıntılarının çevresinde farklı açılanmalar görüldü. Bu kalıntıların çevresinde görülen yabancı cisim dev hücrelerinin yoğunluğunun grup 3'te (bakteri + rifamisin) grup 2'den (bakteri) az, grup 4'ten (rifamisin) ise fazla olduğu görüldü. Grup 1 (kontrol) ise yabancı cisim dev hücrelerinin en az yoğunlukta görüldüğü grup oldu. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu yoğunluk olarak dev hücrelerden az olmasına karşın gruplar arası değişimleri benzerdi. Mikropürtüklü yüzeyli implantların komşuluğundaki yüzeylerde SZBM oranları diğer implantlardakinden görece daha fazlaydı. Gruplar arasında yoğunlukta görece en çoktan en aza doğru; grup 3, 2, 1, 4 olarak izlendi. Kapsüller, kollajen fibrilleri koşut düzenlenimde olan sıkı düzenli bağ dokusu yapısında izlendi. Yabancı cisim dev hücreleri nadir olarak görülürken, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun yoğunluğu görece daha fazlaydı. En fazla YCDH yoğunluğu grup 2'de görülmesine karşın genel olarak birbirine yakındı. Yüzeyi pürtüklü implantların komşuluğundaki

kapsül dokuları sıkı düzenli bağ dokusu yapısında ve kollajen fibriller koşut düzenlenimde izlendi. SZBM yoğun olarak izlenmedi. İmplant komşuluğundaki hücreler morfolojik olarak sinoviyal metaplaziden ziyade inflamatuvar hücre infiltrasyonunu yansıtmaktaydı. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu yüzeyle sınırlı değildi. Diğer implantlarla karşılaştırıldığında daha yoğun bir inflamatuvar cevap oluşturdıkları izlendi. Grup 2’de grup 1’e göre izlenen artış grup 3’te gerilerken grup 4’te en az olarak görüldü. Bu değerlendirmelere grup 1’de 1 numaralı deneğe ilişkin doku dahil edilmedi. İmplantın görülmediği doku, makroskopik olarak sert, uniform bir nodül yapısında izlendi. Mikroskopik olarak yaklaşık 5mm boyunda, 15 mm eninde yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonunun eşlik ettiği, vasküler yapılar görülen sıkı düzenli bağ dokusu olarak görüldü.

Mikropürtüklü yüzeyli implantlar çevresinde daha ince kapsüller görüldü. Ancak tüm gruplar ve implantlar değerlendirildiğinde kapsül kalınlıklarının geniş bir aralıkta değiştiği izlendi. Bu nedenle biyofilm sonuçlarıyla korelasyon değerlendirmesi yapılmalıdır.

Tablo 6: Mikropürtüklü yüzeyli implantların kapsül dokularına ilişkin veriler

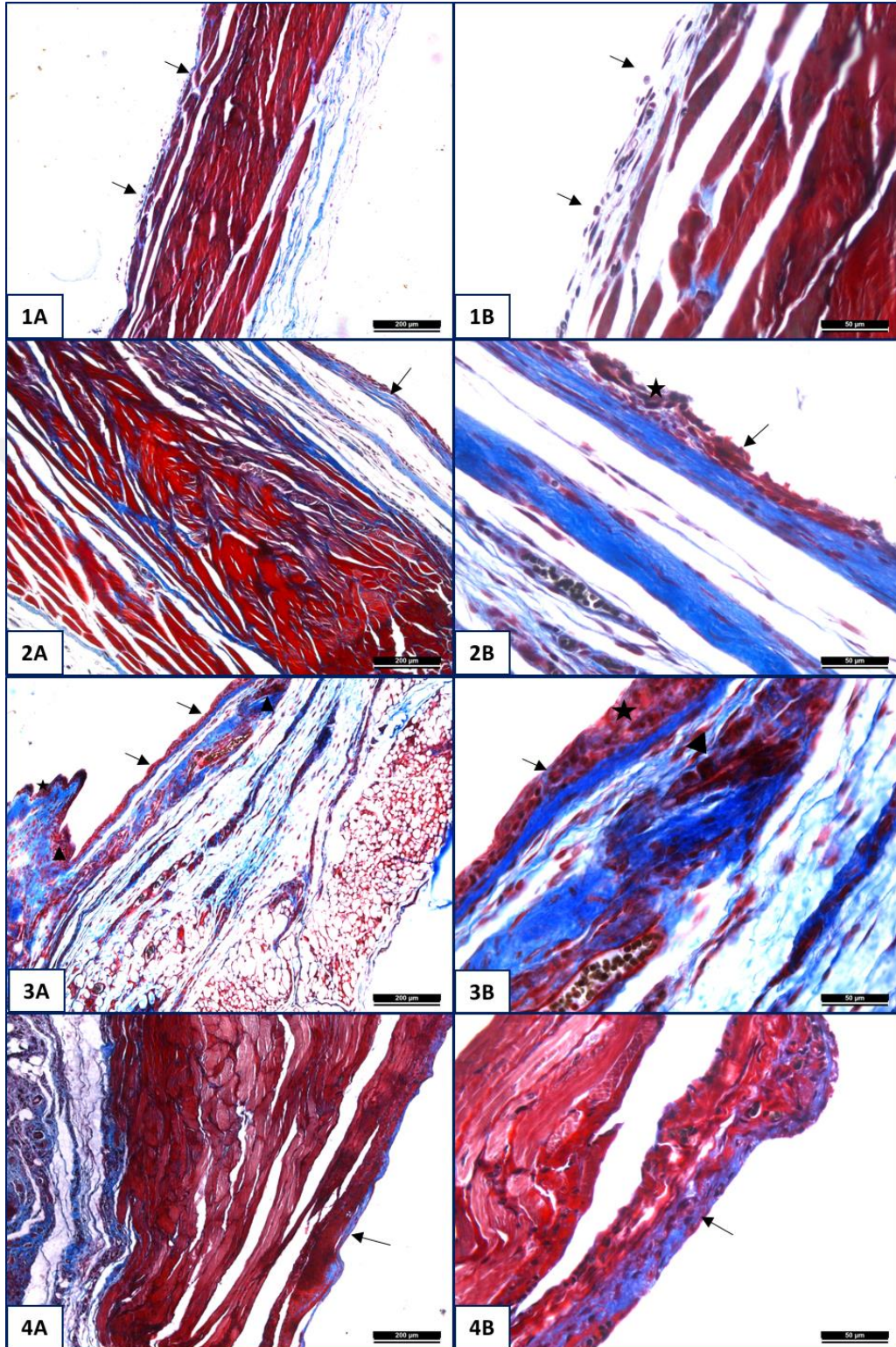
Örnek no	Baker Grade (Kapsül kontraktürü)	SZBM	GBD	SDBD	İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	YCDH	Kapsül kalınlığı ortalaması (µm)
S11	1	2	1	4	1	1	188,398
S13	1	4	2	4	1	1	335,711
S14	1	1	1	4	1	1	58,082
S15	1	1	1	4	1	1	124,921
S16	1	1	1	4	1	1	109,268
S21	2	1	1	4	1	1	175,743
S22	1	1	1	4	3	1	201,708
S23	2	3	3	4	1	1	191,441
S24	1	2	1	4	1	1	162,942
S25	2	4	1	4	2	1	148,020
S26	1	3	1	4	2	1	153,809
S31	1	1	3	4	1	1	166,279
S32	1	4	2	4	1	1	194,440
S33	1	4	2	4	1	1	143,645
S34	1	1	1	4	1	1	124,540
S35	1	4	1	4	1	1	110,373
S41	1	1	1	4	1	1	66,381
S43	1	1	1	4	1	1	134,246
S45	1	1	1	4	2	1	172,578
S46	1	3	1	4	1	1	102,295

Tablo 7: Poliüretan kaplı implantların kapsül dokularına ilişkin veriler

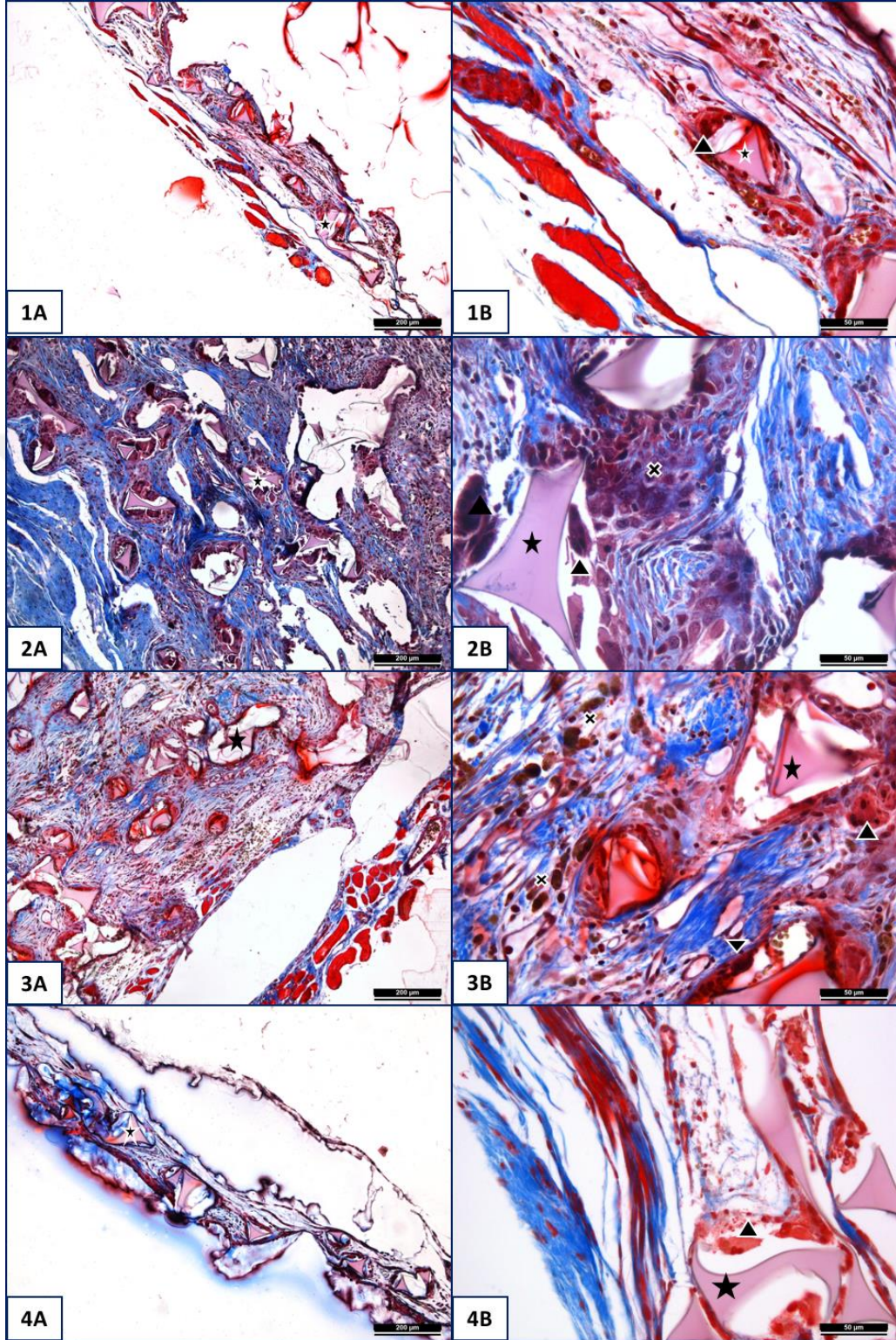
Örnek no	Baker Grade (Kapsül kontraktürü)	SZBM	GBD	SDBD	İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	YCDH	Kapsül kalınlığı ortalaması (µm)
P11	2	1	3	4	1	3	594,863
P12	1	1	3	4	3	3	313,860
P13	1	1	2	4	1	2	225,929
P14	2	1	2	4	1	3	248,294
P15	2	1	3	4	1	2	1019,180
P16	2	1	2	4	1	2	905,213
P21	2	1	3	4	4	3	488,321
P22	2	1	3	4	3	4	399,164
P23	2	1	3	4	3	4	387,524
P24	2	1	3	4	3	4	169,333
P25	1	1	3	4	3	4	225,004
P26	2	2	3	4	3	4	1567,920
P32	1	1	3	4	3	4	330,057
P33	2	1	3	4	3	3	755,721
P34	1	1	3	4	2	4	617,660
P35	2	1	2	4	2	3	832,871
P36	1	1	3	4	3	3	408,468
P41	1	1	3	4	1	3	297,820
P42	2	1	3	4	2	3	368,671
P43	2	1	2	4	2	3	214,279
P45	2	1	3	4	2	3	485,429
P46	2	1	2	4	2	3	254,184

Tablo 8: Pürtüklü yüzeyle implantların kapsül dokularına ilişkin veriler

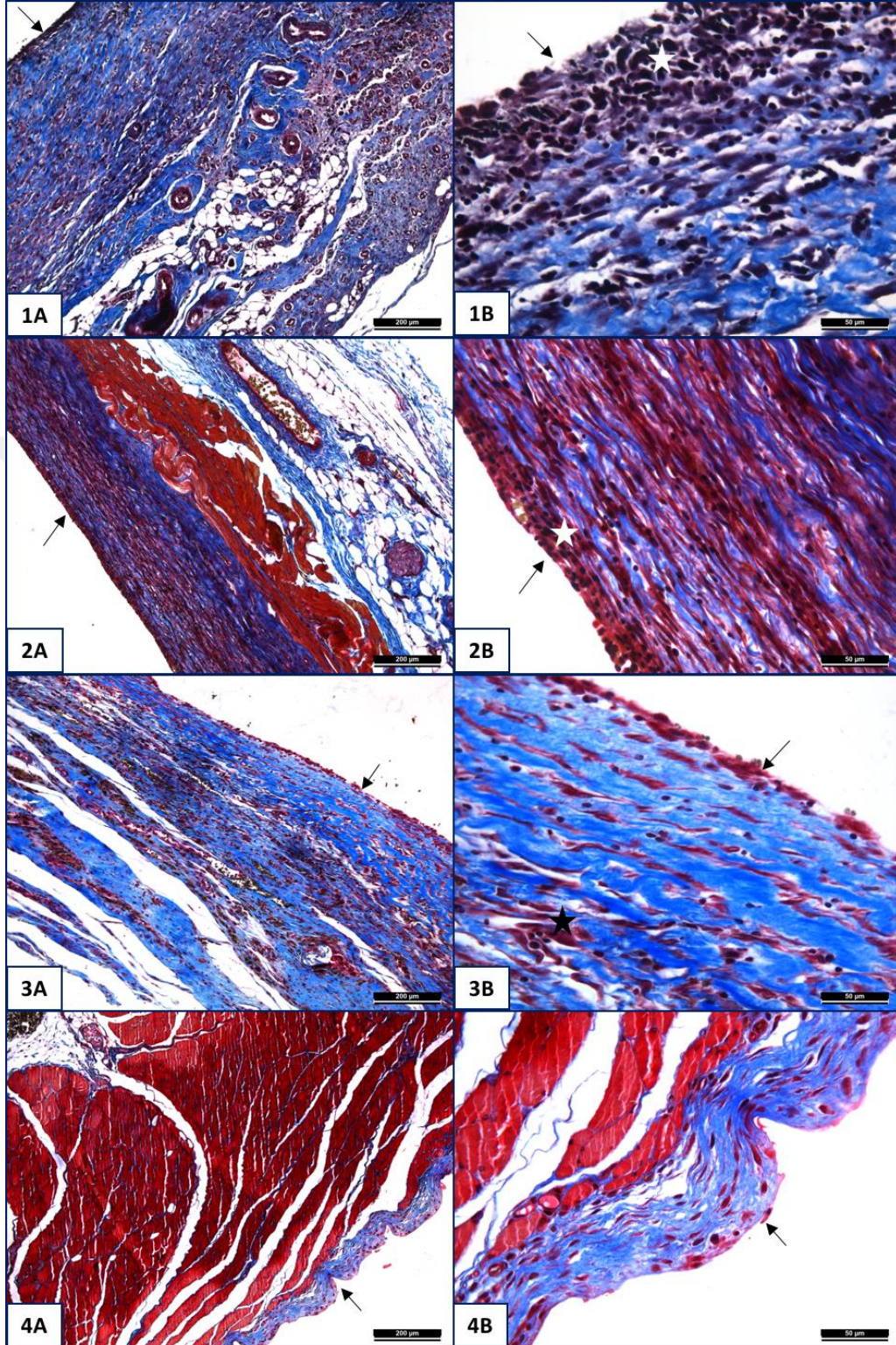
Örnek no	Baker Grade (Kapsül kontraktürü)	SZBM	GBD	SDBD	İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	YCDH	Kapsül kalınlığı ortalaması (µm)
T11	x	Sıkı düzenli bağ doku özelliğinde, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve vasküler yapıları içeren nodüler oluşum izlendi, implant görülmedi. Kesit boyutu: 5 mmx 15 mm					
T13	2	1	1	4	3	1	799,117
T15	1	1	1	4	1	1	124,862
T16	2	1	1	4	2	1	275,0988
T21	4	1	3	4	4	1	1736,857
T22	3	1	1	4	4	1	1300,163
T23	4	1	1	4	4	1	1641,273
T24	4	1	1	4	4	1	962,161
T25	4	1	1	4	4	1	659,852
T31	2	1	1	4	3	1	281,301
T32	3	1	1	4	3	1	263,094
T33	3	3	1	4	3	1	266,989
T34	4	3	1	4	3	1	783,348
T35	4	1	1	4	4	1	429,046
T36	3	1	1	4	3	1	621,102
T41	2	1	1	4	1	1	411,647
T42	2	1	1	4	1	1	118,765
T43	1	1	1	4	2	1	104,283
T45	1	1	1	4	1	1	105,515
T46	1	1	1	4	2	1	410,716



Şekil 24. Mikropürtüklü yüzeyli implantların kapsül dokularına ilişkin resimler. Sayılar grup numaralarını temsil etmektedir. (A: 100x, B:400x büyütme). İmplant komşuluğundaki yüzey oklarla, sinoviyal zar benzeri metaplazi yıldızla (2B, 3A, 3B), inflamatuvar hücre infiltrasyonu üçgenle (3A, 3B) işaretlenmiştir.



Şekil 25. Poliüretan kaplı implantların kapsül dokularına ilişkin resimler. Sayılar grup numaralarını temsil etmektedir. (A: 100x, B:400x büyütme). Poliüretan köpükler yıldızla, yabancı cisim dev hücreleri üçgenle, inflamatuvar hücre infiltrasyonu çarpı işaretiyle gösterilmiştir.



Şekil 26. Pürtüklü yüzeyle implantların kapsül dokularına ilişkin resimler. Sayılar grup numaralarını temsil etmektedir. (A: 100x, B:400x büyütme). İmplant komşuluğundaki yüzey okla, inflamatuvar hücre infiltrasyonu yıldızla gösterilmiştir.

4.4. Histolojik Bulguların İstatistiksel Analizi

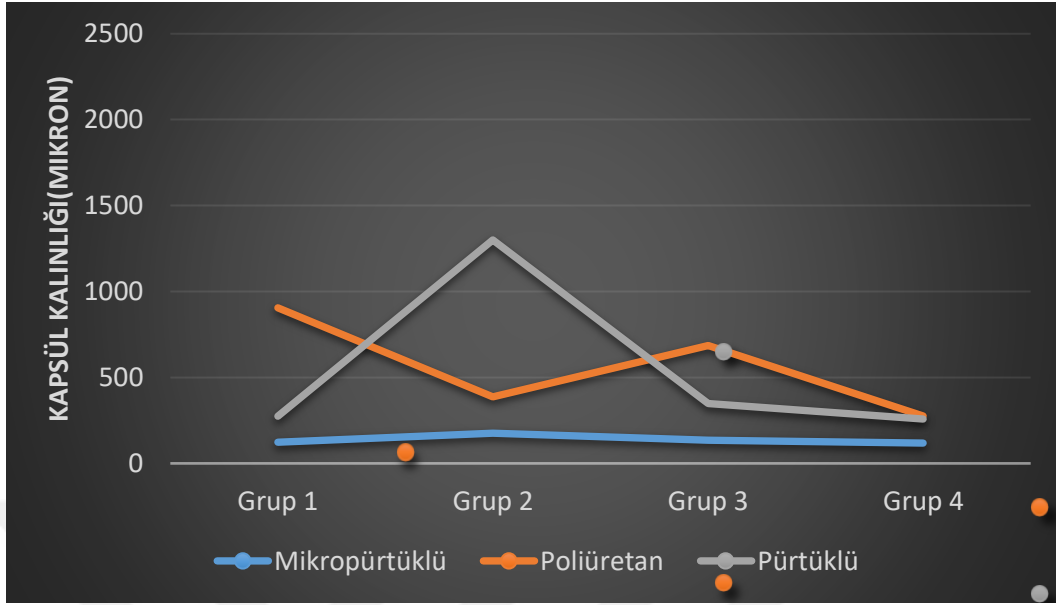
Araştırmamızda kullandığımız üç farklı yüzey yapısına sahip implantların farklı gruplar altındaki incelemesinde **kapsül kalınlıklarına** ilişkin sonuçların istatistiksel analizinde Grup 1 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan kapsül kalınlığı düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.717$). Grup 2 içerisinde ise mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan kapsül kalınlığı düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0.007$), söz konusu farka neden olan durum mikropürtüklü yüzeylere göre pürtüklü yüzeylerin medyan kapsül kalınlığı düzeylerinin daha yüksek olması idi ($p=0.004$). Grup 3 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan kapsül kalınlığı düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.039$). Grup 4 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan kapsül kalınlığı düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.368$).

Mikropürtüklü implantlar içerisinde gruplar arasında medyan kapsül kalınlığı düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.224$). Poliüretan implantlar içerisinde de gruplar arasında medyan kapsül kalınlığı düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.156$). Pürtüklü implantlar içerisinde de gruplar arasında medyan kapsül kalınlığı düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.028$).

Tablo 9. Gruplara ve yüzeylere göre kapsül kalınlığı düzeyleri (µm)

	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü	p-değeri [†]
Grup 1	124.9 (109.3-335.7)	905.2 (225.9-1019.2)	275.1 (124.9-799.0)	0.717
Grup 2	175.7 (155.5-196.6) ^a	387.5 (197.2-443.7)	1300.2 (811.0-1689.1) ^a	0.007
Grup 3	134.1 (113.9-181.7)	686.7 (402.0-813.6)	348.0 (264.1-694.8)	0.039
Grup 4	118.3 (75.4-163.0)	276.0 (224.2-438.5)	258.1 (104.6-411.4)	0.368
p-değeri	0.224	0.156	0.028	
‡				

[†] Veriler; medyan (çeyrekler arası dağılım genişliği) biçiminde gösterildi, [†] Gruplar içerisinde yüzeyler arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre p<0.0125 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, [‡] İmplant yüzeyi sabit tutulduğunda gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre p<0.0167 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, a: Mikropürtüklü yüzey ile pürtüklü yüzey arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0.004).



Grafik 2: Üç farklı yüzey yapısına sahip implantların gruplara göre kapsül kalınlıklarındaki değişimin grafiği

Araştırmamızda kullandığımız üç farklı yüzey yapısına sahip implantların farklı gruplar altındaki incelemesinde **yabancı cisim dev hücre skorlarına** ilişkin sonuçların istatistiksel analizinde Grup 1 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan yabancı cisim dev hücreleri skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.050$). Grup 2 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan yabancı cisim dev hücreleri skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0.007$), söz konusu farka neden olan durum mikropürtüklü ve pürtüklü yüzeylere göre poliüretan yüzeylerin medyan yabancı cisim dev hücreleri skorunun daha yüksek olması idi ($p<0.001$ ve $p<0.001$). Grup 3 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan yabancı cisim dev hücreleri skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.018$). Grup 4 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü

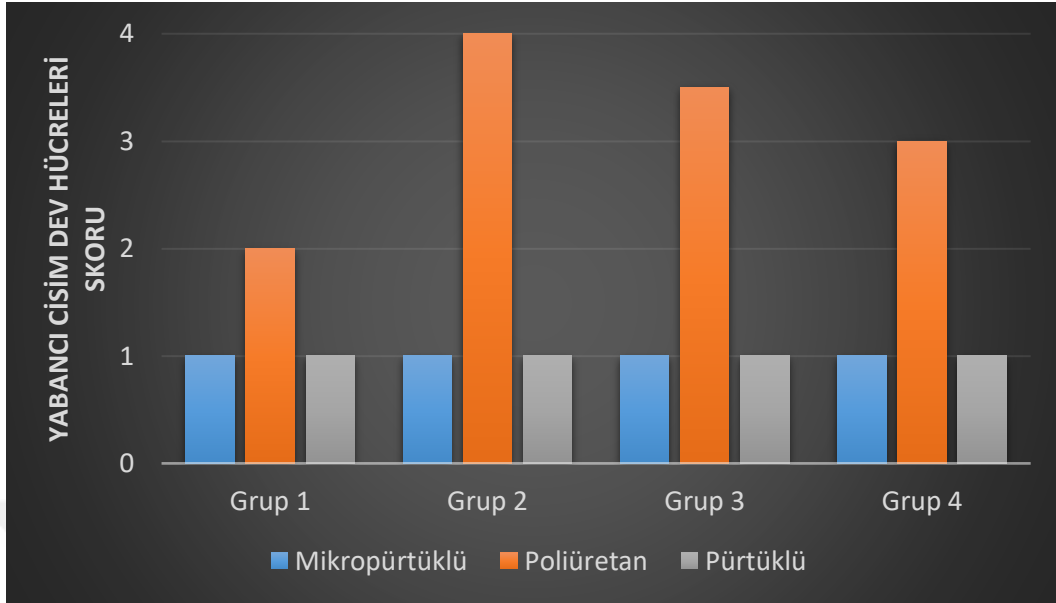
yüzeyler arasında medyan yabancı cisim dev hücreleri skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.018$).

Mikropürtüklü implantlar içerisinde gözlemlerin tümünün yabancı cisim dev hücreleri skorları 1'e eşit olduğundan gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir kıyaslama yapılmamıştır. Poliüretan implantlar içerisinde ise gruplar arasında medyan yabancı cisim dev hücreleri skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0.011$), söz konusu farka neden olan durum Grup 1'e göre sırasıyla; Grup 2 ve 3'ün medyan yabancı cisim dev hücreleri skorunun daha yüksek olması idi ($p<0.001$ ve $p<0.001$). Pürtüklü implantlar içerisinde de gözlemlerin tümünün yabancı cisim dev hücreleri skorları 1'e eşit olduğundan gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir kıyaslama yapılmamıştır.

Tablo 10. Gruplara ve yüzeylere göre yabancı cisim dev hücreleri skorları

	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü	p-değeri [†]
Grup 1	1 (1-1)	2 (2-2) ^{A,B}	1 (1-1)	0.050
Grup 2	1 (1-1) ^a	4 (3.5-4) ^{A,a,b}	1 (1-1) ^b	0.007
Grup 3	1 (1-1)	3.5 (3-4) ^B	1 (1-1)	0.018
Grup 4	1 (1-1)	3 (3-3)	1 (1-1)	0.018
p-değeri [‡]	-	0.011	-	

[†]Veriler; medyan (çeyrekler arası dağılım genişliği) biçiminde gösterildi, Gruplar içerisinde yüzeyler arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, [‡] İmplant yüzeyi sabit tutulduğunda gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$), B: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$), a: Mikropürtüklü yüzey ile poliüretan yüzey arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$), b: Poliüretan yüzey ile pürtüklü yüzey arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$).



Grafik 3: Üç farklı yüzey yapısına sahip implantların gruplara göre yabancı cisim dev hücre yoğunluk skorlarının değişim grafiği

Araştırmamızda kullandığımız üç farklı yüzey yapısına sahip implantların farklı gruplar altındaki incelemesinde **inflamatuvar hücre yoğunluk skorlarına** ilişkin sonuçların istatistiksel analizinde Grup 1 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan inflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. ($p=0.135$). Grup 2 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan inflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0.011$), söz konusu farka neden olan durum mikropürtüklü yüzeylere göre pürtüklü yüzeylerin medyan inflamatuvar hücre infiltrasyon skorunun daha yüksek olması idi ($p=0.004$). Grup 3 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan inflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak

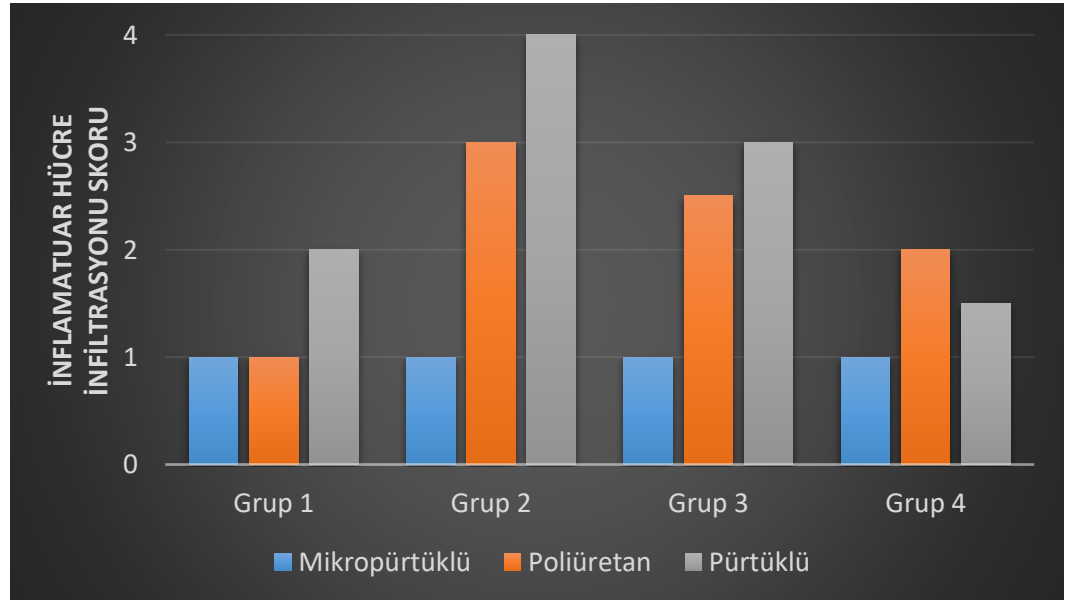
anlamli fark görülmedi ($p=0.024$). Grup 4 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan inflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamli fark görülmedi ($p=0.368$).

Mikropürtüklü implantlar içerisinde gruplar arasında medyan inflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamli fark görülmedi ($p=0.377$). Poliüretan implantlar içerisinde ise gruplar arasında medyan inflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamli fark olup ($p=0.006$), söz konusu farka neden olan durum Grup 1'e göre sirasıyla; Grup 2 ve 3' n medyan inflamatuvar hücre infiltrasyon skorunun daha yüksek olması idi ($p<0.001$ ve $p<0.001$). Ayrıca, Grup 2'ye göre Grup 4' n medyan inflamatuvar hücre infiltrasyon skoru da istatistiksel anlamli olarak daha düşük idi ($p<0.001$). Pürtüklü implantlar içerisinde de gruplar arasında medyan inflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamli fark olup ($p=0.005$), söz konusu farka neden olan durum Grup 1 ve 4'e göre Grup 2'nin medyan inflamatuvar hücre infiltrasyon skorunun daha yüksek olması idi ($p<0.001$ ve $p<0.001$). Ayrıca, Grup 3'e göre Grup 4' n medyan inflamatuvar hücre infiltrasyon skoru da istatistiksel anlamli olarak daha düşük idi ($p<0.001$).

Tablo 11. Gruplara ve yüzeylere göre inflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları

	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü	p-değeri [†]
Grup 1	1 (1-1)	1 (1-1) ^{A,B}	2 (1-3) ^A	0.135
Grup 2	1 (1-2.5) ^a	3 (3-3.5) ^{A,C}	4 (4-4) ^{A,C,a}	0.011
Grup 3	1 (1-1)	2.5 (2-3) ^B	3 (3-3.75) ^D	0.024
Grup 4	1 (1-1.75)	2 (1.25-2) ^C	1.5 (1-2) ^{C,D}	0.368
p-değeri [‡]	0.377	0.006	0.005	

^{††}Veriler; medyan (çeyrekler arası dağılım genişliği) biçiminde gösterildi, Gruplar içerisinde yüzeyler arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, [†] İmplant yüzeyi sabit tutulduğunda gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), B: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), C: Grup 2 ile Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), D: Grup 3 ile Grup 4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$), a: Mikropürtüklü yüzey ile pürtüklü yüzey arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0.004$).



Grafik 4: Üç farklı yüzey yapısına sahip implantların gruplara göre inflamatuvar hücre yoğunluk skorlarının değişim grafiği

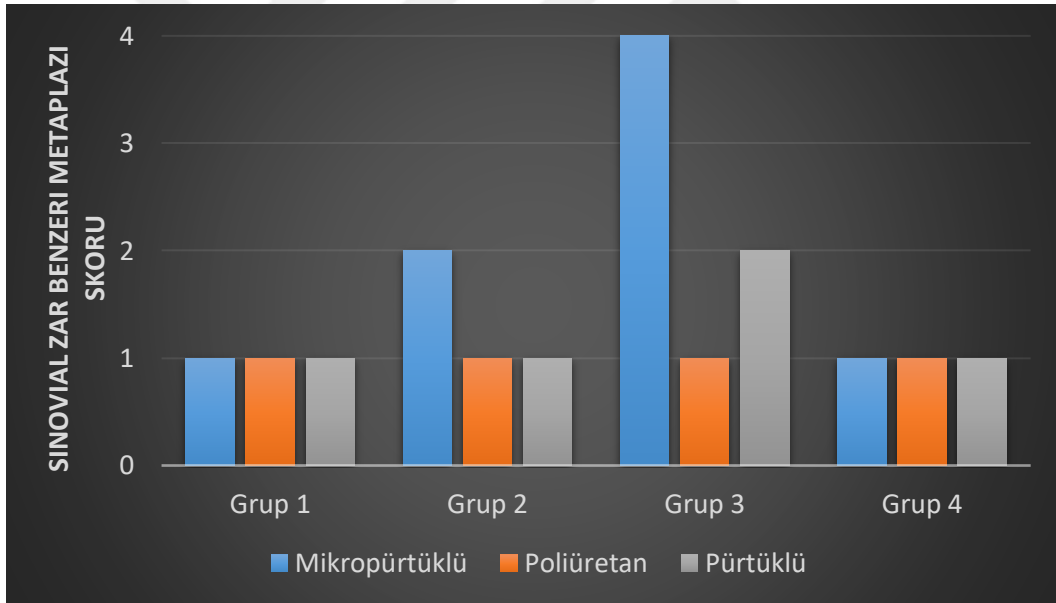
Araştırmamızda kullandığımız üç farklı yüzey yapısına sahip implantların farklı gruplar altındaki incelemesinde ***sinoviyal zar benzeri metaplazi skorlarına*** ilişkin sonuçların istatistiksel analizinde Grup 1 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan sinoviyal zar benzeri metaplazi skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.368$). Grup 2 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan sinoviyal zar benzeri metaplazi skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.050$). Grup 3 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan sinoviyal zar benzeri metaplazi skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.146$). Grup 4 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan sinoviyal zar benzeri metaplazi skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.368$).

Mikropürtüklü implantlar içerisinde gruplar arasında medyan sinoviyal zar benzeri metaplazi skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.327$). Poliüretan implantlar içerisinde tüm gözlemlerin sinoviyal zar benzeri metaplazi skorları 1 olduğundan gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir karşılaştırma yapılmamıştır. Pürtüklü implantlar içerisinde de gruplar arasında medyan sinoviyal zar benzeri metaplazi skorları yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.093$).

Tablo 12. Gruplara ve yüzeylere göre sinoviyal zar benzeri metaplazi skorları

	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü	p-değeri [†]
Grup 1	1 (1-4)	1 (1-1)	1 (1-1)	0.368
Grup 2	2 (1-3.5)	1 (1-1)	1 (1-1)	0.050
Grup 3	4 (1.75-4)	1 (1-1)	2 (1-3)	0.146
Grup 4	1 (1-2.5)	1 (1-1)	1 (1-1)	0.368
p-değeri [‡]	0.327	-	0.093	

[†]Veriler; medyan (çeyrekler arası dağılım genişliği) biçiminde gösterildi, Gruplar içerisinde yüzeyler arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, [‡] İmplant yüzeyi sabit tutulduğunda gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p < 0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Grafik 5: Üç farklı yüzey yapısına sahip implantların gruplara göre sinoviyal zar benzeri metaplazi skorlarının değişim grafiği

Tüm alt gruplar içerisinde gözlemlerin her birinin sıkı düzenli bağ doku skorları 4'e eşit olduğundan gruplar içerisinde ve gruplar arasında sıkı düzenli bağ doku skorları açısından istatistiksel olarak herhangi bir kıyaslama yapılmamıştır. Tüm implantların çevresinde baskın bağ doku tipi **sıkı düzenli bağ dokusu** olarak bulunmuştur.

4.5. Biyofilm Tabaka Tespitine İlişkin Bulgular

4.5.1. Mikrotitrasyon Plaka Yöntemi ile Elde Edilen Bulgular

Her bir implant için kuyucukların ortalama optik dansiteleri ve negatif kuyucukların standart deviasyonu hesaplandıktan sonra, “ODc = negatif kontrol kuyucuklarının ortalama optik dansitesi + (3xStandart deviasyon)” formülü kullanılarak cut-off değeri belirlendi. Test edilen kuyucukların son optik dansite (OD) değerleri ise $OD = \text{Kuyucukların OD ortalaması} - ODc$ formülü” kullanılarak hesaplandı. Cut off (ODc) değerinin altında kalan OD değerleri, sıfır olarak kabul edildi. Bu değerlendirme yöntemi ile elde edilen OD değerleri, Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 13: Mikrotitrasyon plaka yöntemi ile bakteri yükünün OD cinsinden ifadesi.

1. Grup			
	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü
1. Denek	0,018	0	0
2. Denek	0,026	0,039	0,024
3. Denek	0,027	0,032	0,016
4. Denek	0,018	0,013	0
5. Denek	0,006	0	0,001
6. Denek	0,014	0,001	0
Ortalama	0,0182	0,0142	0,0068
ODc	0,055		

2. Grup			
	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü
1. Denek	0,302	0,0794	0,1440
2. Denek	0	0,2157	0,0487
3. Denek	0	0,0834	0,1487
4. Denek	0,0427	0,0431	0,0364
5. Denek	0,0502	0,0136	0,0523
6. Denek	0,0275	0,0961	Yok
Ortalama	0,0704	0,0886	0,0860
ODc	0,1036		

3. Grup			
	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü
1. Denek	0,0233	0,0149	0,0193
2. Denek	0,0383	0,053	0,066
3. Denek	0,067	0,0383	0,0487
4. Denek	0	0,0227	0,04
5. Denek	0	0,0377	0,0267
6. Denek	Yok	0,0347	0,0307
Ortalama	0,0257	0,0336	0,0385
ODc	0,048		

4. Grup			
	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü
1. Denek	0	0,0141	0,0124
2. Denek	0,0271	0,0331	0,0388
3. Denek	0,0014	0,0308	0,0228
4. Denek	yok	yok	yok
5. Denek	0,0148	0,0204	0,0298
6. Denek	0,0081	0,0317	0,0301
Ortalama	0,0102	0,0260	0,0267
ODc	0,0639		

4.5.2. Mikrotitrasyon Plaka Yöntemi ile Elde Edilen Bulguların İstatistiksel Analizi

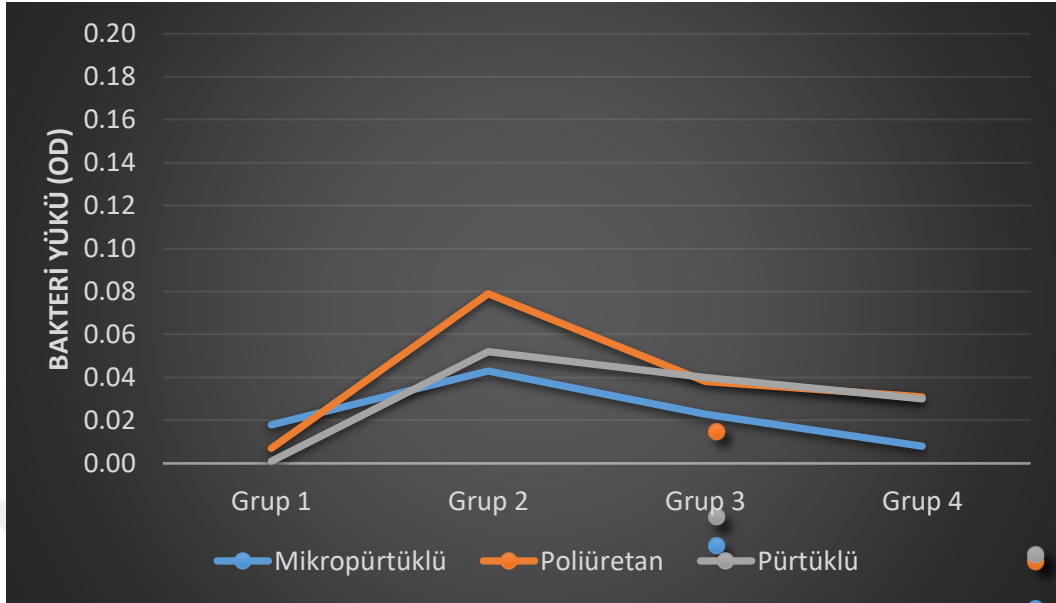
Grup 1 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan bakteriyel yük düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.042$). Grup 2 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan bakteriyel yük düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.819$). Grup 3 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan bakteriyel yük düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.549$). Grup 4 içerisinde mikropürtüklü, poliüretan ve pürtüklü yüzeyler arasında medyan bakteriyel yük düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.022$).

Mikropürtüklü implantlar içerisinde gruplar arasında medyan bakteriyel yük düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.751$). Poliüretan implantlar içerisinde de gruplar arasında medyan bakteriyel yük düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.051$). Pürtüklü implantlar içerisinde ise parametrik olmayan varyans analizine göre gruplar arasında medyan bakteriyel yük düzeyleri yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0.003$), söz konusu farka neden olan durum Grup 1'e göre Grup 2'nin bakteriyel yük düzeyinin daha yüksek saptanmış olması idi ($p<0.001$).

Tablo 14. Gruplara ve yüzeylere göre bakteriyel yük düzeyleri

	Mikropürtüklü	Poliüretan	Pürtüklü	p-değeri [†]
Grup 1	0.018 (0.012-0.026)	0.007 (0.000-0.034)	0.001 (0.000-0.018) ^A	0.042
Grup 2	0.043 (0.000-0.176)	0.079 (0.028-0.149)	0.052 (0.042-0.146) ^A	0.819
Grup 3	0.023 (0.000-0.053)	0.038 (0.019-0.046)	0.040 (0.023-0.057)	0.549
Grup 4	0.008 (0.001-0.021)	0.031 (0.017-0.032)	0.030 (0.018-0.034)	0.022
p-değeri [‡]	0.751	0.051	0.003	

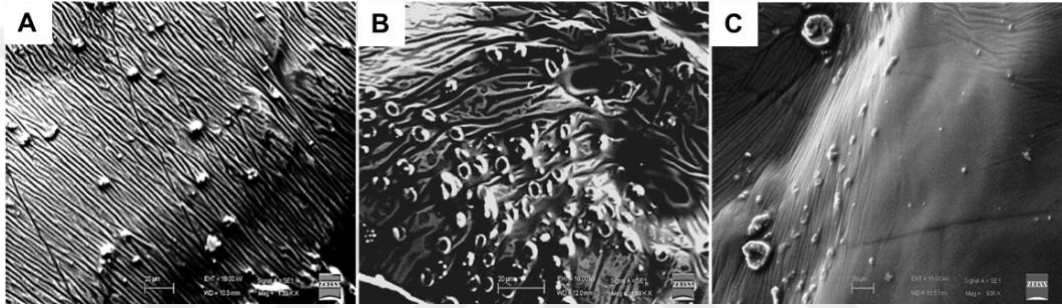
Veriler; medyan (çeyrekler arası dağılım genişliği) biçiminde gösterildi, [†] Gruplar içerisinde yüzeyler arasında yapılan karşılaştırmalar, Friedman testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0.0125$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, [‡] İmplant yüzeyi sabit tutulduğunda gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar, Kruskal Wallis testi, Bonferroni düzeltmesine göre $p<0.0167$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, A: Grup 1 ile Grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$).



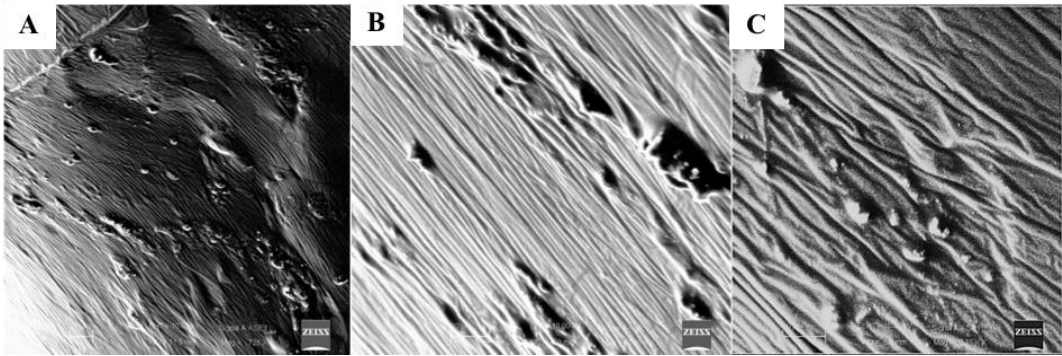
Grafik 6: Üç farklı yüzey yapısına sahip implantların gruplara göre bakteri yükü değişimin grafiği

4.5.3. Elektron Mikroskopisi ile Elde Edilen Bulgular

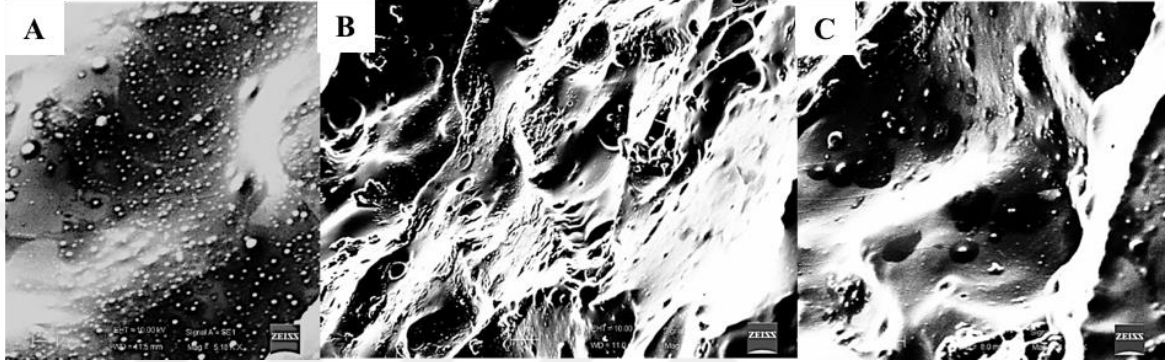
İncelenen örneklerde implant yüzey farklılıklarına ilişkin bulguların yanı sıra biyofilm oluşumları izlendi. Bu biyofilm oluşumlarının görüntülenmesinde, elektron mikroskopisinden faydalandı. Elektron mikroskopik yöntemlerin masraflı olması nedeniyle, sadece bakteri ile inoküle edilen gruplara (Grup 2 ve Grup 3) elektron mikroskopik inceleme yapıldı. Elektron mikroskopi sonuçlarına göre, biyofilm oluşumları Grup 3'te (**Şekil 28, 30, 32**) Grup 2'den (**Şekil 27, 29, 31**) tüm implantlarda daha az izlenirken, implant yüzeylerine göre en az biyofilm oluşumu mikropürtüklü yüzeyli implantlarda (**Şekil 27 ve 28**) izlendi. Poliüretan kaplı (**Şekil 29 ve 30**) ve yüzeyi pürtüklü (**Şekil 31 ve 32**) implantlarda özellikle yüzey değişiminin olduğu bölgelerde (yüzey köşe noktalarında) daha yoğun biyofilm oluşumları gözlemlendi. Poliüretan ve pürtüklü yüzey arasında biyofilm açısından belirgin fark görülmedi.



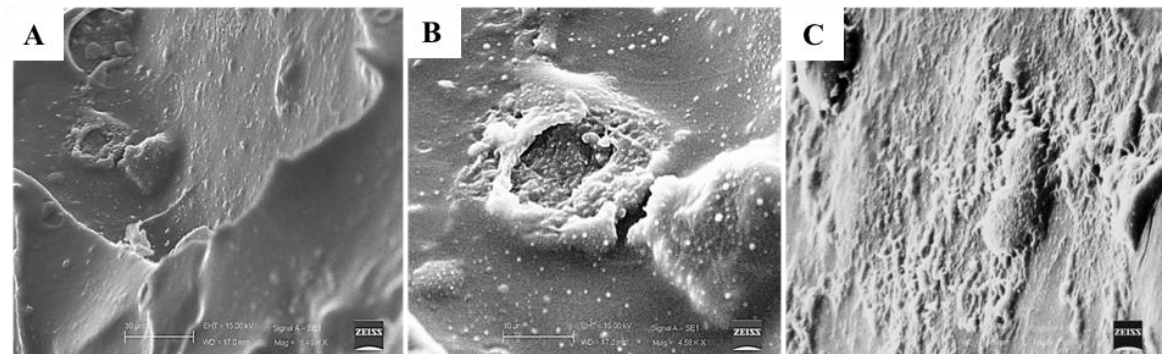
Şekil 27 . Grup 2, mikropürtüklü yüzeyli implant yüzeyine ilişkin farklı büyütmelerde elektron mikroskopi örnekleri. Yüzey boyunca yayılmış yuvarlak biyofilm oluşumları izlenmektedir (A, B, C).



Şekil 28. Grup 3, mikropürtüklü yüzeyli implant yüzeyine ilişkin farklı büyütmelerde elektron mikroskopi örnekleri. Yüzey boyunca yayılmış yuvarlak biyofilm oluşumları izlenmektedir (A, B, C).



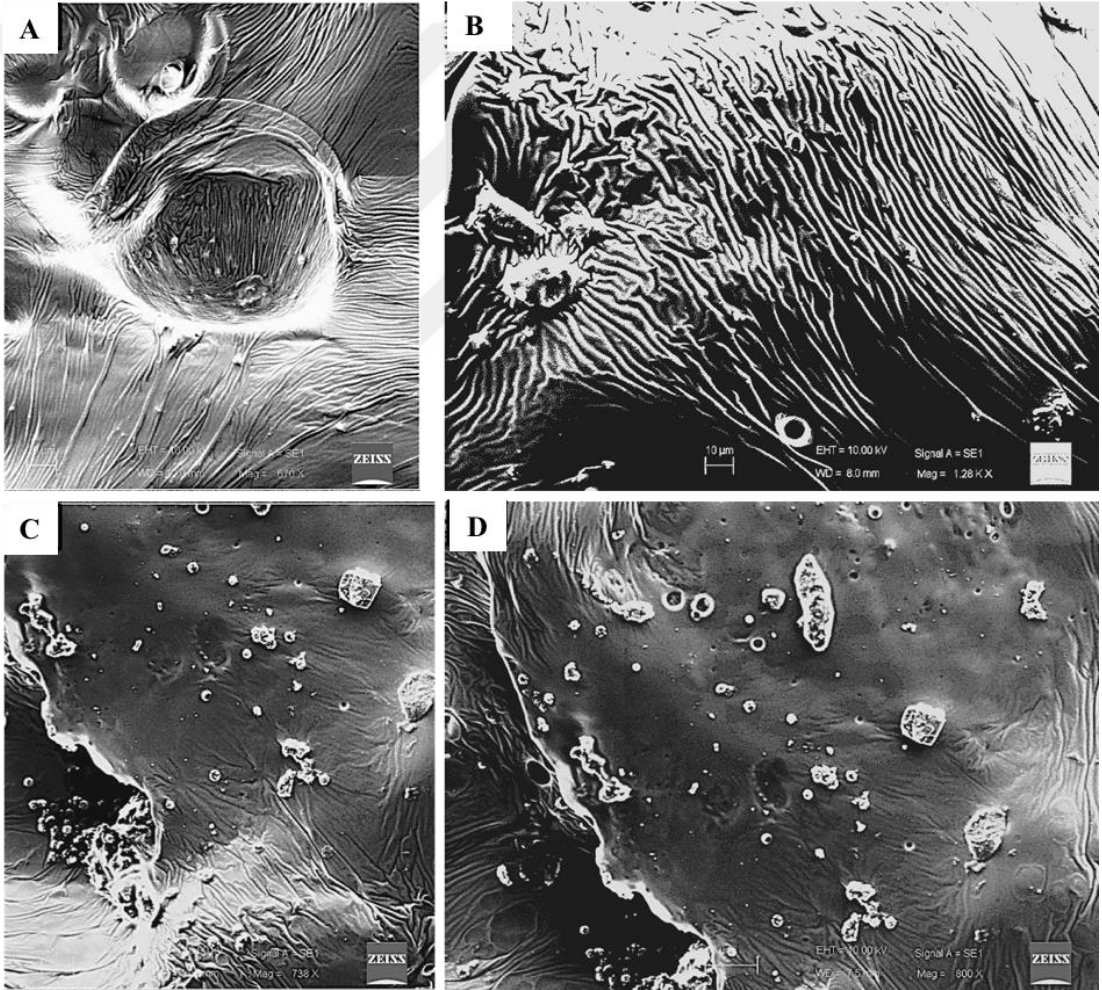
Şekil 29. Grup 2, poliüretan kaplı implant yüzeyine ilişkin farklı büyütmelerde elektron mikroskopi örnekleri. Yüzey boyunca yayılmış yuvarlak biyofilm oluşumları izlenmektedir (A, B, C).



Şekil 30. Grup 3, poliüretan kaplı implant yüzeyine ilişkin farklı büyütmelerde elektron mikroskopi örnekleri. Yüzey boyunca yayılmış yuvarlak biyofilm oluşumları izlenmektedir (A, B, C).



Şekil 31. Grup 2, pürüzlü implant yüzeyine ilişkin farklı büyütmelerde elektron mikroskopi örnekleri. Yüzey boyunca yayılmış yuvarlak biyofilm oluşumları izlenmektedir (A, B, C).



Şekil 32. Grup 3, pürüzlü implant yüzeyine ilişkin farklı büyütmelerde elektron mikroskopi örnekleri. Yüzey boyunca yayılmış yuvarlak biyofilm oluşumları izlenmektedir (A, B, C, D).

Not: Ankara Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji ABD Başkanı Prof. Dr. Alp Can'a

katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kapsül formasyonu, vücudun yabancı materyallere karşı oluşturduğu fibrotik yabancı cisim reaksiyonudur. Kapsül kontraktüründe klinik problem bu fibrotik dokunun, yara iyileşmesindeki hipertrofik skar ve keloide benzer aşırı cevabının oluşmasıdır [116]. Kapsül kontraktürü etiyolojisini ortaya koymak için birçok klinik ve deneysel çalışma yürütülmüş olsa da etiyolojisi kesin değildir ve günümüzde daha çok implant yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasının yol açtığı subklinik enfeksiyonun yarattığı inflamatuvar sürecin uzun dönemde kapsül kontraktürüne neden olduğu kanısı ön plana çıkmaktadır [117].

Biyofilm tabaka sıklıkla polimikrobiyaldir. *Staphylococcus Epidermidis* cilt ve endojen meme florasında bulunan bir bakteridir ve kapsül kontraktürü nedeniyle çıkartılan implantlardan en sık izole edilen organizmadır [7, 67, 68, 81, 82].

Tamboto ve ark. domuzlar üzerinde yaptığı deneysel çalışmada biyofilm ve kapsül kontraksiyonu arasındaki ilişki gösterilmiştir. Meme bezi altına yerleştirilen ve *Staphylococcus Epidermidis* ile inoküle edilen ceplerin %72,2 sinde biyofilm tespit edilmiştir. Bakteri inokülasyonu yapılan poşlara yerleştirilen implantlarda %77.8 oranında kapsül kontraktürü (Baker grade 3-4) tespit edilmiştir. Bu çalışma ile biyofilm oluşmasının kapsül kontraktürü oluşma riskini dört kat arttırdığı sonucuna varılmıştır [94]. Tamboto ve ark. yapmış olduğu çalışmada tek tip, pürtüklü silikon jel implantlar kullanılmıştır. Literatürde farklı yüzey yapısına sahip implantlarda biyofilm oluşumu açısından herhangi bir anlamlı farklılığın olup olmadığı karşılaştırılmamıştır. Yapmış olduğumuz bu çalışmada farklı yüzey yapısına sahip implantların bakteri

inokülasyonu sonrası biyofilm açısından farklılıklarını araştırmak, bu farklılıkların klinik kapsül kontraktürüne olan yansımaları değerlendirmek ve kapsül histolojilerindeki farklılıkları ortaya koyabilmek hedeflenmiştir.

Klinik değerlendirme Baker skorlaması ile yapılmıştır. Baker skorlamasını deneysel çalışmaya uyarladığımızda; inspeksiyonla implantta şekil değişikliği belirli olmayan ve palpasyonda yumuşak doğal kıvamında tespit edilen implantların Baker skoru 1 olarak, inspeksiyonla şekilde deformite tespit edilmeyen ancak palpasyonda kıvamı hafif sertleşmiş olarak tespit edilen implantların Baker skoru 2 olarak, inspeksiyonla implantın daha şişkin ve küremsi görüldüğü, palpasyonda belirgin sertlik olan implantların Baker skoru 3 olarak ve inspeksiyonda ileri derecede şişkin ve küremsi görünümlü, palpasyonda taş kıvamında sert olan implantların Baker skoru 4 olarak değerlendirilmiştir. Klinik değerlendirme sonuçları; Grup 2’de pürüklü yüzeyli implantların tamamında ve Grup 3’te pürüklü yüzeye sahip altı implantın beş tanesinde kapsül kontraktürü geliştiği tespit edilmiştir (Baker skoru 3-4). Diğer gruplardaki tüm implantların herhangi birinde kapsül kontraktürüne ilişkin klinik bulgu tespit edilmedi (Baker skoru 1-2). Bakteriye kontaminasyon yapılan grupta (Grup 2) tüm pürüklü implantlarda kapsül kontraktürü tespit edilirken, diğer mikropürüklü yüzeyli ve poliüretan kaplı implantların hiçbirisinde kapsül kontraktürü tespit edilmedi. Grup 2 içerisinde yapılan Baker skorlamasının istatistiksel çalışmasında bu fark yeterli denek sayısının olmamasından dolayı skorsal anlamda anlamlı olarak bulunamamıştır. Ancak klinik olarak Grup 2’de pürüklü implantlarda anlamlı olarak artmış kapsül kontraktürü tespit edilmiştir. Grup 2’deki pürüklü

implantların kapsül kontraktürü Baker skorları Grup 1 ve 4'e göre anlamlı olarak fazla bulundu. Buradan bakteriyel kontaminasyon yapılmasının pürüklü implantlarda kapsül kontraktürü gelişimini anlamlı olarak arttırdığı sonucuna varıldı.

Klinikte yapılmış birçok araştırmada pürüklü yüzeye sahip implantların düz yüzeye sahip implantlara göre daha az oranda kapsül kontraktürü oluşturduğunu göstermiştir [36, 56-60]. Hakelius ve Ohlsen 25 kadın üzerinde toplam 50 implant kullanıp, bir tarafa düz yüzeyli diğer tarafa pürüklü implant yerleştirdiği çalışmasında [61]; ilk 6 haftalık takiplerinde iki grup arasında herhangi bir fark görmezken, 12 haftalık takipte pürüklü implantların anlamlı oranda daha yumuşak kıvamlı olduğunu belirtmiş ($p<0,05$), 52 haftalık takiplerinde bu anlamlı farklılığın daha da güçlendiğini belirtmiş ($p<0,001$), 5 yıllık takibinde ise 17 tane düz yüzeyli (%68) implantın yerine pürüklü implantlar yerleştirildiği belirtilmiştir [59]. Poliüretan kaplı implantların kapsül kontraktür oranları düz yüzeyli ve pürüklü yüzeyli implantlara göre daha az olduğunu gösteren birçok çalışma da bulunmaktadır [1, 36, 118]. Kapsül kontraktürünün daha az olması temelde iki nedene bağlanmıştır. Birinci etken; poliüretan yüzeyin köpüksü üç boyutlu yapısı oluşan kapsül dokusunda yer alan kollajen liflerin konsantrik özellik gösteremeyecek şekilde birbirine paralel olmayan dizilim göstermelerini sağlamıştır bir diğer etken ise implanttan silikon sızıntısının diğer implantlara oranla daha az olmasıdır [62].

Bu çalışmada mikropürüklü yüzeyli implantlarda kapsül kontraktürü Baker skorlarının pürüklü yüzey yapısına sahip implantlara göre Grup 2 ve Grup 3'te daha az olması; bakteriyel kontaminasyon sonucu biyofilm tabaka ve bakteriyel yükte

farklılıkların olmasına bağlanmıştır. Elektron mikroskopisi verileri ile mikropürtüklü yüzeye sahip implantların Grup 2 ve Grup 3'te pürtüklü yüzeyli ve poliüretan kaplı implantlara göre daha az oranda biyofilm tabaka oluşturduğu tespit edilmiştir. Bakteri inokülasyonu yapılan çalışma gruplarında (Grup 2 ve Grup 3) biyofilm tabakanın daha az olduğu mikropürtüklü yüzeyli implantlarda düşük Baker skorları ve biyofilm tabakanın görece fazla olduğu pürtüklü yüzeyli implantlarda Baker skorlarının fazla görülmesi, görece daha fazla biyofilm tabaka oluşmasının Grup 2 ve 3'te pürtüklü implantlarda kapsül kontraktürü oluşumuna neden olduğu sonucunu doğurmaktadır. Elektron mikroskopisi ile pürtüklü implantlarla benzer oranda biyofilm oluşturduğu ve mikrotitrasyon plaka yöntemi ile pürtüklü implantlara göre Grup 2'de daha fazla bakteriyel yük taşıdığı tespit edilen poliüretan kaplı implantlarda kapsül kontraktürü görülmemesi, kapsül kontraktürü için tek etiyolojik faktörün biyofilm tabaka oluşumu olmadığını, poliüretan kaplı implantların fiziksel özellikleri sayesinde kapsül kontraktürüne karşı dirençli olduğu, poliüretan yüzeyin köpüksü üç boyutlu yapısı kapsül dokusunda yer alan kollajen liflerin konsantrik özellik gösteremeyecek şekilde birbirine koştur dizilim göstermeleri poliüretan kaplı implantların kapsül kontraktürüne karşı dirençli olmasını sağlamaktadır [62, 117].

Bu çalışmada lokal antibiyotik olarak rifamisin kullanılmıştır. Lokal rifamisin uygulamasının etkinliğini biyofilm oluşumu ve bakteriyel yük tespiti ile değerlendirilmiştir. Elektron mikroskopisi ile Grup 3'te mikropürtüklü, poliüretan kaplı ve pürtüklü yüzeye sahip implantlarda Grup 2'ye göre biyofilm oluşumlarında azalma tespit edilmiştir. Benzer şekilde mikrotitrasyon plaka yöntemi ile her üç

implant yüzeyinde bakteriyel yüklerinin rifamisin uygulanması sonrası Grup 3'te Grup 2'ye göre azalmış olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular lokal rifamisin uygulamasının biyofilm oluşumu ve bakteriyel yükü azaltıcı etkisi olduğunu gösterse de bakteri yüklerini gösteren optik dansitemetri değerlerinin istatistiksel analizlerinde bu azalmanın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Bakteri yükleri açısından gruplar içerisinde farklı yüzey yapısına sahip implantlarda anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bakteri inokülasyonu yapılan grupta (Grup 2), steril implante edilen gruba göre (Grup 1) bakteri yükü değerlerinin artmış olduğu tespit edildi. Sadece pürüklü yüzeye sahip implantlarda bakteri yükündeki bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Gruplar içerisinde diğer implant tiplerine göre istatistiksel olarak daha fazla bakteri yüküne sahip implant tespit edilemedi. Elektron mikroskopisi ile bakteriyel kontaminasyon yapılan grupta (Grup 2) mikropürüklü yüzeyli implantlarda poliüretan ve pürüklü implantlara göre daha az oranda biyofilm oluşumu tespit edilmesine karşın mikrotitrasyon plaka yöntemi ile bakteri yükü ölçümü sonrası gruplar içerisinde diğer implant tiplerine göre istatistiksel olarak daha az bakteri yüküne sahip implant tespit edilemedi.

Bu araştırmada elde edilen kapsül dokularının histolojik analizinde kapsül kalınlıkları, inflamatuvar hücre yoğunluğu, yabancı cisim dev hücre yoğunluğu, sinoviyal benzeri metaplazi yoğunluğu değerlendirilmiştir. Kapsül kalınlığı değerlendirmesinde; tüm gruplarda en ince kapsül dokusu düz yüzeyli implantlarda tespit edilmiştir. Bakteri inokülasyonu yapılan Grup 2'de pürüklü implantların kapsül kalınlık ortalamaları mikropürüklü yüzeyli implantlara göre anlamlı olarak fazla

bulunmuştur. Kapsül kalınlıklarındaki bu tespitin klinik değerlendirme ile korele olduğu ; Grup 2’de kapsül kontraktürünü en fazla gördüğümüz pürüzlü yüzey yapıları implantlarda kapsül kalınlığında mikropürüzlü yüzeyli implantlara göre anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Pürüzlü implantlara göre daha ince kapsül kalınlığı tespit edilen mikropürüzlü yüzeyli ve poliüretan kaplı implantlarda kapsül kontraktürü tespit edilememiştir. Literatürde Siggelkow ve ark. yapmış olduğu klinik çalışmada; kapsül kalınlık artışı ile kapsül kontraktürü klinik semptomları arasında bir korelasyon olduğu vurgulanmış olsa da, kapsül kalınlığının implantın vücutta kalma süresi ile ve implante edilen hastanın yaşının ileri olması ile doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir [95].

Kapsül histolojisi inflamatuvar hücre yoğunlukları açısından yapılan değerlendirmede; tüm gruplarda en az inflamatuvar hücre infiltrasyonu mikropürüzlü yüzeyli implantlarda tespit edilmiştir. En fazla inflamatuvar hücre infiltrasyonuna ise pürüzlü yüzeye sahip implantlarda tespit edilmiştir. Grup 2’de pürüzlü yüzeye sahip implantlarda inflamatuvar hücre skorlamasının mikropürüzlü yüzeyli implantlara göre anlamlı olarak fazla olduğu tespit edilmiştir. Grup 2’deki pürüzlü implantlar ile mikropürüzlü yüzeyli implantlar arasında biyofilm oluşumları, kapsül kalınlıkları, inflamatuvar hücre yoğunlukları bakımından paralel sonuçlar alınmıştır. Bakteriyel kontaminasyon mikropürüzlü yüzeyli implantlarda en az biyofilm oluşumu ile sonuçlanmasına paralel olarak inflamatuvar hücre yoğunluğu skorunda herhangi bir artış yapmamıştır. Poliüretan ve pürüzlü implantlarda ise Grup 2’deki inflamatuvar hücre yoğunluk artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Kapsül histolojisi yabancı cisim dev hücre yoğunlukları açısından yapılan değerlendirmede; tüm gruplarda en fazla yabancı cisim dev hücre skoru poliüretan kaplı implantlarda tespit edilmiştir. Grup 2’de poliüretan implantların kapsül dokularındaki yabancı cisim dev hücre yoğunluğu skoru mikropürtüklü ve pürtüklü implantlara göre anlamlı olarak fazla tespit edilmiştir. Literatürde benzer çalışmalarda poliüretan yüzeye sahip implantların kapsül dokularında silikon yüzey yapılı implantlara göre daha fazla oranda multinükleer dev hücreler ile karakterize yabancı cisim dev hücrelerinin oluştuğu belirtilmiştir [119, 120].

Tüm alt gruplar içerisinde gözlemlerin her birinin sıkı düzenli bağ doku skorları 4’e eşit olduğundan gruplar içerisinde ve gruplar arasında sıkı düzenli bağ doku skorları açısından istatistiksel olarak herhangi bir kıyaslama yapılmamıştır. Tüm implantların çevresinde baskın bağ doku tipi sıkı düzenli bağ dokusu olarak bulunmuştur.

Kapsül histolojisi sinoviyal zar benzeri metaplazi yoğunlukları açısından yapılan değerlendirmede; tüm gruplarda mikropürtüklü yüzeye sahip implantlarda poliüretan kaplı ve pürtüklü yüzeyli implantlara göre daha yoğun olarak sinoviyal zar benzeri metaplazi tespit edilmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Sinoviyal zar benzeri metaplazi ilk olarak 1994 yılında Copeland ve ark. tarafından kapsül dokusu iç yüzeyinde implant komşuluğunda tespit edilmiş olup implant yüzeyinde geniş bir alanda bulunan sinoviyal dokuya benzeyen bir katman şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir [98, 121, 122]. Bu katmanın fonksiyonu net olarak bilinmemektedir. Ancak sinoviyal metaplazi kapsülde oluşabilecek fibrotik

yeniden değişimlerin (remodelling) başlangıç aşaması olabileceği ön görülmüştür [95]. Literatürde benzer çalışmalarda inflamatuvar sürecin sinoviyal zar benzeri metaplaziyi arttırdığı gösterilmiştir. Bergmann ve ark. yapmış olduğu çalışmada bakteri kontaminasyonu yapılan poliüretan ve pürtüklü implantların kapsül dokularında sinoviyal zar benzeri metaplaziyi arttırdığı gösterilmiştir [117]. Bizim  alışmamızda sinoviyal zar benzeri metaplazi en fazla mikropürtüklü yüzeyli implantlarda tespit edilmiş olup bakteri kontaminasyonu sonrası mikropürtüklü yüzeyli implantlarda sinoviyal zar benzeri metaplazinin artmış olduğu tespit edildi, benzer artışa poliüretan ve pürtüklü implantlarda rastlanmadı.

6. ÖZET

Kapsül oluşumu, vücuda yerleştirilen implant materyalleri sonrasında görülen yabancı cisim reaksiyonudur ve doğal bir süreçtir. Kapsül kontraktürü ise bu sürecin ilerleyici olmasıdır. Meme büyütme amaçlı kullanılan silikon meme implantları sonrasında görülen kapsül kontraktürleri, yeniden cerrahi girişimlerin en sık nedenlerinden birisidir. Kapsül kontraktürü etiolojisinde implant materyalleri üzerinde oluşan biyofilm tabakası ve bunun yarattığı subklinik inflamatuvar süreç önemli bir yer tutmaktadır.

Bu çalışmada farklı yüzey yapılarına sahip meme implantlarının bakteriyel kontaminasyon sonucu biyofilm oluşum farklılıkları, lokal antibiyotik ile temas sonrasında biyofilm oluşumundaki farklılıkların karşılaştırılması planlanmıştır. Biyofilm oluşumunun kapsül histolojisinde kontraktüre yatkınlık açısından ne gibi yatkınlıklar yaratacağı araştırılmıştır.

Çalışmada 24 adet Long Evans türü sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar her bir grupta 6 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Her bir sıçan sırt bölgesine mikropürtüklü, pürtüklü ve poliüretan kaplı olmak üzere 3 farklı yüzey yapısına sahip mini implantlar yerleştirildi. 1. Grupta steril implantlar, 2. Grup Staphylococcus epidermidis ile inoküle edilen implantlar, 3. Grupta bakteri inokülasyonu sonrası Rifamisin lokal antibiyotik uygulanan implantlar, 4. Grupta ise sadece lokal Rifamisin uygulanan implantlar kullanıldı. Tüm gruplar 3. ayın sonunda kurban edildi. İmplant ve kapsüle ait klinik değerlendirme Baker skorlaması ile, biyofilm oluşumları elektron

mikroskopisi ile, bakteriyel yükleri mikrotitrasyon plaka yöntemi ile, kapsül histolojisi Masson üçlü boyası ile değerlendirildi.

Bakteri kontaminasyonu yapılan Grup 2 ve Grup 3'te elektron mikroskopisi incelemesinde en az biyofilm oluşumu mikropürtüklü yüzeyli implantlarda tespit edilmiştir. Pürtüklü ve poliüretan implantlarda ise birbirleri arasında fark olmayacak seviyede daha fazla biyofilm oluşumu tespit edilmiştir. Grup 2 ve Grup 3'te pürtüklü implantlarda kapsül kontraktürü geliştiği, diğer gruplardaki tüm implantlarda kapsül kontraktürü gelişmediği tespit edildi. Klinik olarak bakteriyel kontaminasyon yapılmasının pürtüklü implantlarda kapsül kontraktürünü daha fazla oluşturduğu tespit edilmiştir. Biyofilm oluşumları arasındaki bu farkın pürtüklü ve mikropürtüklü implantlar arasındaki klinik tablonun gelişmesinden sorumlu olduğu düşünülmüştür çünkü benzer şekilde kapsül kalınlıklarının ve inflamatuvar hücre yoğunluklarının da anlamlı olarak pürtüklü implantlarda daha fazla olduğu tespit edilmiştir ($p=0.004$). Pürtüklü implant ile poliüretan implantlar arasında biyofilm oluşumu açısından bir fark tespit edilememesine rağmen pürtüklü implantlarda gözlenen kapsül kontraktürü poliüretan implantlarda tespit edilememiştir. Aynı zamanda bakteri kontaminasyonu yapılan gruplarda poliüretan implantlar pürtüklü implantlar kadar yüksek oranda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kapsül kalınlık artışı göstermemektedir. Poliüretan implantların bu başarısı fiziksel yüzey özellikleri ve biyolojik doku uyumunun pürtüklü implantlara göre daha iyi olmasına bağlandı. Bu özellikleri ile poliüretan implantlar kapsül kontraktürüne karşı koruyucu etki gösterebilmekte olduğu düşünüldü. Lokal rifamisin uygulaması ile her üç farklı yüzey

yapsında Grup 3'te biyofilm oluşumu Grup 2'ye göre azalmış olarak tespit edilmiştir. Mikrotitrasyon plaka yöntemi ile bakteriyel yük azalışları tespit edilmiştir ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır.



7. SUMMARY

Capsule formation is a foreign body reaction that occurs after implant materials placed in the body and is a natural process. Capsular contracture is progressive. Capsular contractures following silicone breast implants used for breast augmentation are one of the most common causes of re-surgical interventions. In the capsular contracture etiology, the biofilm layer formed on the implant materials and the subclinical inflammatory process created by it have an important place.

In this study, it was planned to compare the differences in the formation of bacterial contamination resultant biofilms of breast implants with different surface structures and the differences in biofilm formation after contact with local antibiotics. It was investigated the changes in the capsule histology of biofilm formation.

Twenty-four Long Evans type rats were used in the study. The rats were divided into 4 groups of 6 in each group. Mini implants with 3 different surface structures were placed on each rat back area as fine-textured, rough-textured and polyurethane coated. Sterile implants in Group 1, implants inoculated with *Staphylococcus Epidermidis* in Group 2, implants applied with Rifamycin local antibiotics after bacterial inoculation in Group 3, and only implants applied with local Rifamycin in Group 4. All groups were sacrificed at the end of the 3rd month. Clinical evaluation of implants and capsules was done with Baker classification, biofilm

formation was assessed by electron microscopy, bacterial loads by microtitration plate method, capsule histology masson trichrome staining.

In Group 2 and Group 3, which had bacterial contamination, at least biofilm formation was detected on fine-textured surface implants in electron microscopic examination. In the case of rough-textured and polyurethane coated implants, more biofilm formation was detected at the level that would not be different from each other. In Group 2 and Group 3, capsule contracture developed in the rough-textured implants and in all the implants in the other groups, capsule contracture did not develop. Biofilm formations was thought to be responsible for the development of the clinical form between the rough-textured and fine-textured implants, capsule thicknesses and inflammatory cell densities were also found to be significantly higher in the rough-textured implants ($p=0.004$). Although there was no difference in the biofilm formation between the rough-textured and the polyurethane implants, the absence of capsule contracture in the polyurethane implants was interpreted as the physical properties of the polyurethane foam surface were protective against the capsular contracture. With local rifamycin application, biofilm formation in Group 3 was found to be decreased compare to Group 2 in all three surface structures. Bacterial load reductions were detected by microtitration plate method but this decrease was not statistically significant.

8. KAYNAKLAR

1. Gampper, T.J., et al., *Silicone gel implants in breast augmentation and reconstruction*. Ann Plast Surg, 2007. **59**(5): p. 581-90.
2. Gabriel, S.E., et al., *Complications leading to surgery after breast implantation*. N Engl J Med, 1997. **336**(10): p. 677-82.
3. Poeppl, N., et al., *Does the surface structure of implants have an impact on the formation of a capsular contracture?* Aesthetic Plast Surg, 2007. **31**(2): p. 133-9.
4. Adams, W.P., Jr., *Capsular contracture: what is it? What causes it? How can it be prevented and managed?* Clin Plast Surg, 2009. **36**(1): p. 119-26, vii.
5. Dobke, M.K., et al., *Characterization of microbial presence at the surface of silicone mammary implants*. Ann Plast Surg, 1995. **34**(6): p. 563-9; discussion 570-1.
6. Netscher, D.T., et al., *A review of 198 patients (389 implants) who had breast implants removed*. J Long Term Eff Med Implants, 1995. **5**(1): p. 11-8.
7. Virden, C.P., et al., *Subclinical infection of the silicone breast implant surface as a possible cause of capsular contracture*. Aesthetic Plast Surg, 1992. **16**(2): p. 173-9.
8. Gasperoni, C., M. Salgarello, and G. Gargani, *Polyurethane-covered mammary implants: a 12-year experience*. Ann Plast Surg, 1992. **29**(4): p. 303-8.
9. Pennisi, V.R., *Polyurethane-covered silicone gel mammary prosthesis for successful breast reconstruction*. Aesthetic Plast Surg, 1985. **9**(2): p. 73-7.
10. Cohney, B.C., T.B. Cohney, and V.A. Hearne, *Augmentation mammoplasty--a further review of 20 years using the polyurethane-covered prosthesis*. J Long Term Eff Med Implants, 1992. **1**(3): p. 269-79.
11. Capozzi, A. and V.R. Pennisi, *Clinical experience with polyurethane-covered gel-filled mammary prostheses*. Plast Reconstr Surg, 1981. **68**(4): p. 512-20.
12. Hester, T.R., Jr., J.B. Tebbetts, and G.P. Maxwell, *The polyurethane-covered mammary prosthesis: facts and fiction (II): a look back and a "peek" ahead*. Clin Plast Surg, 2001. **28**(3): p. 579-86.

13. Maxwell, G.P. and A. Gabriel, *The evolution of breast implants*. Plast Reconstr Surg, 2014. **134**(1 Suppl): p. 12S-7S.
14. Longacre, J.J., *Correction of the hypoplastic breast with special reference to reconstruction of the "nipple type breast" with local dermo-fat pedicle flaps*. Plast Reconstr Surg (1946), 1954. **14**(6): p. 431-41.
15. Breitbart, A., *Implant Materials*, in *Grabb & Smith's Plastic Surgery*, C.H. Thorne, Editor. 2010, Lippincott Williams & Wilkins. p. 58-65.
16. Longacre, J.J. and G.A. Destefano, *Reconstruction of extensive defects of the skull with split rib grafts*. Plast Reconstr Surg (1946), 1957. **19**(3): p. 186-200.
17. Cumberland, V.H., *A preliminary report on the use of prefabricated nylon weave in the repair of ventral hernia*. Med J Aust, 1952. **1**(5): p. 143-4.
18. Scales, J.T., *Tissue reactions to synthetic materials*. Proc R Soc Med, 1953. **46**(8): p. 647-52.
19. Maxwell, G.P. and A. Gabriel, *The evolution of breast implants*. Clin Plast Surg, 2009. **36**(1): p. 1-13, v.
20. Maxwell, G.P. and A. Gabriel, *The evolution of breast implants*. Clin Plast Surg, 2009. **36**(1): p. 1-13, v.
21. Gabriel, A. and G.P. Maxwell, *The Evolution of Breast Implants*. Clin Plast Surg, 2015. **42**(4): p. 399-404.
22. Cronin, T.D. and R.O. Brauer, *Augmentation mammoplasty*. Surg Clin North Am, 1971. **51**(2): p. 441-52.
23. Ramachandran, K., *Breast augmentation*. Indian J Plast Surg, 2008. **41**(Suppl): p. S41-7.
24. E., A.E., *Alloderm ile sarılı silikon implantlarda radyoterapi sonrası kapsül gelişiminin incelenmesi*, in *Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD*. 2006, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi: İstanbul.
25. Thomsen, J.L., et al., *Histologic changes and silicone concentrations in human breast tissue surrounding silicone breast prostheses*. Plast Reconstr Surg, 1990. **85**(1): p. 38-41.
26. Ashley, F.L., *Further studies on the natural-Y breast prosthesis*. Plast Reconstr Surg, 1972. **49**(4): p. 414-9.

26. Ashley, F.L., *A new type of breast prosthesis. Preliminary report.* Plast Reconstr Surg, 1970. **45**(5): p. 421-4.
27. Chan, S.C., D.C. Birdsell, and C.Y. Gradeen, *Detection of toluenediamines in the urine of a patient with polyurethane-covered breast implants.* Clin Chem, 1991. **37**(5): p. 756-8.
28. Chan, S.C., D.C. Birdsell, and C.Y. Gradeen, *Urinary excretion of free toluenediamines in a patient with polyurethane-covered breast implants.* Clin Chem, 1991. **37**(12): p. 2143-5.
29. de la Pena-Salcedo, J.A., M.A. Soto-Miranda, and J.F. Lopez-Salguero, *Back to the future: a 15-year experience with polyurethane foam-covered breast implants using the partial-subfascial technique.* Aesthetic Plast Surg, 2012. **36**(2): p. 331-8.
30. Brand, K.G., *Foam-covered mammary implants.* Clin Plast Surg, 1988. **15**(4): p. 533-9.
31. Baker, J.L., Jr., M.L. Chandler, and R.R. LeVier, *Occurrence and activity of myofibroblasts in human capsular tissue surrounding mammary implants.* Plast Reconstr Surg, 1981. **68**(6): p. 905-12.
32. Spear, S.L. and J.L. Baker, Jr., *Classification of capsular contracture after prosthetic breast reconstruction.* Plast Reconstr Surg, 1995. **96**(5): p. 1119-23; discussion 1124.
33. Nachbar, J.M. and W.W. Orrison, Jr., *Validation of quantification of breast implant capsule surface area and volume using magnetic resonance imaging.* Ann Plast Surg, 1991. **27**(4): p. 321-6.
34. Leibman, A.J., *Imaging of complications of augmentation mammoplasty.* Plast Reconstr Surg, 1994. **93**(6): p. 1134-40.
35. Zahavi, A., M.L. Sklair, and D.D. Ad-El, *Capsular contracture of the breast: working towards a better classification using clinical and radiologic assessment.* Ann Plast Surg, 2006. **57**(3): p. 248-51.
36. Handel, N., et al., *The fate of breast implants: a critical analysis of complications and outcomes.* Plast Reconstr Surg, 1995. **96**(7): p. 1521-33.

37. Lilla, J.A. and L.M. Vistnes, *Long-term study of reactions to various silicone breast implants in rabbits*. *Plast Reconstr Surg*, 1976. **57**(5): p. 637-49.
38. Barker, D.E., M. Retsky, and S.L. Schulz, *The new low bleed mammary prosthesis: an experimental study in mice*. *Aesthetic Plast Surg*, 1981. **5**(1): p. 85-91.
39. Barker, D.E., M. Retsky, and S.L. Searles, *New low-bleed implant--Silastic II*. *Aesthetic Plast Surg*, 1985. **9**(1): p. 39-41.
40. Vistnes, L.M., J.W. Bentley, and D.C. Fogarty, *Experimental study of tissue response to ruptured gel-filled mammary prostheses*. *Plast Reconstr Surg*, 1977. **59**(1): p. 31-4.
41. McKinney, P. and G. Tresley, *Long-term comparison of patients with gel and saline mammary implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1983. **72**(1): p. 27-31.
42. Cairns, T.S. and W. de Villiers, *Capsular contracture after breast augmentation--a comparison between gel- and saline-filled prostheses*. *S Afr Med J*, 1980. **57**(23): p. 951-3.
43. Reiffel, R.S., et al., *A comparison of capsule formation following breast augmentation by saline-filled or gel-filled implants*. *Aesthetic Plast Surg*, 1983. **7**(2): p. 113-6.
44. Asplund, O., *Capsular contracture in silicone gel and saline-filled breast implants after reconstruction*. *Plast Reconstr Surg*, 1984. **73**(2): p. 270-5.
45. Gylbert, L., O. Asplund, and G. Jurell, *Capsular contracture after breast reconstruction with silicone-gel and saline-filled implants: a 6-year follow-up*. *Plast Reconstr Surg*, 1990. **85**(3): p. 373-7.
46. Winding, O., et al., *Silicon in human breast tissue surrounding silicone gel prostheses. A scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray investigation of normal, fibrocystic and peri-prosthetic breast tissue*. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 1988. **22**(2): p. 127-30.
47. Gayou, R.M., *A histological comparison of contracted and non-contracted capsules around silicone breast implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1979. **63**(5): p. 700-7.
48. Chang, L., et al., *A comparison of conventional and low-bleed implants in augmentation mammoplasty*. *Plast Reconstr Surg*, 1992. **89**(1): p. 79-82.

49. Biggs, T.M. and R.S. Yarish, *Augmentation mammoplasty: retropectoral versus retromammary implantation*. Clin Plast Surg, 1988. **15**(4): p. 549-55.
50. Gutowski, K.A., G.T. Mesna, and B.L. Cunningham, *Saline-filled breast implants: a Plastic Surgery Educational Foundation multicenter outcomes study*. Plast Reconstr Surg, 1997. **100**(4): p. 1019-27.
51. Jarrett, J.R., R.G. Cutler, and D.F. Teal, *Subcutaneous mastectomy in small, large, or ptotic breasts with immediate submuscular placement of implants*. Plast Reconstr Surg, 1978. **62**(5): p. 702-5.
52. Peters, W., et al., *An outcome analysis of 100 women after explantation of silicone gel breast implants*. Ann Plast Surg, 1997. **39**(1): p. 9-19.
53. Puckett, C.L., et al., *A critical look at capsule contracture in subglandular versus subpectoral mammary augmentation*. Aesthetic Plast Surg, 1987. **11**(1): p. 23-8.
54. Woods, J.E., G.B. Irons, Jr., and P.G. Arnold, *The case for submuscular implantation of prostheses in reconstructive breast surgery*. Ann Plast Surg, 1980. **5**(2): p. 115-22.
55. Vazquez, B., K.S. Given, and G.C. Houston, *Breast augmentation: a review of subglandular and submuscular implantation*. Aesthetic Plast Surg, 1987. **11**(2): p. 101-5.
56. Coleman, D.J., I.T. Foo, and D.T. Sharpe, *Textured or smooth implants for breast augmentation? A prospective controlled trial*. Br J Plast Surg, 1991. **44**(6): p. 444-8.
57. Ersek, R.A., *Molecular impact surface textured implants (MISTI) alter beneficially breast capsule formation at 36 months*. J Long Term Eff Med Implants, 1991. **1**(2): p. 155-69.
58. Ersek, R.A., *Rate and incidence of capsular contracture: a comparison of smooth and textured silicone double-lumen breast prostheses*. Plast Reconstr Surg, 1991. **87**(5): p. 879-84.

59. Hakelius, L. and L. Ohlsen, *Tendency to capsular contracture around smooth and textured gel-filled silicone mammary implants: a five-year follow-up*. *Plast Reconstr Surg*, 1997. **100**(6): p. 1566-9.
60. Pollock, H., *Breast capsular contracture: a retrospective study of textured versus smooth silicone implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1993. **91**(3): p. 404-7.
61. Hakelius, L. and L. Ohlsen, *A clinical comparison of the tendency to capsular contracture between smooth and textured gel-filled silicone mammary implants*. *Plast Reconstr Surg*, 1992. **90**(2): p. 247-54.
62. Pennisi, V.R., *Long-term use of polyurethane breast prostheses: a 14-year experience*. *Plast Reconstr Surg*, 1990. **86**(2): p. 368-71.
63. Hall-Stoodley, L., J.W. Costerton, and P. Stoodley, *Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases*. *Nat Rev Microbiol*, 2004. **2**(2): p. 95-108.
64. Costerton, J.W., L. Montanaro, and C.R. Arciola, *Biofilm in implant infections: its production and regulation*. *Int J Artif Organs*, 2005. **28**(11): p. 1062-8.
65. Bryers, J.D., *Medical biofilms*. *Biotechnol Bioeng*, 2008. **100**(1): p. 1-18.
66. Arciola, C.R., et al., *Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials*. *Biomaterials*, 2012. **33**(26): p. 5967-82.
67. Pajkos, A., et al., *Detection of subclinical infection in significant breast implant capsules*. *Plast Reconstr Surg*, 2003. **111**(5): p. 1605-11.
68. Schreml, S., et al., *Bacterial colonization is of major relevance for high-grade capsular contracture after augmentation mammoplasty*. *Ann Plast Surg*, 2007. **59**(2): p. 126-30.
69. Rieger, U.M., et al., *Sonication of removed breast implants for improved detection of subclinical infection*. *Aesthetic Plast Surg*, 2009. **33**(3): p. 404-8.
70. Rieger, U.M., et al., *Bacterial biofilms and capsular contracture in patients with breast implants*. *Br J Surg*, 2013. **100**(6): p. 768-74.
71. Rosan, B. and R.J. Lamont, *Dental plaque formation*. *Microbes Infect*, 2000. **2**(13): p. 1599-607.

72. Mah, T.F. and G.A. O'Toole, *Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents*. Trends Microbiol, 2001. **9**(1): p. 34-9.
73. Flemming, H.C. and J. Wingender, *The biofilm matrix*. Nat Rev Microbiol, 2010. **8**(9): p. 623-33.
74. Hall-Stoodley, L. and P. Stoodley, *Biofilm formation and dispersal and the transmission of human pathogens*. Trends Microbiol, 2005. **13**(1): p. 7-10.
75. Fux, C.A., S. Wilson, and P. Stoodley, *Detachment characteristics and oxacillin resistance of Staphylococcus aureus biofilm emboli in an in vitro catheter infection model*. J Bacteriol, 2004. **186**(14): p. 4486-91.
76. Chambless, J.D., S.M. Hunt, and P.S. Stewart, *A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials*. Appl Environ Microbiol, 2006. **72**(3): p. 2005-13.
77. Xu, K.D., et al., *Spatial physiological heterogeneity in Pseudomonas aeruginosa biofilm is determined by oxygen availability*. Appl Environ Microbiol, 1998. **64**(10): p. 4035-9.
78. Pamp, S.J., et al., *Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in Pseudomonas aeruginosa biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes*. Mol Microbiol, 2008. **68**(1): p. 223-40.
79. O'Connell, H.A., et al., *Influences of biofilm structure and antibiotic resistance mechanisms on indirect pathogenicity in a model polymicrobial biofilm*. Appl Environ Microbiol, 2006. **72**(7): p. 5013-9.
80. Karatan, E. and P. Watnick, *Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms*. Microbiol Mol Biol Rev, 2009. **73**(2): p. 310-47.
81. Shah, Z., J.A. Lehman, Jr., and J. Tan, *Does infection play a role in breast capsular contracture?* Plast Reconstr Surg, 1981. **68**(1): p. 34-42.
82. Ahn, C.Y., et al., *Microbial evaluation: 139 implants removed from symptomatic patients*. Plast Reconstr Surg, 1996. **98**(7): p. 1225-9.
83. Washer, L.L. and K. Gutowski, *Breast implant infections*. Infect Dis Clin North Am, 2012. **26**(1): p. 111-25.

84. Del Pozo, J.L., et al., *Pilot study of association of bacteria on breast implants with capsular contracture*. J Clin Microbiol, 2009. **47**(5): p. 1333-7.
85. Ajdic, D., et al., *The Relationship of Bacterial Biofilms and Capsular Contracture in Breast Implants*. Aesthet Surg J, 2016. **36**(3): p. 297-309.
86. Marsh, P.D. and D.A. Devine, *How is the development of dental biofilms influenced by the host?* J Clin Periodontol, 2011. **38 Suppl 11**: p. 28-35.
87. Page, R.C., et al., *Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions*. Periodontol 2000, 1997. **14**: p. 216-48.
88. Page, R.C. and H.E. Schroeder, *Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work*. Lab Invest, 1976. **34**(3): p. 235-49.
89. Van De Water, L., S. Varney, and J.J. Tomasek, *Mechanoregulation of the Myofibroblast in Wound Contraction, Scarring, and Fibrosis: Opportunities for New Therapeutic Intervention*. Adv Wound Care (New Rochelle), 2013. **2**(4): p. 122-141.
90. Rinkevich, Y., et al., *Skin fibrosis. Identification and isolation of a dermal lineage with intrinsic fibrogenic potential*. Science, 2015. **348**(6232): p. aaa2151.
91. Mazhar, K., et al., *Bacterial biofilms and increased bacterial counts are associated with airway stenosis*. Otolaryngol Head Neck Surg, 2014. **150**(5): p. 834-40.
92. Vedrenne, N., et al., *The complex dialogue between (myo)fibroblasts and the extracellular matrix during skin repair processes and ageing*. Pathol Biol (Paris), 2012. **60**(1): p. 20-7.
93. Hwang, K., et al., *Myofibroblasts and capsular tissue tension in breast capsular contracture*. Aesthetic Plast Surg, 2010. **34**(6): p. 716-21.
94. Tamboto, H., K. Vickery, and A.K. Deva, *Subclinical (biofilm) infection causes capsular contracture in a porcine model following augmentation mammoplasty*. Plast Reconstr Surg, 2010. **126**(3): p. 835-42.
95. Siggelkow, W., et al., *Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture*. Biomaterials, 2003. **24**(6): p. 1101-9.

96. Bergmann, P.A., et al., *[Histological and immunohistochemical study of capsular contracture in an animal model--a comparison of two implants according to a modification of Wilflingseder's classification]*. Handchir Mikrochir Plast Chir, 2012. **44**(4): p. 220-6.
97. Kamel, M., V.L. Fornasier, and W. Peters, *Cartilaginous metaplasia in the capsule of a Dacron-backed silicone gel breast prosthesis*. Ann Plast Surg, 1999. **42**(2): p. 202-6.
98. Copeland, M., M. Choi, and I.J. Bleiweiss, *Silicone breakdown and capsular synovial metaplasia in textured-wall saline breast prostheses*. Plast Reconstr Surg, 1994. **94**(5): p. 628-33; discussion 634-6.
99. Peters, W., et al., *Capsular calcification associated with silicone breast implants: incidence, determinants, and characterization*. Ann Plast Surg, 1998. **41**(4): p. 348-60.
100. Siggelkow, W., et al., *In vitro analysis of modified surfaces of silicone breast implants*. Int J Artif Organs, 2004. **27**(12): p. 1100-8.
101. Raso, D.S. and W.B. Greene, *Silicone breast implants: pathology*. Ultrastruct Pathol, 1997. **21**(3): p. 263-71.
102. Mladick, R.A., *"No-touch" submuscular saline breast augmentation technique*. Aesthetic Plast Surg, 1993. **17**(3): p. 183-92.
103. Wixtrom, R.N., et al., *Risk of breast implant bacterial contamination from endogenous breast flora, prevention with nipple shields, and implications for biofilm formation*. Aesthet Surg J, 2012. **32**(8): p. 956-63.
104. Burkhardt, B.R., et al., *Capsular contracture: a prospective study of the effect of local antibacterial agents*. Plast Reconstr Surg, 1986. **77**(6): p. 919-32.
105. Adams, W.P., Jr., et al., *Optimizing breast-pocket irrigation: the post-betadine era*. Plast Reconstr Surg, 2001. **107**(6): p. 1596-1601.
106. Arad, E., et al., *Novel rat model of methicillin-resistant Staphylococcus aureus-infected silicone breast implants: a study of biofilm pathogenesis*. Plast Reconstr Surg, 2013. **131**(2): p. 205-14.

107. Gylbert, L., et al., *Preoperative antibiotics and capsular contracture in augmentation mammoplasty*. Plast Reconstr Surg, 1990. **86**(2): p. 260-7; discussion 268-9.
108. Jacombs, A., et al., *Prevention of biofilm-induced capsular contracture with antibiotic-impregnated mesh in a porcine model*. Aesthet Surg J, 2012. **32**(7): p. 886-91.
109. Wiener, T.C., *Relationship of incision choice to capsular contracture*. Aesthetic Plast Surg, 2008. **32**(2): p. 303-6.
110. Bastos, E.M., et al., *Histologic analysis of zafirlukast's effect on capsule formation around silicone implants*. Aesthetic Plast Surg, 2007. **31**(5): p. 559-65.
111. Gancedo, M., et al., *Pirfenidone prevents capsular contracture after mammary implantation*. Aesthetic Plast Surg, 2008. **32**(1): p. 32-40.
112. Veras-Castillo, E.R., et al., *Controlled clinical trial with pirfenidone in the treatment of breast capsular contracture: association of TGF-beta polymorphisms*. Ann Plast Surg, 2013. **70**(1): p. 16-22.
113. Saginur, R., et al., *Multiple combination bactericidal testing of staphylococcal biofilms from implant-associated infections*. Antimicrob Agents Chemother, 2006. **50**(1): p. 55-61.
114. Donlan, R.M., *Biofilms and device-associated infections*. Emerg Infect Dis, 2001. **7**(2): p. 277-81.
115. Obst, G., et al., *Rifampin activity against Staphylococcus epidermidis biofilms*. ASAIO Trans, 1988. **34**(3): p. 782-4.
116. Maxwell, P., *Breast Augmentation*, in *Plastic Surgery*, S. Mathes, Editor. 2006, Saunders-Elsevier. p. 1-33.
117. Bergmann, P.A., et al., *The effect of a bacterial contamination on the formation of capsular contracture with polyurethane breast implants in comparison with textured silicone implants: an animal study*. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2014. **67**(10): p. 1364-70.
118. Handel, N. and J. Gutierrez, *Long-term safety and efficacy of polyurethane foam-covered breast implants*. Aesthet Surg J, 2006. **26**(3): p. 265-74.

119. Vazquez, G., *A ten-year experience using polyurethane-covered breast implants*. Aesthetic Plast Surg, 1999. **23**(3): p. 189-96.
120. Wagenfuhr-Junior, J., et al., *Histopathological reaction over prosthesis surface covered with silicone and polyurethane foam implanted in rats*. Acta Cir Bras, 2012. **27**(12): p. 866-73.
121. Raso, D.S., W.B. Greene, and J.S. Metcalf, *Synovial metaplasia of a periprosthetic breast capsule*. Arch Pathol Lab Med, 1994. **118**(3): p. 249-51.
122. Raso, D.S. and W.B. Greene, *Synovial metaplasia of a periprosthetic capsule surrounding a polyurethane foam breast prosthesis*. Ann Plast Surg, 1995. **35**(2): p. 201-3.