



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**İNSAN AMNİYOTİK SIVISI KÖKENLİ HÜCRE KÜLTÜR
MEDYUMUNUN SİLİKON PROTEZ ÇEVRESİNDEKİ KAPSÜL
OLUŞUMUNA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Turan MEHDİZEDE AGHAZADA

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Kemalettin YILDIZ

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından 20210206 kodlu proje ile desteklenmiştir.

EKİM 2022

Kurum : Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans () Uzmanlık (x) Doktora ()
Anabilim Dalı : Plastik, Rekonstrüktif Ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Turan Mehdizade Aghazada
Tez Başlığı : İnsan Amniyotik Sıvısı Kökenli Hücre Kültür Medyumunun Silikon Protez Çevresindeki Kapsül Oluşumuna Etkisi

Tez Danışmanı : **Dr. Adı SOYADI**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Dr. Adı SOYADI**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Dr. Adı SOYADI
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Yedek Jüri Üyeleri
Dr. Adı SOYADI
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Dr. Adı SOYADI
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Bu tez, 26.04.2014 tarihli 28983 sayılı T.C. Sağlık Bakanlığı, Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliği ilgili maddeleri uyarınca yukarıda belirtilen jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve/...../..... tarih ve/..... sayılı kararla kabul edilmiştir.

Teslim Tarihi : 2022
Savunma Tarihi : 2022

ÖNSÖZ

Çalışma sürecinde her türlü yol gösterici olan, olumlu tavrıyla beni cesaretlendiren, bilgi birikimiyle çalışmama farklı açılardan bakmamı sağlayan, yaşadığım zor ve hayati sınavlarımda da desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, beraber çalışmaktan ve her zaman öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Doç. Dr. Kemalettin YILDIZ'a;

Eğitim sürecimde Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik cerrahi alanındaki bilgi ve deneyimlerini bana sabır ve özveri ile aktaran, her zaman yeniliklere ve paylaşımcılığa açık olmayı aşıl原因an, asistanlık hayatım boyunca altından kalkmakta zorlandığım her türlü klinik açmazımda çekinmeden danışıp yanıt alabildiğim değerli hocam Prof. Dr. Ethem GÜNEREN'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi, beceri ve deneyimlerimi geliştirmeme katkıda bulunan, hiçbir zaman manevi desteğini esirgemeyen, bu meslekte 'kadın' olmanın yaşattığı zorlukları, kolaylıkları tüm açıklığıyla aktaran değerli hocam Prof. Dr. Selma Sönmez ERGÜN'e;

Çok az çalışma fırsatımız olsa da güncel bilgileri takip ederken plastik cerrahinin temel ilkelerinden ödün vermemenin ve akademik kariyerin önemini vurgulayan sayın Dr. Öğretim Üyesi Nuh Evin'e;

Usta-çırak ilişkisi yanında kardeşlik bağlarıyla eşsiz anılar oluşturduğumuz uzm. Dr. Azer Zeynalov, uzm. Dr. Mustafa Ünal'a; her daim birlikte keyifle çalıştığımız asistan doktor arkadaşlarıma;

Her zaman en iyi düzeyde eğitim almamı ve bugünlere gelmemi sağlayan, bu yola çıkmamda bana ışık tutan ve bayrağı devralmam için cesaret veren, doktorlukta izinden gittiğim en büyük dayanağım koca yürekli babam Nizami Mehdizade'ye; hiç usanmadan nazımı çeken, tüm hayatım boyunca her zaman beni cesaretlendiren ve moral veren, beni bugünlere getiren canım annem Nigar Mehdizade'ye; sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim canım kardeşlerim Toğrul ve Nihad'a;

Bu dolambaçlı yolda yanımda olan, bununla yetinmeyip beni yüreklendirerek tezimi sırtlamama yardım eden, sevgisini ve desteğini hiç esirgemeyen ve bu süreçte bana sabırla katlanan can eşim Jamal Aghazada'ya;

Ve enerji kaynağım, motivasyonum, herşeyim, varlığımdan, gülümsemesinden güç aldığım canım kızım Nilufer'ime;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ekim 2022

Dr.Turan Mehdizade Aghazada

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Turan Mehdizade Aghazada

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iii
BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
RESİM LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xiv
SUMMARY	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 MEME PROTEZİ	3
2.1.1 İmplant Materyalleri ve Silikonun Kimyasal Yapısı	3
2.1.2 Tarihçe	4
2.1.3 Silikon İmplant Çeşitleri	5
2.1.3.1 İçleri Doldurulmuş İmplantlar	5
2.1.3.2 Şişirilebilir Meme İmplantları	6
2.1.3.3 Çift lümenli implantlar	6
2.1.3.4 İmplantların yüzeyi	6
2.1.4 Silikon İmplantlara Bağlı Kapsül Kontraktürü	7
2.1.4.1 Genel Bilgiler	7
2.1.4.2 Etyoloji	7
2.1.4.3 Patofizyoloji	9
2.1.4.4 Klinik Sınıflandırma	11
2.1.4.5 Histolojik Sınıflandırma	12
2.1.4.6 Tanı ve Görüntülem	12
2.1.4.7 Tedavi ve Önleme	13
2.2 KÖK HÜCRE	14
2.2.1 Tarihçe	15
2.2.2 Kök Hücre Türleri	15
2.2.3 Kök Hücre Kaynakları	16
2.2.4 Kök Hücre Kullanım Alanları	17
2.2.5 Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre (YDKKH)	17
2.2.5.1 Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre (YDKKH)'nin klinik kullanımı	18

2.2.5.1.1 Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre (YDKKH) ve Meme Cerrahisi	19
2.2.5.1.2 Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre (YDKKH)'in Kapsül Kontraktürü Üzerine Etkisi	20
2.3 İNSAN AMNİYOTİK SIVISI KÖKENLİ HÜCRE KÜLTÜR MEDYUMU	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Gruplar	23
3.2. Silikon İmplantların Hazırlanması	25
3.3. YDKKH'in hazırlanması	25
3.4. Cerrahi Protokol	27
3.5. Kullanılan cerrahi araç-gereç	31
3.6 Makroskopik değerlendirme	31
3.7 Deneyin Sonlandırılması, Doku Örneklerinin Alınması	31
3.8 Histolojik Analiz	34
3.9 Biyokimyasal Analiz	36
3.10 Genetik Analiz	37
3.11 İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
4.1 Makroskopik Bulgular	39
4.2 Histolojik Analiz Bulguları	39
4.3 Biyokimyasal Analiz Bulguları	55
4.4 Genetik Analiz Bulguları	68
5. TARTIŞMA	71
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	87
EKLER	106
ÖZGEÇMİŞ	109

KISALTMALAR

ACCM	: Amniyotik sıvı kökenli hücre kültür medyumu
YDKKH	: Yağ dokusu kaynaklı kök hücre
BIA-ALCL	: Meme protezi ile ilişkili anaplastik büyük hücreli lenfoma
BII	: Meme protezi ile ilişkili hastalık
BIA-SCC	: Meme protezi ile ilişkili yassı hücreli karsinom
HA	: Hyaluronik asit
HASA	: Hyaluronik asit uyarıcı aktivatör
HAF	: İnsan amniyotik sıvısı
TIMP-1	: Doku matriks metalloproteinaz inhinitörü bir
TIMP-2	: Doku matriks metalloproteinaz inhinitörü iki
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
ECM	: Ekstrasellüler matriks
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
α-SMA	: Alfa düz kas aktini
IVF	: In-vitro fertilizasyon
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
IL-2	: İnterlökin iki
IL-4:	: İnterlökin dört
IL-6	: İnterlökin altı
IL-7	: İnterlökin yedi
IL-8	: İnterlökin sekiz
IL-13	: İnterlökin on üç
IL-17	: İnterlökin on yedi
SVF	: Stromal vasküler fraksiyon
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
IGF-I	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bir
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
NGF	: Sinir büyüme faktörü

CXCR4	: Kemokin reseptür tip dört
PRP	: Trombositten zengin plazma
TNF-alfa	: Tümör nekroz faktörü alfa
M-CSF	: Makrofaj koloni uyarıcı faktör
ABCAM- ab	: Anti-alpha smooth muscle Actin antibody
TGF-β1	: Transforming büyüme faktörü beta bir
TGF-β2	: Transforming büyüme faktörü beta iki
TAS	: Total antioksidan seviyesi
TOS	: Total oksidan seviyesi
OSI	: Oksidatif stres indeksi
MMP-2	: Matriks metalloproteinaz iki
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
ALK	: Anaplastik lenfoma kinaz
IFN-gamma	: İnterferon gama
Th1	: Yardımcı T hücresi bir
Th2	: Yardımcı T hücresi iki
Th17	: Yardımcı T hücresi on yedi
Cys-LT1	: Sisteinil-lökotrien reseptörü tip bir
PHEMA	: Poly-2-hidroksietil metakrilat
IA	: İtakonik asit
PDMS	: Polidimetilsiloksan
ADM	: Aselüler dermal matriks
IL-1β	: İnterlökin bir beta

RESİM LİSTESİ

Sayfa

Resim 3.1 : Çalışmada kullanılan silikon implant örneği	25
Resim 3.2 : YDKKH temini için yağ dokunun alınması ve transport ortamı	27
Resim 3.3 : Sıçanların torakadorsal bölgesinde poş hazırlanarak uygun infiltrasyon ve implant yerleştirilmesi.....	30
Resim 3.4 : Sıçanlardan intrakardiyak girişimle kan alımı	32
Resim 3.5 : Silikon implant çevresi kapsül görüntüsü	33
Resim 3.6 : Silikon materyal kapsülü ile tek bir blok halinde.....	34

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1 : Hayvan çalışması gruplarının gösterilmesi.....	24
Tablo 4.1 : İmmünreaktivite şiddetlerinin derecelendirilmesi	51
Tablo 4.2 : Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında deneklere göre sırasıyla immünreaktivite şiddetlerinin derecelendirilmesi.....	53
Tablo 4.3 : Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarının immünreaktivite şiddetlerinin incelemesi	54
Tablo 4.4 : Dokuda ölçülmüş parametrelerin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine grupların karşılaştırılması	55
Tablo 4.5 : Serumda ölçülmüş parametrelerin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine grupların karşılaştırılması	61
Tablo 5.1 : İmplant ile ilişkili kapsül kontraktürünü ve yabancı cisim reaksiyonunu azaltmak için uygulanan teknikler (64).....	73

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 2.1** : Kapsül kontraktürünün etyolojisi. Hücresel düzeyde erken inflamatuvar yanıt, kontraktür etiyolojisini anlamının en temel noktasıdır 9
- Şekil 2.2** : Kapsül kontraktürünün patogenetik mekanizması 11
- Şekil 4.1** : Kontrol grubu; kırmızı ile sınırlanan alan kollajen liflerden zengin bağ dokusundan oluşan kapsül, mavi yıldız: yağ dokusu (Masson Trikrom X100) 40
- Şekil 4.2** : Kontrol grubu; kırmızı ile sınırlanan alan kollajen liflerden zengin bağ dokusundan oluşan kapsül (Masson Trikrom X100) 41
- Şekil 4.3** : Kontrol grubu; kırmızı asteriks: duvarında pozitif immünohistokimyasal reaksiyonun olduğu damarlar; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku; mavi yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen beyaz yağ dokusu (α -SMA, ABC yöntemi X200) 42
- Şekil 4.4** : Kontrol grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kapsül; kırmızı asteriks: duvarında pozitif immünohistokimyasal reaksiyonun olduğu damarlar; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku; (α -SMA, ABC yöntemi X200) 43
- Şekil 4.5** : Kontrol grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kalınlaşmış kapsül; kırmızı asteriks: duvarında pozitif immünohistokimyasal reaksiyonun olduğu damarlar; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200) ... 44
- Şekil 4.6** : ACCM grubu; kırmızı çizgi: sıkı bağ doku yapısındaki kapsül; siyah oklar: damarlar; siyah yıldız: kollajen liflerden oluşan bağ dokusu, mavi yıldız: yağ dokusu (Masson Trikrom X 100) 45
- Şekil 4.7** : ACCM grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kapsül; kırmızı oklar: pozitif reaksiyon veren miyofibroblast hücreleri; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200) 46
- Şekil 4.8** : ACCM grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kalınlaşmış kapsül; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200) 47
- Şekil 4.9** : YDKKH grubu; kırmızı çizgi: sıkı bağ doku yapısındaki kapsül; sarı yıldız: kas dokusu; mavi yıldız: yağ dokusu (Masson Trikrom X 100) 48

Şekil 4.10 : YDKKH grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kapsül; kırmızı asteriks: duvarında pozitif immünohistokimyasal reaksiyonun olduğu damarlar; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200).....	49
Şekil 4.11 : Kombine (ACCM+YDKKH) grup; kırmızı çizgi: sıkı bağ doku yapısındaki kapsül; siyah oklar: kan damarları (Masson Trikrom X 100)	50
Şekil 4.12 : Kombine (ACCM+YDKKH) grup; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kapsül; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200)	51
Şekil 4.13 : İmmünreaktivite şiddetinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve ACCM+YDKKH gruplarında bar grafikleri	54
Şekil 4.14 : Doku örneklerindeki TGF β -1 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	56
Şekil 4.15 : Doku örneklerindeki TGF β -2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	57
Şekil 4.16 : Doku örneklerindeki IL-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	57
Şekil 4.17 : Doku örneklerindeki TAS değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	58
Şekil 4.18 : Doku örneklerindeki TOS değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	58
Şekil 4.19 : Doku örneklerindeki OSI değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	59
Şekil 4.20 : Doku örneklerindeki TIMP-1 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	59
Şekil 4.21 : Doku örneklerindeki TIMP-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	60
Şekil 4.22 : Doku örneklerindeki MMP-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	60
Şekil 4.23 : Doku örneklerindeki IL-4 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	61
Şekil 4.24 : Serumda TGF β -1 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	63
Şekil 4.25 : Serumda TGF β -2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	64
Şekil 4.26 : Serumda TIMP-1 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	64
Şekil 4.27 : Serumda TIMP-1 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	65
Şekil 4.28 : Serumda MMP-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	65
Şekil 4.29 : Serumda TAS değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	66
Şekil 4.30 : Serumda OSI değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	66

Şekil 4.31 : Serumda IL-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	67
Şekil 4.32 : Serumda IL-4 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	67
Şekil 4.33 : Serumda TOS değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri	68
Şekil 4.34 : Mezenkimal kök hücrelerin dokudan ayrılarak hücre kültür tabaklarına yapıştığını gösteren 10X magnifikasyon ile ışık mikroskobunda çekilmiş görüntüleri.	69



İNSAN AMNİYOTİK SIVISI KÖKENLİ HÜCRE KÜLTÜR MEDYUMUNUN SİLİKON PROTEZ ÇEVRESİNDEKİ KAPSÜL OLUŞUMUNA ETKİSİ

ÖZET

Giriş: Silikon meme implantları son elli yıldır meme büyütme ve mastektomi sonrası meme rekonstrüksiyonu için kullanılmaktadır.

Kapsüler kontraktür, meme protezi etrafındaki reaktif kapsülün kalınlaşması, memenin sıkılığına yol açması ile ortaya çıkan olgudur. Bu durum, estetik ve rekonstrüktif meme cerrahisinin en yaygın komplikasyonlarından biridir. Bu nedenle literatürde pek çok ajan, allogreft veya doku mühendisliği (üçboyutlu meme kalıplarının kullanılması ve içerisine yağ transferinin gerçekleştirilmesi) gibi yöntemlerin protez çevresi kapsül oluşumuna etkisi çalışılmıştır. Biz ise çalışmamızda bu amaçla ACCM'nin (insan amniyotik sıvısı kökenli hücre kültür medyumu) ve YDKKH'nin (yağ dokusu kaynaklı kök hücre) hem tekbaşına hem de birlikte uygulanmasının protez çevresi kapsül oluşumu üzerindeki etkinliklerinin karşılaştırılmasını amaçladık. ACCM olarak amniyotik sıvı hücrelerinin ve koryon villus hücrelerinin in vitro kültür eldesinde kullanılan bir besin ortamı olan AmnioMax™ C-100 (AmnioMAX™ C-100 ve AmnioMAX™ II Complete Media, Life Technologies, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, California 92008) kullanıldı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada ağırlıkları 250-300 gr arasında Sprague Dawley 26 adet dişi sıçan kullanıldı. 26 sıçan rastlantısal olarak, kontrol, 3 çalışma grubu (sadece ACCM, sadece YDKKH-yağ doku kaynaklı mezenşimal kök hücre, ACCM + YDKKH) ve YDKKH temin edilecek gruplar şeklinde (2 sıçan) kullanıldı. Sıçanlara paravertebral insizyon ile pannikulus karnozus altında, paravertebral kasların üzerinde 1x1 cm boyutunda cep hazırlandı. İmplant yerleştirmeden önce: Grup 1 (Kontrol) hazırlanan cebe 0,5 cc normal salin enjekte edildi. Grup 2 (ACCM) de cebe 0.5 cc ACCM enjekte edildi. Grup 3 (YDKKH): Cebe 0,5 cc YDKKH enjekte edildi. Grup 4 (ACCM+YDKKH): Cebe 0.5 cc ACCM ve 0.5 cc YDKKH enjekte edildi. Ardından implant cebe yerleştirildi. Sıçanların tümü 2. ayın sonunda sakrifiye edilerek cerrahi alandaki periprostetik kapsüller eksize edilerek çıkarıldı. Kapsül kalınlıkları ile morfolojik analiz yapıldı. Histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için doku örnekleri alındı. Elde edilen veriler Shaphiro wilk testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Gruplar arasında TGFβ-1 ve 2, IL-2, TAS, TOS ve OSI parametre ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı oldukları tespit edildi ($p < 0,05$). Kombine gruptaki deneklerin TGFβ-1 ve 2 ($31,18 \pm 13,11$ ve $20,79 \pm 6,9$), IL2 ($14,4 \pm 2,34$), TOS ($0,24 \pm 0,06$) ve OSI ($0,53 \pm 0,12$) ortalamasının diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük olduğu izlendi. TAS ortalamasının ($0,47 \pm 0,09$) ise Kombine

grupta diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi. Gruplar arası miyofibroblast belirteci olan α -SMA oranlarının değerlendirilmesi ile immünreaktivite şiddetleri karşılaştırıldı. İmmünreaktivite şiddetlerinin kıyaslanması sonucu Kontrol grubundaki deneklerin tümünde şiddetli düzeyde immünreaktivite (%100) gözlenmişken, ACCM grubundaki deneklerin çoğunluğunda (%66,7), Kombine gruptaki deneklerin ise tamamında zayıf düzey immünreaktivite gözlandı.

Sonuç: Çalışmamızda bakılan mevcut parametrelerden yola çıkarak elde edilen sonuçlara göre, ACCM ve YDKKH'nin kombine uygulandığı grubun oksidatif strese daha dayanıklı, daha zayıf immünreaktivite düzeyine sahip olup periprostetik kapsül oluşumundan sorumlu fibroblastların davranış paternini değiştirerek kapsül oluşumunu daha fazla azalttığını düşünmekteyiz.



THE EFFECT OF HUMAN AMNIOTIC FLUID CELL CULTURE MEDIUM ON CAPSULE FORMATION AROUND SILICONE PROSTHESIS

SUMMARY

Introduction: Silicone implants have been used for breast augmentation and breast reconstruction after mastectomy for the last fifty years.

Capsular contracture is a phenomenon that occurs when the reactive capsule around the breast prosthesis thickens, tightens and causes tightness of the breast. This is one of the most common complications of aesthetic and reconstructive breast surgery. For this reason, the effects of many agents, methods such as allograft or tissue engineering on the formation of capsule around the prosthesis have been studied in the literature. In our study, we used both ACCM and ADSC for this purpose and compared their effects on the capsule formation around the silicone prosthesis. AmnioMAX™ C-100 (AmnioMAX™ C-100 and AmnioMAX™ II Complete Media, Life Technologies, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, California 92008), a nutrient medium used for in vitro culture of amniotic fluid cells and chorionic villus cells, was used as ACCM.

Materials and Methods: In the study, 26 female Sprague Dawley rats weighing between 250-300 g were used. 26 rats were randomly assigned to control, 3 study groups (ACCM only, only ADSC-adipose tissue derived mesenchymal stem cell, ACCM + ADSC) and two rats were used to obtain ADSC. A 1x1 cm pocket was prepared above the paravertebral muscles under the panniculus carnosus with a paravertebral incision in the rats. Before implant placement: 0.5 cc of normal saline was injected into the prepared pouch in Group 1 (Control). In Group 2 (ACCM), 0.5 cc ACCM was injected into the pouch. In Group 3 (ADSC) 0.5 cc ADSC was injected into the pouch. In group 4 (ACCM+ADSC), 0.5 cc ACCM and 0.5 cc ADSC were injected into the pouch. And then the implant was placed in the pouch. All rats were sacrificed at the end of the second month, and the periprosthetic capsules in the surgical area were excised. Morphological analysis was performed evaluating with capsule thickness. Tissue samples were taken for histopathological and biochemical examinations. The obtained data were evaluated statistically with the Shapiro Wilk test.

Results: TGFβ-1 and 2, IL-2, TAS, TOS and OSI parameter averages were found to be statistically significantly different between the groups ($p < 0.05$). The mean of TGFβ-1 and 2 (31.18 ± 13.11 and 20.79 ± 6.9), IL2 (14.4 ± 2.34), TOS (0.24 ± 0.06) and OSI (0.53 ± 0.12) of the rats in the combined group were found to be significantly lower than other groups. The mean TAS (0.47 ± 0.09) was found to be significantly higher in the combined group compared to the other groups. As a result of the comparison of the immunoreactivity intensities between the groups, all the subjects in the Control group had severe immunoreactivity (100%), while weak immunoreactivity was observed in the majority of the rats (66.7%) in the ACCM group and in all of the rats in the Combined group.

Conclusion: According to the results obtained from the current parameters examined in our study, we think that the group in which ACCM and ADSC were applied combined was more resistant to oxidative stress, had a weaker immunoreactivity level,

and reduced the capsule formation more by changing the behavior pattern of the fibroblasts responsible for periprosthetic capsule formation.



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Meme implantı meme boyutunu artırmak (büyütme) veya kanser, travma nedeniyle çıkarılan meme dokusunun yerini doldurmak, ciddi ve ileri düzey meme anomalilerini onarmak amacıyla meme dokusu veya göğüs kası altına yerleştirilen tıbbi gereçtir. Son elli yılda kullanımı yaygınlaşmıştır. Meme implantı uygulanan hastalarda bir dizi komplikasyon gelişebilir ki (asimetri, ağrı, meme dokusunun atrofisi, Kalsiyum birikintileri, göğüs duvarı deformitesi, lenfödem veya lenfadenopati, meme başında duyu kaybı, kızarıklık ve morarma, seroma, ciltte döküntüler ve s.) bunların çoğu kapsül kontraktürü dediğimiz durum ile ilişkilidir.

Bir implant yerleştirildiğinde vücut, fizyolojik yanıt olarak koruyucu bir zar-kapsül oluşturarak tepki gösterir. Bazı hastalarda inflamatuvar hücreler tarafından proteze karşı aşırı bir yanıt gelişerek kapsül kontraktürü olarak isimlendirilen durum ortaya çıkar. Kapsül kontraktürü protezin etrafında oluşan, meme sertliği, ağrı ve şekil bozukluğuna neden olarak implantasyon sonrası en rahatsız edici ve en sık görülen komplikasyon olarak bilinir. Protez meme implantı prosedürlerinin %40 kadarı kapsüler kontraktür ile komplike olur ve bu hastaların çoğuna implantın çıkarılması veya değiştirilmesi için yeniden operasyon gereklidir. Ayrıca günümüzde giderek yaygınlaşan meme protezi ile ilişkili anaplastik büyük hücreli lenfoma'nın (BIA-ALCL), meme protezi ile ilişkili otoimmün hastalık (BII), meme protezi ile ilişkili yassı hücreli karsinomun (BIA-SCC) ve meme protezi ile ilişkili diğer lenfomaların etyopatogenezi tam olarak bilinmese de protez çevresinde gelişen kapsül ile benzer etyolojiye sahip olup, kapsül zemininde geliştiği ve kapsül katmanları kaynaklı olduğu bilinmektedir.

Bu nedenle protez çevresinde kapsül oluşumunun engellenmesine yönelik literatürde 5-fluorourasil (1), lökotrien antagonistleri (2) veya kollajenaz (3) gibi pek çok ajan, allogreft veya doku mühendisliği gibi etken ve yöntemler araştırılmıştır. Amniyon sıvısı kısmen amniyon hücreleri tarafından oluşturulan fakat esas olarak anne

kanından gelen berrak bir sıvıdır. Hyaluronik asitin (HA) mononükleer fagositlerin ve lenfositlerin aktivitesini inhibe ederek skar oluşumunu azalttığı için yüksek konsantrasyonlarda HA, HA uyarıcı aktivatör (HASA) ve diğer faktörler içeren insan amniyotik sıvısı (HAF), intraluminal olarak uygulandığında fibröz kapsül oluşumunu ve kapsül kontraktürünü engelleyebildiği bilinir (4). Son dönemlerde IGF gibi, doku metalloproteinaz inhibitörü (TIMP), α 2- makroglobulin ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi proteinlerin de bulunduğu amniyon sıvısının yara iyileşmesi ve doku yenilenmesi gibi birçok patolojide kullanılabilirliği ve tedavi edici etkileri araştırılmaktadır (5-8). Amniyon hücrelerinin, yara iyileşmesi ve doku yenilenmesinde etkili olan faktörler yönünden değerlendirebilmek ve klinik olarak kullanılabilmesi için amniyon sıvısında hücre popülasyonunun az olmasından dolayı in vitro şartlarda çoğaltılarak değerlendirilmesi gereklidir. Bu amaçla elde edilen amniyon sıvısındaki kök hücrelerin sayısını artırmak için özel besin ortamları kullanılmaktadır. Amniyon sıvısı kökenli hücre eldesi için kullanılan farklı besin ortamları farklı özelliklere sahiptir. İnsan amniyotik sıvısı kökenli hücre kültür medyumu ACCM'nin in vitro hücre kültür çalışmalarında fetal hücre proliferasyonunu ve büyüme performansını indüklediği gösterilmiştir. (9-11). Biz bu çalışmada ACCM olarak amniyotik sıvı hücrelerinin ve koryon villus hücrelerinin in vitro kültür eldesinde kullanılan bir besin ortamı olan AmnioMax™ C-100'ü (AmnioMAX™ C-100 ve AmnioMAX™ II Complete Media, Life Technologies, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, California 92008) kullandık. ACCM (AmnioMax™ C-100) yara iyileşmesinin hem rejeneratif hem de antiinflamatuvar aşamasında görev alan mezenşimal/stromal kök hücre yanıtını güçlendirmektedir. Protezin yerleştirildiği cebe ACCM uygulanması literatürde daha önce yapılmamış bir çalışmadır. Kapsül oluşumunu engelleyici olarak ACCM'nin etkisinin ispatlanması, yukarıda bahsedilen durumların karşısını alarak hem rekonstrüktif hem de estetik cerrahide büyük kazanç sağlayacağını düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamıza protez yerleştirilecek cebe YDKKH uygulanmasını da ekleyerek, ACCM'nin ve YDKKH'nin hem ayrılıkta hem de birlikte uygulanmasının protez çevresi kapsül oluşumu üzerindeki etkinliklerinin karşılaştırılmasını da amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 MEME PROTEZİ

2.1.1 İmplant Materyalleri ve Silikonun Kimyasal Yapısı

İmplant, biyolojik yapı eksik ise tamamlamak, hasarlı ise desteklemek veya mevcut olan yapıyı genişletmek, uzatmak için üretilmiş tıbbi üründür. Tıp dünyasında ilk implant materyali (altın ve gümüş) kullanımı İnkâ'lara uzanır (12). İdeal bir implantın taşınması gereken özellikler; yabancı doku reaksiyonunun minimal olması, elastisiteye sahip olması, kolay şekillendirilebilir olması, karsinojenik ve allerjenik olmaması, yüksek gerim gücüne sahip olması, korozyona dirençli, enfeksiyonlu ortamlara toleranslı, kimyasal olarak inert (başka maddelerle kimyasal reaksiyona girmeyen), düşük maliyetli, sterilize edilebilir olmasıdır (13). Alternatifi olduğu otojen dokular ile kıyaslandığında avantaj ve dezavantajları vardır. Ameliyat süresini kısaltmaları, donör alan gereksiniminin olmaması ve dolayısıyla donör alan morbiditesinin olmaması, daha az emilime uğramaları en üstün özellikleridir. Ancak radyoterapi öyküsü bulunan hastalarda, çevre dokunun kalitesi düşük ve dolaşımı yetersiz olduğu durumlarda otojen doku kullanılması daha uygundur. Çünkü bu durumlarda implant kullanılır ise ekspozite olma ihtimali vardır. İmplant materyalleri; metaller, polimerler, seramikler, yapıştırıcılar, deri alternatifleri ve biyoprostetik fileler olmak üzere genel kategorilere ayrılır (12).

Silikon değişen uzunlukta polidimetilsiloksan $[(CH_3)_2-SiO]$ monomer zincirlerinden oluşan yarı inorganik polimerik moleküllerin bir karışımıdır. Toksik, iritan, allerjen olmayan ve biyolojik parçalanmaya uğramayan, kimyasal olarak aktif olmayan inert bir maddedir (12,14). Silikonların fiziksel özellikleri, ortalama polimer zincir uzunluğuna ve polimer zincirleri arasındaki çapraz bağ sayısına bağlı olarak oldukça değişkendir. Sıvı silikonlar, nispeten kısa uzunluğa ve az çapraz bağlara sahip polimerlerdir. Silikon jeller polimer zincirlerinin uzunluğunu, çapraz bağ sayısını ve yan zincir sayısını kademeli olarak artırarak değişen viskozitede üretilebilir. Zincirlerin uzaması ile jelöz silikon oluşurken, silikon polimerlerinin yan bağlarının

artırılması ile zincirlerin birbirine bağlanması sonucu katı silikon oluşmaktadır. Silikon jel polimerinin çapraz bağları sonrası esnek, kauçuk benzeri kaliteye sahip bir elastomer olarak adlandırılan katı bir silikon formu oluşur. Silikon elastomerler, yüz implantlarının, doku genişleticilerin ve tüm meme protezlerinin dış yüzeyinin üretiminde kullanılır. Silikonun elastisiyet ve dayanıklılığını artırmak için "vulkanizasyon" işlemi gerçekleştirilir. Bu işlem silikat, demir oksit, benzoil peroksit gibi maddelerle polidimetilsiloksan zincir yapısı arasındaki boşlukların doldurulmasıdır. Kateterler, hidrosefali şant ve drenaj tüpleri, meme protezlerinin membranları, penil protez, eklem protezi gibi tıbbi ürünler yüksek yoğunluklu silikon elastomerlerinden yapılan materyallere örnektir (14).

2.1.2 Tarihçe :

İlk bilinen meme büyütme operasyonunu Vincenz Czerny 1895 yılında gerçekleştirmiştir. Czerny memede adenom rezeksiyonu sonrası oluşan boşluğu doldurmak amaçlı bir lomber lipomu eksize ettikten sonra memeye yerleştirmiştir. Ardından parafin, vazelin, zeytin yağı gibi maddelerin memeye enjeksiyonuyla meme ögmantasyonu gerçekleştirilmiştir ki, sağlığı etkileyecek kötü sonuçlara neden olmuştur. İlk meme protezi 1958 yılında geliştirilmiştir. Böylece meme rekonstrüksiyonu ve meme büyütme ameliyatlarında yeni bir çağ açılmıştır. Meme büyütme ameliyatlarında kullanılan ilk protezler İvalon süngerlerindendir (Polivinil Alkol) ve sonuçları çok da tatmin edici olmamıştır (15). 1961 yılında Uchida, meme büyütme amacı ile memeye sıvı silikon (polidimetilsiloksan) enjeksiyonu denemiştir (16). Bu teknik enfeksiyon, kronik enflamasyon, granülom ve nekroz gibi farklı komplikasyonlara ve ölüme neden olmuştur. Bu yüzden kullanılması yasaklanmıştır. 1963 yılında, Cronin ve Gerow silikon jel protezi geliştirerek hem meme büyütme hem de rekonstrüktif meme cerrahisinde başarı ile kullanmıştır (15). O tarihten bu yana implantlar birkaç modifikasyona uğramıştır. İdeal meme implantını belirleyen güvenlik ve etkinlik kriterleri vardır. Bu kriterler dikkate alınarak en uygun seçenekler tıpta kullanıma sunulmuştur. İmplantın güvenilirliğini belirleyen toksik, immunojenik, teratojenik, karsinojenik etkilerinin ve mamografi üzerinde potansiyel etkisinin olmamasıdır. Etkinliğini belirleyen ise kontraktür gelişmemesi veya daha az gelişmesi, implantta hacim kaybının oluşmaması, palpasyonla ele gelmemesi ve anatomik cep içerisinde katlanma olasılığının az olması gibi özellikleridir (17-19).

2.1.3 Silikon İmplant Çeşitleri

Silikon meme implantları içerdikleri malzemeye göre 3 grupta sınıflandırılabilir:

1. İçeri doldurulan
2. Şişirilebilen
3. Çift lümenli

Yüzey özelliklerine göre ise iki grup altında incelenebilir: düz (smooth) ve pürüklü, pürüzlü (texture)

2.1.3.1 İçeri Doldurulmuş İmplantlar

Birinci nesil silikon içeren meme protezleri Dow Corning firması tarafından Dr. Frank Gerow ve Dr. Thomas Cronin'in yardımı ile geliştirilmiştir (20). Bu implantlar orta derecede yapışkan silikon jel ile doldurulmuş kalın yumuşak silikon elastomerler içeren kılıf ile kaplıdır. Ancak kalın kılıfın ve içerdiği yapışkanlığı orta olan silikon içermesi nedeniyle yüksek kapsül kontraksiyon riski taşımıştır.

İkinci nesil silikon implantlar yetmişli yıllarda üretilmiştir. Bu implantlar kapsül kontraksiyonunu azaltmak amacı ile kılıfları daha ince ve daha az yapışkan silikon içeriği olacak şekilde üretilmiştir. Ancak implantların bu özellikleri silikon jel sızıntısına neden olarak “bleeding” fenomeninin ortaya çıkmasına neden olmuştur.

Seksenli yıllarda üçüncü nesil silikon implantlar üretilirken bu fenomenin azaltılması için daha güçlü ve daha iyi geçirgenliğe sahip kılıf materyalleri için çok katlı silikon elastomerleri kullanılmıştır. Sadece yuvarlak formları mevcuttur.

1986 yılında, Amerika Birleşik Devletlerin gıda ve ilaç dairesinin (Food and Drug Administration (FDA)) kriterlerini karşılayan dördüncü nesil silikon implantlar geliştirilmiştir. Daha çok yuvarlak formlarda üretimi gerçekleştirilmektedir. Bütün özellikleri arasında en önemlisi bu implantların pürüklü yüzeye sahip olmalarıdır ki, bu da kapsül kontraksiyon riskini önemli derecede azaltmaktadır (21). Ardından beşinci nesil “gummy bear” tip diye adlandırılan silikon implantlar geliştirildi ki, bunların dördüncü nesil silikon implantlardan tek farkı yüksek koheziv olmalarıdır. Daha çok anatomik formları mevcuttur. Pürüklü yüzeye sahip bu implantlar yapışkanlığı yüksek olan koheziv silikon jel içermektedir (22).

2.1.3.2 Şişirilebilir Meme İmplantları

Şişirilebilir meme implanların kullanımı ilk kez 1965 yılında Fransada Arion tarafından bildirilmiştir (23). Şişirmek için salin solüsyonu kullanılmıştır. İmplantın kılıfı sert polimerik silikon olup (karboksimetilsellüloz) valf sistemine sahiptir. Küçük insizyon kullanılarak, poşa kolayca yerleştirilmesi en büyük avantajıdır (14). Hem de asimetric memelerde şişirmek için kullanılan salin solüsyonunun verilen miktarının kontrolü cerrahın elinde olduğu için daha simetrik olgular elde etmek mümkündür. Ancak, yukarda bahsedilen valf sisteminde herhangi bir hasar olduğu durumda sıvı kaçağı olur ve protezin hacim kaybı ve sönmesi ortaya çıkar (16,24). Silikon jel yerine salin içermesi sayesinde kaçak durumunda silikon jel sızıntısına benzer şikayetler ve kapsül kontraktürü ortaya çıkmaz.

2.1.3.3 Çift lümenli implantlar

Lümenlerden biri jel diğeri ise salin ile doldurulmuştur. Bu lümenlerden salin içeriği ayarlanabilirken jel içerik miktarı sabittir. İki çeşidi vardır:

1. Salin dolu iç lümen, jel dolu dış lümen
2. Jel dolu iç lümen ve salin dolu dış lümen

Birinciye en yaygın örnek Becker doku genişletici protezlerdir (14,16). İkinci grupta ise intralümenal olarak antibiyotik ve steroid enjeksiyonu gibi müdahaleler yapılma olasılığı sağlamakla kapsül kontraktür oluşumunun azaltılması amaçlanmıştır (25). Hem de bu grubun örneklerinde salin dolu dış lümen silikon jel için ikinci bir bariyer oluşturmaktadır.

2.1.3.4 İmplantların yüzeyi

Yüzeyine göre pürüksüz, pürüklü ve poliüretan kaplı implant çeşitleri mevcuttur. Seksenli yıllardan itibaren pürüklü yüzeye sahip implantlar üretilmektedir. Literatürde pürüklü implantların pürüksüz implantlara göre daha az kapsül kontraktürüne neden olduğuna dair çalışmalar vardır (26,27).

Kapsül kontraktürü insidansını azaltmak için pürüklü yüzeyli implantlar geliştirilirken ilk olarak poliüretan kaplı implantlar üretilmiştir. Poliüretan köpük katmanlı implantları ilk defa 1969 yılında Ashley kullanmıştır (28). Poliüretan protezlerin güvenliği birçok araştırmaya, mesleki ve kamuoyu tartışmalarına (yapıtası olan-toluenin kanserojen etkiye sahip olması nedeniyle) konu olmuş olsa bile (29),

günümüzde poliüretan kaplı implantlar, plastik cerrahide kapsül kontraktürü tedavisi için çok popülerdir. Buna sebep poliüretan kaplı implantların rüptür, pitoz, kanama, enfeksiyon ve kontraktür gibi uzun vadeli komplikasyon riskinin daha düşük olmasıdır.

2.1.4 Silikon İmplantlara Bağlı Kapsül Kontraktürü

2.1.4.1 Genel Bilgiler

Meme implantı vücuda yerleştirildiğinde çevredeki yumuşak dokular belli oranda travmatize edilir. Vücut hem implantı yabancı cisim olarak algıladığından, hem de çevre dokulara vermiş olduğumuz zarar nedeniyle fizyolojik bir yanıt oluşturur. Sonuç olarak implantı çevreleyen zar oluşur ki, bu da yara iyileşmesi sonucu skar gelişmesiyle benzer mekanizmayla gelişir. Bahsedilen zar-kapsül formasyonu, vücudun genel olarak yabancı materyellere karşı oluşturulan fibrotik yabancı cisim reaksiyonudur. Bazı hastalarda inflamatuvar hücreler ve fibroblastlar tarafından proteze karşı abartılı bir yanıt gelişmekte, bu durum kapsül kontraktürü adını almaktadır. Bu ise yara iyileşmesindeki hipertrofik skar ve keloide ile benzerdir.

Kapsül kontraktürü meme büyütme ve meme rekonstrüksiyonu sonrası memede sertlik, ağrı, hassasiyet, doğal olmayan görüntünün ortaya çıkmasına neden olur. Meme büyütme vakalarının yeniden cerrahi prosedür ihtiyacının en sık sebebi kapsül kontraktürüdür. Primer meme büyütme ameliyatları uygulanan hastaların %7,2'de, primer meme rekonstrüksiyonu vakalarının ise %12,7'de kapsül kontraktürüne raslanıldığı bildirilmiştir (30).

2.1.4.2 Etyoloji

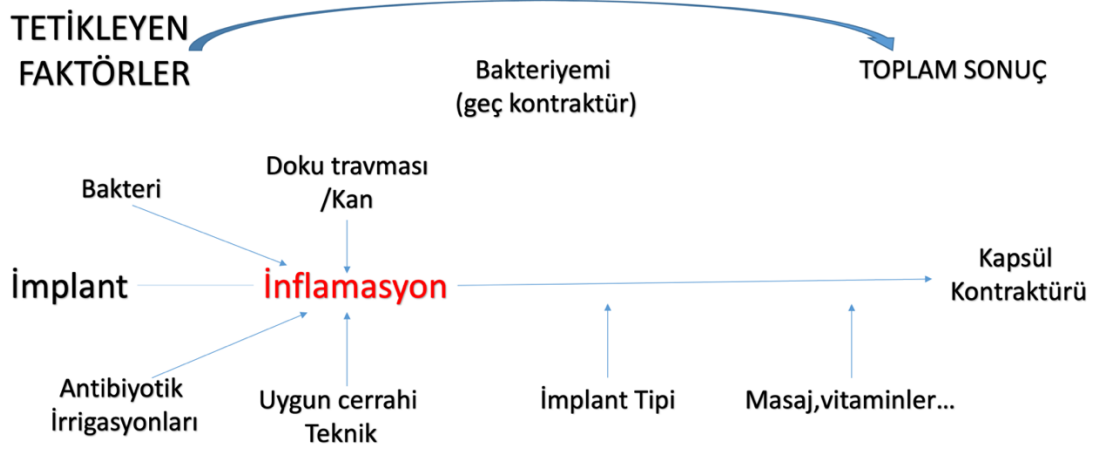
Kapsül kontraktürünün oluşumunun etyolojisi hala net olarak anlaşılamamıştır. Konu hakkında literatürde iki teori mevcuttur.

Enfeksiyöz neden olarak bir çeşit mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilm zemininde kapsül kontraktürünün geliştiği düşünülmektedir. Biyofilmler, enfeksiyonun neden olduğu kapsül kontraktür sürecinin en olası açıklamasıdır. Bu teoriye göre, bakterilerin geri dönüşümlü tutunması ilk önce implant yüzeyine gerçekleşir. Daha sonra bağlanma geri dönüşümsüz hale gelir ve bakteri üremesini ve farklılaşmasını uyarır. Sonuç olarak, bakteriler yayılır. İmplantı çevreleyen kapsül kalınlaşarak ve sertleşerek kapsül kontraktürünün oluşmasına neden olur (31-34). Kapsülden kültüre edilen organizmaları içeren çok sayıda mikrobiyolojik çalışmalar

da bu teoriyi desteklemektedir. Özellikle memenin süt kanallarında bulunan Staphylococcus epidermidisin bu duruma yol açtığı bildirilmiştir. Ancak, bu teori yapılan birçok çalışmada tamamen doğrulanamamıştır. Tamboto ve ark. domuz modeli kullanarak minyatür silikon jel implantların etrafına Staphylococcus epidermidis enjekte ederek yaptıkları çalışmada, inoküle edilen poşlara sahip modellerin 36'sından 28'inde kapsül kontraktür gelişmiştir (%78), fakat aynı zamanda inoküle edilmeyen 15 modelin 7'sinde de kapsül kontraktürü (%47) gelişmiştir (35). Jacombs ve ark. domuz modellerinde pürüklü yüzey implantlarda düz implantlara göre 20 kat (in vitro olarak 72 kat) daha fazla bakteri yapışmış ve daha fazla biyofilm büyümesi izlese de hem pürüklü hem de düz yüzey implantlarda kapsül kontraktür oranlarını benzer düzeyde olduğunu saptamıştır (36). Bu teoriyi destekleyenler, meme implant uygulaması sırasında özellikle dikkat edilecek adımları ve implant cebinin irrigasyonu için solüsyon kullanımını belirtmişler (37).

Non-enfeksiyöz hipertrofik skarın dayandırıldığı nedenler olarak; silikon implantın yüzey yapısı, implant çevresi oluşan hematoma, seroma, meme implantının içini dolduran maddeye ait özellikler ve implantın yerleştirildiği anatomik bölge sıralanabilir. Barr ve ark. pürüklü yüzeyli implantlarda fibroblastların daha derin bir seviyede daha rastgele dizilimine neden olarak daha az kapsül kontraktürüne neden olduğunu ortaya koymuştur (38). Jel dolu implantların salinle dolu implantlara kıyasla daha az kapsül kontraktürüne neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (39). İmplant içerisinde kullanılan jel yeteri kadar koheziv değil ise rüptür sonrası meme parankimine invazyon olasılığı daha yüksektir. Dolayısıyla jel sızıntısının miyofibroblastları aşırı uyarması sonucu vücudun yabancı cisim reaksiyonu da daha şiddetli olacaktır (40,41). İmplant yerleştirilecek olan cebin yanlış diseksiyonu, plan yönetiminin kaybedilmesi hematoma, seroma ve enfeksiyon riskini artırır. Kas altına yerleştirilen implantlara bağlı kapsül kontraktürü oranının daha düşük olduğunu gösteren çalışmalar vardır (16).

Özetle kapsül kontraksiyonunun etiyolojisinde birçok faktör vardır. Bunlar inflamasyonu uyarıcı ve baskılayıcı faktörler arasındaki dengeyi bozarak kapsül kontraktürünün ortaya çıkmasına neden olur (Şekil 2.1).



BASKILAYAN FAKTÖRLER

Şekil 2.1:Kapsül kontraktürünün etyolojisi. Hücresel düzeyde erken inflamatuvar yanıt, kontraktür etiyolojisini anlamamızın en temel noktasıdır (37).

2.1.4.3 Patofizyoloji

Kapsül kontraktürü oluşumunda implanta karşı oluşan lokal hücresel yanıtın neden olduğu öne sürülmüştür (42). İmplant çevresi oluşan kapsülün histiyolojik incelemesi sonucu 4 katmandan oluştuğu anlaşılmıştır (14,42-44):

Dış katman kalındır ve farklı türde hücrelere (matür fibroblast, makrofaj, histiosit ve lenfositlerden), zengin vasküler yapılara sahiptir. Gevçek kollajen lifleri düzensiz şekilde dizilmiştir. Çok sayıda miyofibroblast içeriği nedeniyle kontraktürden ve kapsülün kalınlığından esas sorumlu katmandır.

Geçiş katmanı gevşek kolajen lifleri ve birkaç kan damarı mevcuttur.

Merkezi katman protez yüzeyine paralel dizilimli kalın kollajen lif demetleri arasında preslenmiş, uzamış fibroblastlar ve miyofibroblastlar içerir.

İç katman ince zar gibidir. Sinovial karakterde histiositler ile hyalin dejenerasyon içeren fibrin tabakası mevcuttur.

Kapsül kontraktürü ise kapsül yanıtına neden olan hücrelerin aşırı reaksiyonu sonucu ortaya çıkan klinik durumdur. Kapsül yapısında bulunan hücrelerin her birinin kendine özgü görevi vardır. Esas kontraksiyon fenomeninden sorumlu hücreler miyofibroblastlardır. Kapsülün yukarıda belirtildiği gibi yapısında bulunan kollajen üretimini de miyofibroblastlar gerçekleştirmektedir. Makrofajlar ise kollajen

üretiminde önemli olan sitokinler, fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve transforming büyüme faktör-beta (TGF- β) salınımından sorumludurlar (45). Kapsül yapısında bulunan bir diğer hücre çeşidi plazma hücreler ise kapsül formasyonunda B hücre ilişkili hücreyel yanıtın da yer aldığını düşündürmektedir (46).

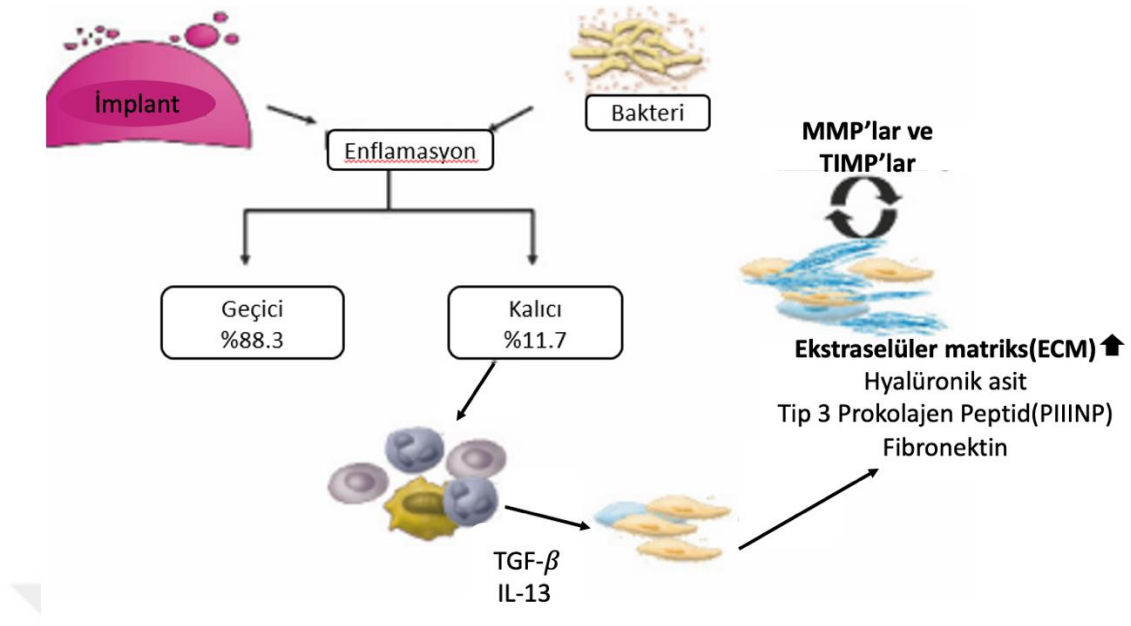
Protez etrafında kapsül oluşumu 4-6. haftalarda belirgin hale gelmektedir. 9 ve 12. aylarda ise kapsül stabil bir yapı kazanmaktadır. Ameliyat sonrası dönemde kapsül oluşumu 3 dönemde incelenebilir (14):

Erken dönem- Hücreyel reaksiyonun daha belirgin olduğu dönemdir. İlk 7 gün içerisinde granülasyon dokusu oluşur. Bu doku makrofaj, fibroblast ve lenfositlerden zengin bir dokudur. Öncül hücre olan fibroblast matüre olarak fibrosite dönüşür. 4. hafta sonunda hücre sayısı daha az olan, ama fazla kollajene sahip olan kapsül oluşur. 2. aya kadar kollajen yoğunluğu ile beraber hücre sayısı da artar. Daha sonra ise kollajen miktarı azalarak, yeni damarların oluşumu belirginleşir.

Standart dönem- 3-24 ay arası dönemdir. Kapsülde yağ hücresi infiltrasyonu başlar.

Geç dönem- Gecikmiş yara iyileşmesi etkenlerinin kronik hal alması sonucunda ortaya çıkar. Bu dönemde kollajen lifler kalınlaşır. Pudra, silikon damlacıkları gibi yabancı cisimler de bu dönemde fibröz kapsül yapısında görülür (14,44,47).

Özetle; kontraksiyonun gelişmesinde fibroblastlar anahtar hücrelerdir. Bu hücrelerin çoğalması, kollajen sentez etmeleri bir sıra sikluslar tarafından düzenlenir. İmplantın vücuda yerleştirilmesi öncesi nedenler gibi, yerleştirilmesi sonrası da birçok uyarın varlığı kapsül ve kapsül kontraktürü oluşumunu tetikleyebilir. Fibroblastların regülasyonu bu uyarınların (enflamasyon, stress, hormonal siklus vb.) etkisiyle bozulabilir (14). Sonuç olarak hem ameliyat öncesi hem de ameliyat sonrası faktörlerin etkisiyle vücudun hücreyel yanıtı şiddetlenerek kapsül kontraktürünün ortaya çıkması ile sonuçlanabilir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 : Kapsül kontraktürünün patogenetik mekanizması. Fibrozis, implantın silikon ve/veya bakteriyel kontaminasyonunun neden olduğu kronik inflamatuvar reaksiyonların nihai sonucudur. Ekstrasellüler matriks (ECM) birikimi artar. Fibroblastlar tarafından depolanmış net kollajen miktarı, kollajen sentezi ve kollajen katabolizması tarafından sürekli olarak düzenlenir. Kollajen ve diğer ECM proteinlerinin devri, çeşitli MMP'lar ve bunların inhibitörleri (doku metalloproteinazlar inhibitörleri) TIMP'leri tarafından kontrol edilir (48).

2.1.4.4 Klinik Sınıflandırma

Kapsül kontraktürünün derecesinin ölçümü için protez içi basıncın belirlenmesi en idealdir. Ancak, klinik kullanımının imkansızlığı nedeniyle dolaylı yöntemler daha üstün hale gelmiştir (4,14).

Dolaylı yöntemler objektif ve subjektif yöntemler olarak iki grupta incelenebilir:

Objektif yöntemler: Bazı aletler vasıtası (Kompresometri, Aplanometri, Tonometri) ile gerçekleştirilir. Memenin kompresyona direnci veya memenin ne kadar sferik şekle dönüştüğü ölçülerek kapsül kontraktürü hakkında bilgi edinilir.

Subjektif yöntemler: Baker sınıflandırması bu grupta yer alır. Fizik muayene ile inspeksiyon, palpasyon ve ağrı kriterleri ele alınarak geliştirilmiştir. Klinikte en çok kullanılan sınıflandırmadır (49):

I derece: İmplant ele gelmez, meme yumuşak ve doğal görünümündedir. Kapsül kontraktürü yoktur.

II derece: İmplantta hafif sertleşme var ve palpasyonda hissedilmekte ama karşıdan görünümde farkedilmemektedir.

III derece: Memede sertlik daha da artmıştır, karşıdan görünümde hafif deformasyon mevcut olup palpasyonda belirgin sertlik ele gelmekte, implant ele gelmektedir.

IV derece: Aşırı deforme meme görüntüsü vardır. Palpasyona aşırı hassasiyet ve şiddetli sertlik mevcut.

Evre 1-2 de invazif işleme gerek duyulmaz. Baker evre III. ve IV. kontraktürlerinde ise ameliyat gerekmektedir.

2.1.4.5 Histolojik Sınıflandırma

Wilflingseder ve ark. tarafından tanımlanan morfolojik duruma göre kapsül kontraktürünü 4 kategoride inceleyen sınıflandırma vardır. Lukas ve ark. ise çalışmalarında Baker'in sınıflandırması ile ve Wilflingseder'in histolojik skoru arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ispatlamıştır (50).

2.1.4.6 Tanı ve Görüntüleme

Kapsül kontraktürünün şiddetini değerlendirmede görüntüleme tekniklerinin önemi literatürde birçok çalışmada belirtilmiştir. Mamografi, meme dokusunun görüntülenmesi ve ekstrakapsüler silikon implant rüptürünün değerlendirilmesi için ideal yöntemdir. Ancak intrakapsüler implant rüptürünün değerlendirilmesinde yetersizdir (51,52). Mamografi, minimal ve orta dereceli kapsül kontraktürünün değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Şiddetli kapsül kontraktürü olgularının tanısında kullanımı sınırlıdır (53).

Ultrasonik görüntüleme, duyarlılığı yüksek olan bir radyolojik yöntemdir. Zor öğrenme eğrisinin olması, panoramik bir görüntünün olmaması gibi dezavantajları olsa da manyetik rezonans ile beraber implant uygulanmış olguların ameliyat sonrası süreç takibinde, implant rüptürü gibi olguları saptamakta sıklıkla kullanılan yöntemdir. Özellikle ekstrakapsüler rüptürlerde “kar fırtınası”, intrakapsüler rüptürlerde ise “anahtar deliği”, “bağ”, “dil” gibi bulgular tanı koymada çok yardımcıdır. (54-60).

Manyetik rezonans görüntülemesi hem implantın sağlamlığı hem de kapsül kontraktürünün şiddetini değerlendirmede altın standart yöntemdir (61). Amerika Birleşik Devletlerin gıda ve ilaç dairesi (Food and Drug Administration (FDA)) meme

büyütme ameliyatından 3 yıl sonra ve daha sonra her 2 yılda bir MR ile implant değerlendirmesini önermektedir (62).

Histopatolojik incelemeler deneysel ve klinik çalışmalarda en sık kullanılan değerlendirme yöntemidir. Kapsül kalınlığı, enflamasyon ve fibrozis şiddeti, yeni damar oluşumu (transforming büyüme faktörü beta (TGF- β), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)) ve miyofibroblast aktivitesi (düz kas aktin antikoru (anti- α -SMA)) gibi farklı parametreler incelenerek daha detaylı bilgi edinilmektedir (63).

2.1.4.7 Tedavi ve Önleme

Kapsül kontraktürünün medikal profilaksisi sistemik veya topikal ilaç kullanımını içermektedir (64). Özellikle etyolojik olarak mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilm zemininde kapsül gelişimi teorisi nedenli antibiyotik kullanımı daha çok denenmiştir. Onun dışında sistemik olarak oral kolşisin (65), pifenidon (66), E vitamini (67,68) sentetik triptofan metaboliti tranilast (69) gibi ajanlar denenmiştir. Topikal olarak implant yerleştirilecek poşa uygulanan povidon iyot (70), anti-adhezyon ajanları (2,71), antibiyotikler (72,73), lökotrien inhibitörleri (45,74-81), insan amniyotik sıvısı (4), steroidler (82-84), 5-fluorourasil (1), botulinum toksin A (85,86) gibi ajanlar çalışılmıştır. Ancak bahsedilen ilaçlardan çoğu yan etkileri veya yetersiz etkileri nedeniyle kullanıma uygun görülmemiştir.

Kontraktür geliştikten sonra tek etkili tedavi yöntemi kapsülün bütünlüğünün bozulmasıdır. Bu kapalı ve açık müdahale yöntemleriyle mümkündür.

Kapalı kapsülotomi (Squeezing): 1976 yılında Baker kapalı kapsülotomi tekniğini yayınlamıştır. Belirli basınç uygulayarak kapsülün yırtılmasını sağlamak ve sferik kontraksiyonunu önlemek mümkündür. Ancak implant rüptürü gibi komplikasyonlar nedeniyle kullanımı yasaklanmıştır. Bu yöntem ancak tecrübeli cerrahların kontrollü olarak orta şiddette kuvvet uygulayarak yapılması gereken tedavi sınıfına girmiştir.

Açık cerrahi tedavi ise yerleştirilmiş poşun anatomik lokalizasyonunun değiştirilmesi veya aynı poşa yönelik farklı yöntemler içermektedir (87). Poşun değiştirilmediği durumda;

Kapsülotomi: İmplant malpozisyonunun olduğu ama kapsül kontraktürü izlenmediği durumlarda, Baker evre 2'de faydalıdır. İmplant çıkarılarak, poş Adams solüsyonu ile irrije edilir. Kapsül iç duvarında mevcut tüm biyofilm tabakası temizlenir ve yıkanır.

Vertikal, anterior kapsülotomi insizyonları gerçekleştirilir. İmplant geri yerine yerleştirilir.

Parsiyel kapsülektomi: Total kapsülektominin uygulanması zor olduğu durumlarda kullanılır. Anterior kapsülektomi gerçekleştirilir. Kapsül kontraktürü riski yüksektir ve biyofilm tabakası tamamen aradan kaldırılamamaktadır.

Abrazyon ile kapsülorafi: ‘Double Bubble’ görüntüsü ortaya çıktığı durumlarda, implantın inferiora yer değiştirdiği olgularda kullanışlıdır. Bu durumda yeni meme altı kıvrımı oluşturulmalıdır. Kapsülün alt sınırı yeni meme altı kıvrıma suture edilmelidir. Endoskopik iğne tutucu ile bu gerçekleştirilir. Sütur koltuk altı kısımda sonlandırılır. Eski kapsülün yeni meme altı kıvrımının alt kısmına yapışması için spatula tipi endoskopik monopolar uç kullanılarak elektrikli abrazyon – ‘Popcorn kapsülorafi’ yapılmalıdır.

Poş değiştirilerek yapılan işlemler ise bu şekildedir:

Total kapsülektomi: Altın standart yöntemdir. Özellikle Baker evre 3 ve evre 4 kapsül kontraktürlerinde kullanılmaktadır. Poş değişimi subglandülerden submusküler pozisyona geçiş; dual plan’a geçiş, submuskülerden subglandüler pozisyona geçiş gerçekleştirilerek sağlanabilir. Veya submusküler yeni poş oluşturulabilir: Eğer protez ilk ameliyatta submusküler yerleştirilmiş ise, bu durumda suprakapsüler ve submusküler yeni poş oluşturulabilir ki, buna da submusküler ‘Neospace’ yöntemi adı verilmiştir.

2.2 KÖK HÜCRE

Tıp bilimi geliştikçe, hastalıklara hitap edecek teknolojik gelişmeleri kullanarak daha fazla tedavi seçeneğine sahip olmaktadır. Koruyucu ve rejeneratif tıp uygulamalarının yenilikçi bir tedavi yaklaşımı olarak kullanımı artmaktadır. Kök hücre tedavisi, koruyucu ve rejeneratif tıbbın kullandığı birçok hücresel terapi türünden sadece biridir. Kendilerini yenileyebilme, sürekli bölünebilme ve farklı hücre tiplerine dönüşebilme kabiliyetine sahip olan hücrelere kök hücreler adı verilir. Kök hücreler vücudun her yerinde bulunur. Tıpkı derin bir uykuda gibidirler, ancak tetiklendiğinde hasarlı dokuyu onarmak, değiştirmek için görevini yerine getirebilirler (89). Bu hücreler özel biyolojik sinyallerle karşılaşmadıkları sürece dokulara özgü işlevsellik kazanmamış ve farklılaşmamış hücreler olup, sinyallerin etkisiyle öncül hücrelerinden farklı özelleşmiş hücreye dönüşebilirler (plastisite). Kendilerini yenileyebilme

özelliklerini organizmanın yaşamı boyunca sürdürürler. Son on yılda, kök hücre tanımı, gerçek kök hücrenin izolasyonuna izin verebilecek özgül belirteçlerin olmaması nedeniyle yaygın ve uygunsuz bir şekilde kullanılmıştır. Birçok laboratuvar beyin, kan, deri, iskelet kası, kordon kanı ve kemik iliği gibi birçok dokudan kök hücreleri başarıyla izole etmiştir ve birçoğu da kök hücreler üzerindeki keşiflerini klinik uygulamaya dönüştürmeye çalışmıştır (90).

2.2.1 Tarihçe

İlk defa 1949 yılında Jacobson ve ark., 1951 de Lorenz ve ark. ölümcül dozda ışınlanmış hayvanları kurtarmak için intravenöz kemik iliği infüzyonu çalışmasını yapmışlar (91,92). In-vitro fertilizasyon (IVF) yöntemi ile ilk hayvan (tavşan) 1959 yılında üretildi (93). Kök hücrelerin sıçanlardaki radyasyona bağlı gelişen hematopoetik yetmezliği düzeltebileceğini Till ve McCulloch 1961 yılında ortaya koydular (94). İnsan ovumunun ilk in vitro fertilizasyonunu 1965 yılında Edwards ve Bavister gerçekleştirdi (95). İlk IVF bebek ise 1978 senesinde İngiltere’de doğdu (96). Embriyonik kök hücreleri ilk elde edenler ise Evans ve Kaufman oldu. Bu çalışmayı 1981 senesinde fare modelinde gerçekleştirdiler (97). 1996 yılında Rhesus maymunlarının embriyonik kök hücreleri elde edildi (98). İlk insan embriyonik kök hücresi ise 1998 yılında Thomson ve ark. tarafından elde edildi (99). 1988 yılında kordon kanı transplantasyonu, ilk kez Fanconi anemili bir hastaya uygulandı (100). İnsan embriyonik kök hücrelerinin pluripotent karakterde olduğu ise 2000 yılında yapılan çalışmalar ile anlaşıldı (101,102). 2000 yılına kadar yetişkin kök hücre makaleleri hematopoetik kök hücreler, mezenşimal kök hücreler, nöral kök hücreler ve kas satellit hücresi ile sınırlı görünüyordu. Literatüre 2001 ve 2002 yıllarında Zuk ve ark. yeni kök hücre türü, lipaspirasyonla elde edilen yağ dokunun stromal vasküler fraksiyonundan izole edilen YDKKH terimini ekledi (103,104).

2.2.2 Kök Hücre Türleri

Farklılaşma potansiyellerine göre kök hücreler 4 grupta sınıflandırılmıştır.

- Totipotent hücre (Totus-Tam, bölünmemiş; Potentia-Güç): Vücuttaki tüm hücre ve dokulara farklılaşabilen hücredir. Tek örneği zigottur.
- Pluripotent hücre: Bu kök hücre tipi blastokistin iç hücre kitlesinde bulunan ektoderm, mesoderm veya endoderme farklılaşabilen embriyonel hücrelerdir.

- Multipotent hücre: Tek germ tabakasının çeşitli hücrelerine farklılaşırlar. Bu hücrelerin farklılaşması daha sınırlı sayıda hücre dizesidir (105). En iyi örnek, hematopoetik kök hücrelerdir.
- Unipotent hücre: Tek germ tabakasının sadece bir hücre tipine farklılaşır (106).

2.2.3 Kök Hücre Kaynakları

Kök hücreler kaynaklarına göre 3 kategoride incelenmektedir: embriyonel kök hücreler, göbek kordonu kök hücreleri ve erişkin kök hücreler.

Embriyonel kök hücreler gerçek kök hücrelerdir, pluriopotent hücrelerdir. Ancak ortaya koydukları etik kaygılar (tüp bebek uygulamalarından artan ve kullanılmayan embriyolar ya da gebeliğin sonlandırılmasıyla ceninden elde edilmektedir) nedeniyle, son zamanlarda yetişkin dokulardan izole edilen kök hücreler üzerine yapılan araştırmalar onları geride bırakmıştır.

Kordon Kanı fazla sayıda progenitör kök hücreler bulundurur. İlk kez 1988 yılında başarılı kordon kanı transplantasyonu sonrası, kordon kanı toplama, kordon kanı bankacılığı ve transplantasyon sayısı hızla artmıştır.

Erişkin kök hücreler maturasyon, yaşlanma ve hasara bağlı kayba uğrayan hücreleri yenileyerek doku bütünlüğünün ve dengesinin korunmasından sorumlu multipotent hücrelerdir. En iyi bilinen erişkin kök hücreler hematopoetik kök hücreler ve mezenkimal kök hücrelerdir. Yetişkinde her organ ve dokuda aynı sayıda ve potansiyelde kök hücreler bulunmaz (107). Mezenkimal kök hücreler prelinik ve klinik çalışmalarda sıklıkla araştırılmaktadır. Friedenstein ve ark. mezenkimal kök hücreleri kemik iliğinden ilk izole eden kişilerdir. Bu hücreler fibroblastik morfolojiye sahip olup kemik, kas, tendon hücrelerine farklılaşabilen ve non mezenkimal olarak nöron ve astrositlere de farklılaşabilen hücrelerdir (108,109). Erişkin kök hücreler, kemik iliği, umbilikal kordon, dental pulpa, epitelyum, ensefalon ve son zamanlarda popüler olan adipoz doku gibi çeşitli dokulardan izole edilmektedir:

- **Fetal Karaciğer:** 2-7.ay arası gebelik sürecinde fetal karaciğer transplantasyon için kullanılabilir. Fetal karaciğerin hem lenfopoetik hem de hematopoetik sistemin yeniden yapılandırılmasında konjenital immün yetmezliği olan çocuklarda oldukça başarılı olduğu gösterilmiştir.
- **Kemik iliği:** Kemik iliği hematopoietik kök hücreler, mezenkimal kök hücreler, endotelyal progenitör hücreler ve diğer birçok hücreyi içerir. Bu hücreler CD36 ve

negatif CD106 gibi yüzey belirteçleri ile karakterize edilir ve onları çevreleyen diğer kemik iliği elemanlarından ayıran başka bir yüzey belirteci nöral gangliozit (GD2) içerir (89).

- **Periferik kan:** Hücreler kemik iliğine göre daha kolay izole edilir. Kemik iliğine göre daha az sayıda malign hücreler içerir. Bu yüzden lenfoma, solid tümörlerde ve remisyonadaki lösemik hastalarda periferik kan kullanımı daha avantajlıdır. Periferik kandan CD 34+ hematopoetik kök hücreler toplanabilir.
- **Yağ doku:** Yağ doku kaynaklı kök hücreler, erişkin kök hücrelerin karakteristik özelliklerine sahiptir. Bu hücreler fenotipik ve genotipik olarak mezenkimal kök hücrelere benzemesine rağmen iki hücre arasında bazı farklar vardır. (Bakınız 2.2.5)

2.2.4 Kök Hücre Kullanım Alanları

Kök hücre tedavisi bir sıra hastalıkların (Akdeniz anemisi, lösemi ve lenfoma, bazı kanser türleri) uygulanmaktadır. Özellikle kemik iliği nakli bunlar arasında en yaygın olanıdır. Kök hücrelerin hem temel yaşam bilimlerinde (differensiyasyon mekanizmalarının araştırılması ve s.) hem de klinik bilimlerde kullanımı yaygındır. Klinik bilimlerde özellikle doku mühendisliğinde (kemik, kırık, nöral, tendon), yara iyileşmesinde kök hücreler geniş kullanılmaktadır. Estetik cerrahide de cildin gençleştirilmesi, meme cerrahisi, yara iyileşmesi sonucu ve yanık sonrası oluşan skarların inceltilmesi gibi işlemlerde de geniş yer almış bulunmaktadır.

2.2.5 Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre (YDKKH)

Denek hayvanlarının (fare, tavşan) yağ dokusundan hücre izolasyonu metodunu ilk kez Rodbell ve ark. 1960 yılında tariflemiş ve modifiye ederek insan yağ doku örneklerinde uygulamıştır (106). 2000 yılına kadar kök hücreler sadece hemapoetik kök hücre ve kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücreler olarak bilinmekteydi. İlk kez 2001 yılında Zuk yağ dokusu kaynaklı kök hücreler elde etti. Elde edilen lipoaspiratın her iki farklı kısmından da kök hücre izole edilebilir (103). Zuk'un elde ettiği kök hücre yüzeydeki yağ fraksiyonu kaynaklı idi. Ardından 2006 yılında Yoshimura ise daha yoğun olan sıvı fraksiyonundan kök hücre izole etmiştir (110).

YDKKH'ler fenotipik ve genotipik olarak mezenkimal kök hücrelere benzeseler de bazı farklı özelliklere sahiptirler:

-Mezenkimal kök hücreler CD106+ iken, yağ doku kaynaklı kök hücreler CD49d+ özelliğine sahiptirler.

-Mezenkimal kök hücreler daha iyi kondrojenik differansiyasyona sahipken, YDKKH ise daha çok miyojenik differensasyon göstermektedir.

YDKKH'ler, yağ dokusunun stromal vasküler fraksiyonundan (SVF) izole edilir (111). SVF preadipositler, adipositler, makrofajlar, endotelyal progenitor hücreler (EPH'ler), YDKKH dahil olmak üzere heterojen hücrelerden ve ayrıca bFGF, IGF-1, VEGF ve PDGF-BB gibi birçok büyüme faktöründen oluşur. YDKKH'in kendisi angiogenez ve antiapoptotik olaylarda rol alan VEGF, HGF, IL-6, IL-7, TNF-alfa, M-CSF, TGF-beta1 gibi sitokin ve büyüme faktörlerini sekresyonu yapabilirler. Bu hücreler adipojenik, osteojenik, kondrojenik, nörojenik ve miyojenik yönde farklılaşabilme yeteneğine sahiptir (112). YDKKH'in invitro olgun adipositlere farklılaşması insulin, izobutylmetilksantin, deksametazon ve indometazin gibi ajanların etkisi altında sağlanmaktadır. Bu süreç iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşama kök hücrenin belirlenmesi ve bir preadiposite dönüşmesi iken; ikinci ve son aşama hücre içinde tek bir lipid damlacığının birikmesi ile karakterize olan olgun adipositin oluşmasıdır (113).

Yağ dokusu büyük miktarda kök hücre verimi sağladığından ve daha non invaziv yöntemlerle kök hücre izolasyonunu mümkün kıldığından, kemik iliğine kıyasla yara onarımı, rejenerasyonu için en çok tercih edilen kök hücre kaynağıdır (112,114)

2.2.5.1 Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre (YDKKH)'nin klinik kullanımı

YDKKH ilk olarak iyileşmeyen fistüllerin tedavisinde kullanılmıştır. Bunların %75'i tedaviden fayda görmüştür. 50 perianal fistülü bulunan hastada yapılan bir çalışmada ise trombositten fakir plazma ve YDKKH kombinasyonu ile %71 oranında tedavi sağlandığı görülmüştür. Bir başka çalışmada ise kız çocuğunun kalvarial kemik defektinin YDKKH ve kansellöz illiak kemik grefti kombinasyonu ile iyileştirildiği gösterilmiştir (115-117). YDKKH'ler rejeneratif klinik uygulama için ideal kök hücre olarak kabul edilmektedir.

YDKKH'lerin bir sıra dejeneratif hastalıkların tedavisinde, X'e bağlı muskuler distrofi tedavisinde (106,118), lipoatrofi tedavisinde kullanımına dair çalışmalar vardır (106,119,120). Radyasyonun yan etkilerini azaltarak neovaskülarizasyonu artırdığına dair de çalışma mevcuttur (121).

2.2.5.1.1 Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre (YDKKH) ve Meme Cerrahisi

Otolog yağ grefti hem meme estetiği hem de meme rekonstrüksiyonu için klinik ortamda başarıyla kullanılmaktadır. Yağ transferinin meme cerrahisinde kullanımının tarihçesi ise çok eskiye dayanmaktadır. Şöyle ki, ilk meme rekonstrüksiyonları yağ grefti uygulamaları ile gerçekleştirilmekteydi. Mastektomi sonrası memeyi yeniden yapılandırmak için ise yüksek hacimde yağ dokusu gerekmektedir. Bununla birlikte %25 ila %80 arasında değişen rezorpsiyon oranları, yağ nekrozu, yağ kisti oluşumu ve mikrokalsifikasyonlar gibi komplikasyonlarla sınırlı bir başarı elde edilmiştir (122). Rezorpsiyon oranını düşürmek için ilk kez 2006'da Matsumoto ve ark. aşlamadan önce otolog lipoaspiratların YDKKH'lerle zenginleştirilmesini içeren hücre destekli lipotransfer yöntemini ortaya koymuştur (123). Otolog yağ lipoaspiratlarının YDKKH'lerle zenginleştirilmesi, artan vaskülarizasyon ve kollajen sentezi sayesinde daha yüksek hacimde yağ greftinin tutması ile daha başarılı sonuçlara sahiptir (124). Bu yöntemin kullanılması sayesinde yukarıda bahsedilen komplikasyon oranlarının azaltıldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (125,126). Yağ sağkalımını daha da artırmak için, hücre destekli lipotransfer içeriğindeki YDKKH'lere VEGF, CXCR4, bFGF veya PRP ekleyen araştırmalar yapılmıştır (127-130). Hem doku nakilleri ile gerçekleştirilen meme rekonstrüksiyonu cerrahilerinde, hem de implant bazlı meme rekonstrüksiyonlarında bu yöntemler geniş oranda kullanılmaktadır. Böylelikle gerekli hacime ulaşarak, dokudaki düzensizlikler doldurularak, simetri sağlanarak daha estetik ve doğal görüntüler elde edilmektedir.

Meme estetiğinde ise kompozit meme büyütme cerrahilerinde (131) implant ile meme hacminin artırılması ve projeksiyonun artırılması yağ transferleri ile sağlanarak tam ögmantasyon elde edilirken, hibrid meme büyütme (132) cerrahilerinde asimetrik memelerde gerek duyulan hacim yağ transferi ile sağlayarak, kullanılan implant boyutunun küçültülmesi ve dolayısıyla taşıyacağı ağırlık açısından hasta için daha konforlu şartlar oluşturulmaktadır.

Yağ greftlerinin YDKKH ile zenginleştirilmesi sayesinde ise yukarıda bahsedilen sonuçların daha uzun süre kalıcılığı sağlanmaktadır.

2.2.5.1.2 Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücre (YDKKH)'in Kapsül Kontraktürü Üzerine Etkisi

Baker evre 3-4 kapsül kontraktürünün mezenkimal kök hücrelerle giderilmesi için deneysel ve klinik çalışmalar vardır ve bunların çoğu başarılı sonuçlanmıştır. Yağ doku kaynaklı kök hücrelerin çeşitli büyüme faktörleri salgılayarak, hangi sinyal yoluyla olduğu net olarak anlaşılamamasına rağmen travmatik dokuda fibroblastların genel davranış modelini değiştirerek engellediği gösterilmiştir. Yağ doku içine yerleştirilen implantların çevresinde ciltaltı dokulara yerleştirilen implantlara göre daha yoğun neovaskülarizasyon ve daha az kapsül oluşumu bildirilmiştir (133). Pichard ve ark. YDKKH'in implant çevresinde daha az fibrotik kapsül oluşumunu gösteren çalışma yayınlamıştır (134). Bu çalışmalarda kök hücrelerin bu etkileri açıklanmıştır:

1. Preadiposit ve matür adipositlerin oluşumu (135);
2. Anjiojenik büyüme faktörlerinin salgılanması (134,136);
3. Adipositlerin ekstraselüler matriks aracılığıyla vasküler endotelial hücrelere dönüşmesi;
4. Yağ doku kökenli kök hücreler travmatize veya radyasyonla travmatize olmuş dokularda hepatosit büyüme faktörleri salgılayarak (HGF), fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2)'nin indüklediği yaralanma sonrası fibrozisi inhibe etmesi (137,138).

2.3 İNSAN AMNİYOTİK SIVISI KÖKENLİ HÜCRE KÜLTÜR MEDYUMU

Amniyon sıvısı kısmen amniyon hücreleri tarafından oluşturulan fakat esas olarak anne kanından gelen berrak bir sıvıdır. Amniyon sıvısının miktarı 10. haftada ortalama 30 ml, 20. haftada 350 ml, 37. haftada 800-1000 ml şeklinde gebeliğin yaşıyla birlikte artar. Amniyon sıvısı fetustan köken alan ve elektrolitler, enzim ve hormonlar, embriyonal büyüme ve gelişme için gerekli çeşitli faktörleri (molekülleri) içerir. Yapılan çalışmalar amniyon sıvısının içerik özelliğinin birçok tür için 'fetal tissue engineering' için hücre kaynağı oluşturduğunu göstermektedir. Bu sıvının içeriğinde mezenkimal hücreler bulunur. FGF, EGF, IGF-I, IGF-II, NGF gibi büyüme faktörlerinin yanı sıra hyaluronik asit (HA), HA uyarıcı aktivatör (HASA), laminin ve fibronektin gibi ekstraselüler makromoleküller de mevcuttur. NGF, IGF-I ve IGF-II nörotropik ajanlardır. Laminin, fibronektin gibi ajanlar ise nörit-promoting faktörlerdir. Ayrıca HA iyileşmeyi skar ve fibrozis oluşumu yerine, büyüme ve

rejenerasyon lehine ilerleten bir ajandır. HASA ise endojen HA salınımını aktive eden bir moleküldür (8,139-141). Amniyotik sıvının intraluminal olarak uygulandığında fibröz kapsül oluşumunu ve kapsül kontraktürünü engelleyebildiği bilinmektedir (142).

Gebeliğin ikinci trimesterinde ve term dönemde elde edilen insan amniyotik sıvısı kökenli kök hücreler rejeneratif tıpta terapötik kullanımlarına "hazır" olarak izin veren multipotent hücrelerdir. Çeşitli yöntemlerle (amniyosentez, fetoskopik prosedürler ve s.) toplanan amniyon sıvısındaki kök hücrelerin klinik olarak kullanılabilirliğini göstermek için hücre popülasyonunun az olmasından dolayı in vitro şartlarda çoğaltılarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Bunun için ise kültür eldesi için optimal besin ortamı gereklidir. Kültürde yetişen hücre ve dokular için en önemli faktör medyumdur. In vitro'da yetiştirilen hücre kültürünün şartlarının in vivo'daki şartlara uyması gerekir. Bu şartlar sıcaklık, oksijen ve CO₂ konsantrasyonu, pH ve beslenmedir. Bunları sağlayan farklı medyum modifikasyonları mevcuttur. Her biri ortak proliferatif etkilerinin yanı sıra, içeriğine göre çeşitli ek özelliklere sahiptir.

Biz bu çalışmada ACCM olarak amniyotik sıvı hücrelerinin ve koryon villus hücrelerinin in vitro kültür eldesinde kullanılan bir besin ortamı olan AmnioMax™ C-100'ü (AmnioMAX™ C-100 ve AmnioMAX™ II Complete Media, Life Technologies, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, California 92008) kullandık.

AmnioMAX™ koloni tutunmasını, büyüme oranlarını, pH stabilitesini en üst düzeye çıkarmak ve proliferatif metafazik verim sağlamak için optimize edilmiştir. AmnioMAX™ C-100 Complete Medium, optimize edilmiş bir bazal medyum olan AmnioMAX™ C-100 Bazal Medium'dan ve ilave takviye ihtiyacını ortadan kaldırmak için uygun miktarda antibiyotik (gentamisin) ve büyüme faktörleri, takviyeleri içeren ek AmnioMAX™ C-100 Supplement'ten oluşur. AmnioMAX™ C-100 Complete Medium hücre morfolojisini iyileştirmek ve kontaminasyonu engelleyerek daha temiz kültürler sağlamak için antibiyotik (gentamisin), hem enerji kaynağı olarak hem de nükleik asitlerin sentezinde karbon kaynağı olarak görev yapan L-glutamin ve fetal sıgır serumu içeren, kullanıma hazır formatta ikinci nesil bir formülasyondur. Bu optimize edilmiş ortam, kültür manipülasyonları sırasında daha fazla pH stabilitesi sağlayan gelişmiş bir tamponlama sistemine de sahiptir.

İnsan amniyotik sıvısı kökenli hücre kültür medyumu ACCM'nin tüm in vitro hücre kültür çalışmalarında fetal hücre mitozunu ve büyüme performansını indüklediği gösterilmiştir (9-11). ACCM'nin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri, fibrozisi ve enflamatuvar alevlenmeyi engelleyici etkilerini içeren çalışma yapılmıştır (143). Ancak, meme protezi uygulanmış olgularda bir nevi yara iyileşmesi olan kapsül oluşumuna etkisini araştıran literatür çalışması bulunmamaktadır. Çalışmamızda ACCM'nin yara iyileşmesi üzerine etkilerinden yola çıkarak hem tekbaşına hem de YDKKH ile birlikte kapsül oluşumu üzerine etkisini araştırdık.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Bezmialem Vakıf Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu tarafından 01.02.2021 tarihli, 5 sayılı izin ile onaylanmıştır.

Çalışma, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje no: 20210206) desteği alınarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi Deneysel Hayvan Laboratuvarında 02.06.2021-30.07.2021 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada ağırlıkları 250-300 gr arasında 26 adet Sprague Dawley tipi dişi sıçan kullanılmıştır. 26 sıçan rastlantısal olarak, kontrol ve 3 çalışma (sadece ACCM, sadece YDKKH, Kombine: ACCM + YDKKH) ve YDKKH temin edilecek gruplar şeklinde (2 sıçan) kullanıldı. Hayvanlar çalışma sonrasında standart laboratuvar şartlarında 6'lı gruplar halinde kafeslerde, 22 ± 2 °C sıcaklıkta, uygun nem değerinde, hava akımı açısından uygun koşullarda 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık ortamın sağlandığı standart koşullarda ve uzman veteriner kontrolünde izlendi. Hayvanların yem ve su ihtiyaçları düzenli olarak karşılandı. Deneklerin kafeslerine grup numaraları yazılarak ve kuyruklarına işaret konularak karışmaları engellendi

3.1 Gruplar

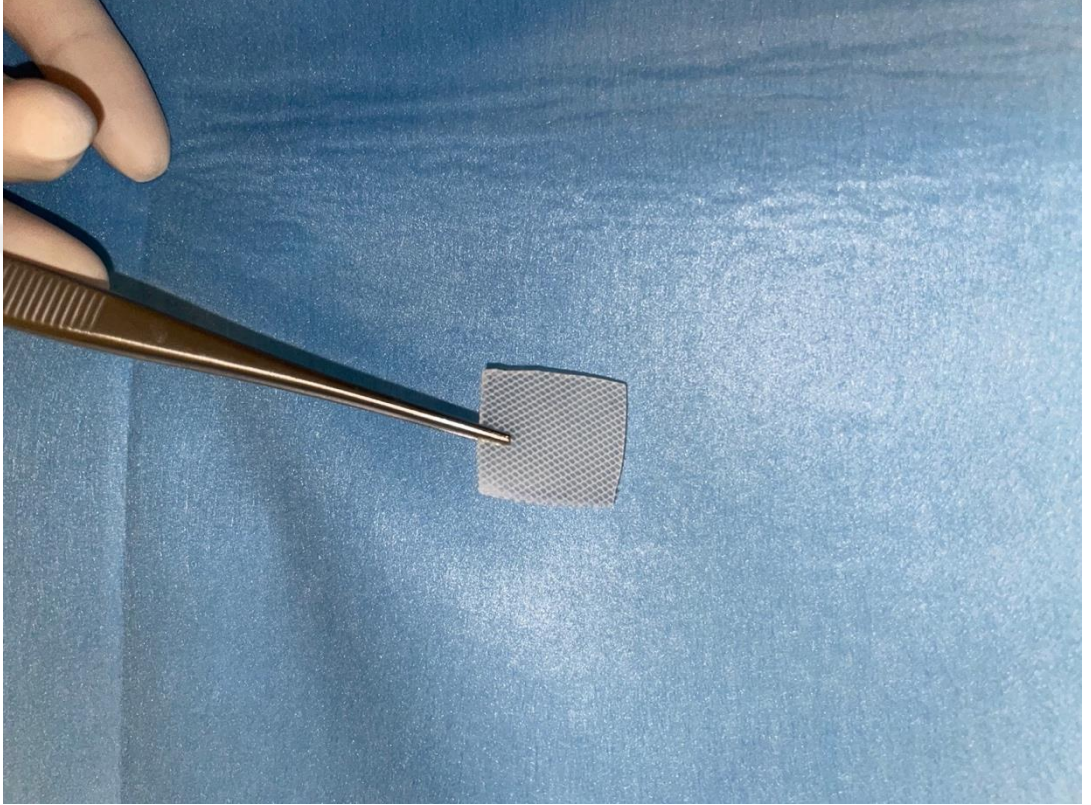
Çalışmaya 26 adet, ağırlıkları 250-300 gr arasında olan, dişi Sprague-Dawley tipi sıçanlar, random olarak grup oluşturularak, her grupta n=6 olacak şekilde gruplara bölündü (Tablo 3.1). Geriye kalan 2 sıçan ise YDKKH hazırlanması için kullanıldı. Kontrol grubuna serum fizyolojik, çalışma gruplarına ACCM, YDKKH, ACCM ve YDKKH birlikte uygulanması hedeflenerek uygulama sonrası, 2. ayın sonunda deneklerin tümü sakrifiye edilerek cerrahi alandaki periprostetik kapsüller eksize edilerek doku örnekleri alındı.

Tablo 3.1 : Hayvan çalışması gruplarının gösterilmesi

Grup no	Grup adı	Hayvan sayısı	Yapılan operasyon
1	Kontrol	6	Pannikulus karnozus altında, paravertebral kasların üzerinde hazırlanmış 1x1 cm boyutunda poşa 0,5 cc normal salin enjekte edilmesi
2	ACCM	6	Pannikulus karnozus altında, paravertebral kasların üzerinde hazırlanmış 1x1 cm boyutunda poşa 0,5 cc ACCM enjekte edilmesi
3	YDKKH	6	Pannikulus karnozus altında, paravertebral kasların üzerinde hazırlanmış 1x1 cm boyutunda poşa 0,5 cc YDKKH enjekte edilmesi
4	Kombine (ACCM+YDKKH)	6	Pannikulus karnozus altında, paravertebral kasların üzerinde hazırlanmış 1x1 cm boyutunda poşa 0.5 cc ADSC ve 0.5 cc ACCM enjekte edilmesi
YDKKH temini için denekler		2	
Toplam 4 grup ve YDKKH temini için ilave denekler		Toplam 26 hayvan	

3.2 Silikon İmplantların Hazırlanması

Silikon tabakalar salin doku genişleticilerin siltex yüzeyli tabanlarından 1x1x0.1 cm boyutlarında kare şeklinde kesilerek hazırlanmıştır (Resim 3.1). Operasyon esnasında steril olarak kullanıma hazır olmaları için her parça etilen oksit gazı ile sterilize edilip, serum fizyolojik ile yıkanarak cerrahi işlemde kullanılmıştır.



Resim 3.1 : Çalışmada kullanılan silikon implant örneği

3.3. YDKKH'in hazırlanması

Gruplar dışında kök hücre kaynağı olarak kullanılacak 2 sıçanın hem sağ hem sol inguinal bölgesine cerrahi alanın traşlanması ve iyotlu solusyonla temizlenmesini takiben yapılan isizyonlarla girilerek inguinal yağ dokusu eksize edildi (Resim 3.2 A, B, C). Eksize edilen yağ dokusu serum fizyolojik içeren steril tüpler içerisine yerleştirilerek (Resim 3.2 D) +4 C buzlu ortamda Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalına kök hücre üretilmesi için gönderildi. Kanama kontrolü sonrası cilt 4/0 PDS ile primer suture edilerek kapatıldı.



A



B



C



D

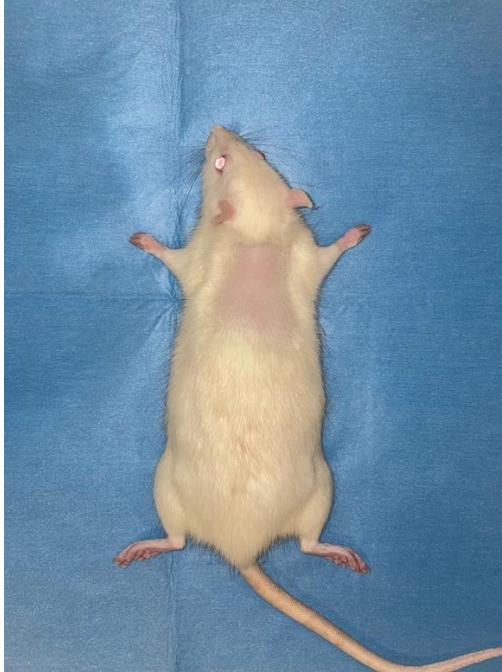
Resim 3.2 : YDKKH temini için yağ dokunun alınması ve transport ortamı

- A) Tıraşlanmış cerrahi alan
- B) İyotlu solüsyonla temizlenmiş cerrahi alan
- C) Operasyon sırasında sağ inguinal bölgeden yağ dokusu elde edilmiş, sol inguinal bölge için insizyon çizimi yapılmış
- D) Elde edilen yağ dokusu içerisi serum fizyolojik ile dolu steril tüplere yerleştirilmiş

3.4. Cerrahi Protokol

Tüm gruptaki sıçanların uygun anestezisi 50 mg/kg ketamine-HCl (ketalar- İM) ve 15mg/kg Ksilazin HCL (rompun –İM) karışımı ile sağlanan anestezi altında gerçekleştirildi. Anesteziyi takiben; her bir ratın sırt bölgesinde cerrahi alanın

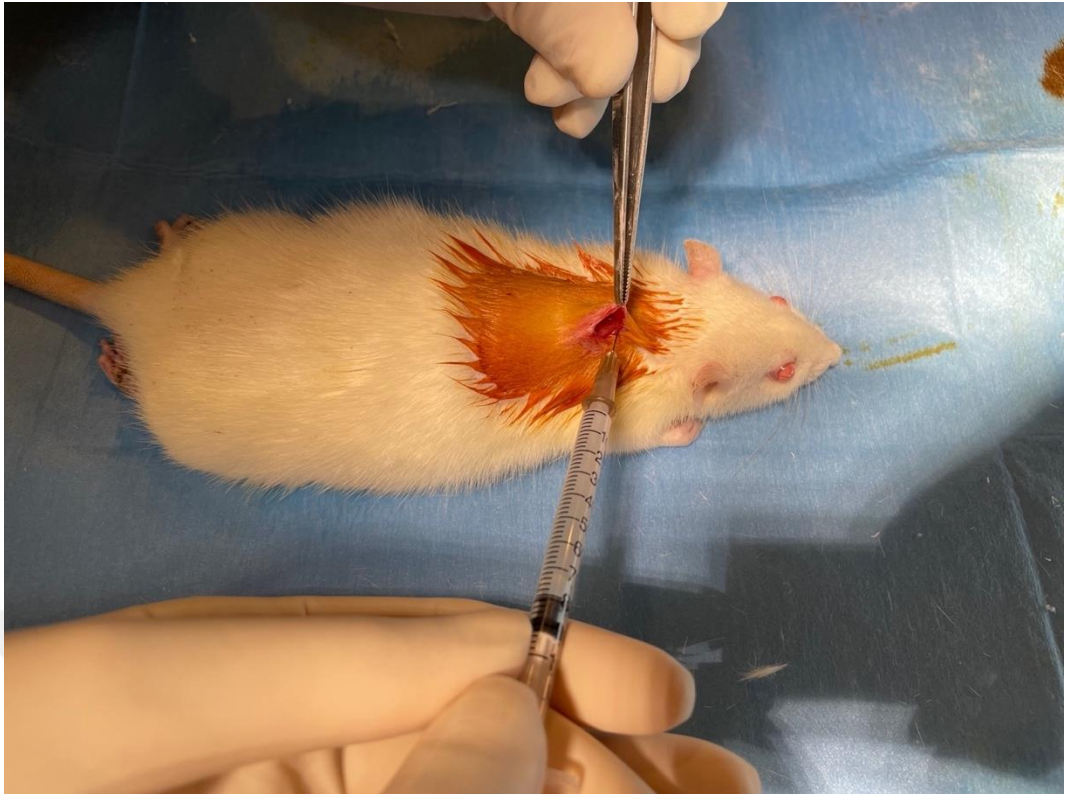
traşlanması ve %10 iyotlu solüsyonla temizlenmesi ardından operasyona başlandı. Sırt bölgesinde orta hatta 2 cm dikey bir kesi yapıldı. Bu kesi hattından girilerek proksimale doğru diseksiyon uygulandı. Pannikulus karnozus altında paravertebral kasların üzerinde 1x1 cm boyutunda poş hazırlandı (Resim 3.3 A, B). Hazırlanan cebe kontrol grubunda (Grup 1) serum fizyolojik, çalışma gruplarında uygun sırayla ACCM (Grup 2), YDKKH (Grup 3), ACCM ve YDKKH birlikte (Grup 4) enjeksiyonlar gerçekleştirildi (Resim 3.3 C). Ardından implant poşa yerleştirildi (Resim 3.3 D). Cilt insizyonları ise 4/0 PDS dikiş materyaliyle kapatıldı (Resim 3.3 E). Postoperatif dönemde deneklerin insizyon hattına povidon iyot sürüldü ardından serum fizyolojik ile silinerek pansumanları yapıldı (Resim 3.3 F).



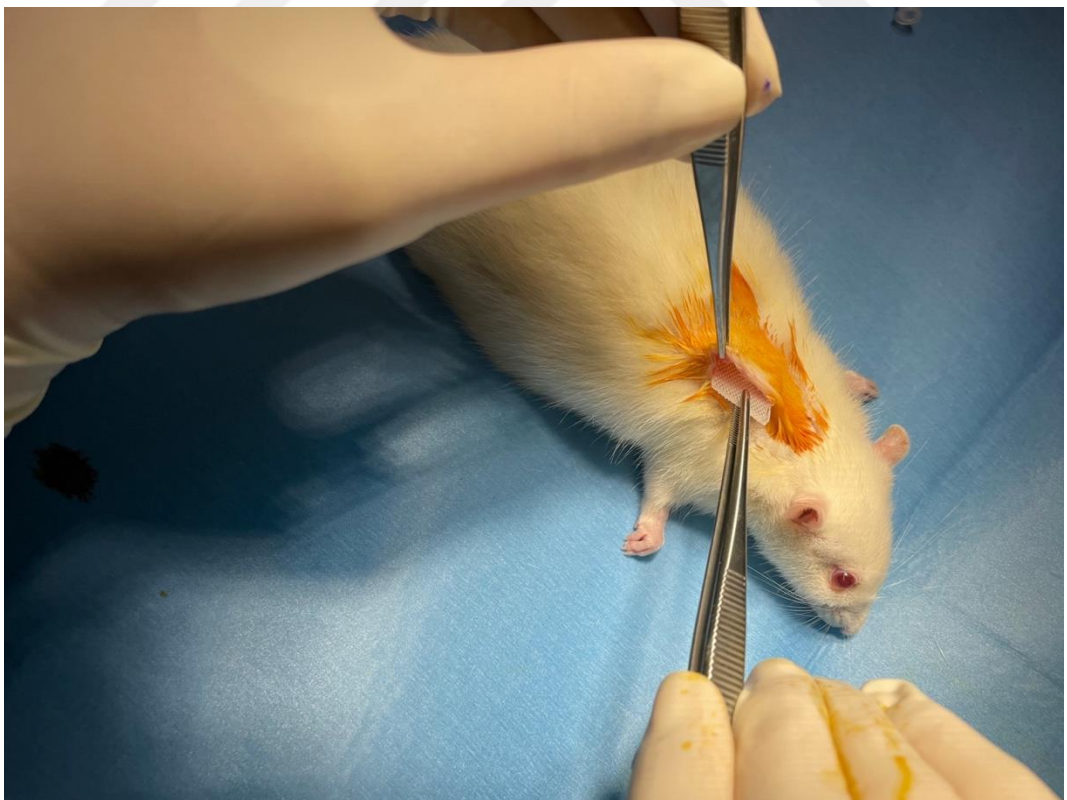
A



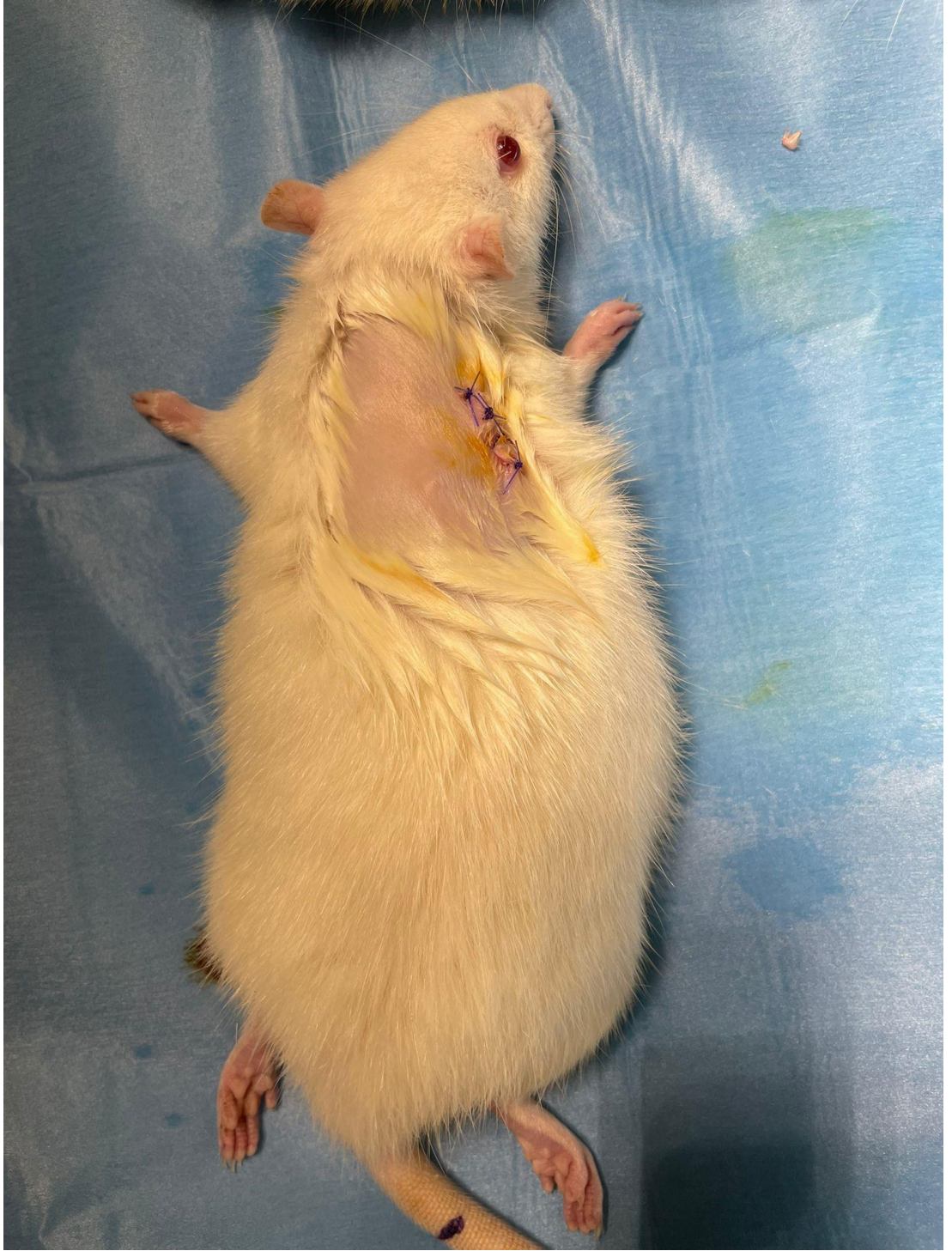
B



C



D



E

Resim 3.3 : Sıçanların torakadorsal bölgesinde poş hazırlanarak uygun infiltrasyon ve implant yerleştirilmesi

A) Tıraşlanmış cerrahi alan

B) İyotlu solüsyon ile yıkanmış cerrahi alan

C) Hazırlanmış poşa gruplara uygun sıra ile infiltrasyonların uygulanması

D) İmplantın poşa yerleştirilmesi

E) İşlem sonrası alanın sutureasyonu

F) Pansuman görüntüsü

3.5 Kullanılan cerrahi araç-gereç

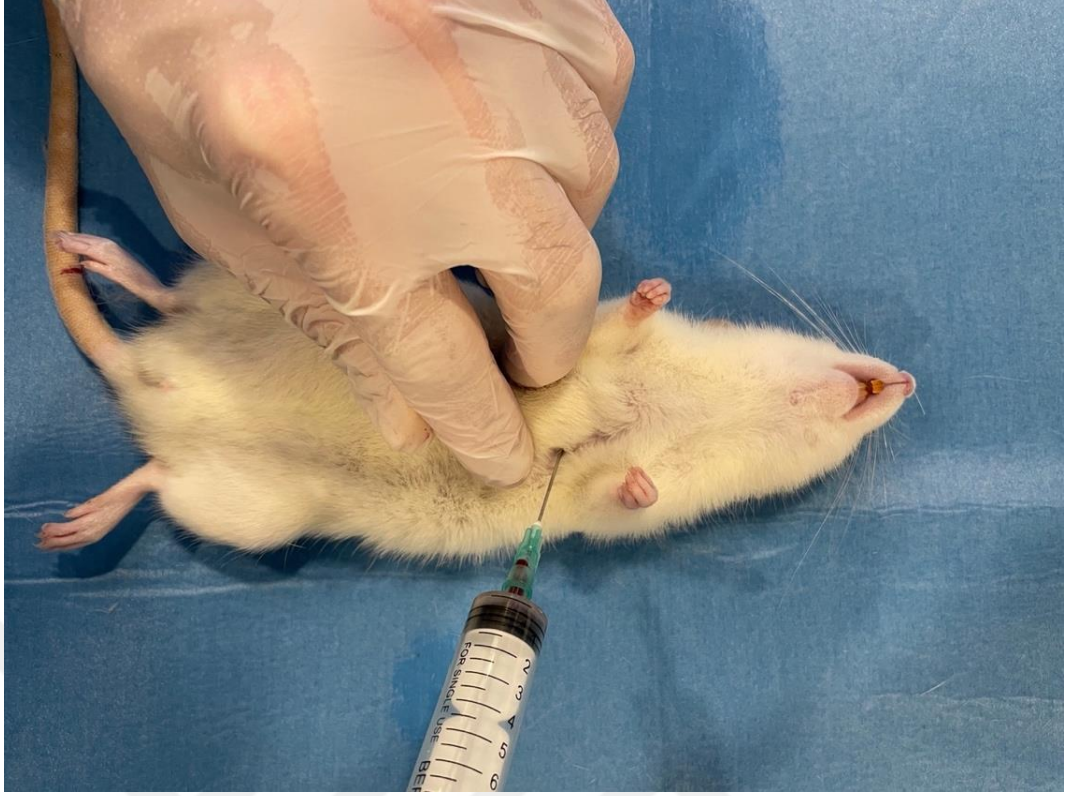
Operasyonlar sırasında böbrek küvet, portegü, disseksiyon makası, 15 numara bistüri, 3 numara bistüri sapı, tek dişli (Adson) penset, değişik boylarda pensler ve hook, insülin ejektörü (1 ml), tıraş makinesi, cetvel, çizim kalemi, steril eldiven, steril örtüm seti, steril gazlı bez, beyaz tıbbi flaster, cerrahi suture malzemesi olarak 4.0 PDS (keskin iğneli) kullanılmıştır. Cerrahi işlemden önce tüm cerrahi set elemanları sterilize edilmişlerdir. Fotoğraf çekimleri Iphone 12 pro ile gerçekleştirilmiştir.

3.6 Makroskopik değerlendirme

Cerrahi işlemler sonrası hayvanlar günlük olarak yara iyileşmesi problemleri, kilo kaybı, enfeksiyon bulguları açısından takip edildi. Postoperatif 2. ayda çıkarılan dokular kapsül görüntüsü, damarlanma ve çevre dokularla olan yapışıklık açısından makroskopik olarak incelendi.

3.7 Deneyin Sonlandırılması, Doku Örneklerinin Alınması

Deney hayvanları postoperatif 2.ayda aynı koşullar (genel anestezi, tıraşlama, solüsyon ile yıkanma) sağlanarak tekrar opere edildi. Sakrifiye etmek için intrakardiyak girişimle kalp doğrudan kanüle edilerek, sıçanların tüm kanı (ortalama 8-10 ml/sıçan) alındı (Resim 3.4).

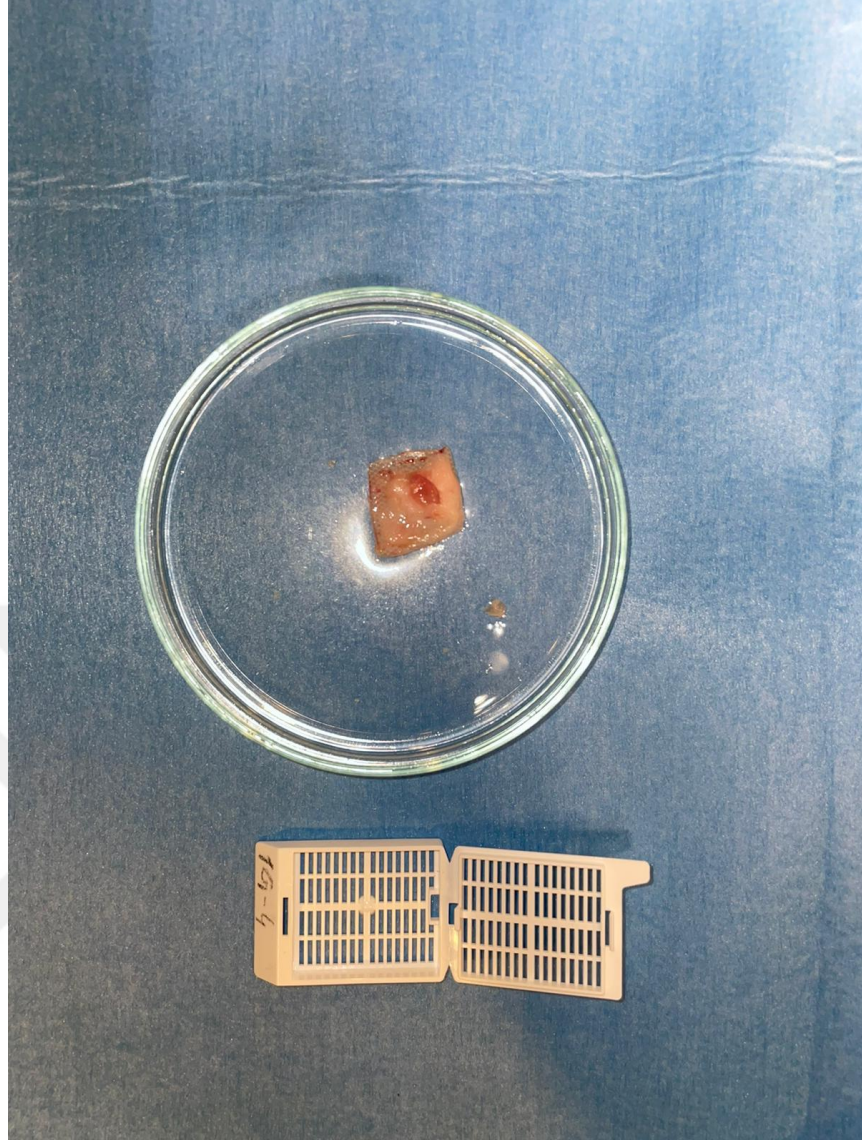


Resim 3.4 : Sıçanlardan intrakardiyak girişimle kan alımı

Kan örnekleri antikoagülsüz vakumlu tüplere alındı. Bu örnekler 3000 devirde +4°C’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları çıkarıldı. Elde edilen serumları ‘Serum Total Antioksidan Seviye’ ve ‘Total Oksidan Seviye’ ölçümü değerlendirilmesi amaçlı biyokimyaya gönderildi. Sıçan sırtlarına yerleştirilen implantların bulunmasında eski insizyon hattının skar izinden yararlanıldı. Ayrıca deneklerin torakodorsal bölgelerinde, palpasyonla yerleştirilen implantlar hissedilebildi. İmplant çevresindeki kapsüle zarar vermeyecek şekilde cilt altından diseksiyon gerçekleştirildi (Resim 3.5). Silikon materyal kapsülü ile tek bir blok olarak bütünüyle dikkatlice çıkarılmıştır (Resim 3.6).



Resim 3.5 : Silikon implant çevresi kapsül görüntüsü



Resim 3.6 : Silikon materyal kapsülü ile tek bir blok halinde

Makroskopik olarak yapılan değerlendirme ve fotoğraflama sonrası peri periprostetik kapsüller eksize edilerek çıkarıldı. Çıkarılan dokuların hepsi % 10'luk formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için uygun koşullarda ilgili bölümlere gönderildi.

3.8 Histolojik Analiz

Örneklerin Hazırlanması:

Sakrifiye edilen ratlardan alınan doku örnekleri Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal inceleme yapılmak üzere takibe alındı. Alınan doku örnekleri fosfat tamponu (PBS) içinde hazırlanmış %10 tamponlu nötral formaldehitte 1 gün

tespit edildi. Tespit edilen doku örnekleri rutin ışık mikroskop doku takip yöntemine göre dereceli alkollerden geçirilerek dehidrate edildi, ksilolde şeffaflandırdıktan sonra parafine gömüldü. Doku takibi sırasında optimizasyonun sağlanabilmesi için sabit vakumlu bir doku takip cihazı kullanıldı (Leica, model TP 1020). Parafin bloklardan rotary mikrotom ile 3- 4 µm kalınlığında kesitler krom alüm jelatin ile kaplı rodajlı lamlara alındı.

Masson Trikrom Boyama:

Rodajlı lamlara alınan 3- 4 µm kalınlığındaki paraffin kesitler 1 gece etüvde deparafinize edildikten sonra Masson-Goldner staining kit (Sigma- Aldrich, SLBH4504) ile aşağıdaki sırayla boyama işlemi yapıldı.

- 3 kere 15' er dakika ksilolde bekletildi.
- Sırasıyla %96, %96 ve %80' lik alkollerde 10 ar dakika bekletilerek rehidrate edildi.
- Akan suda 10 dakika yıkandı.
- Kullanılmadan önce süzülen Weigert'in Hematoksileninde 5 dakika bekletildi.
- Akan suda 10 dakika yıkandı.
- Distile suda 10 dakika yıkandı.
- Biebrich Scarlet- asit fuksinde 5 dakika bekletildi.
- Akan suda çalkalandı.
- Working phosphotungstic/phosphomolybdic asit solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
- Anilin blue solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
- %1'lik asetik asitte 2 dakika bekletildi.
- Sırasıyla %80, %96, %96' lık alkollerden geçirildi.
- Kurutulup, 45 dakika ksilolde bekletildikten sonra Kanada balsamı ile lamlar kapatıldı.

İmmünohistokimyasal Yöntem:

Miyofibroblastları göstermek için Anti-alpha smooth muscle Actin antibody (ABCAM- ab124964) ile immünohistokimyasal boyama yapıldı. Sekonder antikor olarak Rabbit specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit (ABCAM- ab64261) kiti kullanıldı.

Rodajlı lamlara alınan 3- 4 µm kalınlığındaki paraffin kesitler 1 saat etüvde deparafinize edildikten sonra;

- 2 kere 10' ar dakika ksilolden geçirildi
- 2 kere %90'lık alkolde bekletildi
- 10 dakika H₂O₂' de bekletildi
- Distile suda 10 dakika yıkandı
- %10' luk sitrat bufferda 20 dakika tutuldu
- Blocking serum damlatıldı ve 15 dakika oda ısısında bekletildi
- Blocking serum uzaklaştırıldıktan sonra primer antikor damlatıldı ve +4C⁰ de overnight beklendi
- Ertesi gün PBS ile yıkandıktan sonra sekonder antikor damlatıldı, 1 saat beklendi
- PBS ile yıkandı
- HRP damlatıldı ve 20 dakika beklendi
- DAB ile Mayer hematoksilen ile boyanarak kapatıldı.

Kapatılan örneklerde hücreler Nikon (Eclipse 920248, U.S.A.) ışık mikroskopunda değerlendirildi ve görüntüler Nikon Marka DS-Fi2-U3 Model kamera ile tam uyumlu görüntüleme yazılımı ile bilgisayar ortamına aktarıldı.

3.9 Biyokimyasal Analiz

Biyokimyasal Parametreler

Biyokimyasal incelemeler için intrakardiyak olarak alınan kan örnekleri jelli biyokimya tüpüne alınarak 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edilip serumları alikotlandı ve çalışma yapılmaya kadar -80°C'de saklandı. Alınan doku örnekleri çalışma yapılmaya kadar kuru halde steril ependorf laboratuvar koşullarında -80°C'de saklandı. Alınan doku örneklerinde ve serumlarda TGF-β1, TGF-β2, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, IL-2, IL-4, TAS, TOS düzeyleri ölçüldü. OSI düzeyleri matematiksel işlemle hesaplandı.

Biyokimyasal analizler başlamadan önce, sıçanlardan alınan doku örnekleri tartılıp, 1/5 oranında soğuk %1,15 M KCl solüsyonu ile seramik bilyeler ile 10 dakika homojenize edildi. Daha sonra +4°C'de 10000 x g'de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı. Süpernatantlarda protein tayini, Lowry yöntemine göre yapıldı.

Dokudan ölçülecek tüm parametrelerin çıkan sonuçları ilgili sıçanın doku protein miktarına bölünerek mg protein başına sonuçlar verildi.

Doku ve Serum TAS, TOS, TGF-β1, TGF-β2, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, IL-2, IL-4 Düzeylerinin Ölçümü

Hazırlanan serum ve doku homojenatlarındaki TGF-β1 (pg/mL, Mybiosource - MBS824788), TGF-β2 (pg/mL, Mybiosource -MBS702095), TIMP-1 (pg/mL, Mybiosource - MBS355282), TIMP-2 (ng/mL, Mybiosource - MBS2504314), MMP-2 (ng/mL, Mybiosource - MBS2515523), IL-2 (pg/mL, Mybiosource - MBS269718), IL-4 (pg/mL, Mybiosource - MBS824713), TAS (mmol askorbik asit ekivalent /L, Rel Assay 0017), TOS (µmol H₂O₂/L, Rel Assay 0024) düzeyleri ticari olarak satın alınan sıçana özgü ELISA kitleri ile mikropalak okuyucuda (Thermo Scientific™ Varioskan™ Flash Multimode Reader) fotometrik yöntemle ölçüldü. Oksidatif stres indeksi ise matematiksel hesapla bulundu.

3.10 Genetik Analiz

Kök Hücrelerin İzolasyonu

Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı laboratuvarında 2 denekten toplanan inguinal yağ dokuları 6 oyuklu plakalara (BIOFIL; TCP, Zürih, İsviçre) ekildi ve Dulbecco'nun modifiye Eagle medyumunun içerisine % 10 (h/h) fetal sığır serumu ve %1 penisilin, 10.000 µg/mL streptomisin ve 25 µg/mL amfoterisin B (Invitrogen, Gibco, Paisley, UK) takviye edilen ortamda hücrelerin büyümesi için inkübe edildi. Ekim yapılan hücreler 3 ila 4 gün sonra çoğalmaya başladı ve 8 gün sonra flask yüzeyini kapladı. Daha sonra hücreler, %0,25 (h/h) tripsin/EDTA (Invitrogen, Gibco) kullanılarak tripsinize edildi. Tripsin aktivitesini inhibe etmek için ayrılan hücrelere ortam eklendi. Hücreler, oda sıcaklığında 5 dakika boyunca 300 g'de santrifüjlendikten sonra, oluşan pellet hücre medyasında çözündürüldü ve bir T-75 flaskı (Zelkultur Flaschen AG, Zürih, İsviçre) üzerine ekildi. Hücreler, nemlendirilmiş bir inkübatörde 37°C'de ve %5 CO₂'de tutuldu. Tüm deneylerde 3~4 pasajlarından alınan hücreler kullanıldı.

Kök Hücrelerin Karakterizasyonu

Mezenkimal kök hücreler büyütüldükleri hücre kültürü tabaklarından tripsinize edildi ve fosfat tamponlu salin (PBS) içinde hazırlanan primer antikorlarla inkübe edildi. Karakterizasyon için CD14, CD29 (cat. no. BD556049), CD34 (cat. no. SC-51540),

CD45 (cat. no. SC-70686), CD90 (cat. no. SC-53456), CD105 (cat. no. SC-71043), CD14 (cat. no. SC-65278), CD44 (cat. no. SC-53551) (SantaCruz Biotechnology Inc, Santa Cruz, CA) ve CD73'e (Zymed, San Francisco, CA) proteinlerine bağlanan birincil antikorlar kullanıldı. Hücreler, fazla primer antikorları uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı. Hücreler daha sonra, kromofor-konjuge monoklonal antikor içeren bir fikoeritrin kırmızı ışık hasat proteini olan CD29 hariç, 4°C'de 1 saat boyunca floresan izotiyosiyanat-konjuge ikincil antikor ile inkübe edildi. Akış sitometrisi analizi, Becton Dickinson (San Jose, CA) FACS Calibur akış sitometri sistemi kullanılarak yapıldı.

Kök Hücrelerin Deney Gruplarına Göre Hazırlanıp Hayvanlara Verilmesi

Hemositometrede hücre sayısı belirlenerek, içinde her 1 ml'de 2 milyon hücre içeren hücre solüsyonu hazırlandı. Bütün bu süreç 3 hafta içerisinde tamamlanmış oldu. Operasyon günü grup 3 için toplam 3 cc kök hücre solüsyonu (her denek için 0.5 cc kullanılmak üzere) enjektörlere doldurularak kullanıma hazırlandı. Operasyon günü grup 4'teki 6 deney için ise, YDKKH ve ACCM kombinasyonunu hazırlamak için elde ettiğimiz kök hücre süspansiyonunun 3 ml'si (her denek için 0,5 cc kullanılmak üzere) 1000 rpm devir ve 5 dakika boyunca oda sıcaklığında santrifüje edildi. Sonra üstte kalan sıvı atılarak üzerine 3 ml ACCM (her denek için 0.5 cc kullanılmak üzere) eklenerek hücreler süspense edildi. Ve grup 4 için enjektörlere doldurularak kullanıma hazır hale getirildi.

3.11 İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro wilk testi ile incelendi ve normal dağılıma sahip özelliklerin Kontrol, ACCM, YDKKH ve ACCM+YDKKH gruplarında karşılaştırılmasında ANOVA post hoc karşılaştırma testlerinde LSD kullanılmıştır. Gruplarda immünreaktivite şiddetlerinin kıyaslanması Kesin Ki kare testi ile yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma, kategorik değişkenler için ise sayı ve % değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için Graphpad Prism8 yazılımı ve SPSS Windows version 24.0 paket programı kullanılmıştır. Her grup arasındaki fark, bir alfa değeri olarak kabul edilen p değeri 0,05'ten küçük olan sonuçlar ($p < 0.05$) için istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Her deneme üç kez tekrarlanmıştır.

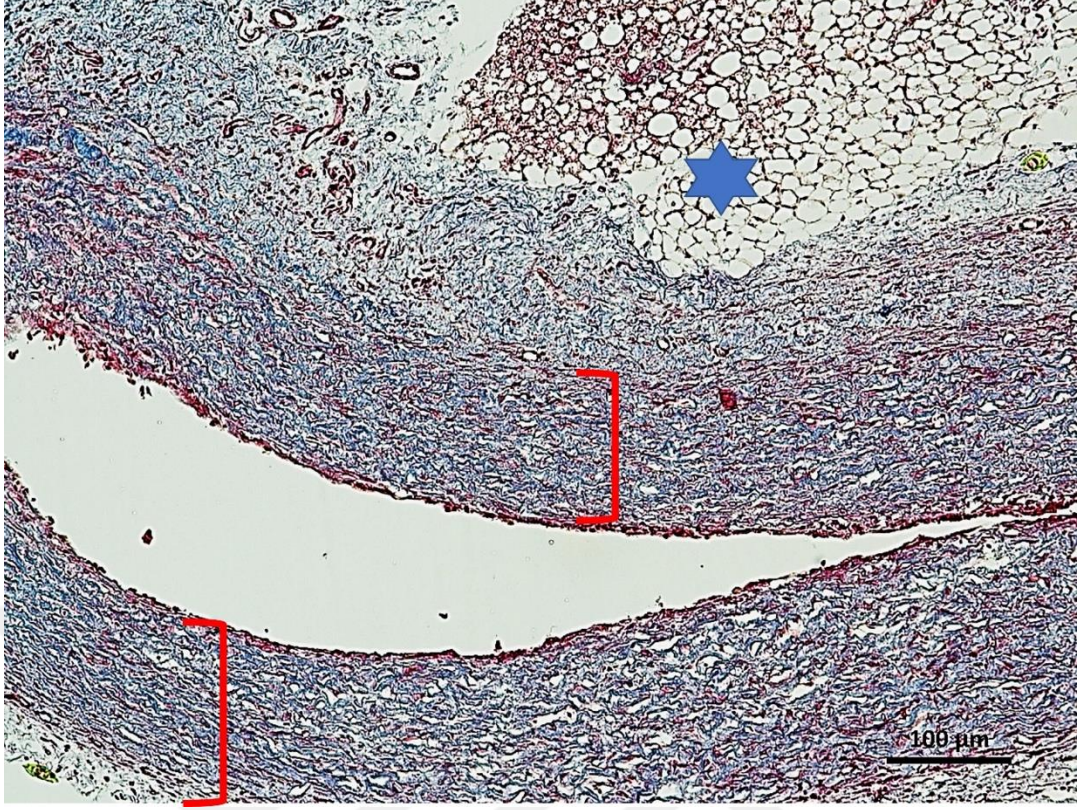
4. BULGULAR

4.1 Makroskopik Bulgular

Hiçbir hayvanda fonksiyonel kayıp gelişmedi ve enfeksiyon gözlenmedi. Tüm denekler 1. ayda makroskopik olarak değerlendirildi. Tüm gruplarda konulan implantların mobil olduğu ve pozisyon değiştirdiği gözlemlendi. İnsizyon hatları iyileşmiş durumdaydı ve dikiş izleri belirgin değildi. Postoperatif 2.ayda tüm denekler yeniden makroskopik olarak değerlendirildi. İmplantların bulunduğu pozisyonda fikse olduğu gözlemlendi. Çıkarılan implantlar üzerindeki vaskülarizasyon açısından makroskopik olarak değerlendirme yapıldı. İncelemede grup IV sıçanlardaki implantların üzerinde yoğun vasküler ağ içeren kapsül dokusu gözlemlendi.

4.2 Histolojik Analiz Bulguları

Tüm gruplarda bölgede çevre dokulardan daha sıkı görünümlü bir bağ dokusu kapsül oluştu (Şekil 4. 1’de kırmızı ile sınırlanan alan). Kollajen liflerden zengin olan bu doku Masson trikrom boyama yöntemi ile daha belirgin olarak ayırt edildi. Bu yöntemle kollajen lifler mavi renkte boyandı. Çevre bağ dokusu nispeten açık renkte boyandı. Damarlar da kırmızı renkte boyanarak belirgin şekilde görüldü. Bağ dokusunun çevresinde, yer yer bağ dokusu içinde yağ dokusu görüldü (Şekil 4.1’ de mavi yıldız ile işaretlenen alan).



Şekil 4.1 : Kontrol grubu; kırmızı ile sınırlanan alan kollajen liflerden zengin bağ dokusundan oluşan kapsül, mavi yıldız: yağ dokusu (Masson Trikrom X100)

Kapsülün (Şekil 4.2’de kırmızı ile sınırlanan alan) sıkı bağ dokusunun kollajen liflerinin mavi renkte boyandığı görüldü. Bu alan çevredeki bağ dokusundan çok daha sıkı bir bağ dokusu görünümündeydi (Şekil 4.2).



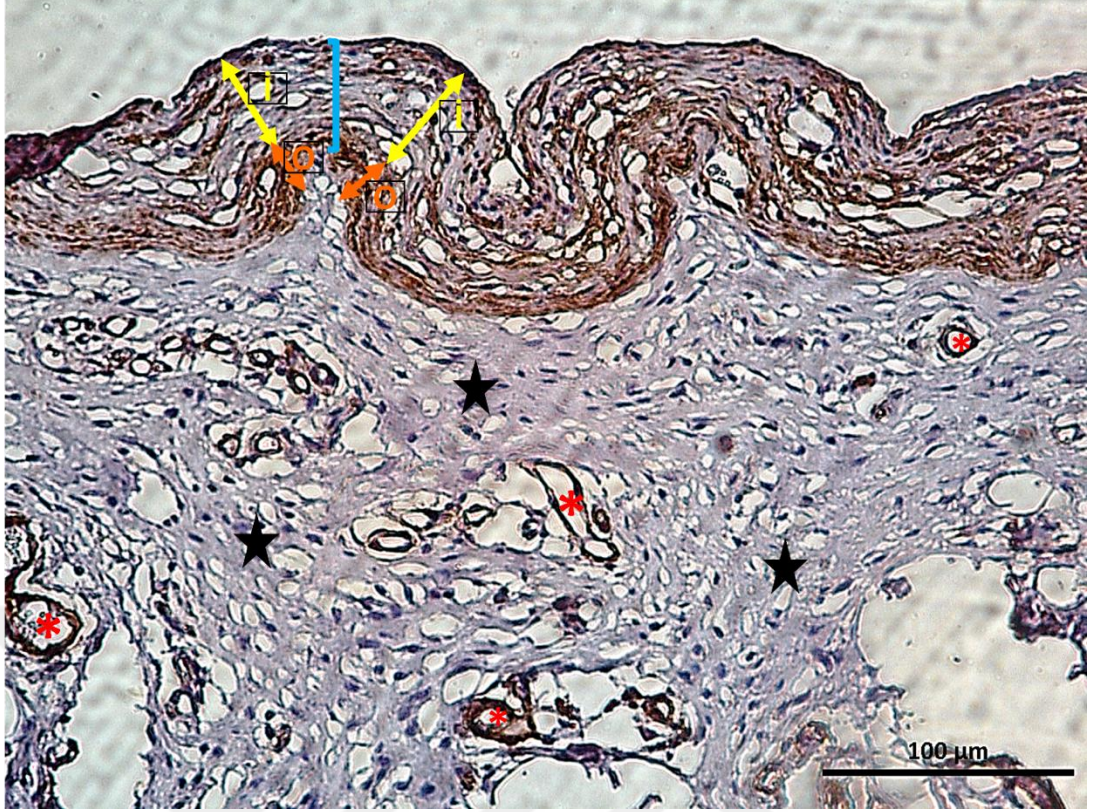
Şekil 4.2 : Kontrol grubu; kırmızı ile sınırlanan alan kollajen liflerden zengin bağ dokusundan oluşan kapsül (Masson Trikrom X100)

İmmunohistokimyasal teknikle düz kas hücrelerinin ve miyofibroblastların belirleyicisi olan alfa düz kas aktini (α SMA) işaretlendi. Bu yöntemle damar duvarının kuvvetli pozitif reaksiyon (DAB ile kahverengi boyandı) gösterdiği, damar çevresindeki bağ doku ve yağ doku alanlarının reaksiyon vermediği (DAB ile kahverengi boyanmayarak) izlendi. Böylece yöntemin başarılı olduğu anlaşıldı. Damar duvarındaki pozitiflik pozitif kontrol olarak değerlendirildi (Şekil 4.3).



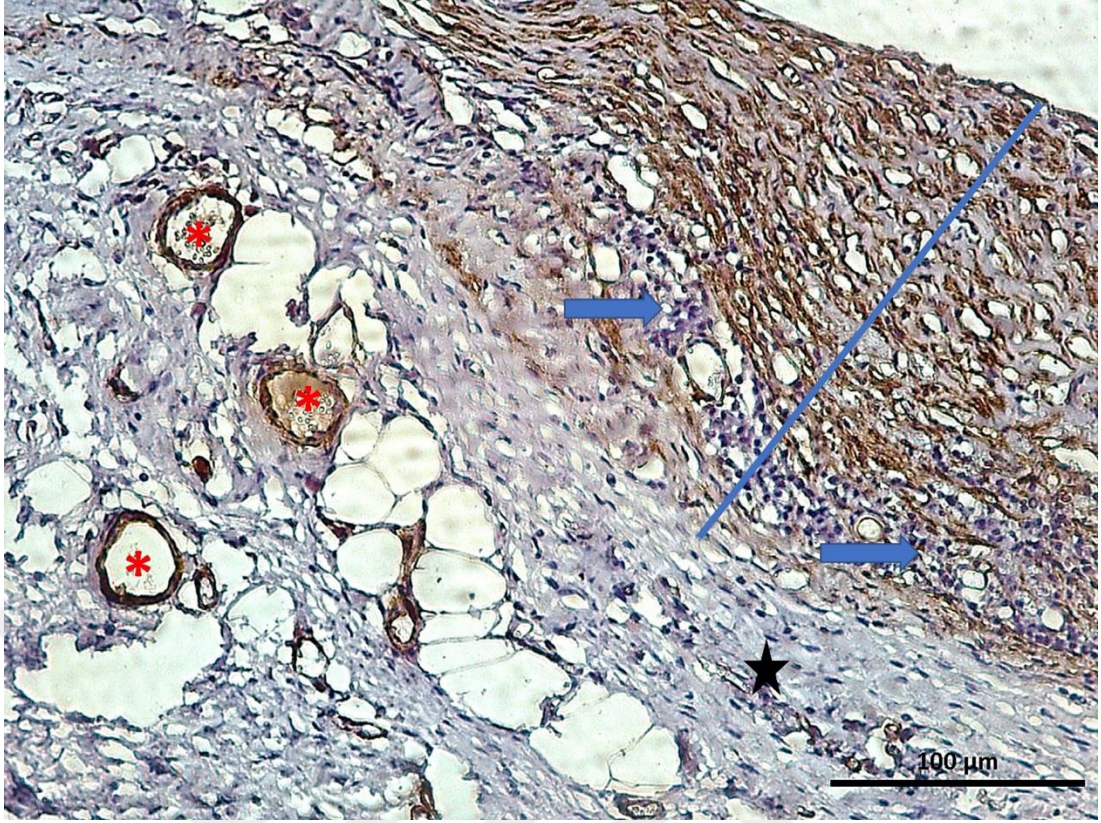
Şekil 4.3 : Kontrol grubu; kırmızı asteriks: duvarında pozitif immünohistokimyasal reaksiyonun olduğu damarlar; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku; mavi yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen beyaz yağ dokusu (α -SMA, ABC yöntemi X200)

Kontrol grubuna ait kesitler incelendiğinde; kapsül dokusu içinde miyofibroblastların yoğunlaşmasını işaret eden alfa-düz kas aktini (α SMA) pozitif boyanması belirgin olarak görüldü. Hatta bu pozitiflik kapsülün çevre bağ dokularından da keskin bir sınırla ayrılmasını sağladı (Şekil 4.4'te mavi ile işaretlenen alan).



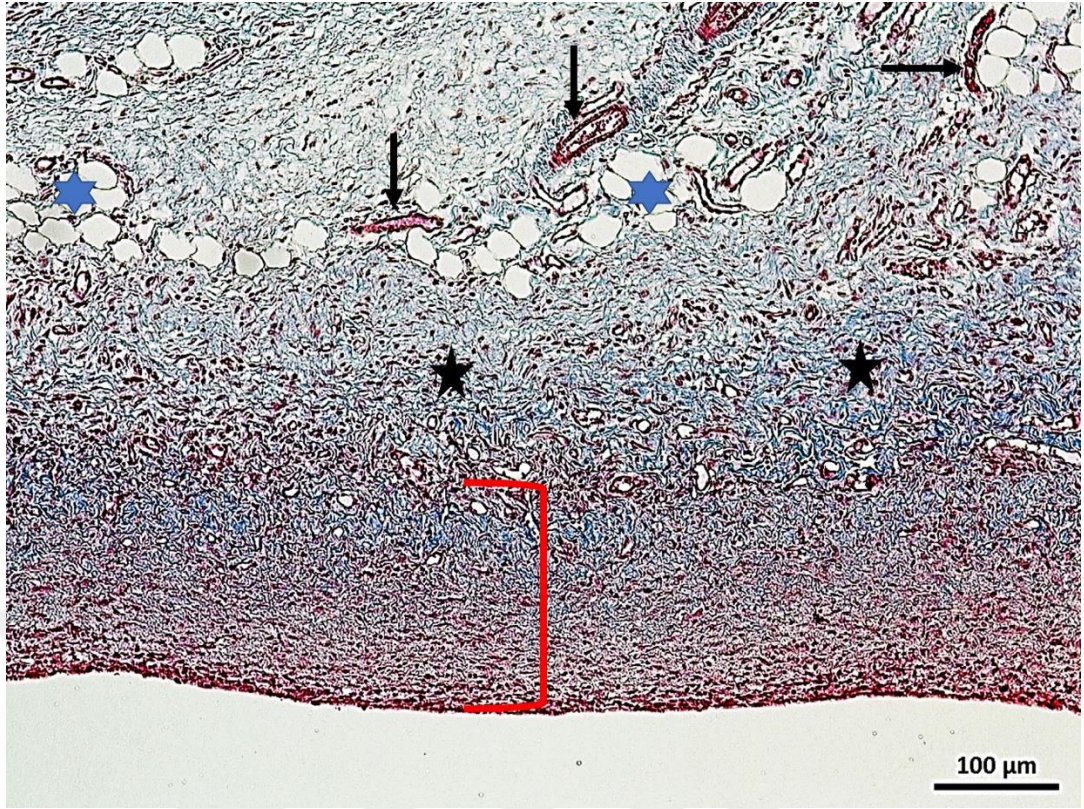
Şekil 4.4 : Kontrol grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerinin olduğu kapsül; iki başlı sarı ok ile gösterilen alan kapsülün iç tabakası (i); iki başlı turuncu ok ile gösterilen kapsülün dış tabakası (o); kırmızı asteriks: duvarında pozitif immünohistokimyasal reaksiyonun olduğu damarlar; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku; (α -SMA, ABC yöntemi X200)

İmmünohistokimyasal reaksiyon yer yer oldukça geniş alanlarda görüldü (Şekil 4. 5'te mavi çizgi ile işaretli alan). Bu durum kapsülün bazı bölgelerde daha kalın olduğunu düşündürdü. Nadiren bazı alanlarda hücre infiltrasyonu da saptandı (Şekil 4.5'te mavi okla işaretlenen alan).



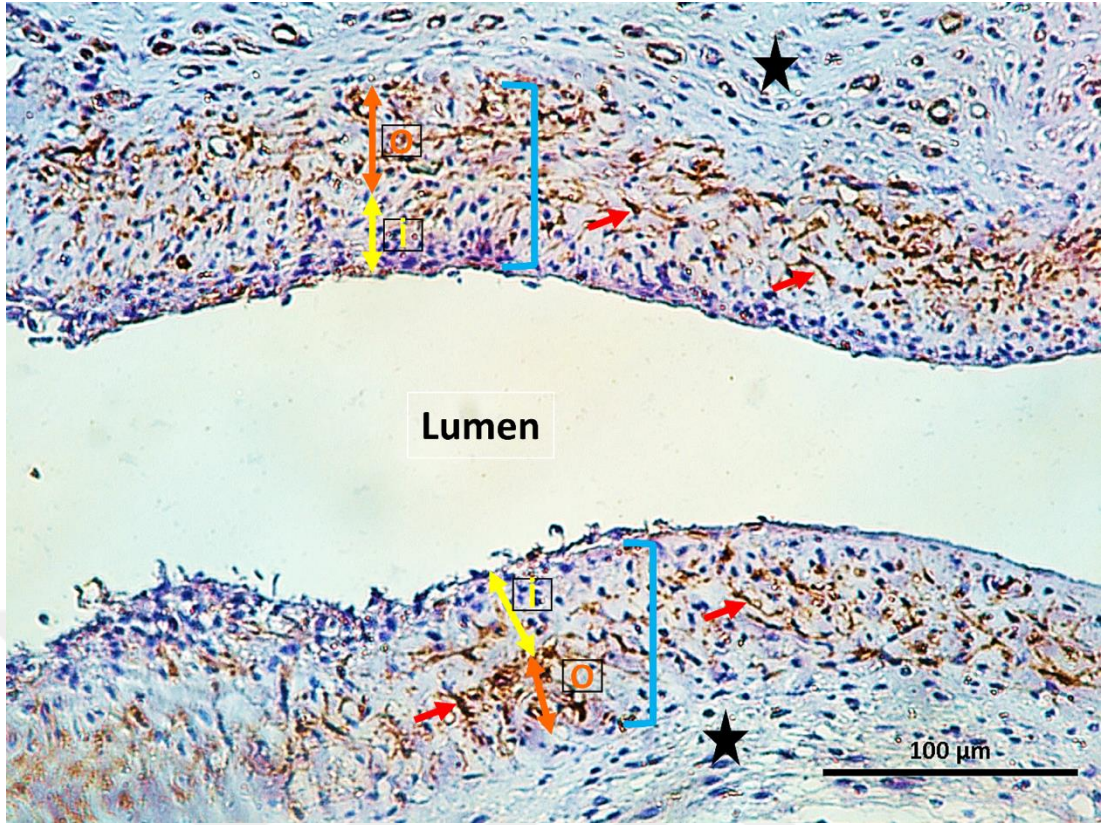
Şekil 4.5 : Kontrol grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kalınlaşmış kapsül; kırmızı asteriks: duvarında pozitif immünohistokimyasal reaksiyonun olduğu damarlar; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200)

Grup 2-ACCM grubunda da bölgede çevre dokulardan daha sıkı görümlü bir bağ doku yapısında kapsül oluştuğu (işaretli bölge) izlendi. Kollajen liflerden zengin olan bu doku Masson trikrom boyama yöntemi ile daha belirgin olarak ayırt edildi. Bu yöntemle kollajen lifler mavi renkte boyandı. 2. grubun kapsülü 1. grupta görülen kapsüle oranla biraz daha gevşekçe organize olmuştu. Çevre bağ dokusu nispeten açık renkte boyandı. Kırmızı renkte boyanan damarlar da görüldü (Şekil 4. 6'da siyah oklar ile işaretlenen yapılar). Bağ dokusunun çevresinde, yer yer bağ dokusu içinde yağ dokusu görüldü (Şekil 4.6).



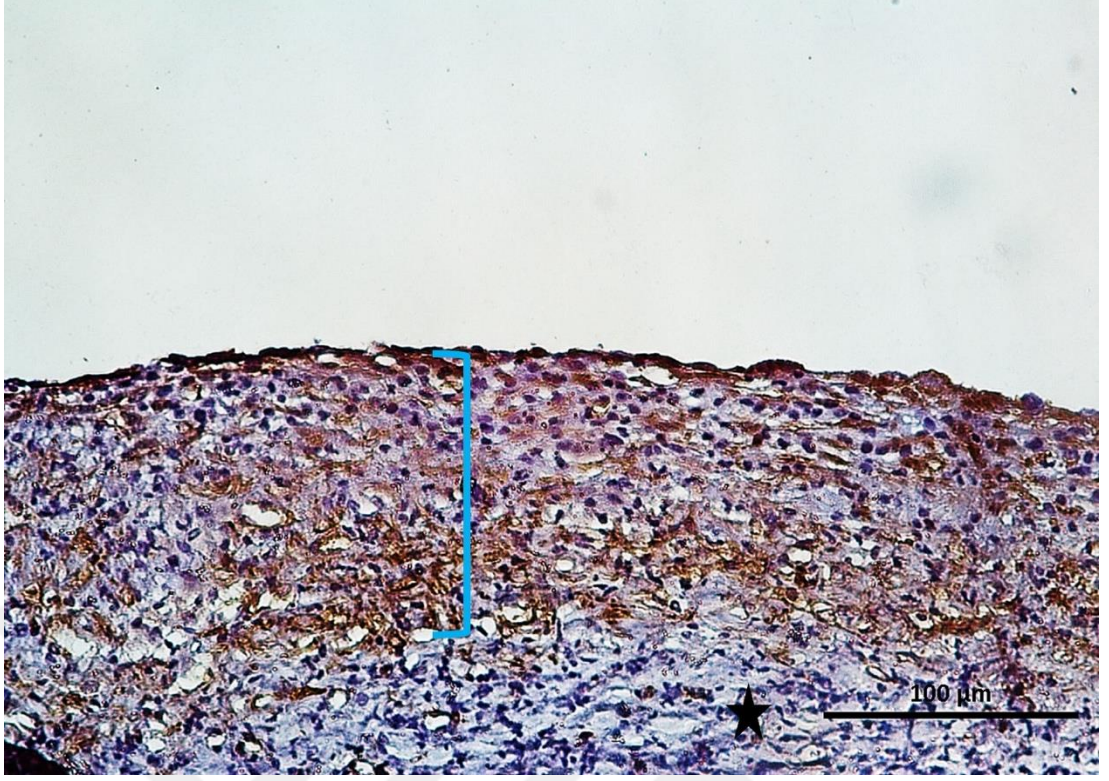
Şekil 4.6 : ACCM grubu; kırmızı çizgi: sıkı bağ doku yapısındaki kapsül; siyah oklar: damarlar; siyah yıldız: kollajen liflerden oluşan bağ dokusu, mavi yıldız: yağ dokusu (Masson Trikrom X 100)

ACCM grubuna ait kapsül dokusu içinde miyofibroblastların yoğunlaşmasını işaret eden alfa-düz kas aktini (α -SMA) pozitif boyanması belirgin olarak görüldü. Hatta bu pozitiflik kapsülün çevre bağ dokularından da keskin bir sınırla ayrılmasını sağladı. Bu grupta alfa-düz kas aktini (α -SMA) pozitif boyanması az yoğunlukta idi, bu da ACCM grubunda oluşan kapsülde daha az sayıda miyofibroblast olduğunu gösterdi. Zaten kapsül yoğunluğu da azalmış görünüyordu (Şekil 4.7).



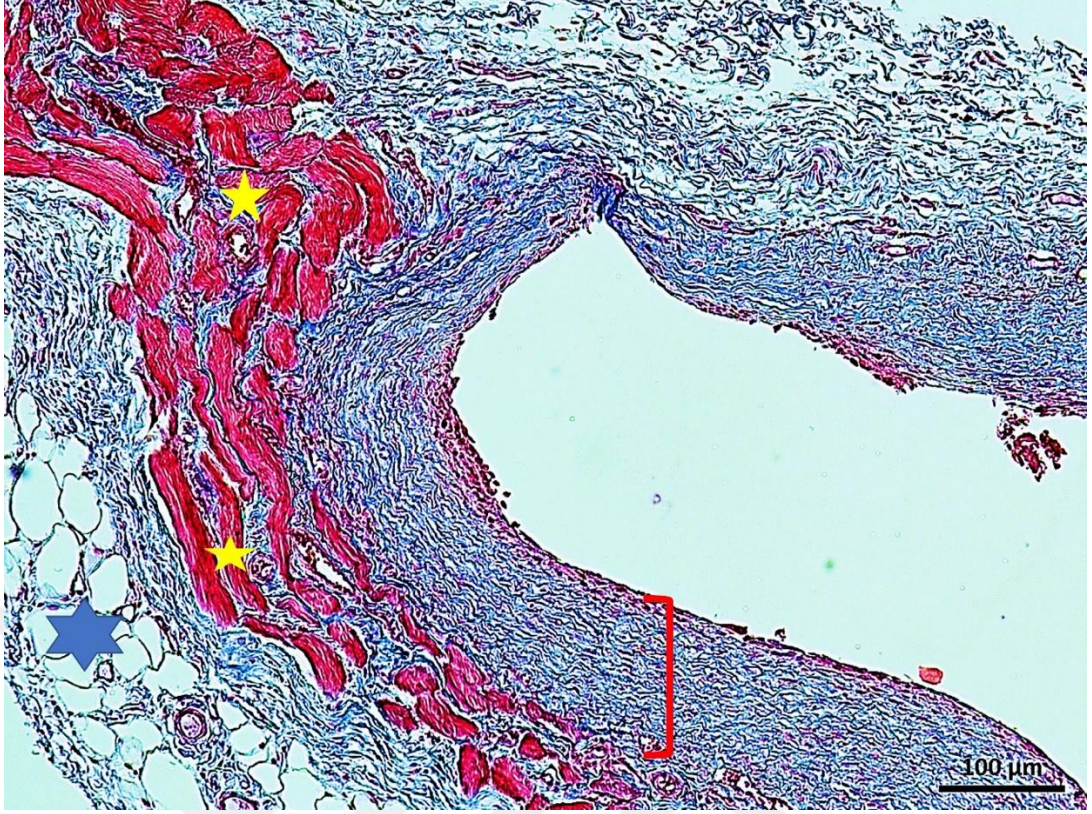
Şekil 4.7 : ACCM grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kapsül; iki başlı sarı ok ile gösterilen alan kapsülün iç tabakası (i); iki başlı turuncu ok ile gösterilen kapsülün dış tabakası (o); kırmızı oklar: pozitif reaksiyon veren miyofibroblast hücreleri; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200)

ACCM grubunda da nadir de olsa kontrol grubunda olduğu gibi immünohistokimyasal reaksiyon yer yer biraz daha geniş alanlarda görüldü. Bu durum kapsülün bazı bölgelerde daha kalın olduğunu düşündürdü (Şekil 4.8).



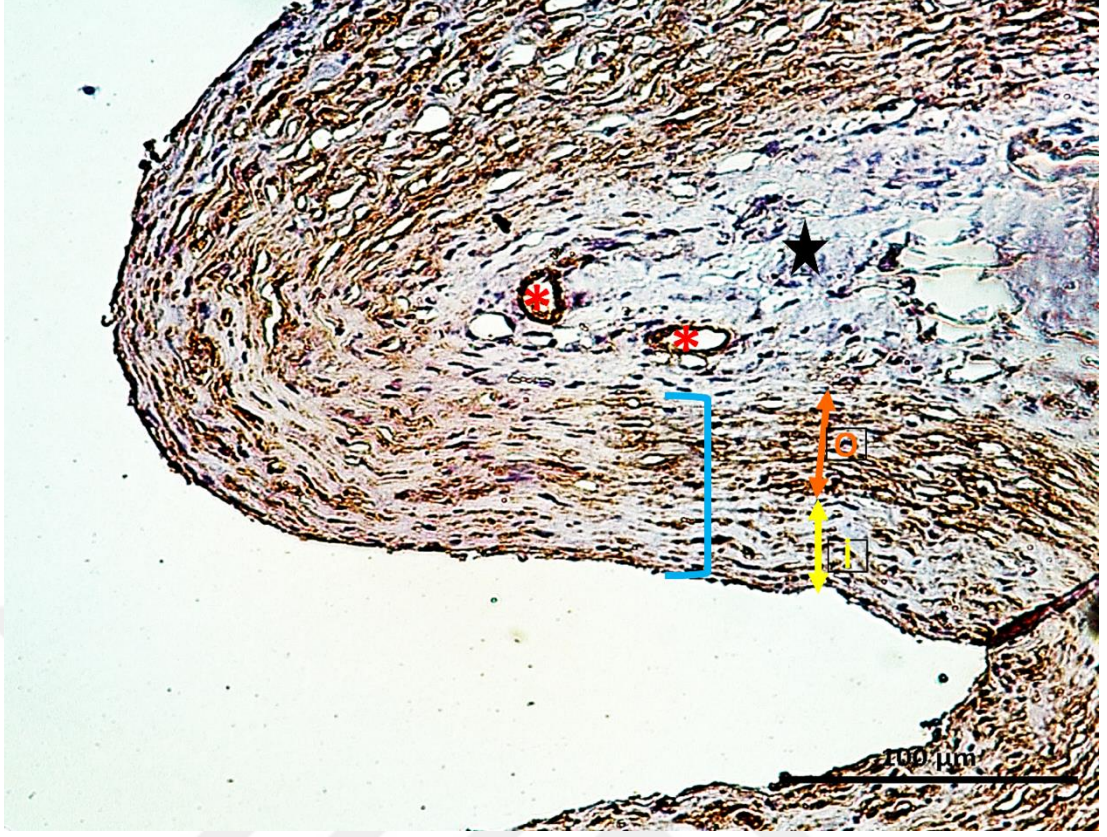
Şekil 4.8 : ACCM grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kalınlaşmış kapsül; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200)

Grup 3-YDKKH grubunda da bölgede çevre dokulardan daha sıkı görümlü bir bağ dokusu kapsül oluştuğu görüldü (işaretli bölge). Kollajen liflerden zengin olan bu doku Masson trikrom boyama yöntemi ile daha belirgin olarak ayırt edildi. Bu yöntemle kollajen lifler mavi renkte boyandı. Çevre bağ dokusu nispeten açık renkte boyandı. Bağ dokusu içinde kapsüle yakın düz kas liflerinin gruplaştığı görüldü (Şekil 4.9'da sarı yıldız). Yine çevrede yer yer bağ dokusu içinde yağ dokusu görüldü (Şekil 4.9'da mavi yıldız).



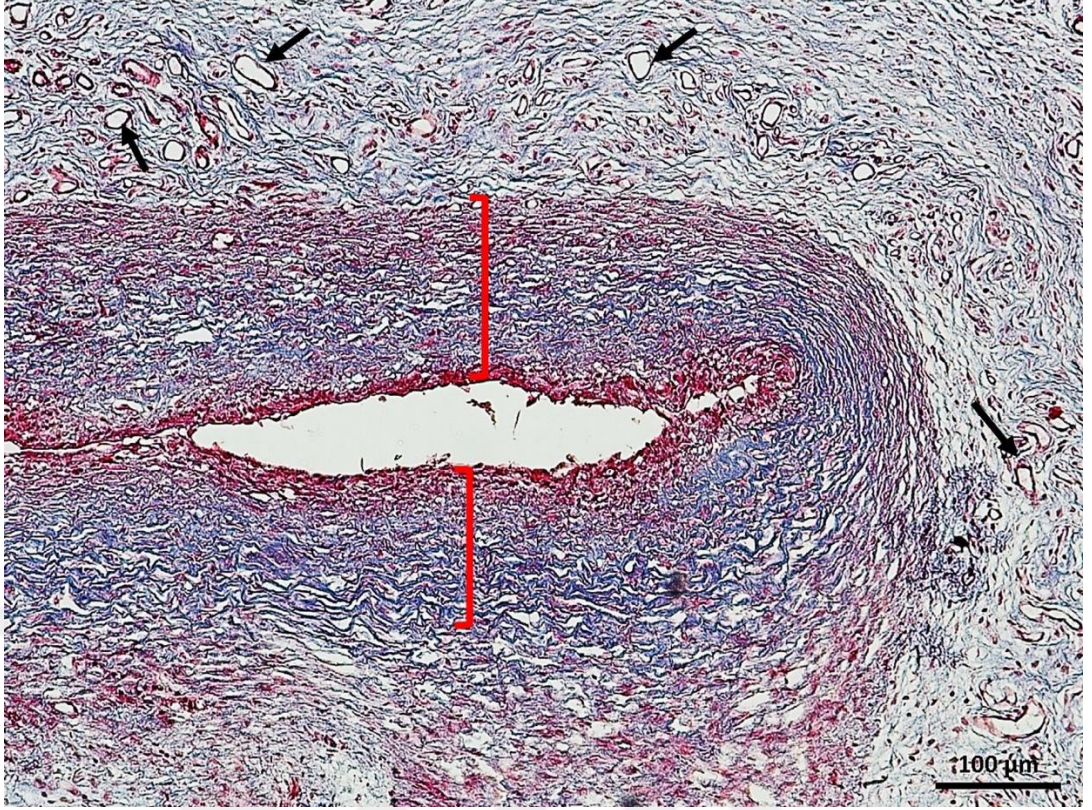
Şekil 4.9 : YDKKH grubu; kırmızı çizgi: sıkı bağ doku yapısındaki kapsül; sarı yıldız: kas dokusu; mavi yıldız: yağ dokusu (Masson Trikrom X 100)

YDKKH grubuna ait kapsül dokusu içinde miyofibroblastların yoğunlaşmasını işaret eden alfa-düz kas aktini (α -SMA) pozitif boyanması belirgin olarak görüldü. Yine bu pozitiflik sayesinde kapsül çevre bağ dokularından da keskin bir sınırla ayrıldı. Bu grupta da pozitiflik 1. gruba oranla biraz daha azalmış ancak 2. Gruba göre artmış olarak görüldü (Şekil 4.10).



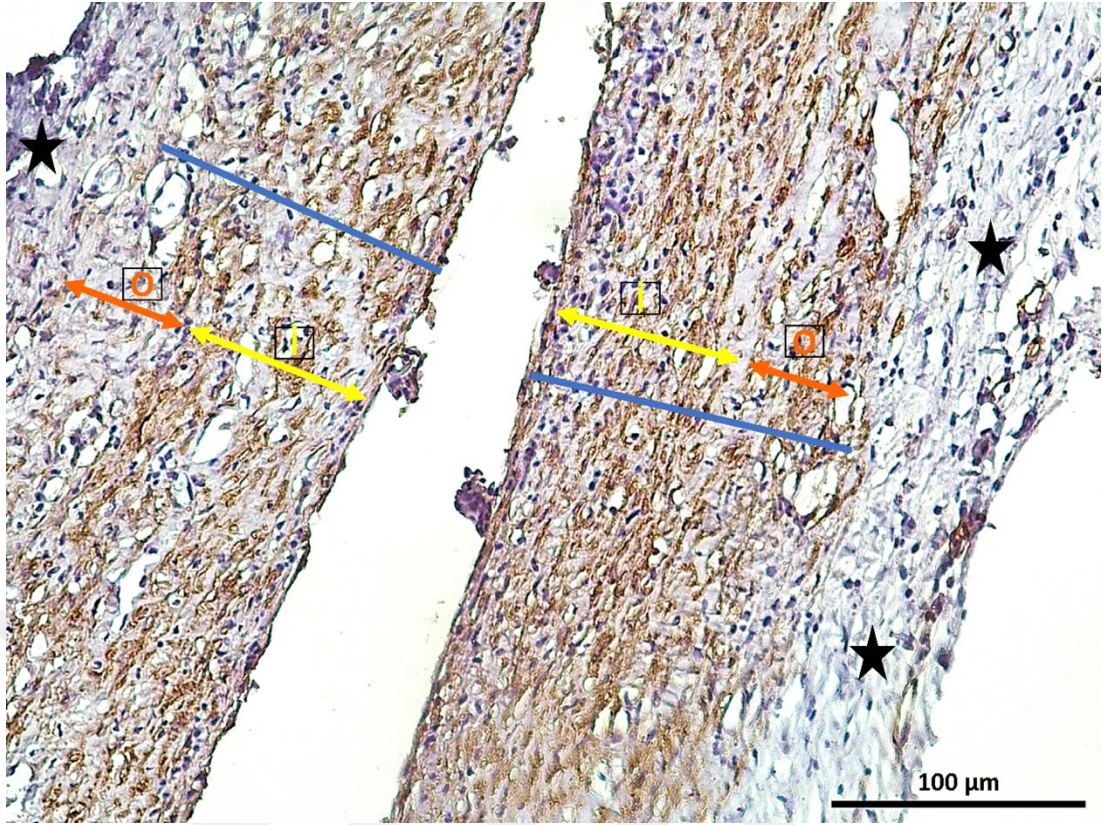
Şekil 4.10 : YDKKH grubu; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kapsül; iki başlı sarı ok ile gösterilen alan kapsülün iç tabakası (i); iki başlı turuncu ok ile gösterilen kapsülün dış tabakası (o); kırmızı asteriks: duvarında pozitif immünohistokimyasal reaksiyonun olduğu damarlar; siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200)

Grup 4'te de (ACCM+YDKKH) bölgede çevre dokulardan daha sıkı görümlü bir bağ dokusundan oluşan kapsül izlendi (işaretli bölge). Kollajen liflerden zengin olan bu doku Masson trikrom boyama yöntemi ile daha belirgin olarak ayırt edildi. Bu yöntemle kollajen lifler mavi renkte boyandı. Çevre bağ dokusu nispeten açık renkte boyandı. Damarlar da kırmızı renkte boyanarak belirgin şekilde görüldü (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 : Kombine (ACCM+YDKKH) grup; kırmızı çizgi: sıkı bağ doku yapısındaki kapsül; siyah oklar: kan damarları (Masson Trikrom X 100)

4. gruba ait kapsül dokusu içinde miyofibroblastların yoğunlaşmasını işaret eden alfa-düz kas aktini (α -SMA) pozitif boyanması belirgin olarak görüldü. Yine bu pozitiflik sayesinde kapsül çevre bağ dokularından da keskin bir sınırla ayrıldı. Bu grupta da pozitiflik 1 ve 3. gruba göre azalmış, 2. gruba daha yakın oranda boyanmış olarak görüldü (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 : Kombine (ACCM+YDKKH) grup; mavi çizgi: pozitif immünohistokimyasal reaksiyon veren miyofibroblast hücrelerini olduğu kapsül; iki başlı sarı ok ile gösterilen alan kapsülün iç tabakası (i); iki başlı turuncu ok ile gösterilen kapsülün dış tabakası (o); siyah yıldız: immünohistokimyasal reaksiyon vermeyen kollajen liflerden oluşan bağ doku (α -SMA, ABC yöntemi X200)

Histolojik analiz ile kapsül kontraksiyonunu sağlayan kontraktıl hücreler olan miyofibroblastların örneklerde oranlarını karşılaştırdık. Miyofibroblastların belirteci olan alfa-düz kas aktininin (α -SMA) pozitif boyanması gruplar arasında immünreaktivite şiddetini değerlendirmemize olanak sağladı. İmmünreaktivite şiddeti bir antijenin neden olduğu bağışıklık yanıtının ölçümünü gösterir. İmmünreaktivitesi yüksek olan deneylerde alfa-düz kas aktini daha çok pozitif boyanarak miyofibroblast oranları yüksek izlendi. Tsai ve arkadaşlarının yapmış olduğu derecelendirme (%0 boyanma: -, %1-30: +, %31-60: ++, %61-100: +++) (Tablo 4.1) (145) örnek alınarak deneklerin immünreaktivite şiddetleri belirlendi (Tablo 4.2) ve istatistiksel analiz yapıldı (Tablo 4.3).

Tablo 4.1 : İmmünreaktivite şiddetlerinin derecelendirilmesi

Kullanılan Simge	Şiddeti
-	Sıfır (immünreaktivite yok)
+	Zayıf
++	Orta
+++	Şiddetli

%0 boyanma: -

% 1-30 boyanma: +

%31-60 boyanma: ++

%61-100 boyanma: +++

Tablo 4.2 : Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında deneklere göre sırasıyla immünreaktivite şiddetlerinin derecelendirilmesi

Gruplar	Denek sırası	İmmünreaktivite Şiddeti
Kontrol	1	+++
	2	+++
	3	+++
	4	+++
	5	+++
	6	+++
ACCM	1	+
	2	++
	3	+
	4	+
	5	+
	6	++
YDKKH	1	++
	2	++
	3	++
	4	++
	5	++
	6	++
Kombine (ACCM+YDKKH)	1	+
	2	+
	3	+
	4	+
	5	+
	6	+

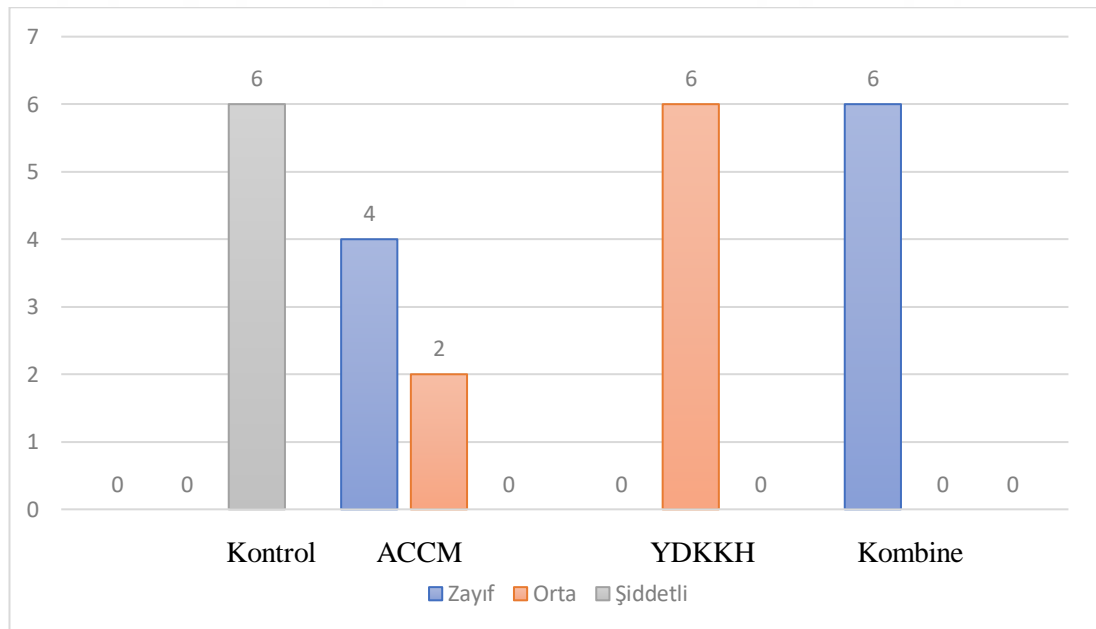
Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarda immünreaktivite şiddeti bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklar tespit edilmiştir (p=0,001). Kontrol grubundaki deneklerin tümünde şiddetli düzeyde

immünreaktivite gözlenmişken, YDKKH grubunda deneklerin tümünde orta şiddet immünreaktivite, Kombine grupta ise tüm deneklerinde zayıf düzeyde immünreaktivite gözlenmiştir. ACCM grubunda ise deneklerin çoğunluğunda-4 denekte (%66,7) zayıf düzey, 2 denekte (%33,3) ise orta düzey immünreaktivite gözlenmiştir (Tablo 4.3). Tablo 4.2’de gruplarda denek sıralarına göre immünreaktivite düzeylerinin skorlaması belirtilmiştir. Kontrol>YDKKH >ACCM>Kombine (Tablo 4.3; Şekil 4.13). Histolojik sonuçların istatistik değerlendirmesi sonucunda Kombine grubun diğer gruplara göre anlamlı düzeyde en zayıf immünreaktiviteye sahip olduğu aşkarlandı.

Tablo 4.3 : Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarının immünreaktivite şiddetlerinin incelemesi

	Kontrol	ACCM	YDKKH	Kombine	p
İmmünreaktivite Şiddeti	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Zayıf	0 (0)	4 (66,7)	0 (0)	6 (100)	0,001
Orta	0 (0)	2 (33,3)	6 (100)	0 (0)	
Şiddetli	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	

P değeri Kesin Ki kare testinden elde edildi.



Şekil 4.13 : İmmünreaktivite şiddetinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve ACCM+YDKKH gruplarında bar grafikleri

4.3 Biyokimyasal Analiz Bulguları

Doku üzerinde ölçülen TGF β -1, TGF β -2, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, IL-2, IL-4, TAS, TOS ve OSI parametrelerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine gruplarında karşılaştırılmış sonuçları Tablo 4.4'de sunulmuştur. Buna göre gruplar arasında TGF β -1 ve TGF β -2, IL-2, TAS, TOS ve OSI parametre ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı oldukları tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.4 : Dokuda ölçülmüş parametrelerin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine grupların karşılaştırılması

	Kontrol (6) ort \pm SS	ACCM (6) ort \pm SS	YDKKH (6) ort \pm SS	Kombine (6) ort \pm SS	F	p
Doku TGF β -1	^B 61,18 \pm 10,47	^{AB} 48,27 \pm 14,22	^B 60,42 \pm 27,91	^A 31,18 \pm 13,11	3,74	0,028
Doku TGF β -2	^B 50,53 \pm 7,3	^A 29,41 \pm 7,69	^A 25,19 \pm 8,12	^A 20,79 \pm 6,9	18,44	0,001
Doku TIMP-1	70,16 \pm 9,71	62,3 \pm 18,28	65,99 \pm 28,69	53,61 \pm 3,85	0,94	0,439
Doku TIMP-2	2,38 \pm 0,44	1,83 \pm 0,59	1,93 \pm 0,76	1,79 \pm 0,15	1,57	0,228
Doku MMP-2	1,06 \pm 0,24	1,16 \pm 0,31	1,12 \pm 0,53	1,3 \pm 0,07	0,55	0,651
Doku IL-2	^B 23,69 \pm 3,49	^{AB} 16,43 \pm 7,8	^{AB} 18,94 \pm 8,37	^A 14,4 \pm 2,34	3,04	0,044
Doku IL-4	28,21 \pm 5,84	23,68 \pm 8,73	26,32 \pm 10,52	19,86 \pm 3,28	1,36	0,285
Doku TAS	^A 0,20 \pm 0,03	^B 0,34 \pm 0,15	^{AB} 0,28 \pm 0,12	^C 0,47 \pm 0,09	6,87	0,002
Doku TOS	^B 0,48 \pm 0,14	^{AB} 0,31 \pm 0,13	^{AB} 0,42 \pm 0,20	^A 0,24 \pm 0,06	3,40	0,038
Doku OSI	^C 2,41 \pm 0,77	^{AB} 1,00 \pm 0,48	^B 1,57 \pm 0,47	^A 0,53 \pm 0,12	14,82	0,001

P değeri ANOVA testinden elde edildi. Satırlarda üst indiste her farklı harf (^{A,B,C}) ANOVA post hoc LSD testi istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,05$). SS: Standart Sapma

Kombine gruptaki deneklerin TGF β -1 (hücre büyümesi, farklılaşması ve ekstrasellüler matriksin sentezinde yer alan anahtar sitokinlerden biri) ortalamasının 31,18 \pm 13,11 ACCM grubunun ortalaması ile benzer, YDKKH ve Kontrol gruplarının TGF β -1 ortalamalarından anlamlı düzeyde düşük değerler aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.14).

ACCM, YDKKH ve Kombine gruplarındaki deneklerin TGF β -2 (hücre büyümesi, farklılaşması ve ekstrasellüler matriksin sentezinde yer alan anahtar sitokinlerden biri)

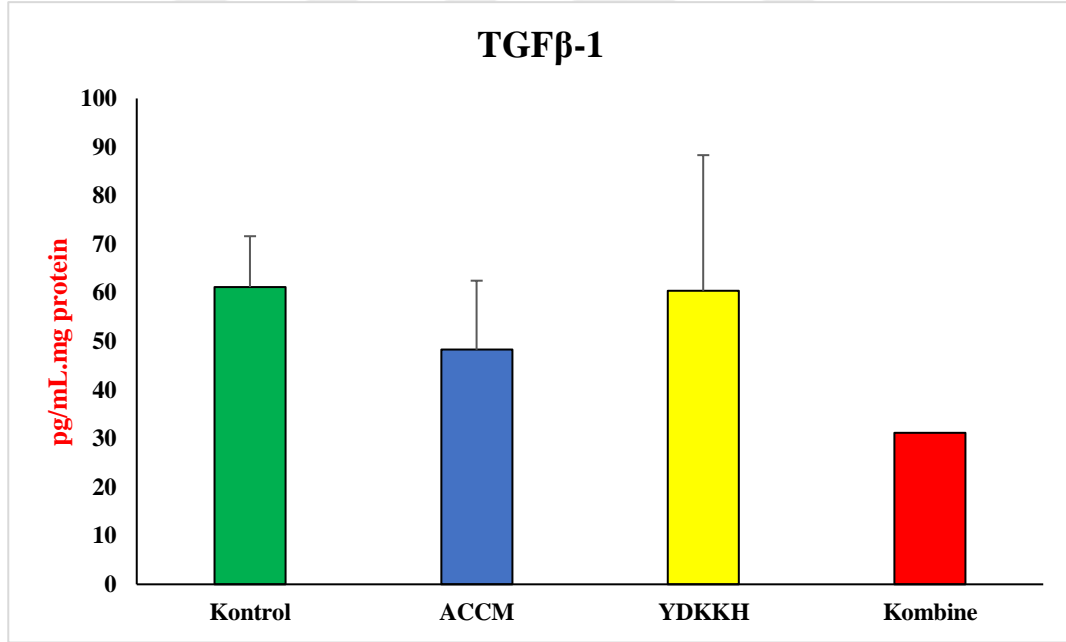
ortalamasının kontrol grubundaki $TGF\beta-2$ $50,53\pm7,30$ ortalamasından anlamlı düzeyde düşük değerler aldığı gözlenmiştir (Şekil 4.15).

ACCM, YDKKH ve Kombine gruplarındaki deneklerin IL-2 ortalamasının Kontrol grubundaki IL-2 $23,69\pm3,49$ ortalamasından anlamlı düzeyde düşük değerler aldığı gözlenmiştir (Şekil 4.16).

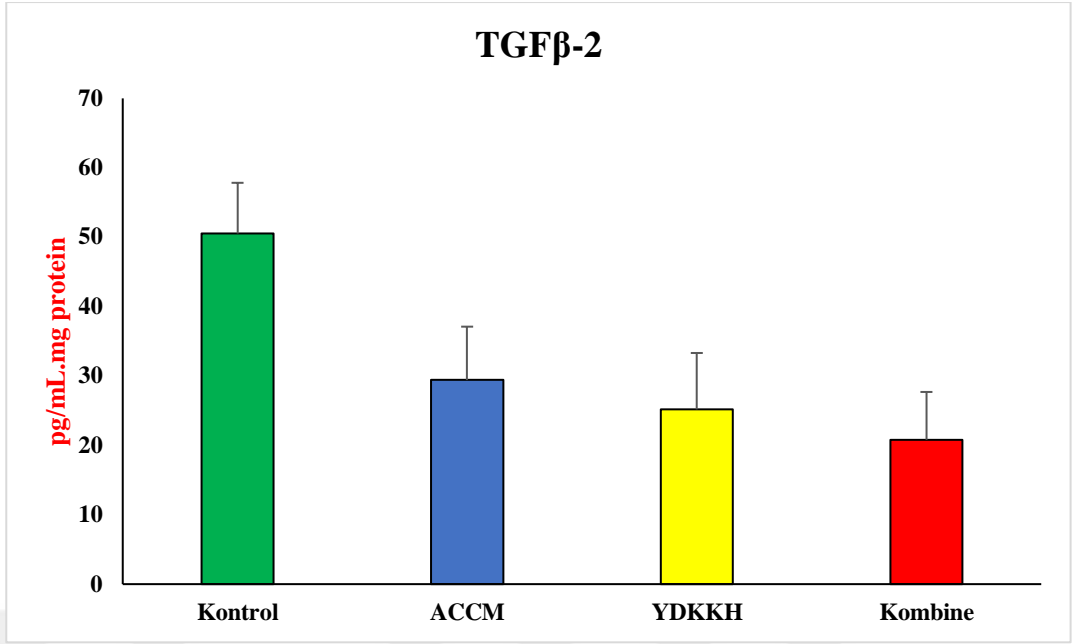
Kontrol, YDKKH gruplarındaki deneklerin TAS ortalamasının ACCM grubunun TAS $0,34\pm0,15$ ortalamasından ve Kombine gruptaki TAS $0,47\pm0,09$ ortalamasından anlamlı düzeyde düşük değerler aldığı gözlenmiştir (Şekil 4.17).

Kontrol, ACCM ve YDKKH gruplarındaki deneklerin TOS ortalamasının Kombine gruptaki TOS $0,24\pm0,06$ ortalamasından anlamlı düzeyde yüksek değerler aldığı gözlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.18).

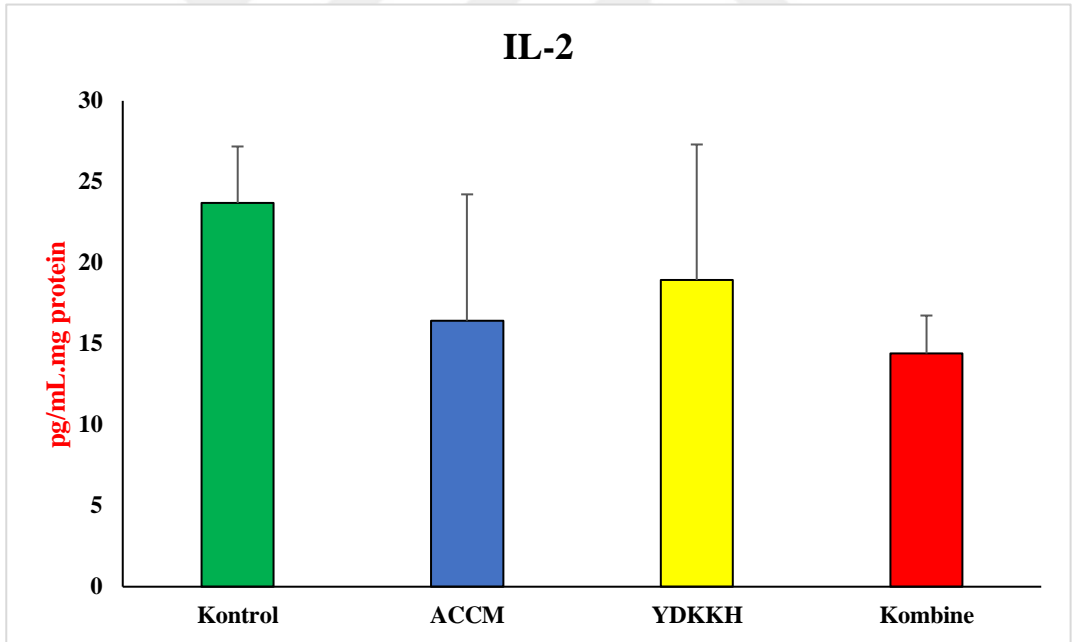
Doku örneklerindeki OSI, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, IL-4 değerlerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine gruplarında bar grafikleri Şekil 4.18; 4.19; 4.20; 4.21; 4.22'de gösterilmiştir.



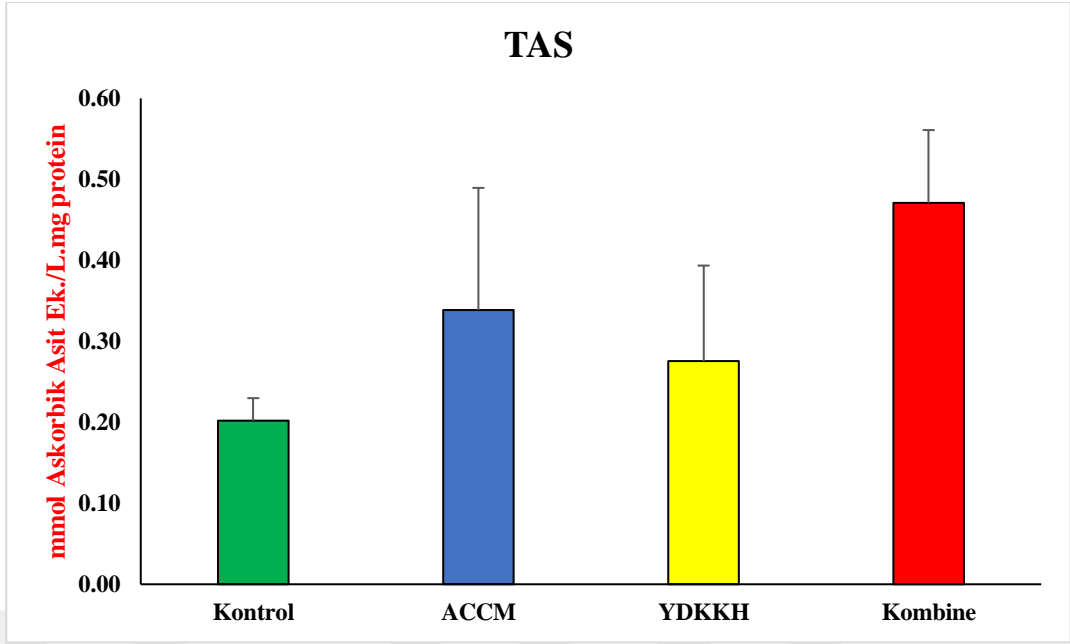
Şekil 4.14 : Doku örneklerindeki $TGF\beta-1$ değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



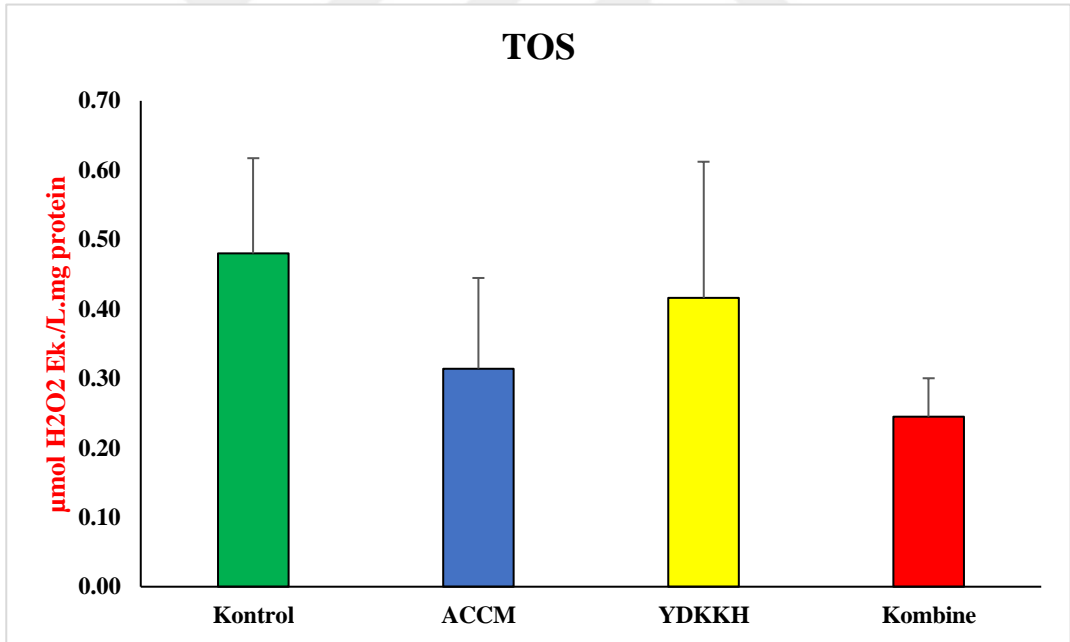
Şekil 4.15 : Doku örneklerindeki TGFβ-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



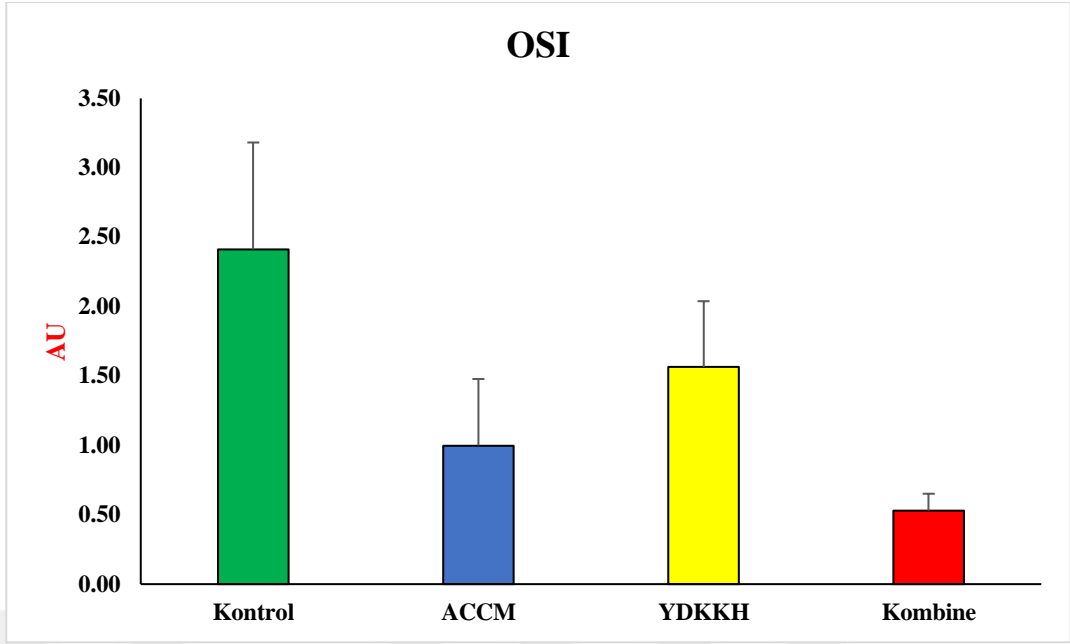
Şekil 4.16 : Doku örneklerindeki IL-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



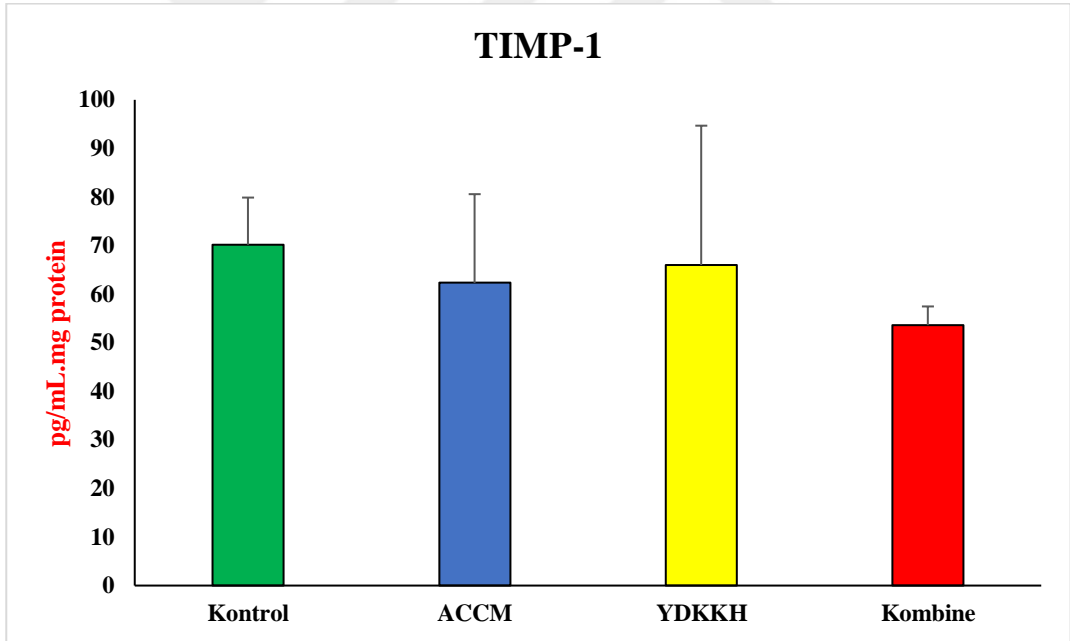
Şekil 4.17 : Doku örneklerindeki TAS değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



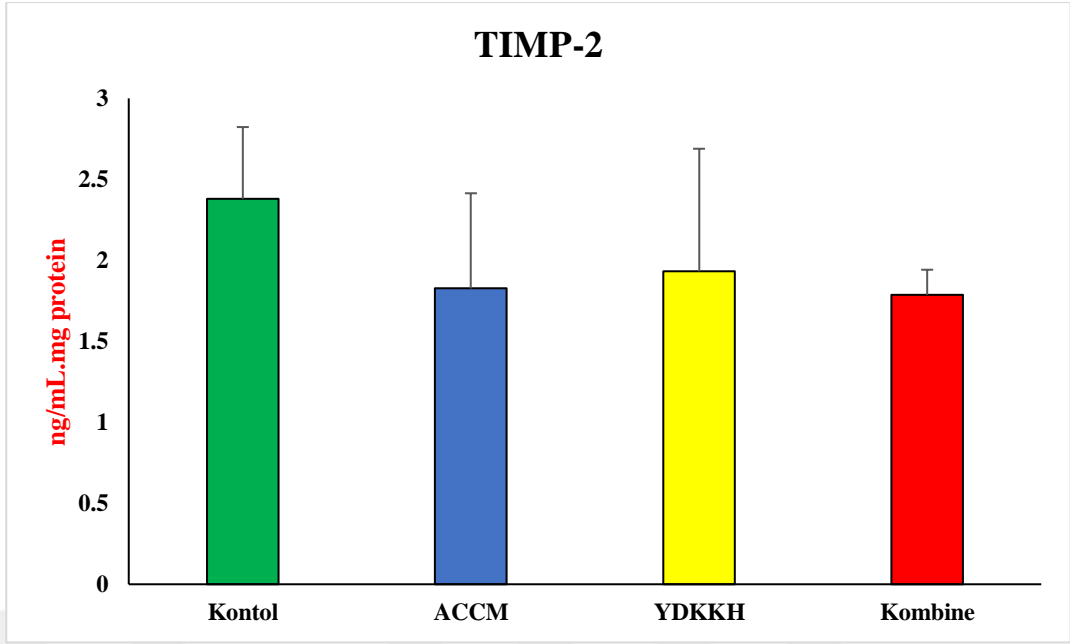
Şekil 4.18 : Doku örneklerindeki TOS değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



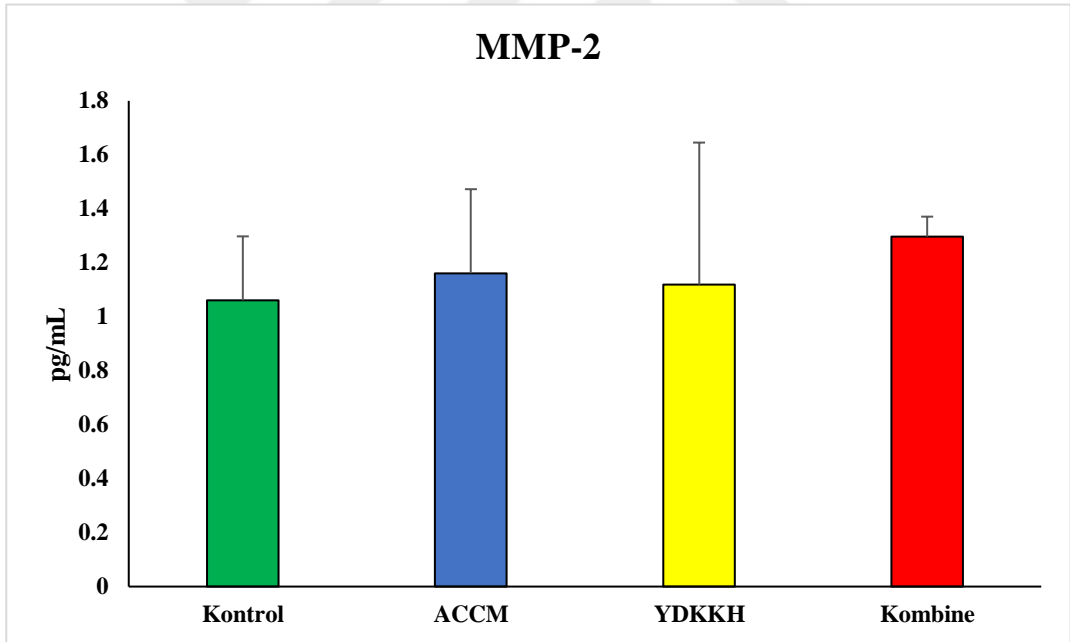
Şekil 4.19 : Doku örneklerindeki OSI değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



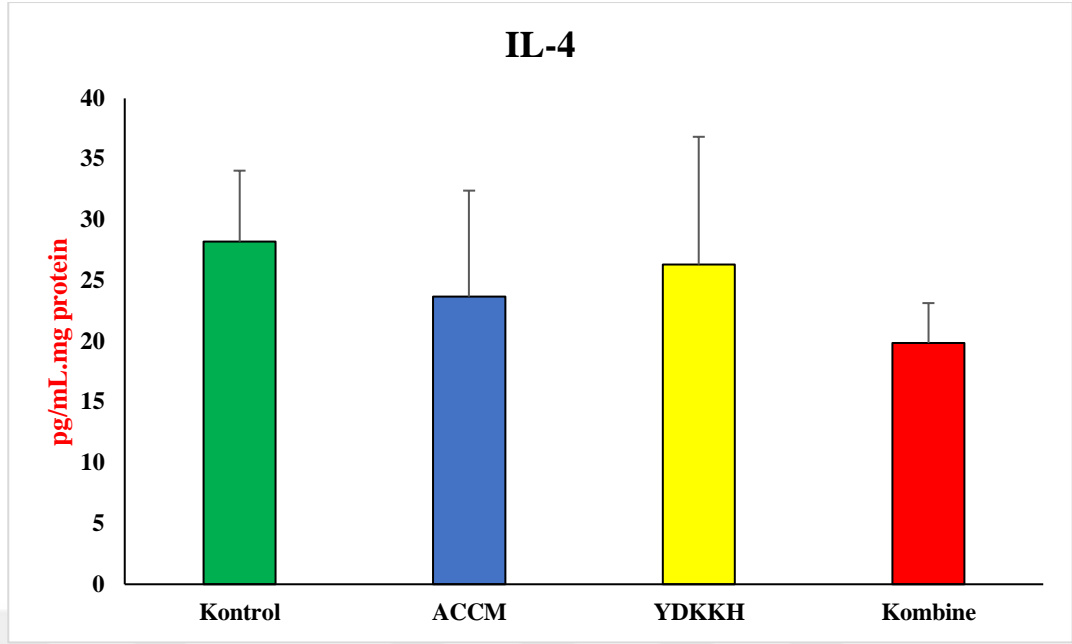
Şekil 4.20 : Doku örneklerindeki TIMP-1 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



Şekil 4.21 : Doku örneklerindeki TIMP-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



Şekil 4.22 : Doku örneklerindeki MMP-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



Şekil 4.23 : Doku örneklerindeki IL-4 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri

Serum üzerinde ölçülen TGFβ-1, TGFβ-2, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, IL-2, IL-4 TAS, TOS ve OSI parametrelerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine gruplarında karşılaştırılmış sonuçları Tablo 4.5'te sunulmuştur. Buna göre gruplar arasında TGFβ-1 ve TGFβ-2, TIMP-1 ve TIMP-2, MMP-2, IL-2, TAS ve OSI Parametre ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı oldukları tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Tablo 4.5 : Serumda ölçülmüş parametrelerin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine grupların karşılaştırılması

	Kontrol (6) ort±SS	ACCM (6) ort±SS	YDKKH (6) ort±SS	Kombine (6) ort±SS	F	p
Serum TGFβ-1	^C 438,43±49,74	^{AB} 370,28±44,05	^{BC} 414,32±55,84	^A 340,73±49,67	4,60	0,013
Serum TGFβ-2	^B 322,05±62,31	^B 287,2±23,25	^B 292,47±48,44	^A 223,61±11,79	5,96	0,004
Serum TIMP-1	^B 751,13±125,33	^B 674,28±49,13	^B 726,24±88,4	^A 503,62±73,55	9,52	0,001
Serum TIMP-2	^C 25,91±6,16	^B 18,86±3,3	^B 20,59±2,12	^A 13,12±1,71	11,85	0,001

Serum MMP-2	^A 7,56±1,6	^B 11,58±1,71	^B 10,02±1,22	^C 13,26±2,24	11,75	0,001
Serum IL-2	^B 120,68±9,53	^A 84,27±17,88	^A 95,47±14,68	^A 77,67±13,66	10,57	0,001
Serum IL-4	93,82±17,87	79,93±19,47	86,56±20,46	71,87±20,93	1,35	0,286
Serum TAS	^A 0,95±0,05	^{AB} 1,02±0,07	^A 0,98±0,06	^B 1,07±0,07	3,86	0,025
Serum TOS	5,82±0,5	5,37±1,21	5,62±0,34	4,49±1,02	2,85	0,063
Serum OSI	^B 6,12±0,44	^{AB} 5,33±1,45	^B 5,72±0,24	^A 4,23±1,11	4,43	0,015

P değeri ANOVA testinden elde edildi. Satırlarda üst indiste her farklı harf (^{A,B,C}) ANOVA post hoc LSD testi istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir (p<0,05). SS: Standart Sapma

Kombine gruptaki deneklerin TGFβ-1 ortalamasının 340,73±49,67 ACCM grubunun ortalaması ile benzer, YDKKH ve Kontrol gruplarının TGFβ-1 ortalamasından anlamlı düzeyde düşük değerler aldığı tespit edilmişken, YDKKH grubundaki deneklerde TGFβ-1 ortalamasının Kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük düzeyde olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.24).

Kombine gruptaki deneklerin TGFβ-2 ortalamasının 223,61±11,79, ACCM, YDKKH ve Kontrol gruplarının TGFβ-2 ortalamasından anlamlı düzeyde düşük değerler aldığı gözlenmişken, ACCM, YDKKH ve Kontrol gruplarında TGFβ-2 ortalamalarının benzer olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.25).

Kombine gruptaki deneklerin TIMP-1 ortalamasının 503,62±73,55 ACCM, YDKKH ve Kontrol gruplarındaki deneklerin TIMP-1 ortalamasından anlamlı düzeyde düşük değerler alırken, ACCM, YDKKH ve Kontrol gruplarında TIMP-1 ortalamalarının benzer olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.26).

Kombine gruptaki deneklerin TIMP-2 ortalamasının 13,12±1,71 Kombine, YDKKH ve Kontrol gruplarındaki deneklerin TIMP-2 ortalamasından anlamlı düzeyde düşük değerler alırken, ACCM ve YDKKH gruplarının TIMP-2 ortalamalarının Kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.27).

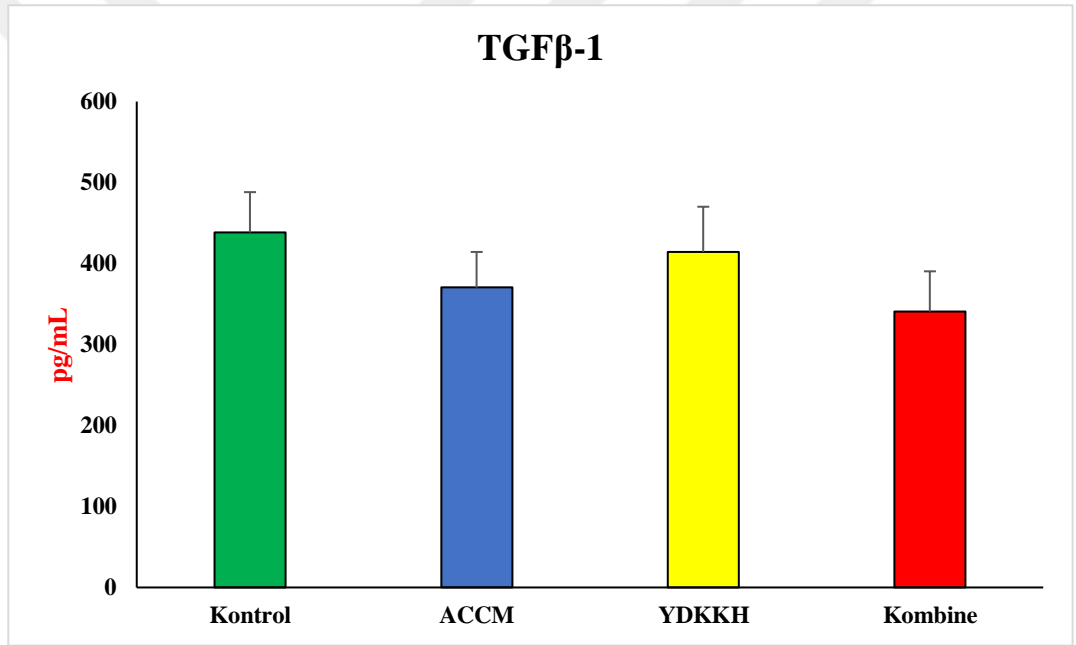
Kontrol grubundaki deneklerin MMP-2 ortalamasının 7,56±1,6 ACCM, YDKKH ve Kombine gruplarındaki deneklerin MMP-2 ortalamasından anlamlı düzeyde düşük

değerler alırken, ACCM, YDKKH grubundaki deneklerin MMP-2 ortalamalarının kombine gruptan anlamlı düzeyde düşük gözlenmiştir (Şekil 4.28).

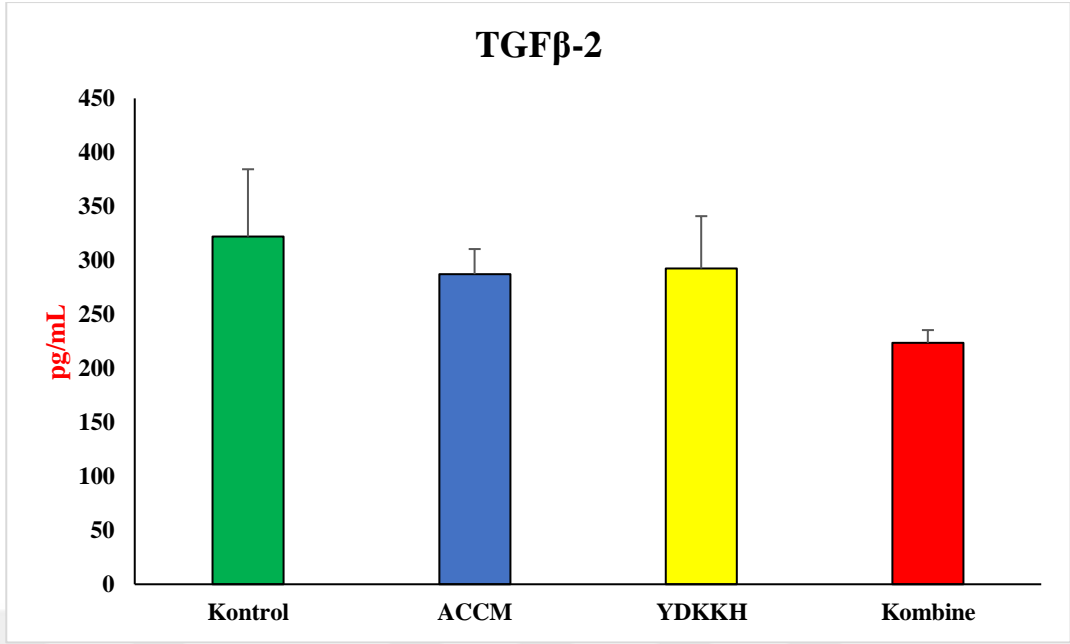
Kontrol ve YDKKH grubundaki deneklerin TAS ortalamaları, ACCM ve Kombine gruplarındaki deneklerin TAS ortalamasından anlamlı düzeyde düşük değerlerde olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.29).

Kombine gruptaki deneklerin OSI ortalamaları, $4,23\pm 1,11$ diğer gruplardaki deneklerin OSI ortalamalarından anlamlı düzeyde düşük değerlerde olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.30).

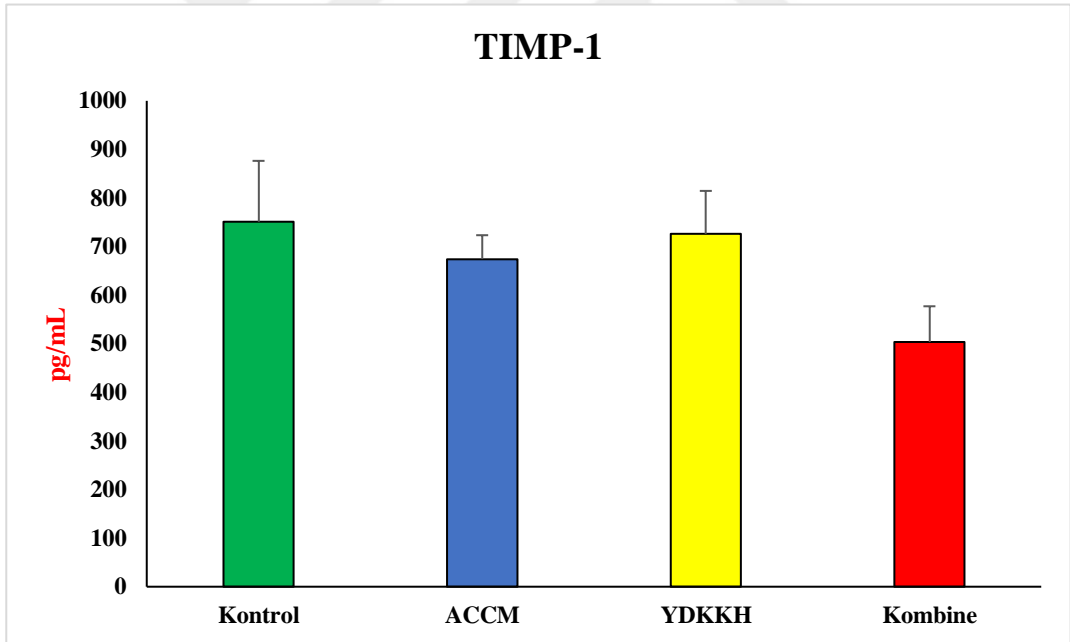
Serumda IL-2, IL-4, TOS değerlerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve ACCM+YDKKH gruplarında bar grafikleri Şekil 4.31; 4.32; 4.33'de gösterilmiştir.



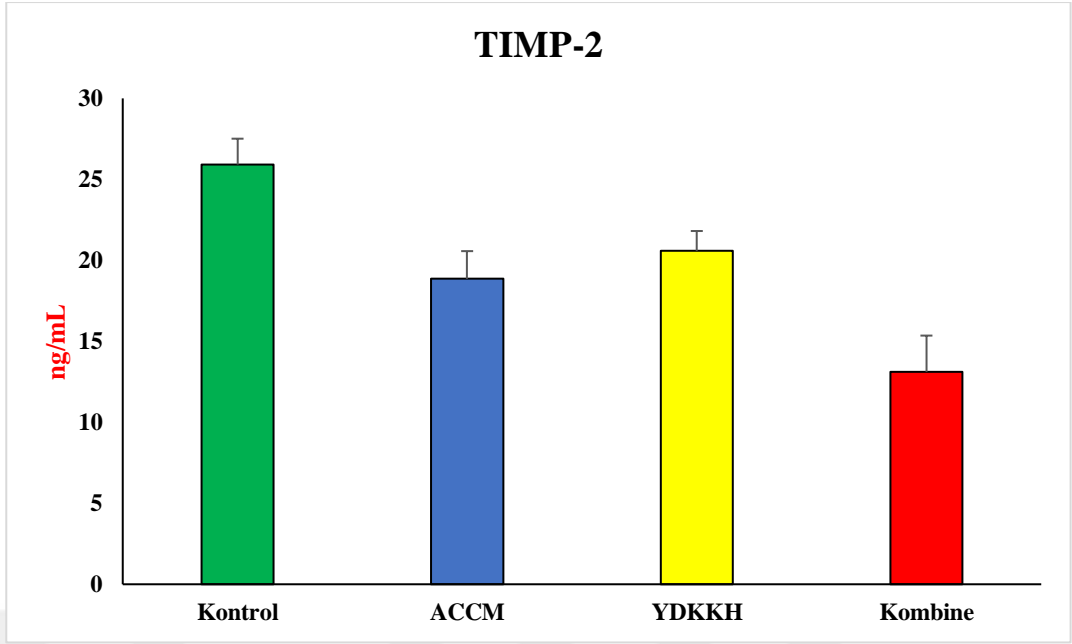
Şekil 4.24 : Serumda TGFβ-1 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



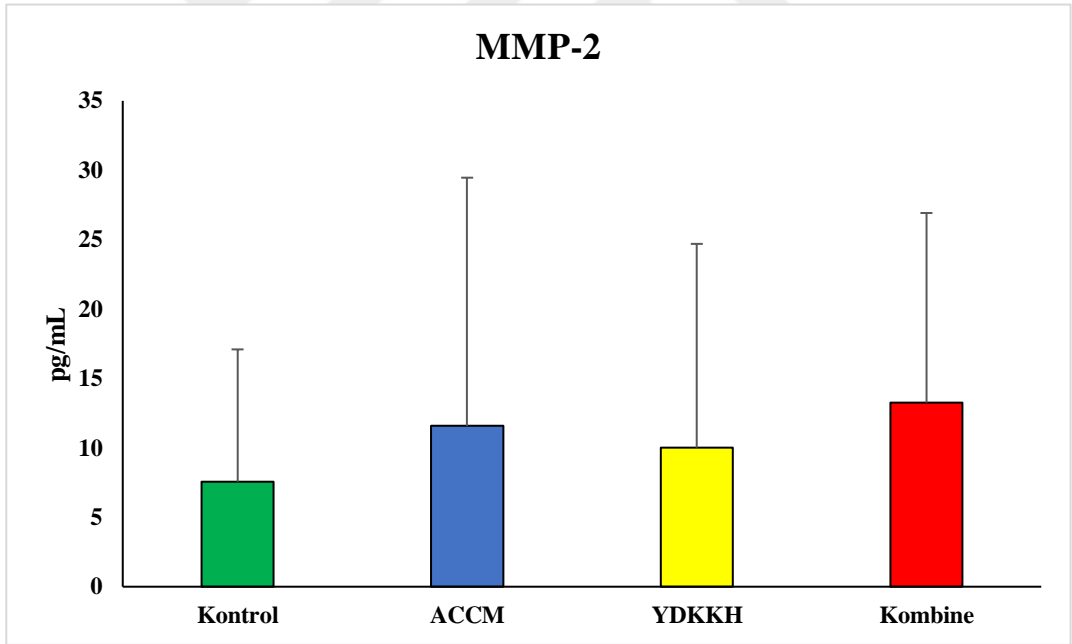
Şekil 4.25 : Serumda TGFβ-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



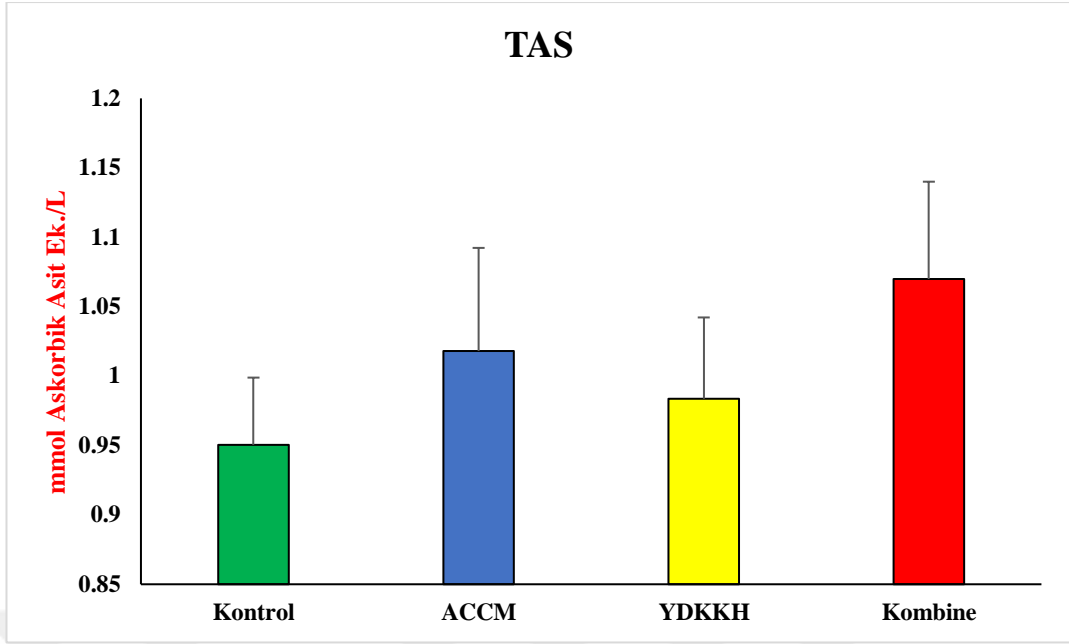
Şekil 4.26 : Serumda TIMP-1 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



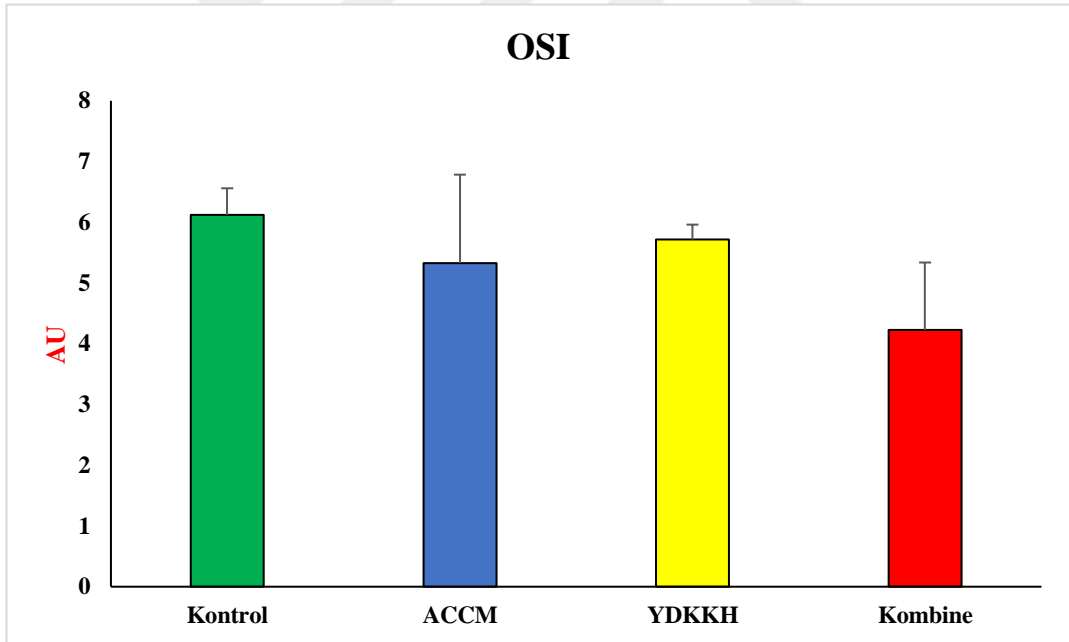
Şekil 4.27 : Serumda TIMP-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



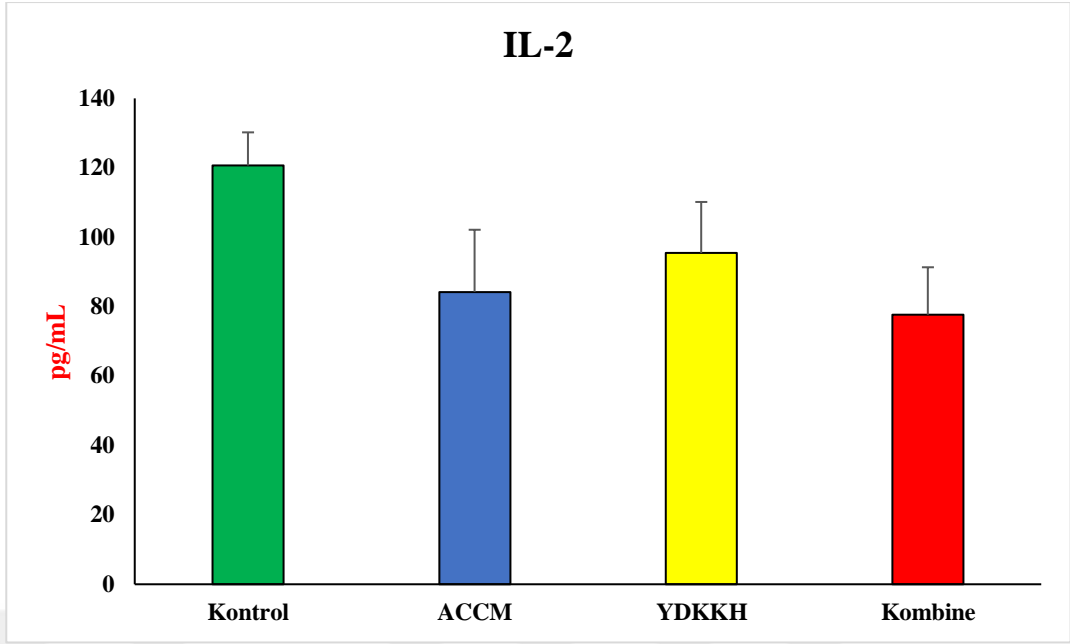
Şekil 4 28 : Serumda MMP-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



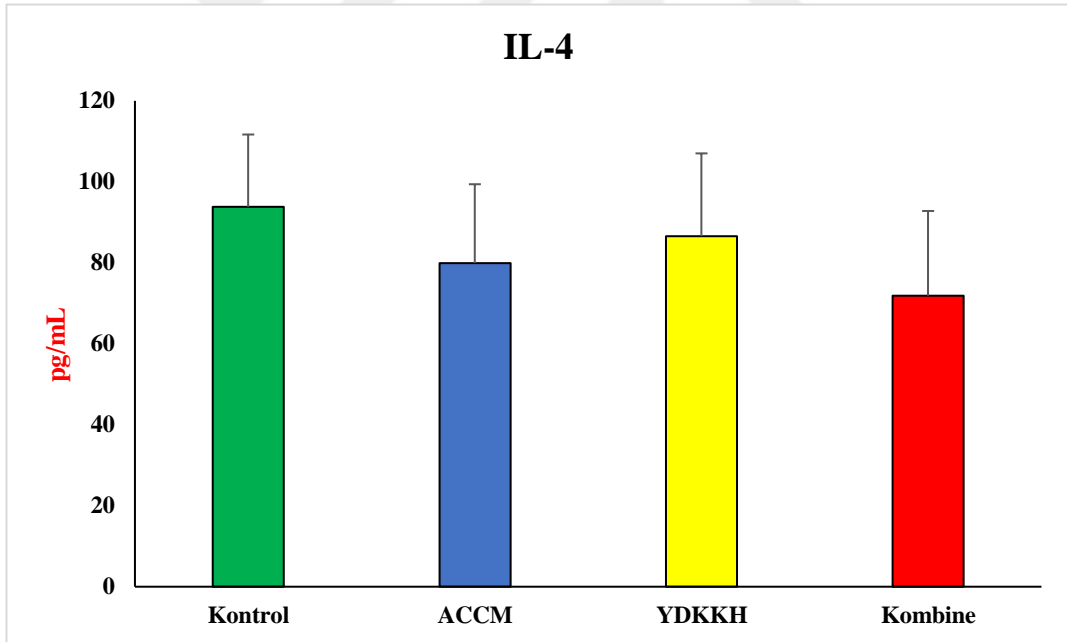
Şekil 4.29 : Serumda TAS değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



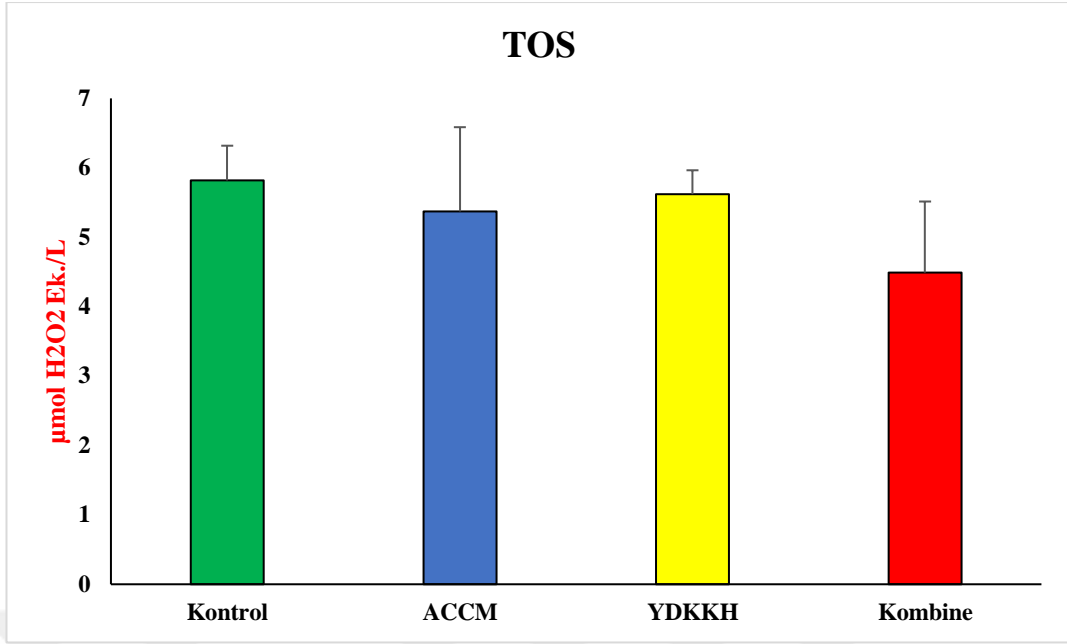
Şekil 4.30 : Serumda OSI değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



Şekil 4.31 : Serumda IL-2 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri



Şekil 4.32 : Serumda IL-4 değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri

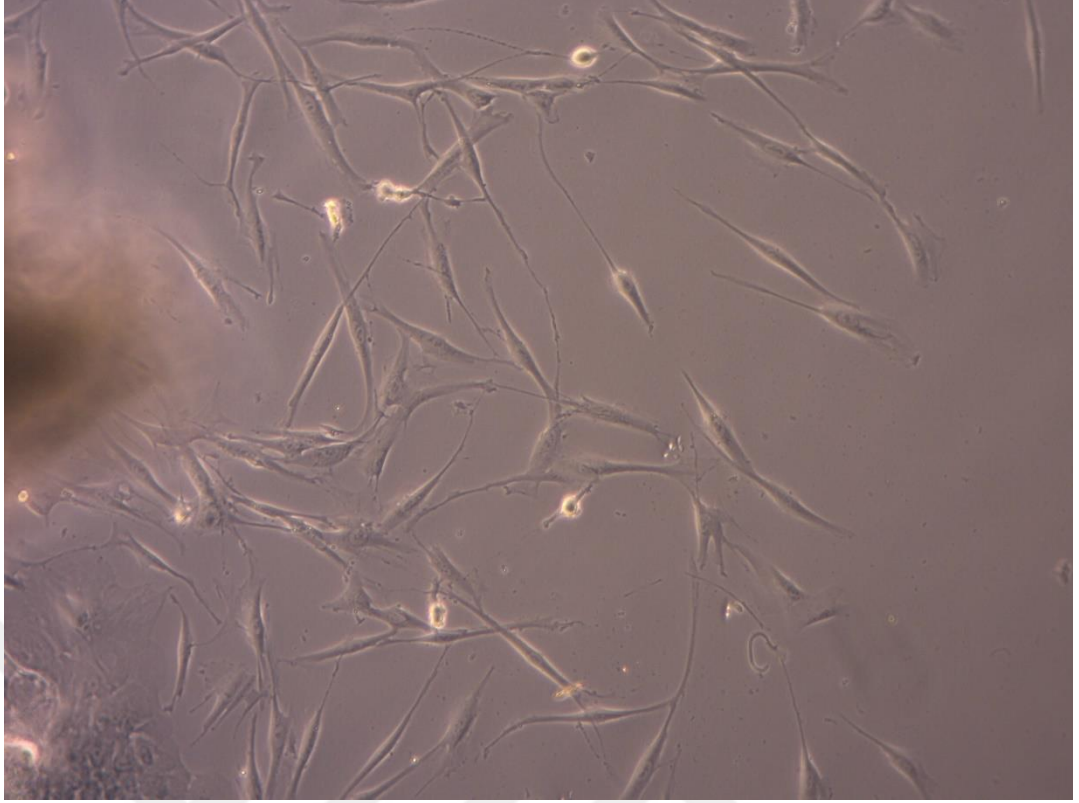


Şekil 4.33 : Serumda TOS değerinin Kontrol, ACCM, YDKKH ve Kombine (ACCM+YDKKH) gruplarında bar grafikleri

4.4 Genetik Analiz Bulguları

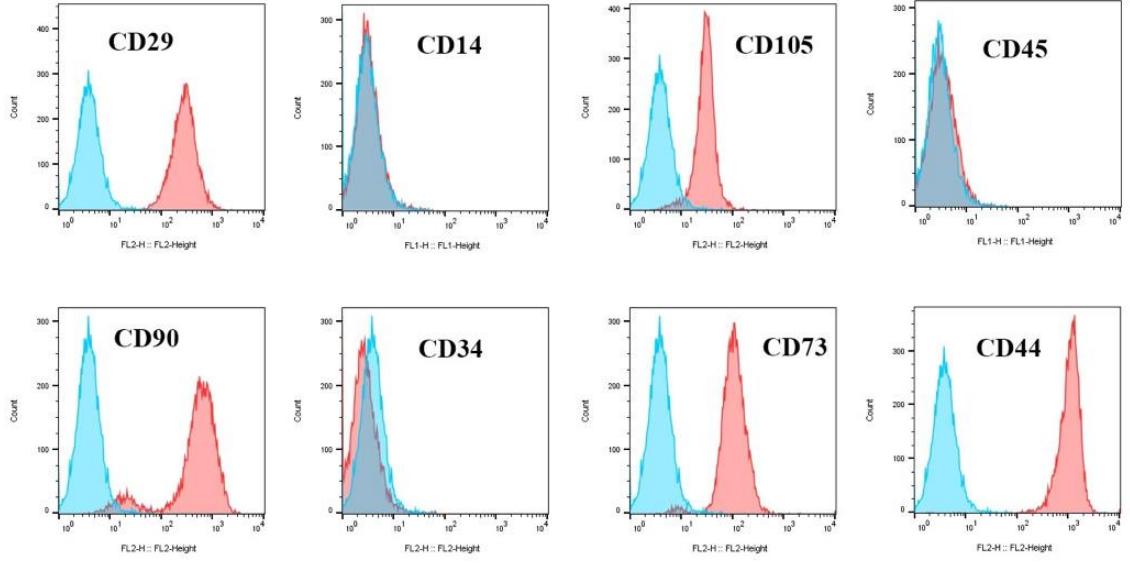
Kök Hücrelerin Karakterizasyonu

Sıçanların dokusundan izole edilen mezenkimal kök hücreler (SMKH) *in vitro* laboratuvar koşullarında primer kültürleri yapılmış ve çoğaltılmıştır. Şekil 4.34'de hücrelerin besin ortamında primer kültür koşullarında dokudan yayılarak hücre kültürü tabaklarına yapışıp yayıldıkları ışık mikroskobu altında gösterilmektedir. Şekil 4.34'de hücreler sağlıklı bir şekilde yalancı hücre ayaklarını yayarak hücre kültür tabaklarına yayıldığı gözlemlenmektedir.



Şekil 4.34 : Mezenkimal kök hücrelerin dokudan ayrılarak hücre kültür tabaklarına yapıştığını gösteren 10X magnifikasyon ile ışık mikroskobunda çekilmiş görüntüleri.

Dokudan izolasyonu ve primer hücre kültürü başarılı bir şekilde gerçekleşen hücrelerin mezenkimal kök hücre karakteristiğinde olduğunu gösterebilmek için hücrelerin zarında bulunan yüzey belirteçleri akım sitometri cihazıyla belirlenmiştir. Şekil 4.35’de hücreler CD29, CD105, CD90, CD73 ve CD44 olan MKH belirteçlerini pozitif olarak ifade ederken CD14, CD34 ve CD45 olan Hematopoetik Kök Hücre belirteçlerini negatif olarak ifade etmektedir. Bu sonuçlar elde edilen hücrelerin mezenkimal kök hücre karakteristiğinde olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.35: Dokudan elde edilmiş primer hücrelerin akım sitometrisinde yüzey belirteçleri ile gerçekleştirilmiş MKH karakterizasyonu

5. TARTIŞMA

Günümüzde implant kullanımlarının artması, implantlara bağlı gelişen komplikasyonların önlenmesine yönelik çalışmaların sayısını da arttırmıştır. Vücuda silikon protez implantasyonu sonrası peri-implant fibröz kapsül oluşumu ortaya çıkar. Bu, vücudun yabancı cisimlere karşı normal bir “savunma” mekanizmasıdır. Kapsül, kontraksiyon özelliğine sahip olup, herhangi bir yabancı cisme karşı gelişen skar dokusu olarak da tanımlanmaktadır. Kapsül kontraktürü ise kapsülün anormal şekilde kalınlaşıp sertleştiğinde ortaya çıkan klinik durumdur (146). Bazı durumlarda komşu yumuşak dokularda fibrotik değişikliklere neden olarak memenin dış görünümünde şekil bozukluğuna ve ağrıya neden olur. Kapsül kontraktürünün absorbe olmayan tüm implant materyallerinin etrafında oluşan kapsül yapısında bulunan fibroblast ve myofibroblastların aktivasyonu sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (147). Diğer teori ise kapsül etrafında yerleşen bakteriyel biyofilm tabakasıdır. Kapsül kontraksiyonu sonucu implant mümkün oldukça en az yüzey alanına sahip olmaya gerek duyarak küresel bir şekil oluşturulmaya zorlanır ki, bu durumda memede asimetriler ve deformasyonlar oluşabilmektedir (147). Kapsül kontraktürünü hastaların %1,3 ila %30'u arasında değişen oranlarda görülmektedir. İmplantlar ne kadar uzun süre yerleşirse, kontraktür oluşma riski kümülatif olarak o kadar artar. Kapsül kontraktürünün %92'si ameliyat sonrası ilk 12 ay içinde gelişir (148,149).

Fibroblastlar hem fizyolojik hem de patolojik iyileşme süreçlerinde anahtar hücrelerdendir. Ekstrasellüler matriksin ana bileşeni olan kollajenin sentezi vücutta yapısal bütünlüğün yeniden sağlanması için önemli olmakla birlikte, deride hipertrofik skar ile keloidlerin, tendon iyileşmesinde adezyonların, laparotomi sonrası fibrotik bantların ve silikon implantların çevresindeki kapsülün oluşumundan sorumludur. Kollajen sentezinden sorumlu hücreler ise fibroblastlardır. İmplantalara enflamatuar yanıt sonucu fibroblastlar aktifleşir ve kollajen depolanması başlar. Dolayısıyla enflamatuar yanıtı ve fibroblastların metabolizmasını hedefleyen ilaçlar, vücudun istenmeyen bölgelerinde gereksiz kollajen birikimini-implant çevresi kapsül oluşumunu engelleyebilir (1).

Meme protezi ile ilişkili ileri düzey komplikasyonlar ise meme BIA-ALCL, BII, BIA-SCC ve meme implantı ile ilişkili ALCL dışı lenfomalar (Diffüz büyük B hücreli lenfoma-DLBCL ve s.) şeklinde özetlenebilir. Bunlar yeni hastalıklar olup, aralarında en bilineni BIA-ALCL'dir. Kapsül ile benzer mekanizmayla ortaya çıktığı düşünülen anaplastik büyük hücreli lenfoma (ALCL), CD30+ ve anaplastik lenfoma kinaz (ALK) negatif olan çok nadir bir meme implantı ile ilişkili T hücreli lenfomadır (150-152). BIA-ALCL'nin etiopatogenezi henüz tam olarak belli değildir. Ama oluşumuna dair bazı hipotezler vardır ki; bunlar genelde kapsül oluşumu teorileriyle benzerdir. Bunlar arasında en çok inanılan BIA-ALCL'nin implant yüzeyinde biyofilm tabaka oluşturan bakterilerin kronik stimülasyonu sayesinde T hücreli immün yanıtın şiddetlenmesi sonucunda geliştiği bilgisidir (153). İlk tanımlandığından bugüne kadar dünyada 949 BIA-ALCL olgusu bildirildi (154). Önceki çalışmalar, BIA-ALC riskini 300.000 meme implantında 1 olarak bildirmekteydi. BIA-ALCL insidansı güncel bilgilere göre meme implantları bulunan 2.969 kadından 1'i ile meme rekonstrüksiyonu sonrası pürüklü yüzey implantlar ile meme rekonstrüksiyonu yapılmış 355 kadından 1'i arasında değişmektedir (154). Bununla birlikte, Avustralya ve Yeni Zelanda BIA-ALCL vakalarını içeren kohortundan elde edilen son veriler, pürüklü yüzey implantların daha yüksek risk taşıdığını tahmin etmektedir (155). Meme büyütme ameliyatı gerçekleştirilmiş hastaların silikon implant kapsüllerinde spesifik T-lenfosit proliferasyonuna ilişkin birçok rapor bulunmaktadır (156-158). Kapsül içerisindeki T hücreleri ağırlıklı olarak IL-17, IL-6, IL-8, TGF- β 1 ve IFN-gamma üretir, bu durumda Th1/Th17 ağırlıklı bir lokal bağışıklık yanıtı uyarılmış olur (159).

BII ise meme implantı iştirakli ameliyatlardan sonra herhangi bir zaman diliminde ortaya çıkabilir. İmplantın neden olduğu ektramammaryan sistemik hastalık olup yorgunluk, halsizlik, kognitif sorunlar, artralji ve oküler problemlerle kendini belli eder. Bu hastalığın implant uygulama sonrası yüksek inflamatuvar sürecin gelişimiyle ilgili olduğu düşünülmektedir (160,161). Ayrıca Metzinger ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif çalışmada 2016 ve 2020 senelerini kapsayan süreçte BII bulguları gelişen 200 hastanın analizi sonucu hastaların tamamında Baker evre 3 ve 4 kapsül kontraktürü aşkarlanmıştır ve hastalar meme implantının çıkarılması ve total kapsülektomi gerçekleştirilerek tedavi edilmiştir (162).

Memenin kanserleri arasında primer SCC'si nadir görülen hastalıktır, agresif seyretmektedir (163-165). BIA-SCC imeme kapsülünden gelişerek BIA-ALCL

benzeri memede ağrı, eritem, hassasiyet, ödem ve sertlik gibi bulgularla kendini gösterir. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi 8 Eylül 2022 tarihinde meme implantlarının çevresindeki kapsülde geliştiği raporlanan, Yassı hücreli karsinomlar ve BIA-ALCL dışı lenfomalar hakkında bir güvenlik bildirisi yayınlamış, literatüre yansımış olan ortalama 20 SCC ve 30 çeşitli lenfoma vakasının mevcudluğunu tekrar vurguladı (166). Goldberg ve arkadaşlarının sunmuş olduğu 2 BIA-SCC olgusunda ameliyat sırasında kalın ve kalsifiye kapsül ile karşılaştıklarını belirtmektedirler. Bu hastalık meme implantının kronik iritasyonu ve enflamasyonu sonucu kapsülde skuamöz metaplazi gelişen kapsüller malignitedir (167). Özellikle fibröz kapsül üzerinde miyofibroblastların çizgi şeklinde toplanmış bulunmakta olduğunu gösteren çalışmalar vardır (168.)

Bütün bunlara dayanarak meme protezi uygulanmış hastalarda inflamasyonun baskılanması, kapsül oluşumunun ve kapsül kontraktürünün engellenmesi ileri dönemde BIA-ALCL ve implant ilişkili diğer lenfomaların (DLBCL ve s.), BII, BIA-SCC'nin oluşumunun da belli oranda engellenebileceği anlamına geldiğini vurgulayabiliriz.

Kapsül kontraktürünü engellemeye yönelik senelerdir çeşitli yöntemler, ajanlar denenmiştir. Bunlar sistemik ilaçlar, topikal ajanlar, materyaller olarak sınıflandırılabilir (Tablo 5.1) (64). Ayrıca implant yüzeylerinin de teknolojik olarak geliştirilmesi sırf bu amaçla ortaya çıkmıştır.

Tablo 5.1 : İmplant ile ilişkili kapsül kontraktürünü ve yabancı cisim reaksiyonunu azaltmak için uygulanan teknikler (64).

Metod	Subtip
Sistemik ilaçlar	Antibiyotikler (169,170) Lökotrien antagonistleri (45,74-81) Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (202) Antifibrotikler (66,171) Kolşisin (65) Vitamin E (67,68) Sentetik triptofan metaboliti (69)
	Antiadhezyon ajanları (2,71) Antibiyotikler (72,73) Lökotrien antagonistleri (2,3) Steroidler (82-84) Povidon İyot (70,212) 5-Flüorourasil (1)

Topikal uygulamalar	<p>Onabotulinum toksin tip A (85,86) Hyaluronidaz (172,173) Mitomisin C (174) Kollajenaz (142) Sentetik triptofan metaboliti (175) Halofuginon (176) Kolşisin (241) Vitamin E (177) Kroton yağı (177) Nikotin (178) Medikal kitosan (251)</p>
Materyeller	<p>Otolog doku ile kombinasyon (131,179,180,186,187) Asellüler dermal matriks ile kombinasyon (234,181-183)</p>
Yüzey tipleri	<p>Düz ve pürtüklü yüzeyler (88,155,184-191) Nano-mikro modifikasyonlar (192-201)</p>

İmplant iştirakli operasyonlarda kullanılan sistemik ilaçlar denince akla ilk gelenler antibiyotiklerdir. Protez enfeksiyonu, yüzeysel selülit gibi hafif tablolarla, kronik yaralara, implant başarısızlığına ve yaşamı tehdit eden sepsis de dahil olmak üzere şiddetli komplikasyonlara yol açabilir. Meme implantlarına bağlı gelişen enfeksiyon, kalıcı biyofilm tabakası ve kapsüller kontraktür gelişimine, kaburga osteomyelitine neden olabilir. Kapsül kontraktürünün biyofilm zemininde gelişmesi teorisini destekleyenler için antibiyotik profilaksisi özel önem taşımaktadır. Antibiyotik türü açısından, yaygın olarak önerilen antibiyotikler arasında intravenöz birinci veya ikinci kuşak sefalosporin bulunur. Bu, cerrahi cilt insizyonundan 30-60 dakika önce uygulanmalı ve hastane protokolüne göre belli süre aralıkları ile tekrar uygulanmalıdır. β -laktam antibiyotiklere alerjisi olan hastalarda, klindamisin gibi geniş spektruma sahip β -laktam olmayan bir antibiyotik önerilir. Ancak, hala meme implantı uygulaması için antibiyotik profilaksisine dair rutin uygulanacak bir protokol bilinmemektedir.

Sistemik lökotrien antagonistleri ilk kez 2002 yılında klinik kullanıma başlamıştır. Montelukast ve Zafirlukast'ın bu etkisinin TGF- β 1 üzerindeki antagonist etkisiyle gerçekleştirildiği düşünülmektedir. Lökotrien antagonistlerinin farmakolojik etkisi, sisteinil-lökotrien reseptörü tip 1 (Cys-LT1) ile bağlanmanması ile ilişkilidir. Çünkü sisteinil-lökotrienler, fibroblast proliferasyonu ve fibrozis ile sonuçlanan TGF- β 1

üretimini kolaylaştırır. Bu yüzden Cys-LT1 reseptör antagonistlerinin fibroblast yeniden şekillenmesini ve fibrozisi engellediği düşünülmektedir (45,74-81).

Sistemik ilaç kullanımı ile ilgili yapılan çalışmaların birinde anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü Enalapril'in fibrotik mediatörlerin, TGF- β 1, inflamatuvar belirteçlerin, ED1'e (CD68) ve kollajen III'e karşı monoklonal antikörlerin sentezini baskılayıcı ve dolayısıyla periprostetik fibrozis gelişimini engelleyici etkisi olduğu bildirildi (202).

Pirfenidon (PFD) çeşitli inflamatuvar sitokinleri modüle eden ve birçok fibrotik hastalığın önlenmesinde ve gerilemesinde umut verici etkileri olan geniş spektrumlu bir anti-fibrotik ajandır. 2008'de yapılan çalışmada bu etkilerinden dolayı meme implantı çevresinde kapsül gelişimi üzerine etkisini araştırıldı. PFD ile tedavi edilen gruptaki toplam kolajen içeriği, TGF- β ve kollajen 1 genlerinin ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük izlenmiştir. Bu çalışma 6 ay boyunca günde 1800 mg oral PFD uygulanarak yürütülmüştür. Bu süreçte ışığa duyarlılık, döküntü ve kaşıntı hissi, bulantı, ishal ve karın rahatsızlığı gibi yan etkiler bildirilmiştir (66).

Gut tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaç olan oral kolşisinin hayvan modelinde kapsüler kontraktür şiddetini azalttığını gösteren bir çalışma vardır (65). Kolşisin sitoskeletal proteine bağlanarak mikrotübül polimerizasyonunun bozulması yoluyla hücre göçünü ve proliferasyonunu, dolayısıyla inflamasyonu inhibe eder (203). Lakin kolşisinin kullanımını sınırlayan ishal ve kusma gibi gastrointestinal rahatsızlıklara yol açan yan etkileri mevcut (204).

E Vitamini, hücreleri serbest radikallerin zararlarından koruyan, peroksit birikimini engelleyen, biyolojik zarların stabilitesine ve bütünlüğüne katkıda bulunan yağda çözünen bir antioksidandır. Bazı inflamatuvar hastalıklar üzerinde faydalı etkilerinin olduğu bilinmektedir (205-207). Bu bilgiye dayanarak, E vitamininin erken uygulanmasının, protez çevresi oluşan kapsül kontraktürü üzerine etkisi araştırıldı. Çalışma sonucu Vitamin E'nin silikon implant çevresinde oluşan sferik kontraksiyon insidansını azalttığı anlaşıldı. Protez ile meme büyütme ameliyatı planlanan hastalara Vitamin E'nin tavsiye edilen dozajı 1000 IU olacak şekilde günde iki kez, cerrahiden 1 hafta önce başlanması ve iki yıl boyunca tedaviye devam edilmesidir (67).

Sentetik triptofan metaboliti olan Tranilast (3',4'-Dimethoxyycinnamoyl), bronşiyal astım, keloid ve hipertrofik skar tedavisinde kullanılmaktadır. Tranilast'ın antiproliferatif özellikleri, 1980'lerin sonlarında, Tranilast'ın in vitro fibroblast

proliferasyonu üzerinde inhibitör bir etki yarattığı ve hem in vitro hem de in vivo olarak kollajen üretimini baskıladığı bulunduğunda keşfedildi (208,209). Tranilast'ın antiproliferatif potansiyelinin keşfi, Tranilast'ın etki mekanizmasını anlamaya yönelik ek çalışmalara yol açtı ve böylece hücre proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkisini ortaya çıkardı. Bu etki esas olarak Tranilast'ın fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşmasına müdahale etme kapasitesine bağlıdır (210,211). Bu bilgilere dayanarak Kang ve ark. çalışmalarında olan Tranilast'ın oral yoldan verilmesinin tavşan modelinde kapsül oluşumunu azalttığını bildirmiştir (69).

Topikal uygulamalar ise son zamanlarda daha çok popülerize olmuş ve çalışmalarda dikkat çekmiştir. Meme implantı ameliyatı sırasında hazırlanan poşun povidon-iyodin (70,212) ve antibiyotikli solüsyonlar ile irrije edilmesi kapsül kontraktürü riskini azalttığı gözlenmiştir (65). Ayrıca topikal antibiyotik tedavisi uygulanmayan hastalarda hem enfeksiyon hem de seroma oluşumunda belirgin artış gözlendiğinden, bazı çalışmalar estetik meme ameliyatlarında topikal antibiyotik kullanımını da desteklemektedir (73).

Canter ve ark. sitotoksik kemoterapötik ajan olarak kullanılan 5-florourasil'in hücresel metabolizmayı azaltması ve daha düşük konsantrasyonlarda protein sentezini bloke etmesi etkisine dayanarak, ajanı jelatin blok gibi yavaş salınan taşıyıcılara yükleyerek silikon meme implantlarının çevresinde kapsül oluşumuna etkisini araştırdı. Uygun taşıyıcılar vasıtasıyla ve optimal dozlarda 5 florourasil'in kullanılması inflamatuvar yanıtı baskılayarak, implant çevresi kapsül oluşumunu engelleyebileceğini savunmaktalar (1).

Diğer bir antitümör ajan olan ve antibiyotik olarak kullanılan ilaç Mitomisin C, çift sarmal çapraz bağlamanın fonksiyonel alkilasyonu yoluyla DNA sentezini ve ayrıca RNA ve protein sentezini inhibe edebilir. Bu nedenle mitomisin C'nin topikal uygulaması fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini önleyebilir. Bu etkilerinden dolayı topikal olarak glokom filtreleme cerrahisinde başarıyla kullanılmaktadır (213). Meme protezi çevresinde oluşan kapsül üzerine etkisi dikkat çekmiş olup, deney hayvanlarında oluşturulan poşa silikon yerleştirilmesiyle Mitomisin C kullanılması kapsül kalınlığını azalttığını gösteren çalışmalar vardır. Bu ajanın yan etkileri rapor edilmemiştir (214).

Başka bir deneysel çalışmada, TGF- β 1 inhibitör peptid kullanılıp, silikon implantlar tetragliserol dipalmitat içeren özel içerikli solusyon içinde bekletilmiş deneysel model oluşturulmasının ardından aynı etkilerin ortaya çıktığı gösterilmiştir (215).

Topikal uygulamalar dışında, implantın çevresinin kaplanarak yapılan uygulamalar mevcuttur. Vacanti implantların silikon yerine PHEMA (poly-2-hidroksietil metakrilat) ile kaplanmasının kapsül kalınlığının azaltacağını ve kapsül kontraktürünü engelleyeceğini bildirmiştir (216).

Ewa Komorowska-Timek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *AlloDerm SELECT*TM Rejeneratif Doku Matriksi ile silikon etrafı sarılan implantlarda kapsül gelişiminin yavaşladığını ve protez ekspozisyon oranlarının azaldığını bildirmişlerdir (217).

Botulinum Toksin A'nın meme implantının stabilizasyonu ve kapsül oluşumu üzerindeki etkilerini Irkören ve ark. bir tavşan modelinde araştırmış ve kapsül kalınlığının azaldığı kanaatine varmıştır. Klinik çalışmalarda Onabotulinum toksin A pektoralis majör, serratus anterior ve rektus abdominis kaslarına enjekte edilmesinin ameliyatın rekonstrüktif fazı sırasında doku genişleticisinden gelen ağrıyı başarıyla azalttığını gösterilmiştir (218).

Klasik implant uygulaması ile implantı örten yumuşak dokuya otolog yağ grefti uygulamaları da giderek ön plana çıkmaktadır. Bu kombine uygulamanın sinerjik sonuç elde etmede faydalı olduğu, kapsül kontraktürü dahil olmak üzere postoperatif komplikasyon insidansını azalttığını gösterilmiştir (125,219,220). Aynı zamanda kapsül kontraktürünün azaltılması için implant yüzeylerinin YDKKH ile kaplanmasını araştıran ve olumlu sonuçlar elde edilen çalışma mevcuttur. Sutthiwanjampa ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada polidimetilsiloksan (PDMS) veya itakonik asit (IA) ile konjuge PDMS yüzeyleri YDKKH ile kaplanarak PDMS yüzeyindeki kapsüller kontraktürü azaltmak, biyoyumluluklarını belirlemek için incelenmiştir. *In vitro* hücre sitotoksitesite değerlendirmesi, IA-PDMS üzerindeki YDKKH'lerin, PDMS üzerindeki YDKKH'lerden daha yüksek hücre canlılığı sergilediğini gösterdi. Çalışmada kapsül dokusundan mRNA'yı ekstrakte ederek yabancı cisimlere karşı gelişen reaksiyonlarıyla ilgili genlerin ekspresyon seviyelerini karşılaştırıldı. Genler hücre dışı matris (ECM) struktural genleri (α -düz kas aktin [SMA], kolajen 1 alfa 1 [COL1A1] ve kolajen 3 alfa 1 [COL3A1]), inflamasyon (tümör nekroz faktörü [TNF]-

α , interleukin [IL]-1 β ve IL-6), transforming growth factor [TGF]- β sinyali [(TGF- β 1 ve SMAD3) ve M2 makrofaj polarizasyonu ile ilgili genler (IL-13 ve CCL2) olacak şekilde 4 grup araştırıldı. Kapsül kalınlığı ise kollajen dansitesine göre hesaplandı (221). Bizim çalışmamızda ise yabancı cisim reaksiyonu ile ilgili genler değil, bahsedilen genlerin sentezine neden olan sitokin ve mediatörlerin oranları karşılaştırıldı. Özellikle α -SMA, TGF- β , kolajen dansitesi ve miyofibroblast oranlarında benzer sonuçlar elde edildi. ACCM ve YDDKH ile muamele edilen gruplarda daha düşük inflamatuvar yanıt, daha ince kapsül oluşumu izlendi. Çalışmamız yukarıda belirtilen parametrelerin ACCM ile muamele edilen deneylerde değerlendirilmesini gerçekleştiren ilk araştırmadır. Üstelik çalışma sonuçlarımızda ACCM ile daha iyi etkilerin ortaya çıktığı ve YDKKH kombine uygulanmasının ise daha etkin sonuçlara neden olduğu saptandı.

Doku hasarına fetal yanıtın fibrozis ve skar oluşumu olmadan yara iyileşmesi olduğu için amniyon sıvısının yara iyileşmesi, fibrozis ve kapsül oluşumu üzerine etkisi araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Çalışmalarda silikon implant etrafına amniyon sıvısı enjeksiyonu sonucu kapsül kalınlığı ve hücrel içeriğin azaldığı gösterilmiştir (4,43). Bunun tam olarak hangi mekanizmayla gerçekleştiği bilinmemekle beraber, varsayılan neden amniyon sıvısı içerisinde HA oranının yüksek olmasıyla ilişkili olduğu düşüncesidir. Yüksek konsantrasyonlarda HA, HASA ve diğer faktörleri içeren insan amniyotik sıvısı mononükleer fagositlerin ve lenfositlerin aktivitesini inhibe ederek skar oluşumunu azaltıyor (222). İnsan amniyotik sıvısı, gebeliğin ikinci trimesterinde yüksek konsantrasyonlarda yüksek moleküler ağırlıklı HA içerir (223-225). Bu yüzden Karaçal ve ark. çalışmalarında ikinci trimesterde amniyon sıvısı elde etmeyi tercih etmiştir (4). Amniyon sıvısı HA'ya ek olarak endojen HA üretimini artırmak için yarayı uyaran HASA'yı içerir (8,139-141). Bu nedenle amniyon sıvısı uygulama bölgesinde hem endojen hem de eksojen HA'yı artıracaktır. Bu da amniyon sıvısı ile tedavi edilen grupta gözlenen minimal kapsül oluşumunu açıklayacaktır. Hamile sıçanlardan yeterli miktarlarda amniyotik sıvı (her implant için 2 ml) elde etmek zor olacağından, sıçanların kendi amniyotik sıvısı değil insan amniyon sıvısı kullanılmıştır. Çalışmada insan amniyotik sıvısının, donörlerin kan yoluyla bulaşan patojenler açısından önceden değerlendirilmesi şartıyla, ticari olarak pazarlanabilir ve immün reaksiyon riski olmaksızın bir allogreft olarak kullanılabilirliği savunulmaktadır.

Rejeneratif tıpta çok geniş kullanılan amniyon sıvısı kökenli kök hücrelerin klinik olarak kullanımı için, yeterli sayıda hücre elde etmek için *in vitro* şartlarda çoğaltılması gerekmektedir. Bunun için ise kültür eldesi için optimal besin ortamı gereklidir. İnsan amniyotik sıvısı kökenli kök hücrelerin kültür eldesi için insan amniyotik sıvısı kökenli hücre kültür medyumu ACCM kullanılmaktadır. ACCM'nin fetal hücrelerde proliferatif verim sağladığını ve büyüme performansını hızlandığını gösteren çalışmalar vardır (9-11). Farklı hücre kültür medyumları farklı özelliklere sahiptir. Mezenşimal kök hücre medyumu (MSCGM), differensasyonu indüklemeyen çok sayıda mezenkimal kök hücreleri büyütmek için geliştirilmiştir. PC-1 primer hücrelerin kültürü için tasarlanmış, düşük proteinli, serumsuz bir ortamdır. RPMI-1640 (Lonza Group Ltd, Basel, İsviçre) normalde insan normal ve neoplastik lökositlerinin kültürü için kullanılır. Uygun şekilde takviye edilirse birçok hücre kültürünün büyümesini desteklemek için geniş uygulanabilirlik göstermiştir (226).

Çalışmamızda ACCM olarak amniyotik sıvı hücrelerinin ve koryon villus hücrelerinin *in vitro* kültür eldesinde kullanılan bir besin ortamı olan AmnioMax™ C-100'ü (AmnioMAX™ C-100 ve AmnioMAX™ II Complete Media, Life Technologies, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, California 92008) kullandık. AmnioMAX™ C-100 Complete Medium hücre morfolojisini iyileştirmek ve daha temiz kültürler sağlamak için antibiyotik (gentamisin), L-glutamin ve fetal sığır serumu içeren, kullanıma hazır formatta ikinci nesil bir formülasyondur.

ACCM'nin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri, fibrozisi ve enflamatuar alevlenmeyi engelleyici etkilerinin olduğunu düşünmekteyiz. Kliniğimizde trombositten zengin plazma ve ACCM deneysel olarak yapılan trakea yara iyileşmesi modelinde çalışılmış ve inflamasyonu, fibrozis ve skar oluşumunu azaltan etkileri elde edilmiştir (143). Kapsül kontraktürünün de bir aşırı yara iyileşmesi tablosu olduğuna dayanarak ACCM'nin meme implantı için kapsül kontraktürü gelişiminin önlenmesinde kullanımı araştırıldı. Literatür taramasında ACCM'nin kapsül dokusu üzerindeki etkisini araştıran herhangi bir makaleye rastlanmamıştır (2022 yılı Şubat ayında "meme" ve "implant" veya "silicon" ve "capsule" veya "capsular" ve "contracture" ve "human amniotic fluid derived stem cell culture medium" anahtar kelimelerinin birlikte kullanılması ile, "<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>" internet sitesinden PubMed veritabanını kullanarak tarama yapıldı). Aynı zamanda literatürde yağ grefti ve YDKKH uygulamalarının etkileri kapsül kontraktürü,

postoperatif komplikasyon oranını azaltıcı, antifibrotik ve antienflamatuar etkiler olarak bildirilmiştir (122,220,222). Bu sonuçlara dayanarak YDKKH ve ACCM'nin etkilerini karşılaştırmayı ve birlikte kullanımları durumundaki etkinliğini araştırmayı hedefledik.

Çalışmamızda deneysel kapsül kontraktürü oluşturulabilecek en uygun denek modeli araştırıldı. Domuz, köpek, tavşan, sıçan ve fare kullanılan çalışmaların olduğu saptandı. Ancak insan dokusuna benzerliği, denek üretimi ve uygulamanın kolay olması nedeniyle kapsül kontraktürü deneysel çalışmalarında sıçanların daha çok tercih edildiğini belirledik (66,227-229). Kolay üretilebilmeleri ve bakımlarının kolay olması nedeniyle Sprague-Dawley cinsi sıçanlar tercih edildi.

Literatürde daha önce yapılan kapsül kontraktürü çalışmaları örnek alınarak denek sayıları ve çalışma süresi belirlendi (66,227-229). Power analiz sonucunda her grup 6 denekten oluşturuldu. Çalışmada bakılan denek sayısı makroskopik, histopatolojik ve biyokimyasal araştırma için yeterli miktardadır.

Literatürde yapılan çalışmaların bazılarında kısa takip süresinin (15-30 gün), bazılarında ise uzun takip süresinin (90 gün) daha doğru olduğu ileri sürülmüştür (202,227,228). Sıçanlarda kapsül kontraktürünü gösterebilmek ve insandakine benzer klinik ve histolojik belirtileri elde etmek için 60 gün yeterli bir süre olarak tanımlanmıştır (66,229,230).

İmplant çevresinde kapsül oluşumu 4-6. haftalarda belirgin hale gelip, 9-12. aylarda stabil bir yapı kazanmaktadır. Kapsül kontraktürlerinin %92'si implantasyondan sonraki ilk 12 ayda ortaya çıkar. Sıçanlar için 1 ayın insan yaşamında yaklaşık 1,1 yıla denk geldiği kabul edilmektedir. Bu sonuç sıçanların yaşam döngüsün 2-3 yıl arasında olduğu, ameliyat sonrası iyileşme sürecinin diğer memelilere göre daha hızlı olması gibi özellikleri gözönüne alınarak hesaplanmıştır (231). Bu bilgiler göz önünde bulundurularak ve literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumlu olarak çalışmamızdaki kapsül oluşması için beklenen süre 60 gün olarak belirlendi (66). Başka bir ifadeyle, 60 günlük süre ile insanda meme protezi uygulaması sırasında ACCM infiltrasyonu sonrası yaklaşık 2 yıllık dönemde kapsül kontraktürü sorgulanması amaçlandı.

Kapsül kontraktürü oluşturma modeli ile ilgili literatürde implant olarak kullanım için tarif edilmiş birçok yöntem mevcuttur:

Adams ve ark. tavşan modelinde kapsül kalınlığı ile kapsül kontraktürünün şiddeti arasındaki ilişkiyi araştırmak için salin implantlar ile birlikte fibrin yapıştırıcı kullanmışlardır (232). Bir diğer çalışmada ise Olbrich ve ark. halofuginonun kapsül kontraktürü üzerine etkisini araştırmak için polikarbonat silastik disk kullanmışlardır (233). Bazı çalışmalarda pürtüklü düz ve poliüretan ile kaplı silikon mini-implant kullanılmıştır (66,216-218). Aselüler dermal matriksin (ADM) kapsül kontraktürünün engellemesindeki rolünü araştırmak için testiküler implantın kullanıldığı çalışma da vardır (234).

Çalışmamızda maliyet düşürülmesi ve kolay bulunması nedeni ile literatürde yayınlanan çalışmalara benzer bir şekilde salin doku genişleticilerin siltex yüzeyli tabanlarından kare şeklinde kesilerek hazırlanmış silikon implantlar kullanıldı.

Çalışmamızda kullandığımız ACCM'nin dozu 0.5 cc olarak planlandı. Bu miktarın silikon blokun hacmi ile uyumlu olduğunu ve bloğu çevrelemek için yeterli olduğunu gözlemlendi. Çalışmamızda kapsül oluşumunu uyarmak amacıyla ek bir ajan kullanılmadı.

Silikon bloklar pannikulus karnozus kası altına yerleştirildi. Bu kas bazı memelilerin sırt bölgesinde bulunan ve sırt derisine yapışan ince bir kas tabakasıdır. Bu yüzden çalışmamızda oluşturduğumuz modellerde implantlar kasaltı planda yerleştirilmiştir.

Literatürde benzer çalışmalarda kapsül dokusunu histolojik olarak değerlendirmek için kapsül kalınlığı, enflamasyon, vasküler proliferasyon ve fibrozis şiddeti incelenmiştir. Buna ek olarak bazı çalışmalarda immünohistokimyasal testler yapılmıştır (Örn. Anti-VEGF, anti- α -SMA, anti-TGF- β gibi). Bazı çalışmalarda silikon içi basınç ölçümü ile de kapsül kontraktürü değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda makroskopik detaylara ek olarak inflamasyon, fibrozis gradienti değerlendirildi.

İnflamasyon evresi yara iyileşme sürecinin olmazsa olmaz basamağıdır. Yaradaki yüksek bakteriyel yük, tekrarlayan travma ve kalıcı yabancı cisimler bu basamağı uzatarak kronik yara ve skar oluşumuna neden olurlar. Kemirgenlerde yapılan deneysel çalışmalarda implanta karşı oluşan inflamatuvar yanıtın önemi tartışılmıştır. İmplant etrafında oluşan granülasyon dokusu konulan yabancı cisimin özellikleri ile dokunun gösterdiği reaksiyon arasındaki etkileşim olarak ortaya çıkmaktadır.

İmplantın şekli, fiziksel durumu, implant yüzeyi ve kimyasal özellikleri vücudun geliştirdiği hücrel reaksiyonun tipi ve yoğunluğunu etkileyen önemli faktörlerdir.

ACCM (AmnioMax™ C-100) yara iyileşmesinin hem rejeneratif hem de antiinflamatuvar aşamasında görev alan mezenşimal/stromal kök hücre yanıtını güçlendirmektedir. Bunun yanısıra enflamasyonu hızlandıran (IL-1 β , IL-6) bir sıra fibrojenik sitokinlerin sentezini de minimal seviyelerde tutulmasını sağlamaktadır (143). Daha az enflamasyon ise daha fizyolojik iyileşme demektir. Bu sitokinler aynı zamanda fibroblastların farklılaşmasını hızlandırdığı için, minimal düzeyde bulunmaları durumunda fibrozis ile iyileşme dönemindeki fibrozis gelişimi engellemiş olmaktadır (235). Çalışmamızda ACCM grubunda en düşük immünreaktivite düzeyi izlenmesini de bu etkiler ile açıklaya bilmekteyiz. YDKKH'in büyüme faktörleri salgılayarak, hangi sinyal yoluyla olduğu net olarak anlaşılmasına rağmen travmatik dokuda fibroblastların genel davranış modelini değiştirerek engellediği gösterilmiştir. Biz de çalışmamızda ACCM'nin kapsül kontraktürü üzerine izole etkisinin yanı sıra YDKKH ile birlikte sinerjik etkisinin ve YDKKH'nin kapsül kontraktürü üzerine izole etkilerinin birlikte kıyaslamasını gerçekleştirdik. Biyokimyasal parametreleri hem serum hem doku üzerinde değerlendirdik.

Yukarda bahsettiğimiz gibi, kapsül oluşumunda kollajen sentezini gerçekleştiren fibroblastlar büyük önem taşımaktadır. Miyofibroblastlar, yara iyileşmesinde aktif rol oynayan ve genellikle kapsül morfolojisinde rapor edilen kontraktil fibroblastlardır. Bunlar fibroblastlardan farklılaşan hücrelerdir. Fibroblastlar önce sınırlı kontraktileteye sahip protomiyofibroblastlara ve daha sonra büyük kasılma yeteneğine sahip farklılaşmış miyofibroblastlara dönüşür (236). Bu hücrelerin miktarca az olması kapsül kalınlığının ve kapsül kontraktürünün daha az olduğunu göstermektedir. Farklılaşmış miyofibroblastlar için bir belirteç olan α -SMA'nın immünopozitif boyanması (237-239) Hwang ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçlarıyla uyumlu olarak, miyofibroblastların kapsül yüzeyine yakın yerleştiğini gösterdi (63). Kontrakte olmuş kapsüllerde kontrakte olmamış kapsüllere kıyasla önemli ölçüde immünopozitif izlenmesi, miyofibroblastların kapsül kontraktürde aktif rol oynadığı hipotezi ile uyumludur (63,236). Bui ve ark. ise implantların çevresinde oluşturulan tüm kapsüllerde pozitif α -SMA immünoreaktivitesinin olmadığını bildirdi. Ancak, bu yazarların araştırmayı insanlar üzerinde değil, sıçanlar üzerinde gerçekleştirdiğini vurgulamak gereklidir (240). Protez çevresi kapsül oluşumunu engellemeye yönelik

birçok deneysel çalışmada kapsül kalınlığı, kontraktürünün değerlendirilmesi için α -SMA miktarına bakılmıştır (66,71,241). Bizim de çalışmamızda miyofibroblastların belirteci olan alfa-düz kas aktin (α -SMA) miktarı Kombine grupta (ACCM+YDKKH) en düşük düzeyde izlenmiş olarak Kombine grupta diğer gruplara göre daha az kapsül kontraktürü geliştiğini göstermektedir.

TGF- β 1 ve TGF- β 2, IL-2 düzeylerinin hem serum hem de doku örneklerinde anlamlı düzeyde Kombine grupta düşük çıkması büyük önem taşımaktadır. Şöyle ki, TGF- β izomerlerinden TGF- β 1 daha fazla olmak üzere hem TGF- β 1, hem de TGF- β 2 inflamatuvar hücrelerin ve fibroblastların aktivasyonu ile fibrozisin gelişiminde-periprostetik kapsül oluşumunda esas rol oynayan sitokinlerdir (241). Bu inflamatuvar süreç bir dizi sitokin aktivasyonu ile tetiklenir ve TGF- β 1 bu kaskad için ana anahtar görevi görür, monositlerin ve makrofajların fibroblastlara dönüşümünde görev alır (242,243). İnflamatuvar yanıtı spesifik olan IL-2 düzeyinin de Kombine grupta düşük izlenmesi, inflamasyonun daha zayıf olduğunu göstermektedir. Daha az inflamasyon ise daha az fibroz doku gelişimi-daha ince kapsül oluşumuyla sonuçlanmaktadır.

Ekstraselüler matriksin bütünlüğü, ECM bileşenlerinin sentezi ve parçalanmasından oluşan denge ile korunmaktadır. Bu denge MMP'lar ve bunların inhibitörlerinin (TIMP'lar) aktivitesini içeren hücre dışı proteolitik sistemin işleyişi ile kontrol edilmektedir (244). TIMP aktivitesinin yetersiz, MMP'lerin aktivitesinin ise yüksek olması sonucunda kronik yaralar gelişir. Tam tersi olan durumlarda yani, MMP'ların aktivitesinin düşük, TIMP'ların aktivitesinin yüksek olduğu durumlarda ise ciddi fibroproliferatif bozukluklar gözlemlenebilir (243-249). Ulrich ve ark. MMP/TIMP oranında azalmanın fibrozise yolaçabilme bilgisine dayanarak, pürtüksüz ve pürtüklü yüzey implantların çevresinde oluşan kapsül örneklerinde bu enzimlerin oranlarının kıyaslamasını gerçekleştirdi. Çalışmalarının sonucuna göre pürtüksüz yüzeye sahip implantlarda, pürtüklü yüzeye sahip implantlara göre daha fazla kapsül kontraksiyonuyla karşılaşılmasının sebebi pürtüksüz yüzey implantların çevresinde oluşan kapsül örneklerinde daha düşük MMP/TIMP oranlarının izlenmesidir (250). Bu bilgilere dayanarak Li ve ark. medikal kitosan uygulamasının meme implantı çevresinde kapsül oluşumuna etkisini araştırırken gruplar arasında TIMP ve MMP düzeylerinin kıyaslamasını gerçekleştirdi. Bu çalışmada, medikal kitosanın TIMP'lerin ekspresyonunu inhibe ederek kapsül kalınlığını azalttığı için deney gruplarında TIMP düzeyleri düşük oranda, kapsül kalınlığı ise daha ince izlendi (251).

Bizim çalışmamızda ECM'nin yıkılmasından sorumlu enzim olan MMP-2 düzeyi Kombine grubun hem serum hem doku örneklerinde yüksek izlenip, serumdaki düzeyi istatistiksel açıdan önem taşımaktadır. Bu enzimin inhibisyonunu sağlayan TIMP-1 ve TIMP-2 düzeyi ise korele şekilde Kombine grubun serum ve doku örneklerinde düşük izlenerek, serumdaki düzeyi istatistiksel anlam taşımaktadır.

Çalışmamızda oksidatif stres düzeyini gösteren belirteç olan, oksidatif stres indeksi (OSI) seviyesi ve TOS düzeyi Kombine grupta diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çalışmamızın biyokimyasal sonuçları ile histolojik analiz sonuçları uyumlu olup, Kombine grupta inflamatuvar ve fibrotik sitokin ve mediatörlerin oranının diğer tüm gruplardan daha düşük olmasıyla sonuçlandı. Bu sonuçlar korele bir şekilde histolojik analizlerimize de yansdı ve histolojik değerlendirmelerimiz immünreaktivite düzeyinin en düşük izlendiği, en az miyofibroblast birikimi izlenen grubun Kombine grup olduğunu gösterdi. Kombine grupta izole ACCM ve izole YDKKH grubuna göre daha kapsül kontraktürü azaltıcı etkilerin alınması, ACCM ve YDKKH'nin additif etkilerinin sonucudur.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları mevcuttur: Çalışmamızda kapsül değerlendirmesi içine kapsüler yapılarda bulunan kollajen düzeylerinin tayini yapılmamıştır. Kadınlardaki 15 senelik bir süreyi simüle etmek için sıçanda 9 aylık takip süresi gerekmektedir (230), dolayısıyla çalışmamız geç uzun dönem sonuçları ile ilgili bilgi verememektedir. Vaskülarizasyon değerlendirmesi için immünokimyasal belirteçlere bakılmadığından, kapsüler yapılarda vaskülarizasyon ile ilgili bilgi verilmemiştir. Çalışmamızda radyolojik görüntüleme yöntemlerine başvurularak kapsül kalınlıklarının ölçümlerinin rakamsal kıyaslaması yapılmamıştır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Estetik operasyonların yanı sıra, alloplastik meme rekonstrüksiyonunda da standart bir yöntem olan implant ile meme rekonstrüksiyonu da günümüzde yaygın olarak gerçekleştirilmektedir. Sağlıklı bireylerde dahi kapsül kontraktürü, implant ekspozisyonu ve yetersiz estetik görünüm gibi komplikasyonlara raslanılmaktadır.

Çalışmamızda meme implantı uygulanan olgularda eş zamanlı ACCM kullanımı durumunda ortaya çıkan kapsül kontraktürü oluşumu kıyaslaması yapıldı. Deneysel ortamda bir silikon bloğun sıçan sırtına konulması için hazırlanan cep içerisine eş zamanlı ACCM enjeksiyonu yapılmasının protez çevresi kapsül oluşumunu, kapsül kontraktürünü azalttığı ve bu etkisinin YDKKH ile kombinasyonu sonucu daha güçlü olduğu gösterildi.

Literatürde kapsül kontraktürünü önlemeye ve azaltmaya yönelik birçok çalışma mevcuttur. Ancak çalışmamız, bildiğimiz kadarıyla, ACCM'nin kapsül dokusu üzerindeki etkisini araştıran ilk deneysel çalışmadır.

İnflamatuar kaskad için ana anahtar görevi gören TGF- β 1, fibroze, kapsül gelişiminde önemli görev alan diğer bir izomer TGF- β 2, inflammatuar süreçte Th1 ve Th2 efektör hücrelerinin üretimini sağlayan inflammatuar sitokin IL-2 oranı Kombine grubun hem serum hem de doku örneklerinde anlamlı düzeyde düşük tespit edilmiştir.

Oksidatif stres düzeyini gösteren belirteçler olan TAS, TOS ve bu belirteçlerin indeksi olarak hesaplanan OSI seviyesi Kombine grupta diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Ekstrasellüler matriks proteinlerini metabolize ederek fibrozis gelişimini azaltan enzim grubundan olan MMP-2 oranı Kombine grubun serum örneklerinde anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi.

MMP enzim gruplarının aktivitesini inhibe eden TIMP-1 ve TIMP-2 enzimlerinin düzeyleri Kombine grubun serum örneklerinde diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Miyofibroblastların yoğunlaşmasını işaret eden alfa-düz kas aktini (α -SMA) pozitif boyanması da Kombine grubun doku örneklerinde diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük izlendi. Histolojik değerlendirme sonuçlarımıza göre ACCM ve YDKKH'nin additif etkileri sayesinde immünreaktivite şiddeti açısından Kombine grubun tüm deneylerinde zayıf bulgu oluştu.

Bakılan mevcut parametrelerden yola çıkarak elde edilen sonuçlara göre, istatistiksel açıdan, Kombine grupta diğer gruplara göre inflamasyon şiddetinin, fibrozis oranının daha az olduğu ve oksidatif strese daha dayanıklı olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızın sonuçlarına dayanarak implant ile meme ögmantasyonu ve rekonstrüksiyonu yapılan hastalarda ACCM'nin inflamasyonu, fibrozis gelişimini azaltarak kapsül oluşumunu, kapsül kontraktürünü azaltabileceğini düşünüyoruz. YDKKH ile birlikte uygulanması ise bu etkileri güçlendirerek, nihayetinde daha az miyofibroblast oranına dolayısıyla daha zayıf kontraksiyon yeteneğine sahip kapsül oluşumuna neden olduğunu düşünmekteyiz.

Bu, bir hayvan modeli üzerinde yürütülen temel bir çalışmaydı. ACCM'nin kapsül kontraktürünü önlemedeki güvenliğini ve etkinliğini doğrulamak için, cerrahi uygulamalarda klinik kullanımına dair daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. Ek olarak ajanımızın implantın sağlamlığı üzerindeki etkisi de araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Canter Hİ, Konas E, Bozdogan O, Vargel I, Ozbatir B, Oner F, Erk Y. Effect of slow-release 5-Fluorouracil on capsule formation around silicone breast implants: an experimental study with mice. *Aesthetic Plast Surg.* 2007 Nov-Dec;31(6):674-9.
2. Yang JD, Kwon OH, Lee JW, Chung HY, Cho BC, Park HY, Kim TG. The effect of montelukast and antiadhesion barrier solution on the capsule formation after insertion of silicone implants in a white rat model. *Eur Surg Res.* 2013;51(3-4):146-55.
3. Kang SH, Shin KC, Kim WS, Bae TH, Kim HK, Kim MK. The preventive effect of topical zafirlukast instillation for peri-implant capsule formation in rabbits. *Arch Plast Surg.* 2015 Mar;42(2):179-85.
4. Karaçal N, Cobanoğlu U, Ambarcioğlu O, Topal U, Kutlu N. Effect of amniotic fluid on peri-implant capsular formation. *Aesthetic Plast Surg.* 2005 May-Jun;29(3):174-80.
5. Harris MC, Mennuti MT, Kline JA, Polin RA. Amniotic fluid fibronectin concentrations with advancing gestational age. *Obstet Gynecol.* 1988 Oct;72(4):593-5.
6. Merimee TJ, Grant M, Tyson JE. Insulin-like growth factors in amniotic fluid. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984 Oct;59(4):752-5.
7. Steigman SA, Ahmed A, Shanti RM, Tuan RS, Valim C, Fauza DO. Sternal repair with bone grafts engineered from amniotic mesenchymal stem cells. *J Pediatr Surg.* 2009 Jun;44(6):1120-6; discussion 1126.
8. Ozgenel GY, Filiz G, Ozcan M. Effects of human amniotic fluid on cartilage regeneration from free perichondrial grafts in rabbits. *Br J Plast Surg.* 2004 Jul;57(5):423-8.
9. Nogami M, Kimura T, Seki S, Matsui Y, Yoshida T, Koike-Soko C, Okabe M, Motomura H, Gejo R, Nikaido T. A Human Amnion-Derived Extracellular Matrix-Coated Cell-Free Scaffold for Cartilage Repair: In Vitro and In Vivo Studies. *Tissue Eng Part A.* 2016 Apr;22(7-8):680-8.
10. Ye L, Chang JC, Lin C, Sun X, Yu J, Kan YW. Induced pluripotent stem cells offer new approach to therapy in thalassemia and sickle cell anemia and option in prenatal diagnosis in genetic diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jun 16;106(24):9826-30.
11. Novakovic B, Sibson M, Ng HK, Manuelpillai U, Rakyan V, Down T, Beck S, Fournier T, Evain-Brion D, Dimitriadis E, Craig JM, Morley R, Saffery R. Placenta-specific methylation of the vitamin D 24-hydroxylase gene: implications for feedback autoregulation of active

vitamin D levels at the fetomaternal interface. *J Biol Chem.* 2009 May 29;284(22):14838-48

12. Salibian AA, Ernest S. Principles of Prosthetics in Plastic Surgery. In : Chung KC. *Grabb and Smith's Plastic Surgery.* 8th ed. Chapter 9, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health; Philadelphia. 2019;77-86
13. Cumberland VH. A preliminary report on the use of prefabricated nylon weave in the repair of ventral hernia. *Med J Aust.* 1952;1(5):143-4.
14. Oymak O. Meme protezleri ve silikon. Giriş, silikonun kimyası, protez çeşitleri, kapsül. 1992;9-11, 15-23, 31-47, 65-77 OPC, İstanbul
15. Baltimore: Williams & Wilkins; Caffee HH. Augmentation mammoplasty. In: Georgiade G, Riefkohl R, Levin LS *Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery.* 3rd ed. 1997;730-6.
16. Gregory S, Trenta L. Breast Augmentation. In: T.D Rees (Ed) *Aesthetic Plastic Surgery.* Vol: 2, Chapter 35, W.B Saunders Company. 1994; 1003-1058
17. Burkhardt BR, Dempsey PD, Schnur PL, Tofield JJ. Capsular contracture: a prospective study of the effect of local antibacterial agents. *Plast Reconstr Surg.* 1986;77(6):919-32.
18. Spear SL, Elmaraghy M, Hess C. Textured-surface saline-filled silicone breast implants for augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105(4):1542-52
19. Yager JS, Chaglassian T. Polyester as a bioimplantable material. *Ann Plast Surg.* 1998;40(5):502-5.
20. Cronin TD, Brauer RO. Augmentation mammoplasty. *Surg Clin North Am.* 1971;51(2):441-52.
21. Ashley FL. Further studies on the natural-Y breast prosthesis. *Plast Reconstr Surg.* 1972;49(4):414-9.
22. Ramachandran K. Breast augmentation. *Indian J Plast Surg.* 2008 ;41(Suppl):S41-7.
23. Gabriel A, Maxwell GP. The Evolution of Breast Implants. *Clin Plast Surg.* 2015;42(4):399-404.
24. Ersek RA, Salisbury AV. Textured surface, nonsilicone gel breast implants: four years' clinical outcome. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100(7):1729-39.
25. Hartley JH. Specific applications of the double lumen prosthesis. *Clin Plast Surg.* 1976;3(2):247-63.
26. Hakelius L, Ohlsén L. Tendency to capsular contracture around smooth and textured gel-filled silicone mammary implants: a five-year follow-up. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100(6):1566-9.
27. Filiciani S, Siemienczuk GF, Etcheverry MG. Smooth versus Textured Implants and Their Association with the Frequency of Capsular Contracture in Primary Breast Augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 2022;149(2):373-82.

28. Ashley FL. A new type of breast prosthesis. Preliminary report. *Plast Reconstr Surg.* 1970;45(5):421-4.
29. Hester TR Jr, Ford NF, Gale PJ, Hammett JL, Raymond R, Turnbull D, Frankos VH, Cohen MB. Measurement of 2,4-toluenediamine in urine and serum samples from women with Mème or Replicon breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100(5):1291-8
30. Coroneos CJ, Selber JC, Offodile AC 2nd, Butler CE, Clemens MW. US FDA Breast Implant Postapproval Studies: Long-term Outcomes in 99,993 Patients. *Ann Surg.* 2019;269(1):30-36
31. Virden CP, Dobke MK, Stein P, Parsons CL, Frank DH. Subclinical infection of the silicone breast implant surface as a possible cause of capsular contracture. *Aesthetic Plast Surg.* 1992;16(2):173-9.
32. Constantine RS, Constantine FC, Rohrich RJ. The ever-changing role of biofilms in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133(6):865e-72e.
33. Deva AK, Adams WP Jr, Vickery K. The role of bacterial biofilms in device-associated infection. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132(5):1319-28.
34. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(9):881-90.
35. Tamboto H, Vickery K, Deva AK. Subclinical (biofilm) infection causes capsular contracture in a porcine model following augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126(3):835-42.
36. Jacombs A, Tahir S, Hu H, Deva AK, Almatroudi A, Wessels WLF, Bradshaw DA, Vickery K. In vitro and in vivo investigation of the influence of implant surface on the formation of bacterial biofilm in mammary implants. *Plast Reconstr Surg.* 2014;133(4):471e-80e.
37. Adams WP Jr. Capsular contracture: what is it? What causes it? How can it be prevented and managed? *Clin Plast Surg.* 2009;36(1):119-26, vii.
38. Barr S, Hill E, Bayat A. Patterning of novel breast implant surfaces by enhancing silicone biocompatibility, using biomimetic topographies. *Eplasty.* 2010;10:e31.
39. Barton FE. Augmentation Mammoplasty. *Selected Readings in Plastic Surgery* 1994; 7: 9-10.
40. Caffee HH. The influence of silicone bleed on capsule contracture. *Ann Plast Surg.* 1986;17: 284-7.
41. Moyer HR, Ghazi BH, Losken A. The effect of silicone gel bleed on capsular contracture: a generational study. *Plast Reconstr Surg.* 2012;130(4):793-800.
42. Siggelkow W, Faridi A, Spiritus K, Klinge U, Rath W, Klosterhalfen B. Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture. *Biomaterials.* 2003;24(6):1101-9.
43. Pasyk KA, Austad ED, Cherry GW. Intracellular collagen fibers in the capsule around silicone expanders in guinea pigs. *J Surg Res.* 1984;36(2):125-33.

44. Smahel J. Histology of the capsules causing constrictive fibrosis around breast implants. *Br J Plast Surg.* 1977;30(4):324-9.
45. Scuderi N, Mazzocchi M, Fioramonti P, Bistoni G. The effects of zafirlukast on capsular contracture: preliminary report. *Aesthetic Plast Surg.* 2006;30(5):513-20.
46. Gayou RM. A histological comparison of contracted and non-contracted capsules around silicone breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 1979 ;63(5):700-7.
47. Van Rappard J.H.A. Capsule formation in controlled tissue expansion In: *Controlled tissue expansion in reconstructive surgery. Part II, Experiments in tissue expansion, Chapter 5, 1991; 52-57 SSN*
48. Prantl L. (2009). Serologic and Histologic Findings in Capsule Contracture Patients with Silicone Gel Implants. In: Shiffman, M. (eds) *Breast Augmentation.* Springer, Berlin, Heidelberg : pp 649–54.
49. Rotatori DS, Hathaway CL, Steinbach BG, Caffee HH. Noninvasive assessment of implant capsules. *Plast Reconstr Surg.* 1991;87(4):703-8.
50. Prantl L, Schreml S, Fichtner-Feigl S, Pöpl N, Eisenmann-Klein M, Schwarze H, Führtmeier B. Clinical and morphological conditions in capsular contracture formed around silicone breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(1):275-84.
51. Destouet JM, Monsees BS, Oser RF, Nemecek JR, Young VL, Pilgram TK. Screening mammography in 350 women with breast implants: prevalence and findings of implant complications. *AJR Am J Roentgenol.* 1992;159(5):973-8; discussion 979-81.
52. Gorczyca DP, DeBruhl ND, Ahn CY, Hoyt A, Sayre JW, Nudell P, McCombs M, Shaw WW, Bassett LW. Silicone breast implant ruptures in an animal model: comparison of mammography, MR imaging, US, and CT. *Radiology.* 1994;190(1):227-32
53. Leibman AJ. Imaging of complications of augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93(6):1134-40.
54. Medot M, Landis GH, McGregor CE, Gutowski KA, Foshager MC, Griffiths HJ, Cunningham BL. Effects of capsular contracture on ultrasonic screening for silicone gel breast implant rupture. *Ann Plast Surg.* 1997;39(4):337-41.
55. Caskey CI, Berg WA, Anderson ND, Sheth S, Chang BW, Hamper UM. Breast implant rupture: diagnosis with US. *Radiology.* 1994;190(3):819-23.
56. Seiler SJ, Sharma PB, Hayes JC, Ganti R, Mootz AR, Eads ED, Teotia SS, Evans WP. Multimodality Imaging-based Evaluation of Single-Lumen Silicone Breast Implants for Rupture. *Radiographics.* 2017;37(2):366-82.
57. K. Rosculet KA, Ikeda DM, Forrest ME, Oneal RM, Rubin JM, Jeffries DO, Helvie MA. Ruptured gel-filled silicone breast implants: sonographic findings in 19 cases. *AJR Am J Roentgenol.* 1992;159(4):711-6.

58. Berg WA, Caskey CI, Hamper UM, Anderson ND, Chang BW, Sheth S, Zerhouni EA, Kuhlman JE. Diagnosing breast implant rupture with MR imaging, US, and mammography. *Radiographics*. 1993;13(6):1323-36.
59. B. Andersen B, Hawtof D, Alani H, Kapetansky D. The diagnosis of ruptured breast implants. *Plast Reconstr Surg*. 1989;84(6):903-7.
60. Everson LI, Parantainen H, Detlie T, Stillman AE, Olson PN, Landis G, Foshager MC, Cunningham B, Griffiths HJ. Diagnosis of breast implant rupture: imaging findings and relative efficacies of imaging techniques. *AJR Am J Roentgenol*. 1994;163(1):57-60.
61. Gorczyca DP. MR imaging of breast implants. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 1994;2(4):659-72.
62. Paetau AA, McLaughlin SA, McNeil RB, Sternberg E, TerKonda SP, Waldorf JC, Perdakis G. Capsular contracture and possible implant rupture: is magnetic resonance imaging useful? *Plast Reconstr Surg*. 2010;125(3):830-5.
63. Hwang K, Sim HB, Huan F, Kim DJ. Myofibroblasts and capsular tissue tension in breast capsular contracture. *Aesthetic Plast Surg*. 2010;34(6):716-21.
64. Kang SH, Sutthiwanjampa C, Heo CY, Kim WS, Lee SH, Park H. Current Approaches Including Novel Nano/Microtechniques to Reduce Silicone Implant-Induced Contracture with Adverse Immune Responses. *Int J Mol Sci*. 2018;19(4):1171.
65. Hawtof DB, Kelly CB. Colchicine and capsular contracture around breast prostheses. *Eur J Plast Surg* 19, 1996: 81–83
66. Gancedo M, Ruiz-Corro L, Salazar-Montes A, Rincón AR, Armendáriz-Borunda J. Pirfenidone prevents capsular contracture after mammary implantation. *Aesthetic Plast Surg*. 2008;32(1):32-40.
67. Baker JL Jr. The effectiveness of alpha-tocopherol (vitamin E) in reducing the incidence of spherical contracture around breast implants. *Plast Reconstr Surg*. 1981;68(5):696-9.
68. Cook M, Johnson N, Zegzula HD, Schray M, Glissmeyer M, Sorenson L. Prophylactic use of pentoxifylline (Trental) and vitamin E to prevent capsular contracture after implant reconstruction in patients requiring adjuvant radiation. *Am J Surg*. 2016;211(5):854-9.
69. Kang SH, Jang SY, Ryou JH, Kim WS, Kim HK, Bae TH, Kim MK. Preventive Effect of Synthetic Tryptophan Metabolite on Silicone Breast Implant-Induced Capsule Formation. *Ann Plast Surg*. 2018;80(5):565-71.
70. Yalanis GC, Liu EW, Cheng HT. Efficacy and Safety of Povidone-Iodine Irrigation in Reducing the Risk of Capsular Contracture in Aesthetic Breast Augmentation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(4):687-98.
71. Shin KC, Chung KI, Park BY, Kim HK, Kim WS, Bae TH, Kim MK. The effect of antiadhesion agent on peri-implant capsular formation in rabbits. *Ann Plast Surg*. 2013;71(5):600-4.

72. Adams WP Jr, Rios JL, Smith SJ. Enhancing patient outcomes in aesthetic and reconstructive breast surgery using triple antibiotic breast irrigation: six-year prospective clinical study. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118(7 Suppl):46S-52S.
73. Pfeiffer P, Jørgensen S, Kristiansen TB, Jørgensen A, Hölmich LR. Protective effect of topical antibiotics in breast augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(2):629-34.
74. Schlesinger SL, Ellenbogen R, Desvigne MN, Svehlak S, Heck R. Zafirlukast (Accolate): A new treatment for capsular contracture. *Aesthet Surg J.* 2002;22(4):329-36.
75. Schlesinger SL, Desvigne MN, Ellenbogen R, Svehlak S, Heck R. Results of using zafirlukast (Accolate) and montelukast (Singulair) for treatment of capsular contracture. *Aesthet Surg J.* 2003;23(2):101-2.
76. Huang CK, Handel N. Effects of Singulair (montelukast) treatment for capsular contracture. *Aesthet Surg J.* 2010;30(3):404-8.
77. Mazzocchi M, Dessy LA, Alfano C, Scuderi N. Effects of zafirlukast on capsular contracture: long-term results. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2012;25(4):935-44.
78. Sapountzis S, Kim JH, Francescato Veiga D, Masako Ferreira L. The effect of Zafirlukast on capsule formation in post-radiation silicone implants. *Med Hypotheses.* 2012;78(6):787-9.
79. Perng DW, Wu YC, Chang KT, Wu MT, Chiou YC, Su KC, Perng RP, Lee YC. Leukotriene C4 induces TGF-beta1 production in airway epithelium via p38 kinase pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006;34(1):101-7.
80. Shimbori C, Shiota N, Okunishi H. Effects of montelukast, a cysteinyl-leukotriene type 1 receptor antagonist, on the pathogenesis of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Eur J Pharmacol.* 2011;650(1):424-30.
81. Spano A, Palmieri B, Taidelli TP, Nava MB. Reduction of capsular thickness around silicone breast implants by zafirlukast in rats. *Eur Surg Res.* 2008;41(1):8-14.
82. Moreira M, Fagundes DJ, de Jesus Simões M, Taha MO, Perez LM, Bazotte RB. The effect of liposome-delivered prednisolone on collagen density, myofibroblasts, and fibrous capsule thickness around silicone breast implants in rats. *Wound Repair Regen.* 2010;18(4):417-25.
83. Marques M, Brown S, Correia-Sá I, D S Cordeiro MN, Rodrigues-Pereira P, Gonçalves-Rodrigues A, Amarante J. The impact of triamcinolone acetonide in early breast capsule formation in a rabbit model. *Aesthetic Plast Surg.* 2012;36(4):986-94.
84. Sconfienza LM, Murolo C, Callegari S, Calabrese M, Savarino E, Santi P, Sardanelli F. Ultrasound-guided percutaneous injection of triamcinolone acetonide for treating capsular contracture in patients with augmented and reconstructed breast. *Eur Radiol.* 2011;21(3):575-81.

85. Kim S, Ahn M, Piao Y, Ha Y, Choi DK, Yi MH, Shin N, Kim DW, Oh SH. Effect of Botulinum Toxin Type A on TGF- β /Smad Pathway Signaling: Implications for Silicone-Induced Capsule Formation. *Plast Reconstr Surg.* 2016;138(5):821e-829e.
86. Lee SD, Yi MH, Kim DW, Lee Y, Choi Y, Oh SH. The effect of botulinum neurotoxin type A on capsule formation around silicone implants: the in vivo and in vitro study. *Int Wound J.* 2016;13(1):65-71.
87. Yoon WJ. Endoscopic Transaxillary Augmentation Mammoplasty. Complications and Revisional Augmentation Mammoplasty. pp 61-76
88. Embrey M, Adams EE, Cunningham B, Peters W, Young VL, Carlo GL. A review of the literature on the etiology of capsular contracture and a pilot study to determine the outcome of capsular contracture interventions. *Aesthetic Plast Surg.* 1999;23(3):197-206.
89. Puyat MCA. Stem Cell in Wound Healing. *Technology in Practical Dermatology.* pp 473-80
90. Derubeis, A., Pennesi, G., Cancedda, R. (2006). Mesenchymal Stem Cells: Where Can You Find Them? How Can You Use Them?. In: *Stem Cell and Gene-Based Therapy.* Springer, London. pp 159–68.
91. Jacobson, LO, Marks EK, Robson MJ, Gaston E, Zirkle, RE. The effect of spleen protection on mortality following X-irradiation *Jour Lab And Clin Med.* 1949 34(11): 1538-43.
92. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, Shelton E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst.* 1951;12(1):197-201.
93. Chang Mc. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature.* 1959;184(Suppl 7):466-7.
94. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res.* 1961;14:213-22.
95. Edwards RG, Donahue RP, Baramki TA, Jones HW Jr. Preliminary attempts to fertilize human oocytes matured in vitro. *Am J Obstet Gynecol.* 1966;96(2):192-200.
96. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet.* 1978;2(8085):366.
97. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature.* 1981;292(5819):154-6.
98. Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Becker RA, Hearn JP. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(17):7844-8.
99. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998;282(5391):1145-7.
100. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A et al. Hematopoietic reconstitution of a patient with

- Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 32: 1174–8.
101. Kunath T, Saba-El-Leil MK, Almousailleakh M, Wray J, Meloche S, Smith A. FGF stimulation of the Erk1/2 signalling cascade triggers transition of pluripotent embryonic stem cells from self-renewal to lineage commitment. *Development*. 2007;134(16):2895-902
 102. Ye S, Li P, Tong C, Ying QL. Embryonic stem cell self-renewal pathways converge on the transcription factor Tfcp2l1. *EMBO J*. 2013;32(19):2548-60.
 103. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP, Hedrick MH. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001;7(2):211-28.
 104. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(12):4279-95.
 105. Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg*. 2005;34(5):415-23.
 106. Liu Y, Kalén A, Risto O, Wahlström O. Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent. *Wound Repair Regen*. 2002;10(5):336-40.
 107. de Wert G, Mummery C. Human embryonic stem cells: research, ethics and policy. *Hum Reprod*. 2003;18(4):672-82.
 108. Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol*. 1976;47:327-59.
 109. Friedenstein AJ. Marrow stromal fibroblasts. *Calcif Tissue Int* 1995;56(suppl 1):S17.
 110. Mesenchymal stromal cells: new directions. *Cell Stem Cell*. 2012;10(6):709-16.
 111. Kanji S, Das H. Advances of Stem Cell Therapeutics in Cutaneous Wound Healing and Regeneration. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:5217967.
 112. Bertozzi N, Simonacci F, Grieco MP, Grignaffini E, Raposio E. The biological and clinical basis for the use of adipose-derived stem cells in the field of wound healing. *Ann Med Surg (Lond)*. 2017;20:41-48.
 113. Combellack EJ, Jessop ZM, Naderi N, Griffin M, Dobbs T, Ibrahim A, Evans S, Burnell S, Doak SH, Whitaker IS. Adipose regeneration and implications for breast reconstruction: update and the future. *Gland Surg*. 2016;5(2):227-41.
 114. Malhotra S, Hu MS, Marshall CD, Leavitt T, Cheung AT, Gonzalez JG, Kaur H, Lorenz HP, Longaker MT. Mesenchymal Stromal Cells as Cell-Based Therapeutics for Wound Healing. *Stem Cells Int*. 2016.
 115. Behr B, Ko SH, Wong VW, Gurtner GC, Longaker MT. Stem cells. *Plast Reconstr Surg*. 2010;126(4):1163-71.
 116. Rieck B, Schlaak S. Measurement in vivo of the survival rate in autologous adipocyte transplantation. *Plast Reconstr Surg*. 2003;111(7):2315-23.

117. Fraga MF, Helene A Jr, Nakamura F, Lellis RF, Kikuchi W, Esteban D. Comparative study of the integration and viability of autonomised and nonautonomised autologous fat tissue grafts--experimental model in rabbits. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008;61(9):1044-8.
118. Avram AS, Avram MM, James WD. Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *J Am Acad Dermatol.* 2005;53(4):671-83.
119. Klaus S. Functional differentiation of white and brown adipocytes. *Bioessays.* 1997;19(3):215-23.
120. Bartness TJ, Bamshad M. Innervation of mammalian white adipose tissue: implications for the regulation of total body fat. *Am J Physiol.* 1998;275(5):R1399-411.
121. Rigotti G, Marchi A, Galiè M, Baroni G, Benati D, Krampera M, Pasini A, Sbarbati A. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(5):1409-22.
122. Sinna R, Delay E, Garson S, Delaporte T, Toussoun G. Breast fat grafting (lipomodelling) after extended latissimus dorsi flap breast reconstruction: a preliminary report of 200 consecutive cases. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(11):1769-77.
123. Matsumoto D, Sato K, Gonda K, Takaki Y, Shigeura T, Sato T, Aiba-Kojima E, Iizuka F, Inoue K, Suga H, Yoshimura K. Cell-assisted lipotransfer: supportive use of human adipose-derived cells for soft tissue augmentation with lipoinjection. *Tissue Eng.* 2006;12(12):3375-82.
124. Bielli A, Scioli MG, Gentile P, Agostinelli S, Tarquini C, Cervelli V, Orlandi A. Adult adipose-derived stem cells and breast cancer: a controversial relationship. *Springerplus.* 2014;3:345.
125. Kølle SF, Fischer-Nielsen A, Mathiasen AB, Elberg JJ, Oliveri RS, Glovinski PV, Kastrup J, Kirchoff M, Rasmussen BS, Talman ML, Thomsen C, Dickmeiss E, Drzewiecki KT. Enrichment of autologous fat grafts with ex-vivo expanded adipose tissue-derived stem cells for graft survival: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2013;382(9898):1113-20.
126. Yoshimura K, Sato K, Aoi N, Kurita M, Hirohi T, Harii K. Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. *Aesthetic Plast Surg.* 2008;32(1):48-55; discussion 56-7.
127. Lu F, Li J, Gao J, Ogawa R, Ou C, Yang B, Fu B. Improvement of the survival of human autologous fat transplantation by using VEGF-transfected adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(5):1437-46.
128. Li L, Pan S, Ni B, Lin Y. Improvement in autologous human fat transplant survival with SVF plus VEGF-PLA nano-sustained release microspheres. *Cell Biol Int.* 2014;38(8):962-70.
129. Xu FT, Li HM, Yin QS, Liu DL, Nan H, Zhao PR, Liang SW. Human breast adipose-derived stem cells transfected with the stromal cell-derived

- factor-1 receptor CXCR4 exhibit enhanced viability in human autologous free fat grafts. *Cell Physiol Biochem*. 2014;34(6):2091-104.
130. Jiang A, Li M, Duan W, Dong Y, Wang Y. Improvement of the survival of human autologous fat transplantation by adipose-derived stem-cells-assisted lipotransfer combined with bFGF. *ScientificWorldJournal*. 2015.
 131. Auclair E, Blondeel P, Del Vecchio DA. Composite breast augmentation: soft-tissue planning using implants and fat. *Plast Reconstr Surg*. 2013 Sep;132(3):558-68.
 132. Sforza M, Spear S. Hybrid Implant and Grafted Fat Breast Augmentation: Designing the Pathway to a Future With Breasts Free of Silicone Breast Implants. *Aesthet Surg J*. 2021;41(11):NP1473-NP1485.
 133. Williams SK, Berman SS, Kleinert LB. Differential healing and neovascularization of ePTFE implants in subcutaneous versus adipose tissue. *J Biomed Mater Res*. 1997;35(4):473-81.
 134. Prichard HL, Reichert WM, Klitzman B. Adult adipose-derived stem cell attachment to biomaterials. *Biomaterials*. 2007;28(6):936-46.
 135. Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, André M, Nibbelink M, Tamarat R, Clergue M, Manneville C, Saillan-Barreau C, Duriez M, Tedgui A, Levy B, Pénicaud L, Casteilla L. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation*. 2004;109(5):656-63.
 136. Montesano R, Vassalli JD, Baird A, Guillemin R, Orci L. Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(19):7297-301.
 137. Le Blanc K, Ringdén O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med*. 2007;262(5):509-25.
 138. Allen RJ Jr, Canizares O Jr, Scharf C, Nguyen PD, Thanik V, Saadeh PB, Coleman SR, Hazen A. Grading lipoaspirate: is there an optimal density for fat grafting? *Plast Reconstr Surg*. 2013;131(1):38-45.
 139. Ozgenel GY, Filiz G. Effects of human amniotic fluid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. *J Neurosurg*. 2003;98(2):371-7.
 140. Karaçal N, Koşucu P, Cobanglu U, Kutlu N. Effect of human amniotic fluid on bone healing. *J Surg Res*. 2005;129(2):283-7.
 141. Siebert JW, Burd AR, McCarthy JG, Weinzwieg J, Ehrlich HP. Fetal wound healing: a biochemical study of scarless healing. *Plast Reconstr Surg*. 1990;85(4):495-502; discussion 503-4.
 142. Fischer S, Hirsch T, Diehm Y, Kiefer J, Bueno EM, Kueckelhaus M, Kremer T, Hirche C, Kneser U, Pomahac B. The Collagenase of the Bacterium *Clostridium histolyticum* for the Treatment of Capsular Fibrosis after Silicone Implants. *Plast Reconstr Surg*. 2015;136(5):981-89.
 143. Mirapoglu SL, Guler EM, Tok OE, Aydogdu I, Cay A, Camli MF, Kocyigit A, Canter HI, Yildiz K. Effects of Platelet Rich Plasma and Amniotic Cell Culture Medium on Wound Healing Following Experimental Animal

Tracheal Injury Model: A Comparative Study. *J Craniofac Surg.* 2021;32(5):1937-41.

144. Ref Wang Y, Zhu W, Levy DE. Nuclear and cytoplasmic mRNA quantification by SYBR green based real-time RT-PCR. *Methods.* 2006;39(4):356-62.
145. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CM, Haber E, Schlegel R, Lee ME. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(14):6369-73.
146. Takayanagi S. Augmentation mammoplasty using implants: a review. *Arch Plast Surg.* 2012;39(5):448-51.
147. Rudolph R, Abraham J, Vecchione T, Guber S, Woodward M. Myofibroblasts and free silicon around breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 1978;62(2):185-96.
148. Handel N, Cordray T, Gutierrez J, Jensen JA. A long-term study of outcomes, complications, and patient satisfaction with breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(3):757-67; discussion 768-72.
149. Araco A, Gravante G, Araco F, Delogu D, Cervelli V, Walgenbach K. A retrospective analysis of 3,000 primary aesthetic breast augmentations: postoperative complications and associated factors. *Aesthetic Plast Surg.* 2007;31(5):532-9.
150. de Jong D, Vasmel WL, de Boer JP, Verhave G, Barbé E, Casparie MK, van Leeuwen FE. Anaplastic large-cell lymphoma in women with breast implants. *JAMA.* 2008;300(17):2030-5.
151. Duvic M, Moore D, Menter A, Vonderheid EC. Cutaneous T-cell lymphoma in association with silicone breast implants. *J Am Acad Dermatol.* 1995;32(6):939-42.
152. Roden AC, Macon WR, Keeney GL, Myers JL, Feldman AL, Dogan A. Seroma-associated primary anaplastic large-cell lymphoma adjacent to breast implants: an indolent T-cell lymphoproliferative disorder. *Mod Pathol.* 2008;21(4):455-63.
153. Brody GS, Deapen D, Taylor CR, Pinter-Brown L, House-Lightner SR, Andersen JS, Carlson G, Lechner MG, Epstein AL. Anaplastic large cell lymphoma occurring in women with breast implants: analysis of 173 cases. *Plast Reconstr Surg.* 2015;135(3):695-705.
154. Ionescu P, Vibert F, Amé S, Mathelin C. New Data on the Epidemiology of Breast Implant-Associated Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Eur J Breast Health.* 2021;17(4):302-7.
155. Loch-Wilkinson A, Beath KJ, Knight RJW, Wessels WLF, Magnusson M, Papadopoulos T, Connell T, Loftis J, Locke M, Hopper I, Cooter R, Vickery K, Joshi PA, Prince HM, Deva AK. Breast Implant-Associated Anaplastic Large Cell Lymphoma in Australia and New Zealand: High-Surface-Area Textured Implants Are Associated with Increased Risk. *Plast Reconstr Surg.* 2017;140(4):645-54.

156. Wolfram D, Rabensteiner E, Grundtman C, Böck G, Mayerl C, Parson W, Almanzar G, Hasenöhrl C, Piza-Katzer H, Wick G. T regulatory cells and TH17 cells in peri-silicone implant capsular fibrosis. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129(2):327e-337e.
157. O'Hanlon TP, Okada S, Love LA, Dick G, Young VL, Miller FW. Immunohistopathology and T cell receptor gene expression in capsules surrounding silicone breast implants. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1996; 210:237-42.
158. Wolfram D, Rainer C, Niederegger H, Piza H, Wick G. Cellular and molecular composition of fibrous capsules formed around silicone breast implants with special focus on local immune reactions. *J Autoimmun*. 2004;23(1):81-91.
159. Turner SD, Inghirami G, Miranda RN, Kadin ME. Cell of Origin and Immunologic Events in the Pathogenesis of Breast Implant-Associated Anaplastic Large-Cell Lymphoma. *Am J Pathol*. 2020;190(1):2-10.
160. Coroneos CJ, Selber JC, Offodile AC 2nd, Butler CE, Clemens MW. US FDA Breast Implant Postapproval Studies: Long-term Outcomes in 99,993 Patients. *Ann Surg*. 2019;269(1):30-36.
161. Watad A, Rosenberg V, Tiosano S, et al. Silicone breast implants and the risk of auto-immune/rheumatic disorders: a real-world analysis. *Int J Epidemiol*. 2018;47(6):1846- 54.
162. Metzinger SE, Homsy C, Chun MJ, Metzinger RC. Breast Implant Illness: Treatment Using Total Capsulectomy and Implant Removal. *Eplasty*. 2022;22:e5.
163. Hennessy BT, Krishnamurthy S, Giordano S, Buchholz TA, Kau SW, Duan Z, Valero V, Hortobagyi GN. Squamous cell carcinoma of the breast. *J Clin Oncol* 2005; 23, 7827-35.
164. Nayak A, Wu Y, Gilcrease MZ. Primary squamous cell carcinoma of the breast: predictors of locoregional recurrence and overall survival. *Am J Surg Pathol* 2013; 37, 867-873.
165. Liu J, Yu Y, Sun JY, He SS, Wang X, Yin J, Cao XC. Clinicopathologic characteristics and prognosis of primary squamous cell carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat* 2015; 149, 133-140.
166. US Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Breast implants. Available at: <https://www.fda.gov/medical-devices/safety-communications/breast-implants-reports-squamous-cell-carcinoma-and-various-lymphomas-capsule-around-implants-fda>. Erişim tarihi 09. 09.2022.
167. Goldberg MT, Llaneras J, Willson TD, Boyd JB, Venegas RJ, Dauphine C, Kalantari BN. Squamous Cell Carcinoma Arising in Breast Implant Capsules. *Ann Plast Surg*. 2021;86(3):268-272.
168. Behranwala KA, Nasiri N, Abdullah N, Trott PA, Gui GP. Squamous cell carcinoma of the breast: clinico-pathologic implications and outcome. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29, 386-389.

169. Ooi ASH, Song DH. Reducing infection risk in implant-based breast-reconstruction surgery: challenges and solutions. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2016;8:161-72.
170. Clayton JL, Bazakas A, Lee CN, Hultman CS, Halvorson EG. Once is not enough: withholding postoperative prophylactic antibiotics in prosthetic breast reconstruction is associated with an increased risk of infection. *Plast Reconstr Surg*. 2012;130(3):495-502.
171. Veras-Castillo ER, Cardenas-Camarena L, Lyra-Gonzalez I, Muñoz-Valle JF, Lucano-Landeros S, Guerrero Santos J, Gonzalez-Ulloa B, Mercado-Barajas JL, Sanchez-Parada MG, Azabache-Wenceslao R, Armendariz-Borunda J. Controlled clinical trial with pirfenidone in the treatment of breast capsular contracture: association of TGF- β polymorphisms. *Ann Plast Surg*. 2013;70(1):16-22.
172. Spyropoulou GA, Papalois A, Batistatou A, Doukas M, Tsoutsos D. Can the use of hyaluronidase reduce capsule formation? *Aesthetic Plast Surg*. 2011;35(5):782-8.
173. Cachay-Velásquez H, Ale A. Lateral approach in mammary implants. *Ann Plast Surg*. 1990;25(4):258-62.
174. Rispoli C, Ottolenghi J, Bruno N, Spano A. Role of Mitomycin C in Preventing Capsular Contracture in Implant-Based Reconstructive Breast Surgery: A Randomized Controlled Trial. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139(4):819-26.
175. Park S, Park M, Kim BH, Lee JE, Park HJ, Lee SH, Park CG, Kim MH, Kim R, Kim EH, Heo CY, Choy YB. Acute suppression of TGF- β with local, sustained release of tranilast against the formation of fibrous capsules around silicone implants. *J Control Release*. 2015; 200:125-37.
176. Zeplin PH, Larena-Avellaneda A, Schmidt K. Surface modification of silicone breast implants by binding the antifibrotic drug halofuginone reduces capsular fibrosis. *Plast Reconstr Surg*. 2010;126(1):266-74.
177. Peters CR, Shaw TE, Raju DR. The influence of vitamin E on capsule formation and contracture around silicone implants. *Ann Plast Surg*. 1980;5(5):347-52.
178. Ng KK, Awad N, Brook MA, Holloway AC, Sheardown H. Local delivery of nicotine does not mitigate fibrosis but may lead to angiogenesis. *J Biomater Appl*. 2011;26(3):349-58.
179. Oshitani N, Takeda S, Matsumoto H, Minamino H, Hayakawa T, Aomatsu K. Possible antisthenotic effect of tranilast in a patient with small bowel tuberculosis to prevent intestinal obstruction due to stenosis progression by antituberculous chemotherapy. *Dig Endosc*. 2013;25(3):333-5.
180. Roça GB, Graf R, da Silva Freitas R, Salles G Jr, Francisco JC, Noronha L, Maluf I Jr. Autologous Fat Grafting for Treatment of Breast Implant Capsular Contracture: A Study in Pigs. *Aesthet Surg J*. 2014;34(5):769-75.
181. Mowlds DS, Salibian AA, Scholz T, Paydar KZ, Wirth GA. Capsular Contracture in Implant-Based Breast Reconstruction: Examining the Role of

- Acellular Dermal Matrix Fenestrations. *Plast Reconstr Surg.* 2015;136(4):629-35.
182. Cheng A, Lakhiani C, Saint-Cyr M. Treatment of capsular contracture using complete implant coverage by acellular dermal matrix: a novel technique. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132(3):519-29.
 183. Salzberg CA, Ashikari AY, Berry C, Hunsicker LM. Acellular Dermal Matrix-Assisted Direct-to-Implant Breast Reconstruction and Capsular Contracture: A 13-Year Experience. *Plast Reconstr Surg.* 2016;138(2):329-37.
 184. Spear SL, Murphy DK, Slicton A, Walker PS; Inamed Silicone Breast Implant U.S. Study Group. Inamed silicone breast implant core study results at 6 years. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(7 Suppl 1):8S-16S.
 185. Ersek RA. Molecular impact surface textured implants (MISTI) alter beneficially breast capsule formation at 36 months. *J Long Term Eff Med Implants.* 1991;1(2):155-69.
 186. Liu X, Zhou L, Pan F, Gao Y, Yuan X, Fan D. Comparison of the postoperative incidence rate of capsular contracture among different breast implants: a cumulative meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10(2):e0116071.
 187. Wong CH, Samuel M, Tan BK, Song C. Capsular contracture in subglandular breast augmentation with textured versus smooth breast implants: a systematic review. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118(5):1224-36.
 188. Barnsley GP, Sigurdson LJ, Barnsley SE. Textured surface breast implants in the prevention of capsular contracture among breast augmentation patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7):2182-90.
 189. Minami E, Koh IHJ, Ferreira JCR, Waitzberg AFL, Chifferi V, Rosewick TF, Pereira MD, Saldiva PHN, de Figueiredo LFP. The composition and behavior of capsules around smooth and textured breast implants in pigs. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118(4):874-84.
 190. Hall-Findlay EJ. Breast implant complication review: double capsules and late seromas. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127(1):56-66.
 191. Danino MA, Nizard N, Paek LS, Govshievich A, Giot JP. Do Bacteria and Biofilm Play a Role in Double-Capsule Formation around Macrot textured Implants? *Plast Reconstr Surg.* 2017;140(5):878-83.
 192. Pamuła E, De Cupere V, Dufrière YF, Rouxhet PG. Nanoscale organization of adsorbed collagen: influence of substrate hydrophobicity and adsorption time. *J Colloid Interface Sci.* 2004;271(1):80-91.
 193. Bozec L, van der Heijden G, Horton M. Collagen fibrils: nanoscale ropes. *Biophys J.* 2007;92(1):70-5.
 194. Bettinger CJ, Langer R, Borenstein JT. Engineering substrate topography at the micro- and nanoscale to control cell function. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2009;48(30):5406-15.
-

195. Friedl P, Bröcker EB. T cell migration in three-dimensional extracellular matrix: guidance by polarity and sensations. *Dev Immunol*. 2000;7(2-4):249-66.
 196. Biela SA, Su Y, Spatz JP, Kemkemer R. Different sensitivity of human endothelial cells, smooth muscle cells and fibroblasts to topography in the nano-micro range. *Acta Biomater*. 2009;5(7):2460-6.
 197. Dalby MJ, Riehle MO, Johnstone H, Affrossman S, Curtis AS. Investigating the limits of filopodial sensing: a brief report using SEM to image the interaction between 10 nm high nano-topography and fibroblast filopodia. *Cell Biol Int*. 2004;28(3):229-36.
 198. Hsu SH, Chen CY, Lu PS, Lai CS, Chen CJ. Oriented Schwann cell growth on microgrooved surfaces. *Biotechnol Bioeng*. 2005;92(5):579-88.
 199. Kyle DJ, Oikonomou A, Hill E, Bayat A. Development and functional evaluation of biomimetic silicone surfaces with hierarchical micro/nano-topographical features demonstrates favourable in vitro foreign body response of breast-derived fibroblasts. *Biomaterials*. 2015; 52:88-102.
 200. Barr S, Hill EW, Bayat A. Development, fabrication and evaluation of a novel biomimetic human breast tissue derived breast implant surface. *Acta Biomater*. 2017; 49:260-271.
 201. Sforza M, Zaccheddu R, Alleruzzo A, Seno A, Mileto D, Paganelli A, Sulaiman H, Payne M, Maurovich-Horvat L. Preliminary 3-Year Evaluation of Experience With SilkSurface and VelvetSurface Motiva Silicone Breast Implants: A Single-Center Experience With 5813 Consecutive Breast Augmentation Cases. *Aesthet Surg J*. 2018;38(suppl_2): S62-S73.
 202. Zimman OA, Toblli J, Stella I, Ferder M, Ferder L, Inserra F. The effects of angiotensin-converting-enzyme inhibitors on the fibrous envelope around mammary implants. *Plast Reconstr Surg*. 2007;120(7):2025-33.
 203. Borisy GG, Taylor EW. The mechanism of action of colchicine. Binding of colchicine-3H to cellular protein. *J Cell Biol*. 1967;34(2):525-33.
 204. Cocco G, Chu DC, Pandolfi S. Colchicine in clinical medicine. A guide for internists. *Eur J Intern Med*. 2010;21(6):503-8.
 205. Cook-Mills JM. Isoforms of Vitamin E Differentially Regulate PKC α and Inflammation: A Review. *J Clin Cell Immunol*. 2013;4(137):1000137.
 206. Ascherio A, Weisskopf MG, O'reilly EJ, Jacobs EJ, McCullough ML, Calle EE, Cudkovicz M, Thun MJ. Vitamin E intake and risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 2005;57(1):104-10.
 207. Rossato MF, Hoffmeister C, Tonello R, de Oliveira Ferreira AP, Ferreira J. Anti-inflammatory effects of vitamin E on adjuvant-induced arthritis in rats. *Inflammation*. 2015;38(2):606-15.
 208. Yamada H, Tajima S, Nishikawa T, Murad S, Pinnell SR. Tranilast, a selective inhibitor of collagen synthesis in human skin fibroblasts. *J Biochem*. 1994;116(4):892-7.
-

209. Isaji M, Nakajoh M, Naito J. Selective inhibition of collagen accumulation by N-(3,4-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid (N-5') in granulation tissue. *Biochem Pharmacol.* 1987;36(4):469-74.
210. Platten M, Wild-Bode C, Wick W, Leitlein J, Dichgans J, Weller M. N-[3,4-dimethoxycinnamoyl]-anthranilic acid (tranilast) inhibits transforming growth factor-beta release and reduces migration and invasiveness of human malignant glioma cells. *Int J Cancer.* 2001;93(1):53-61.
211. Izumi K, Mizokami A, Li YQ, Narimoto K, Sugimoto K, Kadono Y, Kitagawa Y, Konaka H, Koh E, Keller ET, Namiki M. Tranilast inhibits hormone refractory prostate cancer cell proliferation and suppresses transforming growth factor beta1-associated osteoblastic changes. *Prostate.* 2009;69(11):1222-34.
212. Wiener TC. The role of betadine irrigation in breast augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(1):12-15.
213. Pasquale LR, Thibault D, Dorman-Pease ME, Quigley HA, Jampel HD. Effect of topical mitomycin C on glaucoma filtration surgery in monkeys. *Ophthalmology.* 1992;99(1):14-8.
214. Frangou J, Kanellaki M. The effect of local application of mitomycin-C on the development of capsule around silicone implants in the breast: an experimental study in mice. *Aesthetic Plast Surg.* 2001;25(2):118-28.
215. Ruiz-de-Erenchun R, Dotor de las Herrerías J, Hontanilla B. Use of the transforming growth factor-beta1 inhibitor peptide in periprosthetic capsular fibrosis: experimental model with tetraglycerol dipalmitate. *Plast Reconstr Surg.* 2005;116(5):1370-8.
216. Vacanti FX. PHEMA as a fibrous capsule-resistant breast prosthesis. *Plast Reconstr Surg.* 2004;113(3):949-52.
217. Komorowska-Timek E, Oberg KC, Timek TA, Gridley DS, Miles DAG. The effect of AlloDerm envelopes on periprosthetic capsule formation with and without radiation. *Plast Reconstr Surg.* 2009;123(3):807-816.
218. Irkoren S, Ozkan HS, Ceylan E, Sivrioglu N, Tataroglu C, Durum Y. The Effect of Botox on the Implant Stabilization and Capsular Formation: An Experimental Study. *Ann Plast Surg.* 2015 Jul;75(1):91-7.
219. Salgarello M, Visconti G, Farallo E. Autologous fat graft in radiated tissue prior to alloplastic reconstruction of the breast: report of two cases. *Aesthetic Plast Surg.* 2010 ;34(1):5-10.
220. Sarfati I, Ihrai T, Kaufman G, Nos C, Clough KB. Adipose-tissue grafting to the post-mastectomy irradiated chest wall: preparing the ground for implant reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64(9):1161-6.
221. Sutthiwanjampa C, Shin BH, Ryu NE, Kang SH, Heo CY, Park H. Assessment of human adipose-derived stem cell on surface-modified silicone implant to reduce capsular contracture formation. *Bioeng Transl Med.* 2021;7(1): e10260.

222. Larson BJ, Longaker MT, Lorenz HP. Scarless fetal wound healing: a basic science review. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Oct;126(4):1172-80.
223. Burd DA, Greco RM, Regauer S, Longaker MT, Siebert JW, Garg HG. Hyaluronan and wound healing: a new perspective. *Br J Plast Surg.* 1991;44(8):579-84.
224. Dahl LB, Hopwood JJ, Laurent UB, Lilja K, Tengblad A. The concentration of hyaluronate in amniotic fluid. *Biochem Med.* 1983;30(3):280-3.
225. Dahl LB, Kimpton WG, Cahill RN, Brown TJ, Fraser RE. The origin and fate of hyaluronan in amniotic fluid. *J Dev Physiol.* 1989;12(4):209-18.
226. Orciani M, Emanuelli M, Martino C, Pugnali A, Tranquilli AL, Di Primio R. Potential role of culture mediums for successful isolation and neuronal differentiation of amniotic fluid stem cells. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2008;21(3):595-602.
227. Bastos EM, Sabino Neto M, Garcia EB, Veiga DF, Han YA, Denadai R, Santos Rde A, Ferreira LM. Effect of zafirlukast on capsular contracture around silicone implants in rats. *Acta Cir Bras.* 2012;27(1):1-6.
228. Cárdenas-Camarena L, Paillet JC, Briseño R. Electrostimulation: uses and applications for periprosthetic capsular contracture: experimental model. *Aesthetic Plast Surg.* 2005;29(5):410-4.
229. Bergmann PA, Tamouridis G, Lohmeyer JA, Mauss KL, Becker B, Knobloch J, Mailänder P, Siemers F. 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):1364-70.
230. Vieira VJ, d'Acampora AJ, Marcos ABW, Di Giunta G, de Vasconcellos ZAA, Bins-Ely J, d'Eça Neves R, Figueiredo CP. Vascular endothelial growth factor overexpression positively modulates the characteristics of periprosthetic tissue of polyurethane-coated silicone breast implant in rats. *Plast Reconstr Surg.* 2010 ;126(6):1899-910.
231. Hallock GG, Rice DC. Fate of the TRAM flap after abdominoplasty in a rat model. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101(7):1828-35.
232. Adams WP Jr, Haydon MS, Ranieri J Jr, Trott S, Marques M, Feliciano M, Robinson JB Jr, Tang L, Brown SA. A rabbit model for capsular contracture: development and clinical implications. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(4):1214-9; discussion 1220-1.
233. Olbrich KC, Meade R, Bruno W, Heller L, Klitzman B, Levin LS. Halofuginone inhibits collagen deposition in fibrous capsules around implants. *Ann Plast Surg.* 2005 54(3):293-6.
234. Schmitz M, Bertram M, Kneser U, Keller AK, Horch RE. Experimental total wrapping of breast implants with acellular dermal matrix: a preventive tool against capsular contracture in breast surgery? *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013;66(10):1382-9.
235. Darby IA, Hewitson TD. Fibroblast differentiation in wound healing and fibrosis. *Int Rev Cytol.* 2007; 257:143-79.,

236. Baker JL Jr, Chandler ML, LeVier RR. Occurrence and activity of myofibroblasts in human capsular tissue surrounding mammary implants. *Plast Reconstr Surg*. 1981;68(6):905-12.
237. Darby I, Skalli O, Gabbiani G. Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest*. 1990;63(1):21-9.
238. Powell DW. Myofibroblasts: paracrine cells important in health and disease. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2000; 111:271-92.
239. Skalli O, Ropraz P, Trzeciak A, Benzouana G, Gillesen D, Gabbiani G. A monoclonal antibody against alpha-smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation. *J Cell Biol*. 1986;103(6 Pt 2):2787-96.
240. Bui JM, Perry T, Ren CD, Nofrey B, Teitelbaum S, Van Epps DE. Histological characterization of human breast implant capsules. *Aesthetic Plast Surg*. 2015;39(3):306-15.
241. Acuner B, Baser NT, Aslan G, Terzioglu A, Caydere M, Ustun H, Görgü M. The Effects of Colchicine-Impregnated Oxidized Regenerated Cellulose on Capsular Contracture. *Surg Innov*. 2017;24(5):417-22.
242. Branton MH, Kopp JB. TGF-beta and fibrosis. *Microbes Infect*. 1999;1(15):1349-65.
243. Rubin P, Johnston CJ, Williams JP, McDonald S, Finkelstein JN. A perpetual cascade of cytokines postirradiation leads to pulmonary fibrosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1995;33(1):99-109.
244. Martin M, Lefaix J, Delanian S. TGF-beta1 and radiation fibrosis: a master switch and a specific therapeutic target? *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000;47(2):277-90.
245. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, Martinez-Avila N, Martinez-Fierro ML. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9739.
246. Lelongt B, Bengatta S, Delauche M, Lund LR, Werb Z, Ronco PM. Matrix metalloproteinase 9 protects mice from anti-glomerular basement membrane nephritis through its fibrinolytic activity. *J Exp Med*. 2001;193(7):793-802.
247. Simon F, Bergeron D, Larochelle S, Lopez-Vallé CA, Genest H, Armour A, Moulin VJ. Enhanced secretion of TIMP-1 by human hypertrophic scar keratinocytes could contribute to fibrosis. *Burns*. 2012;38(3):421-7.
247. Swiderski RE, Dencoff JE, Floerchinger CS, Shapiro SD, Hunninghake GW. Differential expression of extracellular matrix remodeling genes in a murine model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Pathol*. 1998;152(3):821-8.
249. McLennan SV, Wang XY, Moreno V, Yue DK, Twigg SM. Connective tissue growth factor mediates high glucose effects on matrix degradation through tissue inhibitor of matrix metalloproteinase type 1:

implications for diabetic nephropathy. *Endocrinology*. 2004;145(12):5646-55.

250. Ulrich D, Ulrich F, Pallua N, Eisenmann-Klein M. Effect of tissue inhibitors of metalloproteinases and matrix metalloproteinases on capsular formation around smooth and textured silicone gel implants. *Aesthetic Plast Surg*. 2009;33(4):555-62.
251. Li S, Ren L, Xu H, Jia D, Luo S, Hao L, Yang D. Effects of Medical Chitosan on Capsular Formation Following Silicone Implant Insertion in a Rabbit Model. *Aesthetic Plast Surg*. 2016;40(4):613-24.
-

