

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

MERAM TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DÜZGÜN YÜZEYLİ SİLİKON MATERYAL ÇEVRESİNDE RADYASYON  
TARAFINDAN İNDÜKLENEN KAPSÜL FORMASYONU ÜZERİNE  
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE İÇEREN YAĞ GREFTİ VE TROMBOSİTTEN  
ZENGİN PLAZMA ETKİSİ**

DR. İRFAN İNAN

UZMANLIK TEZİ

KONYA,2013

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

MERAM TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DÜZGÜN YÜZEYLİ SİLİKON MATERYAL ÇEVRESİNDE RADYASYON  
TARAFINDAN İNDÜKLENEN KAPSÜL FORMASYONU ÜZERİNE  
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE İÇEREN YAĞ GREFTİ VE TROMBOSİTTEN  
ZENGİN PLAZMA ETKİSİ**

DR. İRFAN İNAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

YRD.DÇ.DR.AYŞE ÖZLEM GÜNDEŞLİOĞLU

KONYA,2013



# TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca mesleki bilgi, beceri ve deneyimlerimi geliőtirmede katkıda bulunan baőtta Prof.Dr.Nedim SAVACI olmak üzere çalıőmaktan onur duyduğum tüm hocalarıma ayrıca eğitimim boyunca rotasyonlarımlı yaptığım diğer branőtlardaki hocalarıma , hem eğitimim hem de tez konumun belirlenmesi , tamamlanması sürecinde yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen Yrd.D.Dr. Ayşe Özlem GÜNDEŞLİOğLU'na, tez çalıőmamda verdiği katkılardan ötürü Prof.Dr. Tahsin Murad AKTAN,Prof. Dr. Mehmet KOÇ , Doç.Dr. Dilek EMLİK, Yrd.D.Dr. Zeliha Esin ÇELİK ve Necmettin Erbakan Üniöersitesi Deneysel Araştırma Merkezi ekibine ayrıca ihtisasım süresince çalışma őansına eriőttiđim eğitimimde katkıları olan kıdemli büyüklerim baőtta olmak üzere fedakarca çalıőmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve kliniğin tüm çalıőanlarına teőtakkür ederim.

Ve son olarak bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan annem ve babama, kardeőtlerim ve eőtıme sonsuz teőtakkür ederim.

İrfan İNAN  
Kasım , 2013

# ÖZET

## DÜZGÜN YÜZEYLİ SİLİKON MATERYAL ÇEVRESİNDE RADYASYON TARAFINDAN İNDÜKLENEN KAPSÜL FORMASYONU ÜZERİNE MEZENKİMAL KÖK HÜCRE İÇEREN YAĞ GREFTİ VE TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA ETKİSİ

İRFAN İNAN, UZMANLIK TEZİ , KONYA ,2013

**AMAÇ:** Meme protezleri çevresinde gelişen kapsül kontraktürü kozmetik veya rekonstruktif meme cerrahisi sonrası sık karşılaşılan ve iyi bilinen klinik durumdur. Bu çalışmada ,deney hayvanlarında radyoterapi uygulanarak indüklenen silikon materyal etrafında geliştirilecek kapsül kontraktürü gelişimi üzerinde mezenkimal kök hücre(SVF) içeren yağ grefti ve TZP 'nin etkisini araştırmak amaçlanmıştır

**YÖNTEM:** Çalışmada 31 adet wistar albino tipi rat kullanılmış, 4 adet rat PRP ve SVF elde etmek için sakrifiye edilmiş , sonrasında ratlar her grupta 9 rat olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Grup 1 de ratların sırt bölgesinden yapılacak 1 cm lik transvers cilt insizyonu ve tünelizasyon sonrası sırt bölgesinde panniculus carnosus dokusu altındaki poşa 1x1x0,5 cm boyutlu bir adet düzgün yüzeysel silikon protez yerleştirildi. silikon protez yerleştirilen doku alanına 10 Gy dozunda radyasyon uygulandı. Sonrasında protez yerleştirilen poşlara ve çevre dokulara yağ grefti, mezenkimal kök hücre içeren SVF ve TZP karışımı enjekte edildi. Grup 2 de ratlara aynı işlemler yapıp protez yerleştirilen poşlara ve çevre dokulara serum fizyolojik enjekte edildi. Grup 3 de ratlara aynı işlemler yapıp protez yerleştirilen poşlara ve çevre dokulara yağ grefti enjekte edildi. Postoperatif 56. günde tüm gruplarda silikon çevresinde gelişen kapsül kontraktürü makroskopik ,radyolojik olarak değerlendirildi ve son olarak implant ve çevresindeki kapsül çıkartılarak histopatolojik incelemeye gönderildi.

**BULGULAR:** 56. Günde yapılan makroskopik değerlendirmede grup 1' de kontrol gruplarına göre daha ince kapsül oluşumu gözlemlendi. Ultrasonografik inceleme sonucunda grup 1' de ortalama kapsül kalınlığı 0,4875 mm iken, grup 2'de 0,6625 mm ve grup 3'te 0,525 mm olarak ölçüldü. Histopatolojik inceleme sonrası kesit alanda grup 1' de ortalama kapsül kalınlığı 109,6288889 µm grup 2 de 343,6644444 µm , grup 3 te ise 157,3711111 µm, grup 1'de ortalama fibroblast sayısı 218,3 grup 2 de 287,7 grup 3 te 193,88 ,ortalama nötrofil sayısı grup 1 de 19,2 grup 2 de 48,7 grup 3 te 29,2 olarak ve son olarak ortalama neovaskularizasyon sayısı grup 1 de 25, grup 2de 31,2 ve grup 3te 31,4 olarak bulundu.

**SONUÇ:** Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma yapılmış ve neovaskülarizasyon açısından tedavi ve kontrol grupları ile arasında anlamlı fark bulunmamış ,diğer tüm değişkenler için anlamlı fark bulunmuştur( $p<0,05$ ) ve bu nedenle bu yöntem ile implantla meme operasyonlarında protezlere karşı yabancı cisim reaksiyonu daha az olacağından kapsül kalınlığının ve gelişecek kontraktür derecesinin azalacağı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Yağ doku, kök hücre, stromal vaskular fraksiyon, trombosit zengin plazma, kapsül kontraktürü, radyasyon

## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF FAT GRAFT CONTAINING MESENCHYMAL STEM-CELLS AND PRP ON RADIATION-INDUCED CAPSULE FORMATION AROUND SMOOTH SURFACE SILICONE MATERIAL

**OBJECTIVE:** Capsule formation around breast implant is a well-known clinical entity in cosmetic and reconstructive breast enhancement. Although the exact reason for capsule formation is unclear, different treatment modalities have been described for prevention. The aim of the study is to investigate the effect of fat graft containing mesenchymal stem-cells and PRP on radiation-induced capsule formation around smooth surface silicone material.

**METHOD:** 31 wistar albino rats were used for this study, 4 rat has been sacrificed to obtain PRP and SVF. After the rats were divided into 3 groups so that each group of 9 rat. 1x1x0.5 cm sized a smooth surface silicone prosthesis was placed pocket under panniculus carnosus tissue by 1 cm transvers skin incision and tunnelization in thoracodorsal region of rats in group 1. Silicone-implanted regions were irradiated with 10-Gy as single fraction electron beam. After radiation, the mixture of stromal vascular fraction, platelet-rich plasma and fat grafts were injected to pocket and around tissue. the same process was applied for rats in group 2 and 3 but after radiation, saline was injected to pocket and around tissue rats in group 2 and fat graft was injected to pocket and around tissue rats in group 3.

On 56 day, capsule formations around silicone material were evaluated by macroscopic and radiological. After examination capsule formation and silicone material were excised and posted for histopathological review

**RESULTS:** On 56 day group 1 compared control groups and capsule formation was thinner in group 1 at macroscopic evaluation. Average thickness of the capsule was measured 0.4875 mm in group 1, 0.6625 mm in group 2 and in group 3 at result of ultrasonographic examination. After histopathological examination in cross-section, average thickness of the capsule was measured 109,6288889  $\mu\text{m}$  in group 1, 343,6644444  $\mu\text{m}$  in group 2, 157,3711111  $\mu\text{m}$  in group 3 and the average number of fibroblast 218,3 in group 1, 287,7 in group 2, 193,88 in group 3 and the average number of neutrophil 19,2 in group 1, 48,7 in group 2, 29,2 in group 3 and the average number of neovascularization 25 in group 1, 31,2 in group 2 and 31,4 group 3.

**CONCLUSION :**Significant difference wasn't found between treatment and control groups in terms of neovascularization but significant difference was found for all other variables( $p<0,05$ ) so we conclude that to decrease of the capsule's thickness and the degree of contracture after breast implant operations because of less foreign body reaction against the prosthesis by applying this technique

**Key words:** fat tissue, stem cell, stromal vascular fraction, platelet rich plasma, capsular contracture, radiation



# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLO LİSTESİ .....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	viii
KISALTMALAR LİSTESİ .....	ix
<b>1.2 TEZ METNİ</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2.1 GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2.2 GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
1.2.2.1. Silikon İmplantlara Bağlı Kapsül Kontraktürü .....	2
Silikon Yapısı.....	2
1.2.2.2.Silikon İmplant Tipleri .....	3
1.2.2.3.Silikon İmplantlarda Kapsül Formasyonu .....	4
1.2.2.4.Radyoterapi.....	7
Radyoterapinin Dokular Üzerindeki Etkileri.....	8
Radyoterapinin İmplantlar Üzerine Etkileri.....	9
1.2.2.5. Trombositler ve Trombositten Zengin Plazma.....	10
Trombositlerin İçerikleri ve Fonksiyonları.....	10
Trombositten Zengin Plazma.....	12
1.2.2.6.Yağ Doku ve Stromal Vasküler Fraksiyon.....	14
1.2.2.7. Kök Kücre Ve Yağ Doku Kaynaklı Kök Hücreler.....	16
<b>1.2.3 GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>20</b>
1.2.3.1. Çalışma Grupları .....	20
1.2.3.2. Silikon İmplantın Hazırlanması .....	20
1.2.3.3. Cerrahi Protokol .....	20
1.2.3.4. Kullanılan Cerrahi Araç- Gereç.....	21
1.2.3.5. Yağ Grefti Hazırlaması.....	21
1.2.3.6.Stromal Vasküler Fraksiyon Hazırlanması.....	22
1.2.3.7.Trombositten Zengin Plazma Hazırlanması.....	23
1.2.3.8.Işınlama.....	24
1.2.3.9.Trombositten Zengin Plazma ve Stromal Vasküler Fraksiyonun Uygulanması.....	25
1.2.3.10.Ultrasonografik Görüntüleme.....	26
1.2.3.11.İmplantların Çıkarılması Ve Histopatolojik İnceleme.....	27
1.2.3.12.İstatistiksel Analiz.....	27
<b>1.2.4. BULGULAR</b> .....	<b>28</b>
1.2.4.1 Makroskobik bulgular.....	28
1.2.4.2.Ultrasonografik bulgular.....	28
1.2.4.3.Histopatolojik bulgular.....	29
<b>1.2.5. TARTIŞMA</b> .....	<b>34</b>
<b>1.2.6. SONUÇ</b> .....	<b>39</b>
<b>1.3 KAYNAKLAR</b> .....	<b>40</b>

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b> Trombosit granül içerikleri	12
<b>Tablo 2.</b> Hayvan çalışması gruplarının gösterilmesi	20
<b>Tablo 3.</b> USG ölçümünde kapsul kalınlığı ortalama ölçüm değerleri ve istatistiksel karşılaştırma	28
<b>Tablo 4.</b> Histopatolojik olarak parametrelerin ortalama ölçüm değerleri ve istatistiksel karşılaştırma	31

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.</b> Deney hayvanlarının ortam koşulları ve gruplar şeklinde takibi	19
<b>Şekil 2.</b> Cerrahi operasyonların aşamaları	21
<b>Şekil 3.</b> Operasyon esnasında kullanılan cerrahi aletler	21
<b>Şekil 4.</b> Yağ greftinin hazırlanma aşamaları	22
<b>Şekil 5.</b> SVF hazırlanma aşamaları	23
<b>Şekil 6.</b> PRP hazırlanma aşamaları	24
<b>Şekil 7.</b> Ratların ışınlanma işlemi	25
<b>Şekil 8.</b> SVF ve PRP karışımını uygulanma yöntemi	26
<b>Şekil 9.</b> USG ile kapsul ölçüm tekniği ve sonucu	26
<b>Şekil 10.</b> USG ölçümünde kapsul kalınlığı ortalama ölçüm değerleri grafiği	29
<b>Şekil 11.</b> Grup 1 kapsul yapısının histopatolojik görünümü (4x,hematoksilen eosin)	30
<b>Şekil 12.</b> Grup 2 kapsul yapısının histopatolojik görünümü(4x,hematoksilen eosin)	30
<b>Şekil 13.</b> Grup 3 kapsul yapısının histopatolojik görünümü(4x,hematoksilen eosin)	30
<b>Şekil 14.</b> Histopatolojik olarak neovaskularizasyon sayısı ortalama değerleri grafiği	31
<b>Şekil 15.</b> Histopatolojik olarak fibroblast sayısı ortalama değerleri grafiği	32
<b>Şekil 16.</b> Histopatolojik olarak nötrofil sayısı ortalama değerleri grafiği	32
<b>Şekil 17.</b> Histopatolojik olarak kapsul kalınlığı ortalama değerleri grafiği	33

## SİMGELER VE KISALTMALAR

- SVF : Stromal vaskuler fraksiyon  
TZP : Trombositten zengin plazma  
TGF-  $\beta$  : Trombosit kökenli büyüme faktörü beta  
USG : Ultrasonografi  
MRI : Manjetik rezonans görüntüleme  
BT : Bilgisayar tomografi  
VWF : Von willebrand faktör  
VEGF : Vaskuler endotelyal büyüme faktörü  
FGF : Fibroblast kökenli büyüme faktörü  
EGF : Endotelyal kökenli büyüme faktörü  
ATP : Adenozin trifosfat  
GTP : Guanozin trifosfat  
ADP : Adenozin difosfat  
GDP : Guanozin difosfat  
WAT : Beyaz yağ dokusu  
BAT : Esmer yağ dokusu  
TNF : Tumor nekroz faktör  
HKH : Hemapoetik kök hücre  
MKH : Mezenkimal kök hücre  
YDKH : Yağ doku kökenli kök hücre  
HGF : Hepatosit büyüme faktörü  
HCl : Hidroklorür  
İM : İntramuskuler  
Gy : Gray  
PHEMA: Poli-2-hidroksietil metakrilat

## 1.2 TEZ METNİ

### 1.2.1 GİRİŞ ve AMAÇ

Silikon meme protezleri ,meme augmentasyonu veya mastektomi sonrası meme rekonstruksiyonlarında sık olarak kullanılmaktadır (1). Bununla birlikte silikon meme protezleri ağrı, sertleşme, memede asimetriye yol açarak ikinci bir operasyona en sık yol açan komplikasyonlarından biri kapsül kontraktürüdür (2). Kapsül vücuda yerleştirilen yabancı cisimlerin çevrelerinde oluşan fibröz skar dokusu şeklinde belirtilebilir. Silikon implant çevresinde oluşan kapsülün zamanla kalınlaştığı, kontrakte olduğu ve böylelikle implantın distorsiyonuna neden olduğu bilinmektedir (3) Her ne kadar kapsül kontraktürünün oluşumunda bakteri kolonizasyonu, implant yüzey özellikleri, hematoma oluşumu ve radyasyon ilişkili bulunmuşsa da, neden ve patogenezi hala kesin olarak bilinmemektedir. (4). Bu nedenle kapsül kontraktür oluşumunu önlemeye yönelik protez poşunun çeşitli maddelerle yıkanması ,antibiyoterapi, fibrin yapıştırıcı kullanımı, hematoma önlenmesi, farklı dokuda silikon dış yüzeylerin kullanılması ve protezin farklı anatomik lokalizasyonlara yerleştirilmesi yöntemleri denenmiştir. (5,6)

İmplantlar çevresinde oluşan kapsül organizmanın yabancı cisime verdiği reaksiyon olup, kapsül dokusu içinde fazla miktarda CD3/CD68<sup>+</sup> histiyositler tespit edilip ve histiyositler büyüme faktörleri ve fibroblast-stimüle edici sitokinler sentezlerler. (7). Kapsül kontraktürü de implant çevresindeki kollajenin yeniden organize edilmesi ve zaman içinde artan biçimde kalınlaşmasından kaynaklanır (8-10).

Yapılan çalışmalar, silikon implant ile yapılan meme rekonstruksiyonu olgularında radyoterapi tedavisi sonrası kapsüller kontraktür başta olmak üzere komplikasyon oranlarının arttığını gösterilmiştir(11-14) Radyasyonun kapsül oluşumu üzerine etkileri ise çeşitli mekanizmaların açıklanmaya çalışılmıştır. Son dönemde literatürde bildirilen çalışmalar dönüştürücü büyüme faktörünün [transforming growth factor- $\beta$ , (TGF-  $\beta$ 1)] fibrozis oluşumunda ve radyasyonun indüklediği kapsül oluşumunda önemli bir aktör olduğunu göstermektedir (4). TGF-  $\beta$  sinyal iletiminin inhibisyonuyla bu etkilerin önlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda da olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir. (15-17).

Daha önceki deneysel çalışmalarda epididim yağ dokusu içersine yerleştirilen implantlar çevresinde daha yoğun yeni damar oluşumları ve daha az fibrozis geliştiğinin gösterilmesi (18), yağ doku kökenli kök hücrelerin biyomateryaller çevresindeki yabancı cisim reaksiyonunu kontrol edebildiğini göstermiştir (19).

Bununla birlikte, trombositten zengin plazma ile kombine edilmiş yağ doku kökenli stromal vasküler fraksiyonun radyasyonun indüklediği kapsül kontraktürü üzerindeki etkileri literatürde bildirilmemiştir.

Bu nedenle bu çalışma TZP ile kombine edilmiş YDKSVF'nin içerisindeki büyüme faktörleri ve sitokinler yoluyla yağ greftlerinin silikon implantlar çevresinde radyasyonun indüklediği fibrozis ve kapsül oluşumunu sınırlandırabileceklerini karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır .

## **1.2.2 GENEL BİLGİLER**

### **1.2.2.1 Silikon İmplantlara Bağlı Kapsül**

#### **Silikon Yapısı**

Silikon polimer yapılı implant materyellerinden olup,toksik, iritan, alerjen olmayan ve biodegradasyona uğramayan inert bir maddedir(16,21). Silikon temel olarak Silisyum atomu içeren bir madde olup ,keton ile reaksiyone edilmesi ile oluşan bileşiğe "silikon" adı verilir. Tıbbi kullanım için dimetilsiloksanın polimerizasyonuyla polidimetilsiloksan elde edilmiştir. Polidimetilsiloksan, dimetilsiloksanın lineer zincir yapmasıyla oluşup, lineer zincirlerin uzunluğu silikonun akıcılığı üzerine doğrudan etkilidir. (16,17,21) Sıvı silikonlar kısa polimer zincirlerinden meydana gelirken, zincirlerin uzaması ile jelöz tipte silikon, silikon polimerlerinin yan bağlarının artırılması ve zincirlerin birbirine bağlanması ile de katı silikonu oluşturulur(21). Polidimetilsiloksan zincir yapısı arasındaki boşlukların silikat, demir oksit, benzol peroksit gibi maddelerle doldurulması silikonun elastikiyet ve dayanıklılığını artırır. Bu işleme "vulkanizasyon" adı verilir. Medikal kateterler, hidrosefali şant ve drenaj tüpleri, meme protezlerinin membranları, eklem protezleri, penil protezler üretilen yüksek yoğunluklu silikon elastomerlerinden yapılan materyallerdir.(21) 1961 yılında meme augmentasyonunda ilk sıvı silikon enjeksiyonu Uchida tarafından uygulanmıştır. (18) Ancak 1969 yılında bu enjeksiyonların meme nodülleri, kronik inflamasyon, cilt ve meme nekrozu ve ölüme yol açtığını literatürde bildirilmiştir. Kontur deformitelerinin düzeltilmesinde jel formundaki silikon enjeksiyonu tedavisi denemiş ancak otoimmün reaksiyonları arttırdığı ve yer değiştirme nedeniyle yağ dokularında kısa zincirli polimer yapıları ile fibröz kapsül reaksiyonları oluşturdukları rapor edilmiştir.(18,21)

### 2.1.2.Silikon implantlar tipleri

Silikon meme implantları;

- a) içleri doldurulmuş implantlar,
- b) çift lümenli implantlar,
- c) şişirilebilir implantlar olarak 3 grupta sınıflandırılabilir.

Yüzey özelliklerine göre ise;

- a) düz yüzeyli,
- b) pürüklü yüzeyli olarak ikiye ayrılır.

**a) İçleri doldurulmuş implantlar:**Meme implantları uygulanırken güvenlik ve etkinlik kriterleri göz önüne alınır. Güvenirliliğini toksik etkisi, immunojenik etkisi, teratojenik etkisi, karsinojenik etkisi ve mamografi üzerindeki potansiyel etkisinin olmaması belirlerken; etkinliğini ise kapsüler kontraktür, deflasyon, palpasyonla ele gelmesi ve kıvrılma olasılığının düşük olması belirler(20,30,31)

İlk kez 1960 yılında dayanıklı polimerik membran ile çevrelenmiş silikon jel dolu implantlar uygulanmışlardır . (32) Ancak yüksek oranda kapsül kontraksiyonu geliştiğini tespit edilmesi üzere 1970-80 li yıllarda poliüretan kaplanmış silikon jel dolu implantlar geliştirilerek kapsül formasyonu gelişiminin azaltılması amaçlanmıştır(18,21)Ancak poliüretanın biodegradasyonu sonucu toluen 2,4 diisosiyanat ve toluen 2,6 diisosiyanat gibi karsinojenik iki ürünün oluştuğunun saptanması üzerine implantlar kullanımı azalmıştır.(33)

Saline (serum fizyolojik) dolu implantlar 1960' lardan günümüze kullanılmaktadır. İlk kullanılan salin dolu implantlar düz yüzeyli iken, 1980'li yıllardan sonra pürüklü yüzeylilerde kullanılmaya başlamıştır. Pürüklü yüzeyin postoperatif dönemde gelişen kapsüler kontraksiyon oranını azalttığı çalışmalarla bildirilmiştir.(34,35)

**b) Çift lümenli implantlar:** İlk olarak 1974 yılında kullanılmışlardır ve orijinal çift lümenli implantlar 2 gruba ayrılırlar:

- 1) jel dolu iç lümen ve salin dolu dış lümen
- 11) salin dolu iç lümen ve jel dolu dış lümen.

Jel dolu iç lümen ve salin dolu dış lümenin avantajının salin dolu lümenin silikon jel için ikinci bir bariyer sağlaması olarak gösterilmiştir. Salin dolu lümen intraluminal antibiyotik ve steroidlerin yapılmasına imkan sunar. Yapılan hasta serilerinde çift lümenli implant ile intraluminal steroid ile silikon jel dolu implantı karşılaştırmıştır. Çalışmaların sonucunda çift lümenli implant ile steroid grubunda kapsüler kontraktür oranı önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir(18,21,24) Becker ekspansiyon protezi jel dolu dış lümen ve salin dolu iç lümen şeklinde tasarlayarak çift lümenli implantın modifiye edilmiş şeklidir. (18,21)

**c) Şişirilebilir implantlar :** İlk kez 1965 yılında tarafından kullanılmış olup dış yüzeyi sert polimerik silikonla kaplı normal salin solusyonunu içerir ,valv sistemi vardır. (18) Küçük insizyondan kolayca yerleştirilebilmesi ve meme asimetrisi rekonstrüksiyonunda boyutunun ayarlanabilmesi avantajlarıdır.(21) En önemli dezavantajı ise valve hasarına bağlı sıvı kaçağı ve buna bağlı protezin sönmesidir(18,36)

### **1.2.2.3 Silikon İmplantlarda Kapsül Formasyonu**

Silikon implant ile rekonstrüksiyon yada augmentasyon amaçlı meme ameliyatları sonrası en yaygın komplikasyon, implant etrafında konstriktif fibröz kapsül oluşmasıdır .(37) Kapsül, vücuda yerleştirilen yabancı cisime karşı organizmanın verdiği reaksiyon şeklinde oluşan fibröz skar dokusu şeklinde tanımlanabilir .(10) Kapsül duvarı iki tabakadan meydana gelir:

Dış tabaka; sıkı kollajen yapsından oluşur ve kapsülün kalınlığından esas sorumlusudur. Bu tabakanın kalınlığı arttıkça, hipertrofik skar dokusu gelişimine benzer şekilde kollajen liflerin düzenlenmesi değişir. Hücresel içerik göz önünde olup,mononükleer makrofajlar başta olmak üzere, histiositler ve lenfositleri içerir. İç tabaka ise paralel yerleşimli daha ince düzenli kollajen liflerinden oluşur. Kapsülün iç yüzüne doğru lifler daha zayıftır ve hyalin dejenerasyon görülür. (23,38,39) Literatürde yapılan çalışmalarda fibröz kapsül yapısı içinde kontrakte olma özelliğine sahip, az sayıda myofibroblastların olduğunu tespit edilmiştir. (37) İmplantlar çevresinde kapsülün oluşma aşamaları göz önünde tutularak histolojik incelemelerden elde edilen sonuçlara göre kapsül gelişimi 3 dönem içinde incelenebilir(21,22)

**a. Erken dönem:** Kapsül oluşumunda hücresel reaksiyon dikkat çeker. İlk hafta süresince implant çevresinde makrofaj, fibroblast ve lenfositlerden zengin granulasyon dokusu oluşumu gözlenir. Fibroblast öncü hücre olup, zamanla matür haline dönüşerek fibrosit şeklini alır. Dördüncü hafta sonrasında kapsül yapısındaki hücreler sayısı azalır, kapsül kollajen liflerin baskın olduğu bir yapı gelişir. İkinci aya kadar kollajen sentezi ve birikim süreci devam eder, sonrasında kollajen miktarı azalarak neovaskularizasyon belirginleşir.

**b. Standart dönem:** 3-24 ayları arasında geçen dönemdir. Kapsülde yağ hücresi infiltrasyonu görülür.

**c. Geç dönem :** Gecikmiş yara iyileşmesi gibi etkenlerinin süregelen etkileri sonucu oluşur. Kollajen liflerin kalınlaştığı görülür. Fibröz kapsül yapısının incelendiğinde talk, silikon damlacıkları gibi yabancı cisimler görüldüğü bildirilmiştir.(21,39,40)



### **Silikon implantlara bağlı kapsüler kontraktür nedenleri:**

Kapsüler kontraktür silikon implant ile meme rekonstruksiyonunda görülen en sık komplikasyondur.(41,42) Kapsül yapısındaki zamanla görülen değişiklikler ile kapsüler kontraktür gelişmesi birbirleriyle bağlantılı olaylardır. Kontraktür gelişmiş kapsül yapılarının, ,kontraktür gelişmemiş kapsül yapılarının histolojik olarak incelemeleri karşılaştırıldığında ;

a. Kontrakte kapsülün daha kalın olduğu, fibröz kapsül kalınlığı, kapsüler sertlikle bağlantılı olup bununla birlikte kapsüler kalınlık ile klinik olarak meme görünümünün bozulması arasında tam bir ilişki olmadığı görülmüştür.(43)

b. Kontrakte kapsülde hücresel yoğunluğun arttığı, myofibroblastlar olarak tanımlanan kontraktil fibroblastların yara kontraksiyonunun aktif komponentleri olduğu görülmüştür. İlk olarak Ryan tarafından silikon meme implantı çevresindeki dokudan myofibroblastlar tanımlanmıştır ve kapsülün kontraksiyonundan vücudun diğer bölümlerinde olduğu gibi myofibroblastların sebep olduğu düşünölmüştür. (44) Ancak yara yerinden kısa süre içinde uzaklaşmaları nedeniyle myofibroblastların geç dönemde oluşan kapsül kontraktüründen tek neden olmadığını gösterir.(43,44) Histiyositler, polimorf nüveli lökositler, lenfosit ve plazma hücreleri diğer kapsül yapısında görülen hücrelerdir. Hücresel yoğunluk, implant tarafına bakan kapsül yüzünde daha belirgindir .(23,39)

c. Silikon jel dolu implantların kapsül yapısında, dış tabakada daha fazla olmak üzere silikon damlacıkları bulunmuş ancak klinik olarak memenin sertliği ve şekil bozukluğu ile ilişkili olmadığı görülmüştür.

d. Kapsül yapısında plazma hücrelerinin varlığı, B hücre ilişkili immün cevabı akla getirmekte ancak reaksiyonun derecesi ile klinik bulgular arasında orantı yoktur.(43)

Kapsüler kontraktür gelişimi iki önemli teoriyle açıklanmaya çalışılmıştır.

Bunlardan biri non-infeksiyöz teori olup dayandığı temel dayanaklar; silikon implant materyali yüzey yapısı, hematoma, implantın içini dolduran maddeye ait özellikler, implantın yerleştirildiği bölge olarak özetlenebilir. Kollajen liflerin yerleşimde düzensizliğe sebep olan pürtüklü yüzeyin kapsüler kontraktürü azalttığını bildirilirken , bazı çalışmalar ise protezin yüzey özelliklerindeki farklılığın, kapsüler kontraktür gelişimi üzerinde önemli etkisinin olmadığını ileri sürmüştür . (36,45) Randomize kontrollü yapılan bir çalışmada ise, pürtüklü yüzeyli implantların düz yüzeyli implantlardan kapsüler kontraktürü azaltması yönünden daha üstün olduğunu göstermiştir. (46)Deney hayvanları ile yapılan , kliniksel olarak operasyon sırasında gelişen ve boşaltılmayan hematoma implant çevresinde daha sert kapsüle neden olduğunu bildiren, salin ile dolu implantların jel dolu implantlara göre daha az kontraktüre neden olduğunu gösteren çalışmalar diğer araştırmalardır. (18) Yine implant anatomik

pozisyon olarak kas altına yerleştirildiğinde kontraktürün daha az görüleceğini bildiren çalışmalarda mevcuttur.(18)

Kapsüler kontraktür gelişmesinde dayanak olarak gösterilen diğer teori ise infeksiyöz teori olup meme duktuslarında Stafilokokus Epidermidis'in tespit edilmesi ile ortaya atılmıştır yapılan çalışmalarda mikrobiyolojik kültür, elektron mikroskopi ile incelemelerinde başlıca Stafilokokus Epidermidis olmak üzere koagulaz negatif Stafilokokları içeren pozitif kültür sonucu elde ettiklerini bildirmişler ve kapsül yapısında S.Epidermidis biofilm tabakası oluştuğunu ve kapsüler kontraktürlü hastalarda araştırılması gereken önemli unsurlardan birinin olduğunu belirtmişlerdir. (47) Sonuçta oluşan kapsüler kontraktürün ağırlığını etkene maruziyet süresi, sayısı ve derecesi ile bağlantılıdır. (21)

Kapsül kontraktürünün derecesinin bulunmasında en ideal teknik intraprotetik basıncın direkt olarak ölçülmesidir. Bunun da pratikte imkansızlığı nedeniyle indirekt teknikler ile ölçüm zorunlu hale getirmiştir(21, 25)

İndirekt yöntemler subjektif ve objektif yöntemler olmak üzere iki başlıkta incelenebilir:

a. Subjektif yöntemler: Fizik muayenede inspeksiyon ve palpasyon ile üzerine kurulmuş Baker sınıflandırması bu gruba yer alır.(21,48)Uygulamadaki kolaylık nedeniyle günümüzde en sık tercih edilen sınıflamadır.

I. derece: İnspeksiyon ve palpasyon normal. İmplant ele gelmiyor.

II. derece: İnspeksiyon normal, palpasyonda minimal sertleşme mevcut.

III. derece: İnspeksiyonda hafif deformasyon var, palpasyonda sertlik ele geliyor.

IV. derece: İnspeksiyonda sferik, deforme meme görülüyor. Palpasyonda aşırı sertlik ve hassasiyet mevcut ,memeler soğuk.

Bu klasifikasyonda, I ve II. derece kontraktürler kabul edilebilir olarak düşünülüp, invazif bir işleme gerek duyulmazken, III. ve IV. Derece kontraktürler cerrahi operasyon gerektirirler.

b. Objektif yöntemler: Rutin radyolojik görüntüleme teknikleri dışında (Mamografi, USG, MRI,BT) diğer önemli değerlendirme yöntemleri memenin kompresyona direnci ve Laplace kanunlarına göre protezin şekil değişikliğinin değerlendirildiği yöntemler olup. Bu amaçla kullanılan yöntemler;

\* Kompresometri: Dinamometre cihazı ile memenin kompresyon kabiliyetini değerlendirilmesine dayanır.

\*\* Aplanometri: Memenin kompresyon kabiliyetini ölçmek için kullanılır. Bu amaçla, üzerinde bir skalası olan, saydam ve yeterli ağırlıkta cam veya pleksiglass levha hazırlanarak

meme bu levha üzerine yerleştirildikten sonra kompresyon kabiliyetinin değerlendirilmesi ölçüm yapılır.

\*\*\* Tonometri: Birbiri içinde hareket eden iki silindirin memeye bastırılması ile memenin direncini ölçerek çalışan bir yöntemdir.

\*\*\*\* Görüntüleme yöntemleri: USG, Mamografi, BT, MRI. (21,49)

#### 1.2.2.4. Radyoterapi

Biyolojik materyellerde radyasyondan ile oluşan enerji, doku elektronlarının hareketlenmesi ya da bu dokuları oluşturan atom veya moleküllerinin iyonizasyonu ile tamamlanır. (26) Bir atom ya da molekülden bir veya daha fazla sayıda elektronu tamamen çıkaracak kadar yeterli bir radyasyon "iyonizan" olarak isimlendirilir. Radyasyonla dokunun birbiriyle etkileşmesinde, hücreler malign karakterde ise "terapotik (tedavi edici) etki" ya da bu hücreler organizmanın normal hücreleri ise "detrimental (zararlı) etki" den bahsedilir. Hastalıklarının tedavisinde iyonize radyasyonun başarılı kullanımının standartı malign hücrelerin seçici olarak öldürülebilmesi ve doku fonksiyonlarının korunup zarar görmemesidir. (27) İyonize radyasyonun elektromagnetik radyasyon ve partikül radyasyon olmak üzere tipleri vardır.

Elektromagnetik radyasyon; çok kısa dalga boyundan (x ve  $\gamma$  ışınları), uzun dalga boylarına kadar (mikrodalgalar ve radyodalgaları) elektrik dalgaları ve magnetik enerji skalasında yer alıp, enerjisi dalga boyu ile ters orantılıdır. X ışınları röntgen tüpleri veya elektron hızlandırıcı cihazlar yardımıyla üretilirler. (26,98)

Partikül radyasyon; elektronlar, protonlar,  $\alpha$  partiküller,  $\pi$ -mesonlar gibi partiküller tarafından üretilen radyasyon tipidir.

Radyasyon terapotik olarak çeşitli yöntemlerle uygulanabilir.

a. Eksternal

b. Brakiterapi

\* İnterstisyel

\*\* İnterkaviter

\*\*\* Kontakt

c. Sistemik ( $I^{131}$  tedavisinde olduğu gibi)

Eksternal tedaviler; radyoaktif kaynağın hastadan uzağa yerleştirilip ışının hastaya doğru yönlendirilmesiyle yapılır. Eksternal tedavide  $\gamma$  - ışınları (cobalt, cesium), x ışınları (lineer hızlandırıcılar, ortovoltaj makineleri) ve partikül ışınları (proton, nötron)

kullanılır.(15,99,100) Günümüzde birçok tümörün tedavisinde, daha derin dokulara penetre olabilen megavoltaj makineleri kullanılmaktadır.(28)İyonize radyasyonun dokularda meydana getirdiği biyolojik etkiler rad veya Gray birimleri ile ölçülür. Rad; 1 gram dokuya 100 erg enerji taşıyan ışının miktarıdır ( 1 Gy =100 rad ve 1 cGy=1 rad) Maksimum doz, doku içinde belirli derinliklerde birikmesi ile oluşur ( D max olarak bilinir). (27)

### **Radyoterapinin Dokular Üzerindeki Etkileri:**

Radyoterapinin normal doku üzerindeki etkileri akut ve kronik olmak üzere iki grupta sınıflandırılır. Bu etkilerin derecesi doz-zaman-hacim faktörlerine bağlıdır.

#### Akut etkiler ( erken reaksiyonlar):

- Eritem
- Kuru deskuamasyon
- Islak deskuamasyon' dur.

Işınlama sonrası 2-3. haftalarda akut etkiler yavaş yavaş yok olurken , cilt üzerinde kronik etkiler görülmeye başlar. Epidermiste kök hücrelerde yeni hücre popülasyonu oluşması akut etkilerin azaltırken küçük kapillerlerin oklüzyonu nedeniyle cilt ve ciltaltı dokularda hücre sayısında azalma meydana gelir. Bu bölgeler fibrotik yapılar tarafından doldurularak fibrozis ve atrofik cilt meydana gelir.(101-103)

#### Kronik etkiler:

- Artmış yada azalmış renk değişimi
- Deri ve subkutan dokularda kalınlık değişimi ve fibrozis
- Telenjektazi
- Yağ ve ter bezlerinin fonksiyon bozukluğu
- Nekroz
- Sekonder malignite ihtimali

Dermal bağ dokusunun esas hücresi fibroblastlardır. Bağ dokusu genel olarak radyasyona uzun dönemde cevap verir ve duyarlılığı düşük derecededir. 200 cGy ve üzerindeki dozlarda fibrozis ve atrofi meydana gelebilir.(104) İn vivo ve invitro çalışmalar, iyonizan radyasyonun fibroblast proliferasyonu üzerinde yaptığı baskılayıcı etkiyle nedeniyle kalıcı hasar meydana getirdiğini göstermiştir.(104) Dermise akut radyasyon hasarında gözlemlenen ilk bulgu ; kollajen demetlerindeki ödem ve dermal inflamasyondur. Eğer akut radyasyon zararı çok fazla ise , dermisin nekrozu ve ülser meydana gelebilir. Radyasyona maruziyeti sonrasında dermiste görülen histopatolojik değişiklikler; hyalinizasyon ve kollajen liflerinin şişmesi şeklindedir.Dermis boyunca yeni kollajen oluşumu gözlemlenir. Bu

linik sonuç olarak belirgin fibrozis şeklinde karşımıza çıkar.(29) Dermiste büyük, geniş, yıldız şeklinde "*radasyon fibroblastları*" görülebilir.(28,29). İyonizan radyasyon erken dönemde kan damarlarının bazal membranında hasara ve geçirgenliğin artmasına sebep olur. İleri dönemde damarlarda tromboz gelişebilir. Yavaş şekilde ilerleyen damar kaybı sonrasında , hasardan etkilenmemiş daha derin yerleşimli damarlarda rekanalizasyon ile birlikte fibröz doku oluşumu görülür.(27,29,99) Araştırmalarda doku hasarından 1 hafta sonra uygulanan radyasyonun yara iyileşmesini etkilemediğini gösterilmiştir. Radyoterapi, orta dozlarda ve cerrahiden 3-6 hafta önce uygulandığında komplikasyonları artırmaz. (104,105)

### **Radyoterapinin İmplantlar Üzerine Etkileri:**

Meme kanseri vakalarında , subkutan mastektomi ile eş zamanı ekspander ve implant ile meme rekonstruksiyonu yapılması sık kullanılan yöntemlerdendir. Postoperatif radyoterapi uygulaması tümör cerrahı pozitif sınırı olan, T3 tümörlerde, 4 veya daha fazla pozitif lenf nodu olan hastalarda genellikle uygulanmaktadır. Ayrıca adjuvan radyoterapi tedavisi, meme koruyucu cerrahi planlanan hastalarda tedavinin bir bölümünü oluşturmaktadır.(106,107) İmplant ile meme rekonstruksiyonu sonrası yapılan radyoterapinin sonuçları araştırılmıştır. Radyasyon uygulanan implantlarla uygulanmayan implantlar arasında ; oluşan kapsüler kontraktür evresi, ağrı, ekstrüzyon yönünden karşılaştırmalar yapılmıştır. (108)Radyoterapinin kapsüler kontraktür evresini artırdığını ( Baker III, IV) klinik olarak estetik görünüm ve hastanın sonuçtan memnuniyeti yönünden önemli olumsuz sonuçları olduğunu bildirilmiştir. (108) Kaztzel ve arkadaşları ratlar üzerindeki deneysel araştırmada ışınlanmış deney hayvanlarında kontrol grubuna göre daha kalın ve histopatolojik incelemede düzensiz kollajen yapısına sahip oluştuğunu bildirmişlerdir.(150) Yapılan diğer bir çalışmada ise radyasyonun, öncelikle kapsüler kontraktür olmak üzere komplikasyonların daha sık görülmesi ve kötü estetik neticelere sebebiyeti nedeniyle radyoterapi planlanan hastalarda implant ile rekonstruksiyonun kontraendike olması gerektiği bildirilmiştir(109-111). Siggelkow ve arkadaşları yaptıkları 43 hasta içeren çalışmada silikon meme implantları etrafında gelişen kapsül kontraktürünü klinik evresinin hasta yaşı ,implantın yüzey özellikleri , süre ve enfeksiyon ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir. (38)Ancak yapılan farklı bir çalışmada; önceki çalışmaların hasta sayısının yeterli olmadığı, uygun olmayan hasta grubunda yapıldığı, farklı zamanlarda radyoterapi uygulanarak yapıldığı için uygun sonuç vermedikleri belirtmiştir. Bu nedenle 156 hastayı, kendi planladıkları algoritme uygun olarak tedavi etmişlerdir. Tüm hastalara mastektomi eş zamanlı olarak ekspander protez uygulanmış , 18

şişirme seansı esnasında kemoterapi tedavisi yapılmıştır. Kemoterapi tedavisi bittikten 4 hafta sonra ekspander protez, kalıcı meme implant ile değiştirilmiş, bu operasyondan 4 hafta sonra radyoterapi uygulanmıştır. Kontrol grubu olarak ise hastalara radyoterapi uygulanmamıştır. Tüm hastalar radyoterapiden uygulamasından sonra 1 yıl süresince estetik ve klinik sonuçlar açısından takip edilmişlerdir. Radyoterapi uygulanan grupta kapsüler kontraktür oranı daha fazla olduğu aksine estetik sonuçların buna oranla daha iyi olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak çalışmada , postoperatif radyoterapi uygulanan hastalarda protez ile rekonstrüksiyonun uygulanabilir sonuçlar verdiği ancak otojen meme rekonstrüksiyona tercih edilemeyeceği kanısına varılmıştır.(112) Bu bilgiler ışığında, radyoterapinin silikon implant etrafındaki kapsüler kontraktür oluşma sürecini hızlandırdığı düşünülebilir. (107) Radyasyon hasarı sitokin aktivasyonu ile başlayan sürecin tetiklenmesi ile oluşan bir kaskadır ve TGF -beta ise bu kaskadın ana yapısını oluşturur. Katzel ve arkadaşları TGF betanın, smad 3 fosforilasyonu ile sağlana sinyalizasyon ile kapsuler kontraktürü oluşturması temeliyle yaptıkları deneyle araştırmada bu sinyalizasyonun engellendiği ışınlanmış deney hayvanlarında kapsul kalınlığını azaldığını bildirmişlerdir.(15) Lipa ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada bilateral mastektomi yapmış hastaların radyoterapi uygulanmış ve uygulanmamış meme protezlerinin kapsul yapılarından alınan parçaların incelenip karşılaştırılmasıyla , radyasyon hasarının GSK 3 beta kinaz ve beta katenin yoluyla oluşan fibroproliferasyon yoluyla kapsuler kontraktüre yol açtığını öne sürmüşlerdir.(4)

#### **1.2.2.5.Trombositler ve Trombositten Zengin Plazma**

##### **Trombositlerin içerikleri ve fonksiyonları**

Trombositler yaşamsal öneme sahip hücre tipleridir.(51) Kemik iliğinde oluşup megakaryositlerden köken alırlar ve nukleus , DNA içermemelerine karşın hücrenin tüm fonksiyonlarını gösterirler. Trilaminar hücre membranına, mitokondri ve granüllere sahiptirler. Dalakta depolanırlar ve yarından fazlası dalakta olmak üzere doku makrofaj sistemi tarafından uzaklaştırılır . Dolaşıma geçtikten sonra yaklaşık 8-10 gün ömürleri vardır. Kanda sayıları 150-350 000  $\mu$  /lt arasında bulunur. Normalde yuvarlak yada diskoid şekle sahip olsalarda aktivasyon sonrası irregüler psödotlar içeren daha büyük bir forma kavuşurlar. Trombositlerin içinde kenar tarafta yerleşimli açık mavi boyanan hyalomer ve merkezde yerleşimli mor boyanan granulomer yapıları bulunur. Hyalomerler hücre hareketinden ve hücre şelinin korunmasından sorumlu olup, granulomerler ise golgi cisimciği , mitokondri ve

lizozom içerirler. Trombosit içinde bulunan granüller içerik ve yoğunluklarına göre alfa, delta ve lambda (lizozom) olmak üzere üç gruba ayrılır(52-54) Dolaşımdaki trombositler aktive olmaları durumunda bu granüllerdeki çok sayıdaki büyüme faktörlerini ortama salmaktadırlar (59,60)

- a) Alfa granüller:Her trombositte yaklaşık 50-80 adet mevcut olup 30 un üzerinde bioaktif protein içerir.(80)Major grup olan alfa granüllerde hemostaz , inflamasyon, iyileşmede görevli pek çok protein ve büyüme faktörlerini içerir, depolar ve salar(55). Çapı 200-400 nm'dir.büyüme faktörleri lokal ve sistemik etkili zimojen halde depolanan mediatörlerdir. Degranulasyon sonrası aktif forma dönüşürler(84,85)
- b) Delta granüller:Daha küçük ( 250-300 nm )boyuttaki bu yoğun granüllerde kalsiyum pirofosfat, ADP , ATP gibi molekülleri bulunur ve seratonin deposu olarak işlev görür. Bu faktörler trombosit agregasyonu , hücre göçü ve proliferasyonu, vasküler tonus olaylarında görev alırlar.(56,86)
- c) Lizozomal granüller:  
En küçük boyuta (175-250nm) sahip granülleridir. İçinde asit hidrolaz gibi lizozomal enzimler, bakterisidal etkili olan glikolidaz,proteaz gibi enzimleri ihtiva ederler.( 57)

Alfa granüller	Delta granüller	Lambda granüller
Fibrinojen	Ca	Asit fosfataz
P selektin	Mg	Kollejenaz
Platelet faktör 4	ATP	Karboksipeptidaz
Beta tromboglobulinler	GTP	N-asetil galaktozominidaz
Protein s	ADP	Glukoz 6 fosfataz
plazminojen	GDP	Arabinozidaz
Faktör 5,7,11,13	CD63	Heparinidaz
VWF	Seratonin	Katepsin
TGF beta	P selektin	ATP
VEGF	Histamin	TGF
FGF	Epinefrin	CD63
EGF	GPIb-GPIIb	
Fibonektin		

Tablo 1 : trombosit granül içerikleri

### **Trombositten Zengin Plazma:**

Yüksek yoğunlukta trombositin trombin ve kalsiyum ile aktive edilmesi , mitojenik faktörler yönünden zengin bir plazma elde edilmesini sağlar ve buna trombosit zengin plazma denir . Trombosit jel adı da verilen bu plazmanın hazırlanması venöz bir miktar kanın alınıp santrifüje edilmesi ile sağlanır. İnsanda otolog ve steril şartlarda hazırlanması gereken bir ürün iken rat gibi küçük canlılarda immunolojik potansiyeli ihmal edilebilen canlılarda allojenik olarak hazırlanabileceği bildirilmiştir. Trombositlerin hemostaz sürecindeki etkin fonksiyonlarının anlaşılmasından çok sonra yara iyileşmesi üzerindeki etkileri olduğu tespit edilmiştir.( 58)

Trombositleri korumak amacıyla kalın uçlu bir iğneyle venöz kan alındıktan sonra antikoagülasyon solusyon (ACD-A) içerisine alınır ve iki kez santrifuj işleminden geçirilip , trombosit konsantrisi sağlanmış olur. Antikoagulan olarak asit sitrat dekstroz kullanılması , santrifuj işleminin düşük devirde yapılarak daha az gravite kuvvetinin uygulanması ile membran bütünlüğü korunarak , trombosit parçalanması önlenip sekreteruar proteinlerin



bioaktivitesini arttırılır. Kan santrifuj edildiğinde 3 tabaka meydana gelir. Kırmızı kan hücrelerinden oluşan alt tabaka(yoğunluk 1.09) trombosit ve beyaz kan hücrelerinden oluşan orta tabaka (buffy coat , yoğunluk 1.06 ) ve en üste plasma tabakası (yoğunluk 1.03). (59,60) Bazı araştırmacılar TZP nin bazal seviyenin 3-5 katı kadar trombosit konsantrasyonu içermesi gerektiğini önermektedirler. Anitua TZP' nin hazırlanırken amacın 3000000 trombosit /ml olması gerektiğini belirtmektedir bu aşamada elde edilen trombosit konsantrasyonundaki trombosit sayısının , değişken olmakla birlikte eş zamanlı kan trombosit değerinden 4-7 kat fazla olduğu bildirilmiştir. (59,60) Periferik yada santral venlerden alınan kanlarla hazırlanan TZP deki trombosit miktarı arteriyal kandan hazırlananlardan yüksek olarak tespit edilmiştir. Elde edilen trombositten zengin plazmayı aktive etmek için ortama  $CaCl_2$  ve trombin ilave edilerek aktivasyon sağlanır. Aktivasyon için sığır kaynaklı (bovin) trombin kullanılabilir. Trombositten zengin plazmanın aktive edilmesi ile birlikte trombosit aktivasyonunu tetiklenir ve pıhtı oluşumu hemostazı sağlayarak pıhtı tabakası içerisinde aktive trombositlerin alfa granülleri içinde bulunan büyüme faktörleri degranüle olur. Trombosit aktivasyonu, alfa granül membranında bulunan p selektin düzeylerinin ölçülmesi ile değerlendirilebilir. Bu şekilde büyüme faktörlerinden zengin bir mikroçevrenin oluşmasını sağlayarak iyileşmeyi pozitif yönde bir etki sağlayan bir malzeme elde edilir.(36) TZP nin rejeneratif potansiyeli aktivasyonla salınan sekretuar proteinlerin seviyelerine bağlıdır. Sekretuar proteinlerin de seviyelerle ELISA ile kantitatif olarak ölçülebilir

Özellikle klinik olarak büyük bir sorun yaratan kronik yaralarda büyüme faktörlerinin miktarlarının azaldığı gösterilmesi üzere bu faktörlerin etkilerinden faydalanmak üzere çalışmalar yapılmış ve basınç ülserleri , venöz ülserler , diyabetik yaralarda TZP'nin faydalı olduğu birçok kez bildirilmiştir. (60)

TZP kemik ve yara iyileşmesini hızlandırıp ve postoperatif infeksiyon , ağrı ve kan kaybını azaltır.TZP doku mühendisliği , kemik greftleri ve anjiogenez alanlarında giderek daha da dikkati çekmektedir. TZP'nin kullanıldığı klinik uygulamalar ,kronik yaralar, peridontal ve oral cerrahi , maksillofasyal cerrahi, kozmetik cerrahi ve koroner bypass cerrahisini içermektedir. Kozmetik fasyal ve meme cerrahisinde TZP kullanımıyla postoperatif ağrı ve şişlikte azalma olduğunda gözlemlenmiştir. (84,85) Uygulanan TZP miktarı ve uygulama prosedürü spesifiktir. (84) ELISA ile yapılan tetkiklerde TZP de tam kanla karşılaştırıldığında TGF beta da 7, PDGF de 30 EGF de ise 10 kat artış olduğu saptanmıştır. (75,80) İn vivo trombosit konsantrasyonu ile insan erişkin mezenkimal kök hücre

proliferasyonu , fibroblast proliferasyon ve tip 1 kolajen üretimi arasında doz bağımlı bir ilişki bulunmaktadır. (85,87)

#### **1.2.2.6. Yağ doku ve Stromal Vaskuler Fraksiyon**

Bir bakıma vücudun en büyük organlarından biri olan yağ dokusu subkutan , perivisseral, kemik iliğinde ve meme dokusunda bulunur. Vücut kitlesinin %4 ünü oluşturur. Yağ dokusunun beyaz (WAT) ve esmer yağ doku (BAT) olmak üzere iki farklı formu mevcuttur. WAT ile karşılaştırıldığına BAT kapillerlerden oluşan daha zengin damarsal yapı içerir.(82) Yağ dokusunun 1/3'ü matür adipositlerden oluşur. Yağ dokunun diğer 2/3 ünü ise stromal vaskuler fraksiyonda (SVF) bilinen , kan damarları (endotel hücreleri) , kök hücreler , preadipositler ve fibroblastlar oluştururlar.(79)

Yağ doku visseral ve subkutan olmak üzere ikiye ayrılır. Subkutan yağ dokuda yüzeysel ve derin olarak iki farklı tabakadan oluşur. Avuç içi ve ayak tabanında bulunan subkutan yağ doku şok absorban olarak görev yapar. Visseral yağ doku ise intraperitoneal ve retroperitoneal kompartmanlara ayrılmıştır.

Yağ dokunun vücutta dağılımı yaşa ve cinsiyet ile ilişkilidir. Kahverengi yağ doku boyun, omuzlar, perianal ve paraaortik bölgelerde bulunur. Beyaz yağ dokusunun sarımsı rengi keratenoidlere bağı iken, kahverengi yağ dokunun rengi içerdiği mitokondrionlara ve lipokroma bağlıdır.

Yağ dokusu embriyolojik olarak mezenkimal kökenli olup lipoblastlardan gelişirler bu hücreler fibroblastları andırırlar ancak stoplazmada yağ depolayabilme kabiliyetine sahiptirler. Hacimlerinin yaklaşık %80-95 i kadar trigliserit depo edebilirler. Beyaz yağ dokusunun ağırlığının yaklaşık %60-85'i lipid, bununda %90-99'u trigliserittir.

Gebeliğin 30 . haftasında yağ depolanması başlar. Fetusta öncelikli yağ oluşumu kahverengi yağ olup , doğum sonrası sınırlı bir süre içinde beslenme ve diğer etkenler bağı olarak yağ hücrelerinin sayıca artışı olabilir ancak sonrasında hücre sayısında bir artış olmaz, sadece fazla kalorili beslenme ile lipid miktarını arttırırlar. (79) Leptin ,resistin gibi hormonlar, TNF alfa gibi sitokinleri sekresyonu yaparak , endokrin fonksiyon görür. Ayrıca yağ doku vücutta erişkin kök hücrelerin en zengin kaynağı olup doku onarımı ve rejenerasyonunda önemli bir araç olacktır.

Yağ aspirasyonu veya abdominoplasti sonrası fazla miktarda elde edilebilen yağ dokusunun özellikle greft olarak kullanımı plastik cerrahide uzun yıllardır popülerliğini sürdürmektedir. Yağ gefti uygulamaları fasiyal lipodistrofi, nazolabial çöküntü, deprese skar , posttravmatik defektlerin ve meme augmentasyonunda, el yüz gençleştirme operasyonlarında vokal kordların augmentasyonunda, spinal dura onarımı gibi geniş bir yelpazede tedavi seçeneği oluşturmaktadır. (70-76). Otolog yağ geftleri kolay elde edilebilen , düşük maliyetli , immunolojik yada alerjik reaksiyona neden olmayan materyallerdir. (77)Enjeksiyon yöntemi veya eksizyonel greft olarak transfer edilebilen yağ dokusu içindeki olgun yağ hücrelerinin hassasiyeti ve travmaya bağlı %20-50 oranında kayıplar görülür ve resorbe olarak yerini fibröz doku ve yağ kistleri alır(78)

Ailhaud ve arkadaşları santrifüj edilen yağ dokusu süspansiyonunu farklı fraksiyonlara ayırdığını ve bu süspansiyonun , parçalanmış olgun yağ hücrelerinden açığa çıkan trigliserid, olgun yağ hücreleri ve stromal vasküler fraksiyondan(SVF)(preadipositler, fibroblastlar, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, perisitler, kök hücreler)oluştüğunu göstermiştir(63)

Preadipositler, adipojenik progenitör hücreler olup , olgun yağ hücrelerinden farklı daha küçük hacime sahip olduklarından ve stoplazma içi yağ damlacıkları olmadığından mekanik travma ve iskemiye olan dayanıklılıkları daha fazladır(64). Birçok çalışmada predipositlerin mikrovasküler endotelial hücrelerle parakrin etkileşim gösterdiği ortaya konulmuştur(65,66). Diğer angiogenik faktörlere oranla daha az bilinen monobutyirin preadipositler tarafından sentezlenir ve endotelial hücre proliferasyonu yapar(67). Yapılan kapsamlı bir çalışmada yağ dokusundan elde edilen stromal vasküler fraksiyonun çok sayıda anjiogenik ve antiapoptotik faktör salgılama potansiyeli olduğunu göstermişlerdir ve başka bir çalışmada ise stromal vasküler fraksiyonun aynı zamanda , tıpkı kemik iliği gibi mezenkimal kökenli olduğu ve iyi bir multipotent kök hücre kaynağı da olduğunu göstermişlerdir.(68,69)

#### **1.2.2.7.Kök Kücre ve Yağ Doku Kaynakli Kök Hücreler**

Kendilerini yenileyebilme, sürekli bölünebilme ve farklı hücre tiplerine dönüşebilme kabiliyetine sahip olan hücrelere kök hücreler adı verilir. Bu hücreler özel biyolojik sinyallerle karşılaşmadıkları sürece dokulara özgü işlevsellik kazanmamış ve farklılaşmamış hücreler olup ,sinyallerin etkisiyle prekürsörlerinden farklı özelleşmiş hücreye dönüşebilirler(

plastisite). Kendilerini yenileyebilme özelliklerini organizmanın yaşamı boyunca sürdürürler.. Farklılaşma potansiyellerine göre kök hücreler 4 grupta sınıflandırılmıştır.

- a- Totipotent hücre: plesanta ve embriyonik membranlar dahil inan vücudundaki tüm hücre ve dokulara farklılaşabilme yeteneğindedir. Tek örneği zigottur.
- b- Pluriotent hücre: Blastokistin iç hücre kitlesinde bulunan ve üç germ tabakasından (ektoderm, mesoderm ve endoderm) birine farklılaşabilme yeteneğine sahip olan kök hücre tipidir ve embriyonel kök hücreler de denilebilir.
- c- Multipotent hücre: Tek germ tabakasının çeşitli hücrelerine dönüşebilir.
- d- Unipotent hücre: Tek germ tabakasının sadece bir hücre tipine farklılaşır. (88)

Zaman içinde vücutta meydana gelen değişiklikler hücrelerin yerini yenilerinin alması ile sonuçlanır. Bu olaylar progenitor hücre varlığını da akla getirmiştir. Özellikle yapılan hayvan çalışmalarındaki başarıların yanı sıra kullanımlarında ciddi tıbbi etik ve dinsel tartışmalar vardır. (89)

En iyi bilinen erişkin kök hücreler hemapoetik kök hücreler (HKH) ve mezenkimal kök hücrelerdir. Mezenkimal kök hücreler prelinik ve klinik çalışmalarda sıklıkla araştırılmaktadır

Erişkin kök hücreler , kemik iliği , umbilikal kord, dental pulpa ,epitelyum ensefalon ve son zamanlarda popüler olan adipoz doku gibi çeşitli dokulardan izole edilmiştir. Erişkin kök hücreler maturasyon, yaşlanma ve hasara bağlı kayba uğrayan hücreleri yenileyerek doku bütünlüğünün ve dengesinin korunmasından sorumludur. Yetişkinde her organ ve dokuda aynı sayıda ve potansiyelde kök hücreler bulunmaz. (90)

İlk defa 1970'lerde Friedenstein ve arkadaşları tarafından tanımlanan mezenkimal kök hücreler, kemik iliği mikroçevresinde hemostaz ve hematopoezini sağlayan faktörlerden biri olup , kemik, kas, kıkırdak, tendon ve ağ hücrelerine farklılaşabilirler ve bununla birlikte non mezenkimal olarak nöron ve astrositlerde farklılaşabilme yeteneğine sahiptirler. Kemik iliğindeki her 10000-100000 çekirdekli hücreden birininin MKH olduğu tespit edilmiştir. Bu oran kordon kanında 100000000 hücrede 1 e kadar gerilemektedir. Uluslararası hücre tedavi topluluğu 3 tanımlayıcı özellik tariflemektedir.

- 1- Standart kültür ortamında plastiğe yapışabilmeli
- 2- CD105, CD73 ,CD90 gibi yüzey belirteçlerini bulundurup, CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79, CD19, HLA-DR (HLA-II) gibi yüzey belirteçlerini bulundurmamalı

3- İnvitro koşullarda kemik, yağ ve kıkırdak hücrelerine dönüşebilmeli .(91)

Mezenkimal kök hücreler morfolojik olarak incelendiğinde iğsi yapıda , fibroblast benzeri bir görünümde dirler .(92)

Mezenkimal kök hücrelerin izolasyonu , yapışma özellikleri kullanılarak sağlanmıştır. Yapışamayan hücreler kültür değişiminde elenerek MKH lar bu sayede konsantre edilir.

Rodbell ve arkadaşları 1960 da yağ dokudan hücre izole eden ilk metodu tariflemişler ve başlangıçta sadece denek hayvanlarının (fare, tavşan) yağ doku örneklerinde kullanılmış sonra modifiye ederek insan yağ doku örneklerinde uygulamıştır. (88)

2000 yılına kadar kök hücre alanındaki yayınlar sadece hemapoetik kök hücre ve kemik iliği mezenkimal kök hücreler üzerinde odaklanmış iken ilk defa 2001 yılında Zuc tarafından yağ doku kaynaklı kök hücreler tespit edilmiştir. Yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin izolasyonu elde edilen lipoaspiratın iki farklı kısımdan da yapılabilir. Zuc yüzeydeki yağ fraksiyonundan kök hücre elde etmiş iken , 2006 yılında Yoshimura daha yoğun olan sıvı fraksiyonundan kök hücre izole etmiştir.(94)

Bu hücrelerin sayısının yağ dokusundaki hücrelerin 1/100 ve 1/1500 ü kadar olduğu düşünülmektedir. Kemik iliğinde elde edilen kök hücrelere bu oranın 1/100000 olduğu düşünüldüğünde , yağ dokusundaki bu oranın oldukça yüksek olduğu anlaşılır. Yağ doku kaynaklı kök hücreler bol miktarda elde edilebilir. Bu sebepten yağ dokusu olog hücre replasmanında ideal bir donör tercih nedenidir.(93)

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. Mezenkimal kök hücre ile yağ doku kaynaklı kök hücre arasında en belirgin fark mezenkimal kök hücrelerde CD106+ liği mevcut iken, yağ doku kaynaklı kök hücrelerde CD49d+ liği göstermesi, ayrıca mezenkimal kök hücrelerin kondrojenik differansiyasyonunun daha iyi olmasıdır. Liposuction aspiratlarından elde edilen YDKH nin mezodermal ve ektodermal menşei hücre serilerine farklılaşabilme özelliğinde olduğu, bunların adipojenik, kondrojenik, osteojenik, myojenik, kardiomyojenik, nörojenik, angiogenik ve hepatik hücre serilerine dönüşebildiği gösterilmiştir . (95) YDKKH nin invitro matur adipositlere farklılaşması insulin, izobutylmetilksantin, deksametazon ve indometazin gibi ajanların etkisi altında sağlanmaktadır. (75,94)

Beyaz yağ dokudaki izole edilen kök hücrelerin farklılaşma potansiyelleri ,esmer yağ dokudan izole edilen hücrelerden daha yüksektir ve daha hızlı büyüme gösterirler. YDKH angienez ve antiapoptotik olaylarda rol alan VEGF,HGF,IL-6,IL-7, TNF ALFA, M-CSF, TGF beta1 gibi sitokin ve büyüme faktörlerini sekresyonu yapabilirler.

YDKH ilk klinik kullanımım geleneksel yöntemlerle iyileşmeyen fistüllerin tedavisinde olup, %75'i kök hücre tedavisi ile tamamen iyileşmiştir. Yine perianal fistülü olan 50 hastada yapılan bir çalışmada ise trombositten fakir plazma ile birlikte yağ doku kaynaklı kök hücre uygulamaları ile %71 oranında tedavi sağlandığı görülmüştür. Ayrıca bir kız çocuğunun kalvarial kemik defektinin yağ doku kaynaklı kök hücre ile kombine edilen kansellöz illiak kemik grefti ile iyileşme sağlandığını bildiren yayın mevcuttur. (95,96,97)

Farmakolojik ve klinik çalışmalarda, özellikle dejeneratif hastalıkların tedavisinde uygulamaları öngörülerek YDKH farelerde X'e bağlı muskuler distrofi için kullanılmıştır. (79,88) Lipoatrofinin tedavisinde ise ümit vaat eden çalışmalar mevcuttur. (80,81,88)

Şiddetli kombine immune yetmezliği olan farelere, insan meme kanseri hücresi ile birlikte YKDH implante edildiğinde tümör oluşumunu tetiklemediği görülmüş olup bu bilgi ışığında YDKH tedavisinin güvenilir olduğu söylenebilir.

Rigotti ve arkadaşları yağ doku kökenli kök hücrelerin radyasyon tedavisinin geç dönem yan etkilerinin , neovaskularizasyonu sağlayarak iyileşme sağladıklarını bildirmişlerdir.(130)

### 1.2.3.GEREÇ VE YÖNTEM :

Bu çalışma , Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Etik Kurul Başkanlığı'nın 30.10.2013 tarih ve 2013-175 sayılı izni ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen , 31 adet 3 aylık WistarAlbino tipi dişi rat kullanıldı. Hayvanlar çalışma sonrasında standart laboratuvar şartlarında 5'erli gruplar halinde kafeslerde , 20-22 derece sıcaklıkta 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ortamın sağlandığı koşullarda ve uzman veteriner kontrolünde izlendi. Hayvanların yem ve su ihtiyaçları düzenli olarak karşılandı. Deneklerin kafeslerine grup numaraları yazılarak karışmaları engellendi.



**Şekil 1.** Deney hayvanlarının ortam koşulları ve gruplar şeklinde takibi

Deney hayvanlarından 4'ü ise trombosit zengin plazma ve yağ doku kökenli stromal vasküler fraksiyon hazırlanması için verici olarak kullanılarak kurban edildi. Kan alınması sırasında ve cerrahi işlemler esnasında 60 mg/kg ketamine-HCl (ketalar- İM) ve 6mg/kg Ksilazin HCL(rompun –İM) karışımı ile sağlanan anestezi altında gerçekleştirildi. Postoperatif dönemde deneklerin insizyon hattına povidon iyot sürülerek açık pansumanları yapıldı.

### 1.2.3.1 Çalışma Grupları

Toplam 27 rat 3 gruba ayrılarak çalışmaya başlandı . Postoperatif 56. Günde tüm gruplarda silikon çevresinde gelişen kapsül kontraktürü makroskopik ,radyolojik olarak değerlendirildi ve son olarak implant ve çevresindeki kapsül çıkartılarak histopatolojik incelemeye gönderildi.

Grup no	Sayı (n)	Protokol
1	9	Radyasyon uygulaması sonrası silikon protez çevresindeki poşa ve çevre dokulara hazırlanan yağ grefti,SVF ve TZP karışımı uygulama
2	9	Radyasyon uygulaması sonrası silikon protez çevresindeki poşa ve çevre dokulara hazırlanan serum fizyolojik grefti uygulama
3	9	Radyasyon uygulaması sonrası silikon protez çevresindeki poşa ve çevre dokulara yağ grefti uygulama

Tablo 2: hayvan çalışması gruplarının gösterilmesi

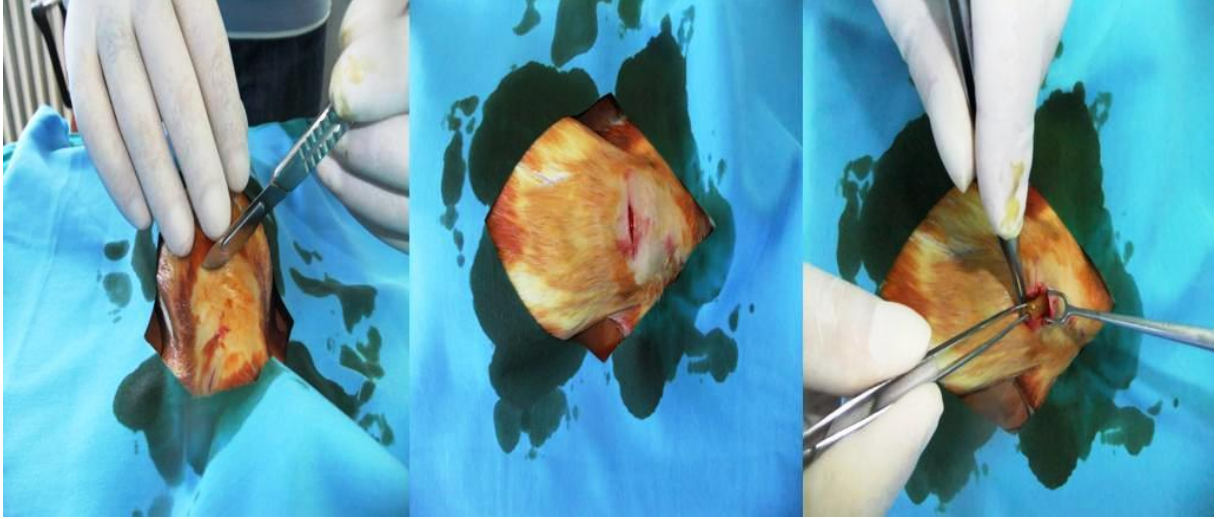
### 1.2.3.2 Silikon İmplantın Hazırlanması:

Silikon jel dolu düzgün yüzeye sahip meme implantı; içindeki jelden arındırılmış ve dış silikon tabaka 1x0,5x0,5 cm boyutlarında dikdörtgen prizması şeklinde hazırlanıp tespit edilmiştir. Operasyon sırasında steril olarak kullanıma hazır olmaları amacıyla her parça etilen oksit gazı ile sterilize edilip, serum fizyolojik ile yıkanarak kullanılmıştır.

### 1.2.3.3 Cerrahi Protokol

Her üç grupta her bir ratın sırt bölgesinde cerrahi alanın traşlanması ve iyotlu solusyonla temizlenmesini takiben sırt bölgesinde orta hatta 1.5 cm transvers bir kesi yapıldı. Bu kesi hattından girilerek üst ekstremitelere doğru diseksiyon uygulandı ve kutanöz maksimus kası altında birer adet boşluk oluşturuldu. Bu boşluklara silikon implantlar yerleştirildi ve bu implantlar mobilitelerinin kısıtlanması amacıyla 3/0 vikril kullanılarak deriye tespit edildi. Deri insizyonları ise 3/0 prolene ile aynı dikiş materyaliyle kapatıldı.





**Şekil 2.** Cerrahi operasyonların aşamaları

#### **1.2.3.4 Kullanılan Cerrahi Araç- Gereç**

Operasyonlar sırasında küvet, portegü, disseksiyon makası, tek dişli ve çok dişli pensetler, No:15-20 bistürü, No: 3-4 bistüri sapı, değişik boylarda pensler ve hook kullanılmıştır. Kullanmadan önce tüm cerrahi set elemanları otoklavda sterilize edilmişlerdir



**Şekil 3.** Operasyon esnasında kullanılan malzeme

#### **1.2.3.5 Yağ Grefti Hazırlaması**

Sağ inguinal bölgeye cerrahi alanın traşlanması ve iyotlu solusyonla temizlenmesini takiben yapılan isizyonlarla girilerek inguinal yağ dokusu eksize edildi . Eksize edilen yağ dokusu serum fizyolojik içeren steril metal kap içine yerleştirildi. Kanama kontrolü sonrası cilt 3/0 vicril ile kontinü suture edilerek kapatıldı. Yağ dokusu makas ve bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldıktan sonra steril enjektörler içinde 1000 rpm devir ve 3 dk boyunca

santifurujeye edildi. Sonra elde edilen pelet 1 cc insulin enektörlerine çekilerek uygulamaya hazır hale getirildi.



**Şekil 4.** Yağ greftinin hazırlanma aşamaları

#### **1.2.3.6 Stromal Vasküler Fraksiyon Hazırlanması**

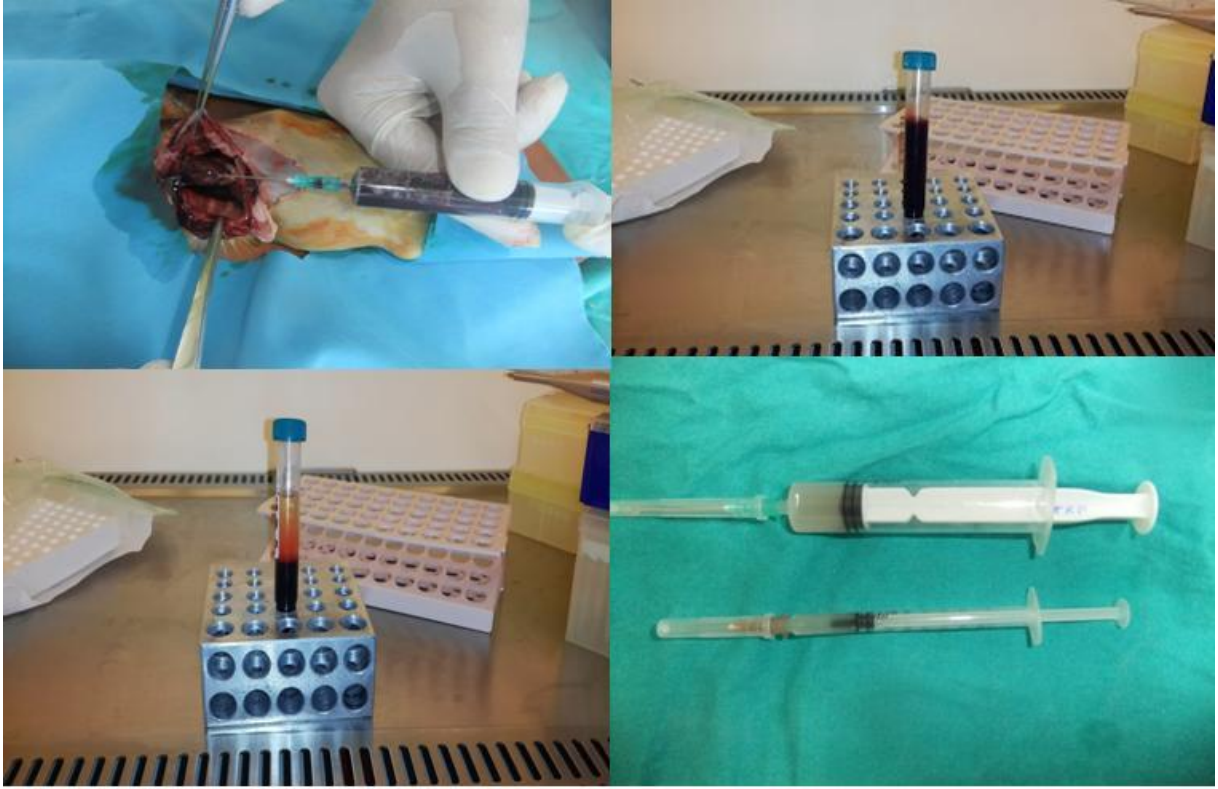
Dört adet ratın inguinal bölgelerindeki yağ dokuları steril kaplara alındıktan sonra, dokular antibiyotik içeren (100 U/mL penisilin, 100 mg/mL streptomisin, and 0.25 µg/mL fungizon) serum fizyolojik ile 20 dakika yıkandı ve laminar akımlı özel kabin içinde küçük parçalara ayrıldı. Bu doku parçaları 37°C de 25 dakika süreyle 0.1% kollajenaz tip 1-2ve 4 karışımı (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), hyaluronidaz ve lesitin içeren solusyonda karıştırıldı ve üstte biriken yağ tabakasının mekanik ayıştırılması sonrası geride kalan sıvı 2200 rpm ile 20 dakika santrifuje edildi. Tabandaki hücre kümesi toplanıp 5 mL Dulbecco solusyonuyla (Dulbecco's modified Eagle's medium-DMEM) ile karıştırıldı. Oluşturulan hücre süspansiyonu 2200 rpm de 10 dakika daha santrifuje edildi. . Deney grubundaki her bir rat için 0.6 mL SVF hazırlandı.



Şekil 5. SVF hazırlanma aşamaları

### 1.2.3.7 Trombositten Zengin Plazmanın Hazırlanması

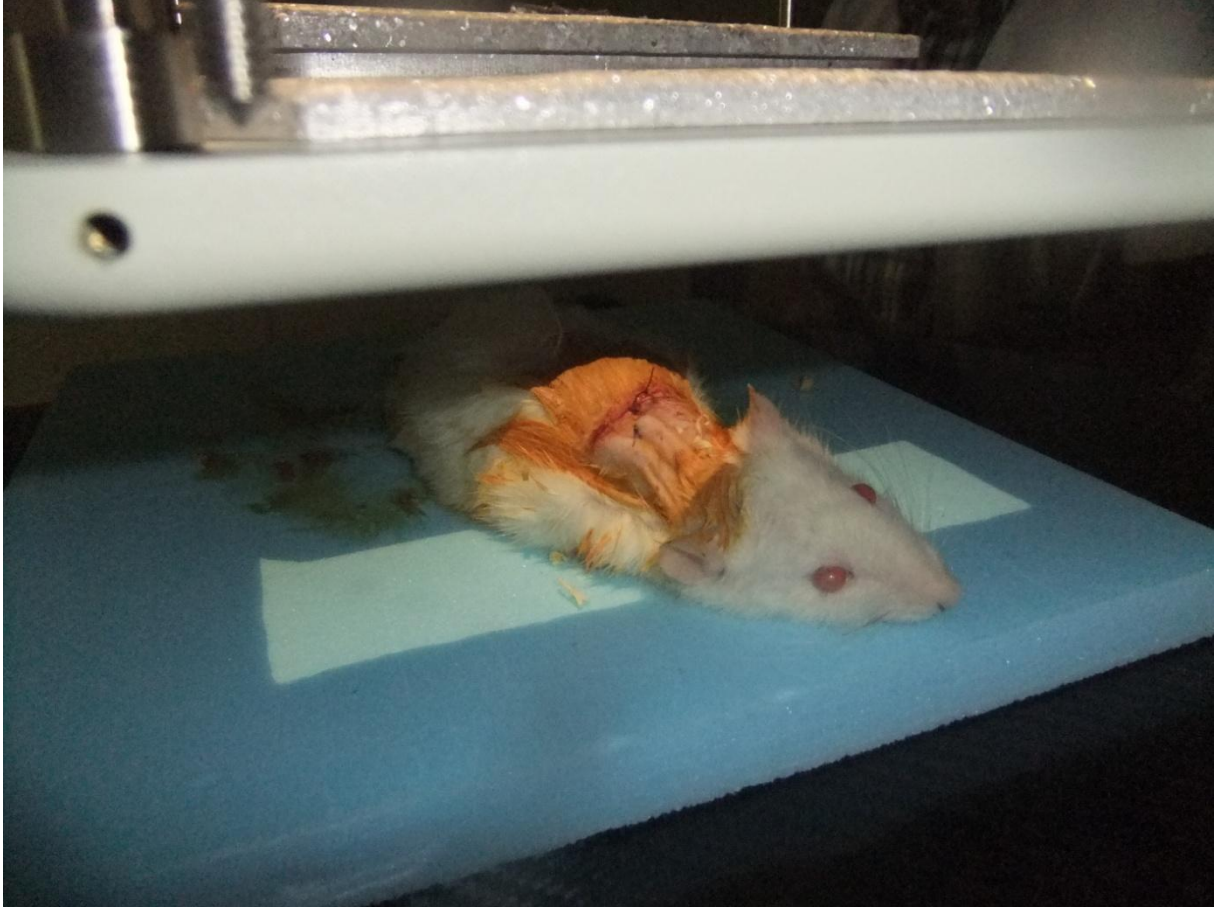
10 mL' lik enjektöre 1.3 mL antikoagulan sitrat dekstroz solusyonu çekildikten sonra, aseptik koşullarda üç adet rattan aseptik koşullarda intrakardiyak girişimle kalın uçlu iğne ile elde edilen kan (6.7 mL) ile karıştırıldı ve karışımın üzerine 10 mL olacak şekilde serum fizyolojik eklendi. Kan 20°C de 1000 rpm de 20 dakikada santrifüje edilerek plazma, eritrosit, lökosit, ve trombositlerden arındırıldı. En üstteki 4.5 mL'lik plazma bir başka tüpe aktarıldı ve 5 dakika 3800 rpm de santrifüje edilerek üstteki 2,5 mL lik trombosit fakir plazma (TFP) ve alttaki 2 mL lik trombosit zengin plazma elde edildi. Üstteki TFP aspire edilerek TZP ile karışması önlenildi ve TZP bir başka steril tüpe aktarıldı. Deney grubundaki her bir rat için 0.3 mL TPZ hazırlandı.



**Şekil 6.** PRP hazırlanma aşamaları

### 1.2.3.8 Işınlama

Cerrahi prosedür tamamlandıktan sonra, ratlar halen anestezi altında iken, radyasyon uygulanmak üzere pron pozisyona alındılar. Işınlama dozu daha önce literatürde bildirilen ve implantlar cilt altı dokuya koyuldukları için , cilt altı dokuda değişiklik oluşturacak doz referans alınıp ve ratların ağırlıklarında göz önünde bulundurularak ratların sırt bölgesinde yalnızca cerrahi alanlar hedeflenmesi için sağlam alanlar korunup, torakodorsal bölge duvarına yönlendirilen 10 Gy tek fraksiyon elektrom ışın ile SSD 100 cm mesafeden lineer akselerator yardımıyla uygulandı. (Siemens Primus Plus, USA). Böylece her grubunun aynı dozda ışın alması sağlanmış oldu. Lineer akseleratörden gelen elektron ışın partikülü radyasyon sağladığından radyasyonun yan etkileri deri ve hemen deri altı dokusunda oluşacağından , kapsül kontraktürü oluşumu provoke edildi.



**Şekil7.** Ratların ışınlanma işlemi

### **1.2.3.9 Trombositten Zengin Plazma ve Stromal Vasküler Fraksiyonun Uygulanması**

Grup 1 (n = 9): Her bir ratın sağ kutanöz maksimus kası altına bir adet düzgün yüzeyli silikon implant yerleştirildi ve ratların sırt bölgelerine radyasyon (10 Gy) uygulanmasını takiben, 0,3 ml TZP , 0,6 ml SVF ve yağ grefti karışımı implantın yerleştirildiği boşluk ve çevresindeki dokulara enjekte edildi.

Grup 2 (n = 9): Her bir ratın sol kutanöz maksimus kası altına bir adet düzgün yüzeyli silikon yerleştirilip radyasyon (10 Gy) uygulanmasını takiben, implant çevresinde boşluk ve çevre dokulara 1ml serum fizyolojik enjekte edildi.

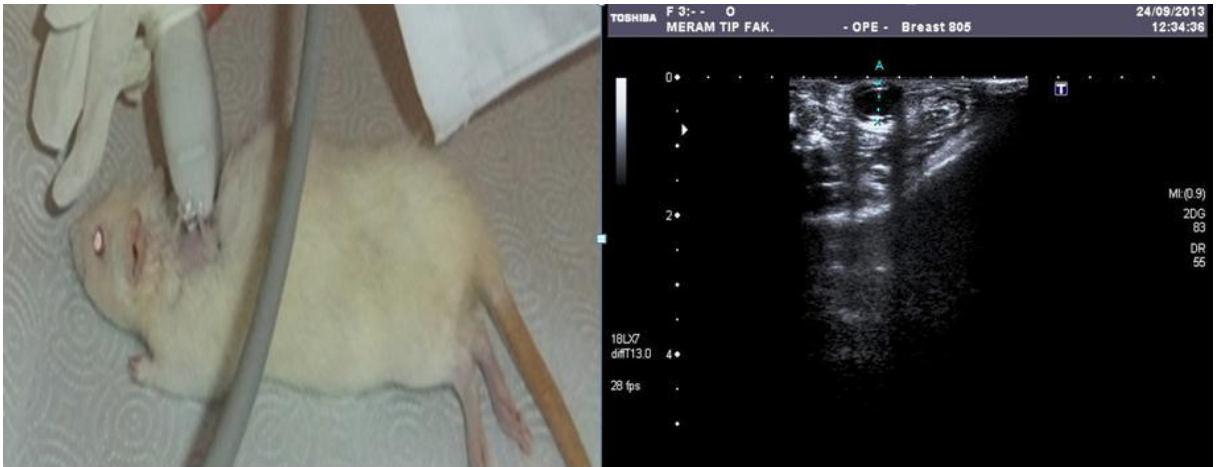
Grup 3 (n = 9): Her bir ratın sol kutanöz maksimus kası altına bir adet düzgün yüzeyli silikon yerleştirilip radyasyon (10 Gy) uygulanmasını takiben, implant çevresinde boşluk ve çevre dokulara yağ grefti enjekte edildi.



Şekil8.SVF ve PRP karışımını uygulanma yöntemi

### 1.2.3.10 Ultrasonografik Görüntüleme

İmplantların çevresinde oluşan kapsülün kalınlığı ultrasonografik olarak postoperative 8. hafta ratlar anestezi altında ve pron pozisyonunda iken değerlendirildi. Ultrasonografi, cerrahi işlemlere yabancı bir radyolog tarafından 12mHZ lineer prob implantlara dikey olarak deriye yerleştirilerek uygulandı. İmplantların çevresindeki kapsül kalınlığı farklı alanlardan ölçülerek ortalama değerler elde edildi.



Şekil 9: USG ile kapsül ölçüm tekniği ve sonucu

### **1.2.3.11 İmplantların Çıkarılması ve Histopatolojik İnceleme**

Tüm deney hayvanları postoperatif 8. haftada aynı koşullar altında tekrar opere edilmişler ve yerleştirilen implantlar çıkarılmışlardır. Deneklerin torakodorsal bölgelerinde, palpasyonla yerleştirilen implantlar bulunmuştur. Önce uzman radyolog tarafından çalışma gruplarına kör şekilde ultrasonografik olarak kapsül kalınlıkları ölçüldükten sonra implant çevresindeki kapsüle zarar vermeyecek şekilde silikon materyal ve deri dahil cilt altı doku ile beraber özen gösterilerek dikkatlice çıkarılmıştır. Makroskobik olarak yapılan değerlendirme ve fotoğraflama sonrası dokuların hepsi %10 luk formaldehit solusyonunda fikse edilmişlerdir. Preparatlar oluşan etraf dokuları içerecek ,kapsül ve implant birlikte olacak şekilde transvers olarak 3 mm kalınlığında kesilip paraffin bloklara gömüldü ve blokların daha sonra herbirinden mikrotom ile alınan kesitleri Hematoksilen- Eozin (H.E.) ile boyanmıştır. Histolojik incelemeler yine cerrahi prosedüre yabancı bir patolog tarafından yapıldı. Değerlendirilen alanlardan alınan dijital görüntüler ışık mikroskobu altında (Olympus BX51)4x büyütmede kapsül kalınlığı, neovaskularizasyon, hücre tipleri açısından değerlendirildi.

### **1.2.3.12 İstatiksel Analiz**

Farklı alanlardan elde edilen ultrasonografide kapsül kalınlık değerleri , patolojik olarak değerlendirilen kapsül kalınlığı, damar sayısı ve nötrofil, fibroblastlara dair sayısal değerler SPSS for windows (SPSS Inc., ABD)programı kullanılarak gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar Kruskal-Wallice testi ile gruplar arası ikili karşılaştırmalar ise Mann-Whitney U testleri ile analiz edildi. Sonuçlar  $p < 0.05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi.

## 1.2.4.BULGULAR

### 1.2.4.1.Makroskobik bulgular

Grup 1 deney grubunda postoperatif 56. günde ratların sakrifikasyonu öncesi palpasyonla yapılan muayenede daha zor tespit edilmişlerdir , özellikle grup 2 daha kolay tespit edilen ve mobilizasyonu daha sınırlı olduğu görüldü. Sakrifikasyon sonrası çıkarılan implant ve çevre doku materyallerinin (deri ve implant çevresi kapsül dokusu) makroskobik değerlendirmesinde grup 1 de kontrol grublarında göre daha ince kapsül oluşumu gözlemlendi ve grup 2 de çevre dokuya daha yapışık bir yapı gözlemlendi.Grup 1 ve 3 deney gruplarında yağ greftleri gözlemlendi.

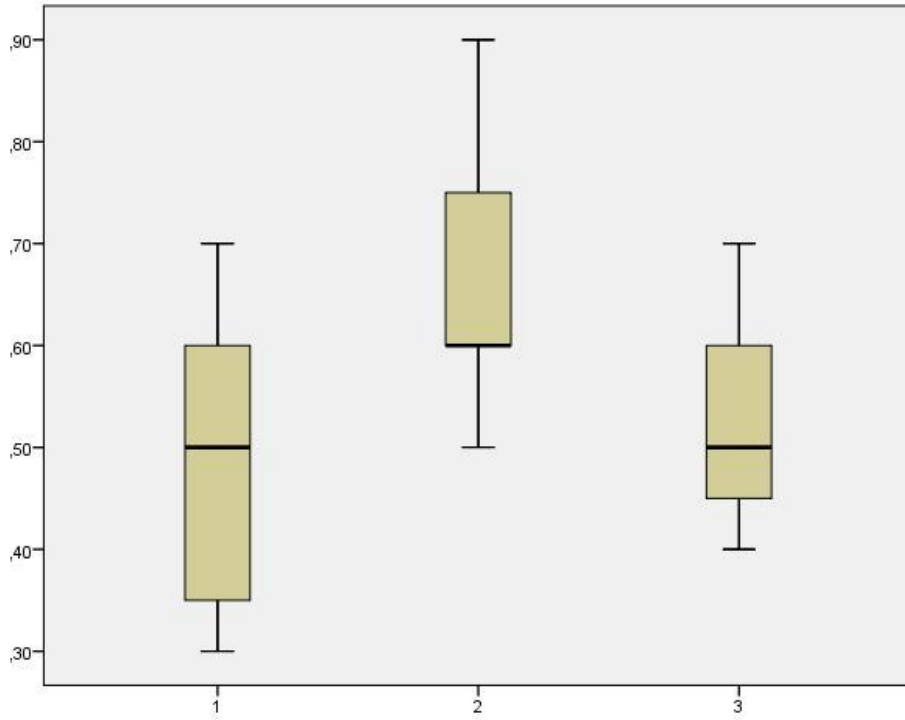
### 1.2.4.2.Ultrasonografik bulgular:

Postoperatif 56. günde yapılan ultrasonografik inceleme sonucunda grup 1 de ortalama kapsül kalınlığı 0,4875 mm iken, grup 2’de 0,6625 mm ve grup 3’te 0,525 mm olarak bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	P değeri
USG de kapsül kalınlığı	0,4875	0,6625	0,525	0.049

**Tablo3** : USG ölçümünde kapsül kalınlığı ortalama ölçüm değerleri ve istatistiksel karşılaştırma

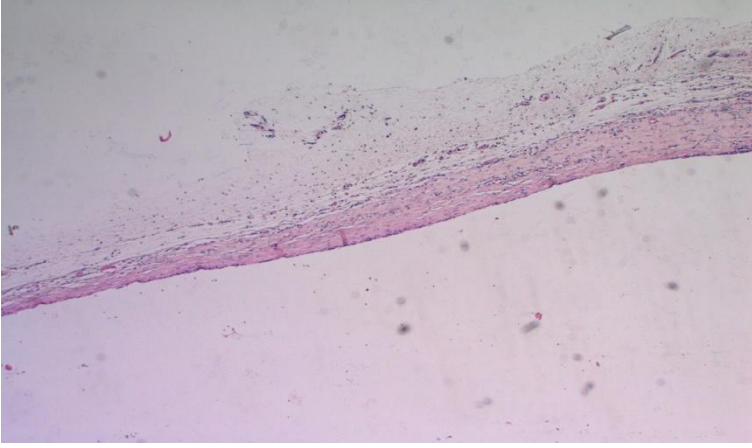




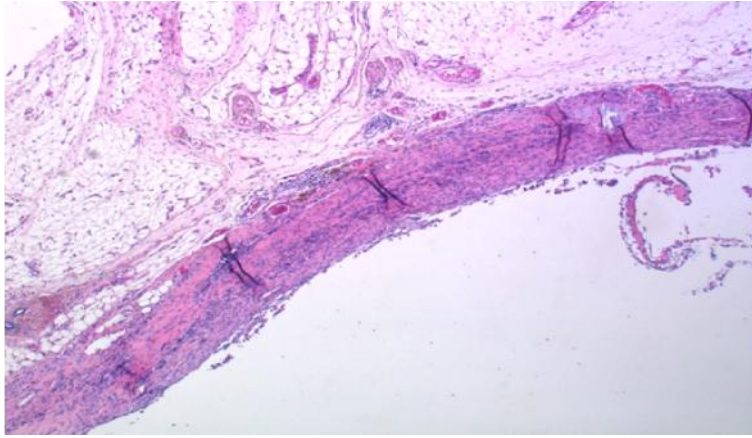
**Şekil 10.** USG ölçümünde kapsul kalınlığı ortalama ölçüm değerleri grafiği

#### **1.2.4.3.Histopatolojik bulgular:**

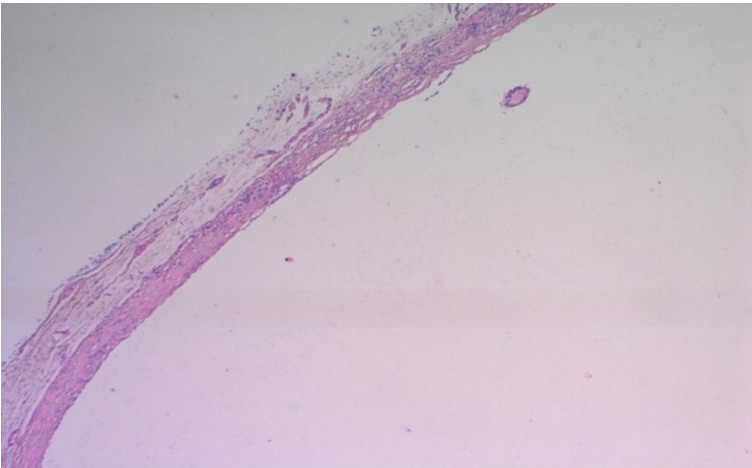
Histopatolojik inceleme sonrası grup 1 de ortalama kapsul kalınlığı 109,6288889  $\mu\text{m}$  iken , grup 2 de 343,6644444  $\mu\text{m}$  , grup 3 te ise 157,3711111  $\mu\text{m}$  olarak hesaplanmıştır.Yine kesit doku içerisindeki farklı alanlardan ölçülen grup 1’de ortalama fibroblast sayısı 218,3 grup 2 de 287,7 grup 3 te 193,88 ve ortalama nötrofil sayısı grup 1 de 19,2 grup 2 de 48,7 grup 3 te 29,2 olarak bulunmuştur. Tüm bu parametreler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı fark bulunmuştur.Kesit doku içerisindeki farklı alanlardan ölçülen neovaskularizasyon açısından değerlendirilmede ise grup 1 de 25, grup 2de 31,2 ve grup 3te 31,4 olarak bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.



**Şekil 11.** Grup 1 kapsul yapısının histopatolojik görünümü (4x, hematoksilen eosin)



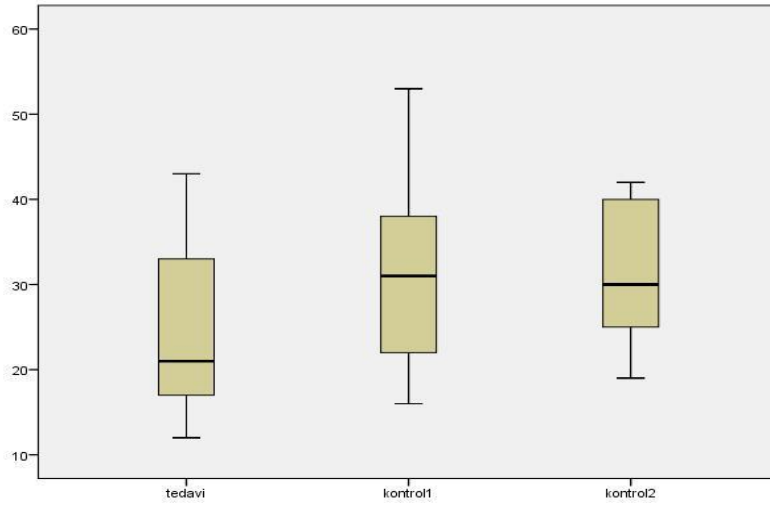
**Şekil 12.** Grup 2 kapsul yapısının histopatolojik görünümü(4x, hematoysilin eosin)



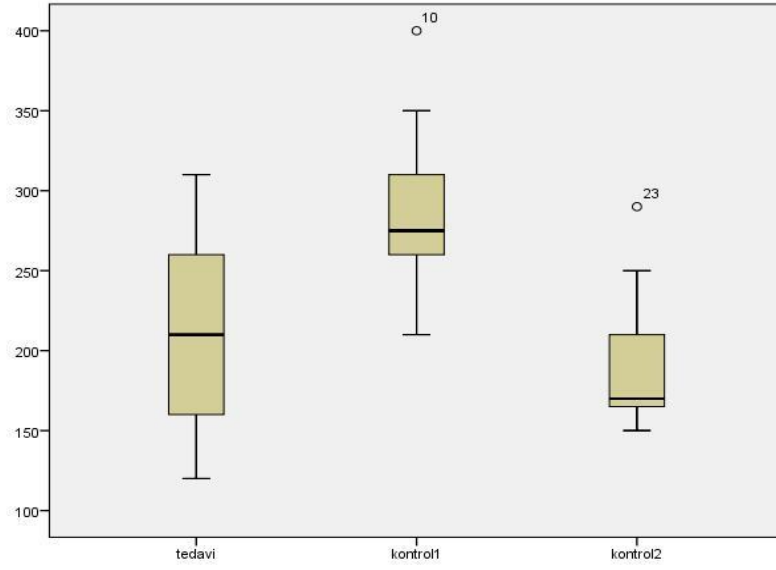
**Şekil 13 .** Grup 3 kapsul yapısının histopatolojik görünümü(4x, hematoysilin eosin)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	P değeri
<b>Neovaskularizasyon</b>	25	31,2	31.4	0,372
<b>Fibroblast</b>	218,3	287,2	193,8	0,012
<b>Nötrofil</b>	19,2	48,7	29,2	0,041
<b>Kapsul kalınlığı (U)</b>	109,6	152,4	151,3	0,01

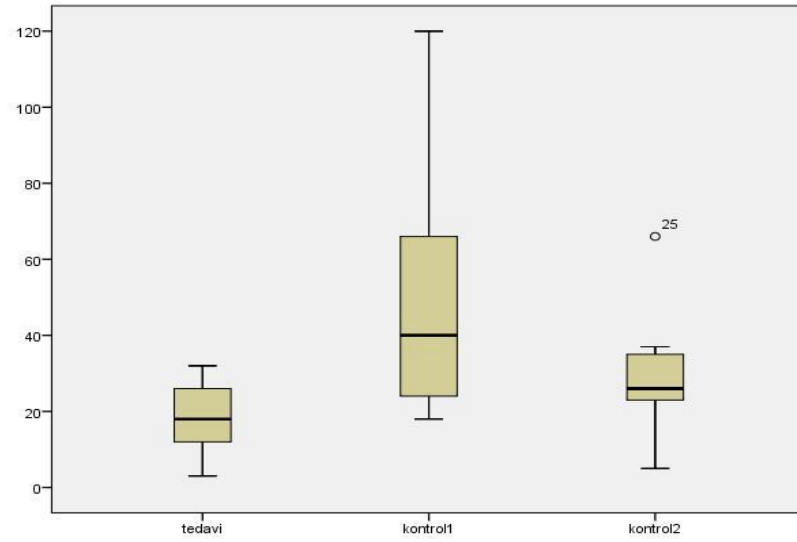
**Tablo 4** : histopatolojik olarak parametrelerin ortalama ölçüm değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları



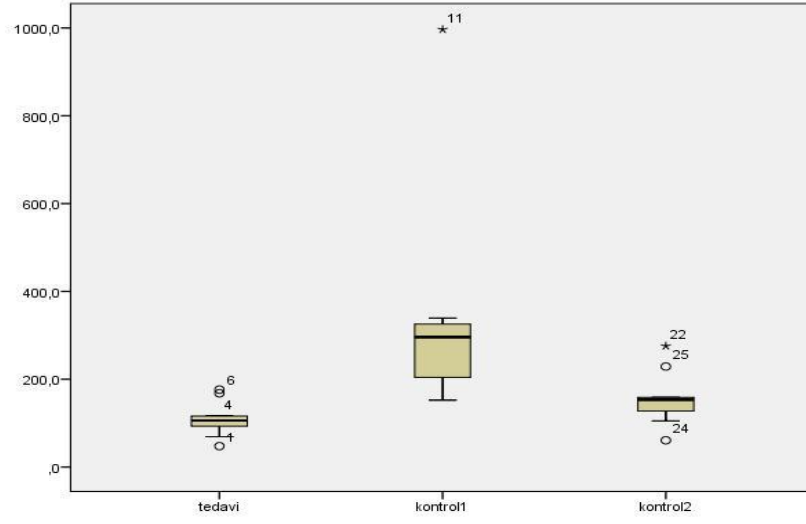
**Şekil 14.**Histopatolojik olarak neovaskularizasyon sayısı ortalama değerleri grafiği



**Şekil 15.** Histopatolojik olarak fibroblast sayısı ortalama değerleri grafiği



**Şekil 16.** Histopatolojik olarak nötrofil sayısı ortalama değerleri grafiği



Şekil 17. Histopatolojik olarak kapsul kalınlığı ortalama değerleri grafiği

### 1.2.5.TARTIŞMA

Günümüzde implant materyellerinin kullanım alanlarının genişlemesi, beraberinde bu materyellerin oluşturabilecekleri komplikasyonların önlenmesine yönelik çalışmalarında sayısını arttırıp ,hızlandırmıştır. Biyolojik olarak inert sayılsa da silikon implantların çevresinde kapsül olarak tanımlanan, kontraksiyon özelliğine sahip yabancı cisme karşı oluşan değişen derecelerde skar dokusu oluşmaktadır (10). Absorbe olmayan tüm implant materyellerinin etrafında oluşan kapsül yapısında bulunan myofibroblastların aktivasyonu sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir(44). Kapsül kontraksiyonu ile implant mümkün olan en küçük yüzey alanını sahip olamaya yani küresel şekil almaya zorlanır. Buna bağlı olarak asimetri ve deformasyonlar gelişir.

Vinnik tarafından kontraksiyonunu azaltmak hedefiyle ekspansiyon ve masaj hareketleri tanımlanmıştır. Ancak kapsüller kontraktür insidansının bu hareketlerle azaldığı bildirilmesine rağmen böyle bir kompresyonun implant ve meme dokusunda oluşturacağı etkiler ile ilgili tatmin edici bilgi verilmemiştir.(42)

Silikon meme implantlarının, anatomik olarak farklı planlara yerleştirilmesi konusunda çeşitli yayınlar bildirilmiştir. Silikon protezin subfasyal plana yerleştirilmesi farklı bir teknik olarak yayınlanmıştır.(115,116) Bu yayınlarda, kapsüller kontraktür açısından klinik olarak olumlu neticeler bildirilmiş ancak oluşan kapsülün yapısı ile ilgili histopatolojik inceleme ve bulgularının istatistiksel yönden değerlendirilmesi bildirilmemiştir. Genel olarak fasya dokusunun ince, iyi vaskularize ve sıkı bir ekstrasellüler matrikse sahip olması bu dokudan flep ya da greft şeklinde yararlanabilmesine olanak sağlamıştır.(117-119)

Kapsül formasyonunu minimize etmek amacıyla, ratlarda intraluminal metilprednizolon tedavisi uygulanmış, bu şekilde tedavi grubunda kontrol grubuna oranla kapsülün daha ince olduğu görülmüştür<sup>7</sup>. Etki mekanizması ise kapsül yapısında bulunan non-kollajenöz proteinleri redüksiyonuna bağlanmıştır<sup>65</sup> Bununla birlikte steroidlerin implant ve kapsülden etraf yumuşak dokuya sızması, dokuları inceltmesi nedeniyle uygulanabilirliğini azaltmıştır. Çift lümenli implantlara intraluminal olarak intrakapsüler enjeksiyon yöntemleri denenmiş; intraluminal steroid etkili bulunmuş ancak gecikmiş intrakapsüler enjeksiyonun deney hayvanlarında çok etkili sonuç verirken insanlarda etkinliği ise orta derecede bulunmuştur. (50)Caffee'nin çalışmasında, Baker III ve IV. derece kapsüller kontraktürü olan 86 hastaya kapsülektomi uygulanmış, subpektoral alana , jel dolu protezler yerleştirilmiştir. Postoperatif 4-6. haftada triamsinolon kapsüle enjekte edilmiş takiplerinde rekürren kapsüller kontraktür

oranında azalma görülmüştür. (14) Total dozun 20 mg'ı geçmemesi durumunda yan etkilerde azalma tespit edilmiştir(18).

A ve E vitamini de kapsül formasyonunu tedavisi için profilaktik olarak denenmiş ancak uzun süreli yüksek doz kullanım zorunluluğu nedeni ve etkileri kanıtlanmadığı için rutin kullanımı sınırlanmıştır. Deney hayvanlarında oluşturulan poşa topikal olarak antineoplastik ilaç olarak kullanılan Mitomisin-C uygulanmasının kapsül kalınlığını ve fibroblast-myofibroblast sayısında azalmaya sağladığı ve bu sayede kontraksiyon olasılığını azalttığı gösterilmiştir. Fakat bu uygulamanın olası yan etkilerinden rapor edilmemiştir.(22) Yine poş bölgesinde topikal olarak kullanılan ibuprofenin daha yumuşak kapsül gelişimi sağladığı deneysel olarak gösterilmiştir.(21) Yine TGF-beta reseptör kinaz inhibitörü olan Chitosan gliserofosfat ve antibariyer benzer solusyon kullanılarak yapılan benzer deneysel çalışmalarda da kapsül kalınlığının ve inflamatuvar hücre sayısında azalma tespit edilen çalışmalar mevcuttur.(151,152,153)Amniyon sıvısında hyaluronik asit içeriğinin fazla olması nedeniyle deneklerde silikon implant etrafına amniyon sıvısı enjeksiyonu çeşitli çalışmalarda denenmiş, kapsül kalınlığı ve hücresel içeriğin azaldığı bildirilmiştir.(23,25) Bir diğer deneysel çalışmada, transforming growth factor- beta1 inhibitör peptid kullanılıp, silikon implantlar tetragliserol dipalmitat solusyonu içinde bekletilerek deneysel model oluşturulduktan sonra kapsüller kalınlık ve hücresel içeriğin azaldığı gösterilmiştir(122).

Enfeksiyöz kapsül formasyonu esasına dayanarak ve bakteriel kontaminasyonun kapsüller kontraktüre neden olduğu görüşünden yola çıkılarak patolojik ajan kabul edilen Stafilokokkus Epidermidis'e karşı implantın yerleştirileceği poş, Burkhardt ve ark. % 5 lik povidon-iyodin,Shah Z tarafından intraluminal Sefalosporin grubu antibiyotikler ve ayrıca Basitrasin yıkandığı bildirilmiş ancak bu tekniklerde istenilen kalıcı bir sonuç sağlanamamıştır.(19,20)

Topikal olarak kullanılan ajanlar dışında, implantın başka bir doku ya da implant materyali ile kaplanarak kapsüller kontraktür insidansını azaltmaya yönelik çalışmalar da yapılmaktadır. Vacanti yaptığı çalışmada implantların silikon yerine PHEMA (poly-2-hidroksietil metakrilat) ile kaplanarak kapsül kalınlığının azaltılabileceğini ve kontraktürünün engellenebileceğini bildirmiştir. (114)

YDKKH-TZP karışımının implant çevresi dokular ve implant boşluğuna enjekte edildiği çalışmalarda bildirilmiştir. Bu sonuçların elde edilmesindeki bir diğer önemli husus olabilir. SVF ve TZP nin enjekte edildiği poş yapısı destekleyici matriks özelliklerini taşımaz ve bu nedenle kök hücreler için uygun ve yeterli ortamı sağlayabilmesi ve kök hücreler cerrahi

sahada etkin olacakları uygun ortamı sağlamak amacıyla SVF ve TZP karışımının implantlar çevresinde anlamlı etki gösterebilmesi için yağ grefti ile birlikte uygulandı.

Yağ doku içine yerleştirilen biomateryaller çevresinde deri altı dokulara yerleştirilen implantlara oranla daha yoğun neovaskülarizasyon ve daha az kapsül oluşumu bildirilmiştir (26). Benzer şekilde, Pichard ve arkadaşları yağ doku kökenli kök hücrelerin poliamide ve poliüretandan oluşan biomateryaller çevresinde daha az fibrotik kapsül oluşumu tespit ettiklerini yayınladılar (128).

Bu çalışmalarda yağ doku kökenli kökenli kök hücrelerin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri şu şekilde tanımlandı:

1. 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 eder (141,142).
2. Yağ doku kökenli kök hücreler FGF-2 ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi anjiyogenik büyüme faktörleri salgılar (128,131).
3. Yağ doku kökenli kök hücreler adiposit ve adipojenik progenitor hücrelere farklılaşabilirler(132).

Yine benzer çalışmalarda, TZP ile zenginleştirilmiş SVF, kültüre edilmiş yağ doku kökenli kök hücrelere silikon çevresindeki kapsül oluşumunu azaltması amacıyla tedavi yöntemi olarak de olarak tercih edildi. SVF, YDKKH, makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri ve perisitler olmak üzere farklı tipte hücreler içeriğine sahip olup, SVF içerisindeki hücrelerin yaklaşık %10'luk bölümünün progenitörlerden fakir yağ dokusunu progenitörlerden zengin yağ dokusuna çeviren YDKKH ler olduğu tahmin edilmektedir (133,134). Yağ doku kökenli SVF içindeki adipositlerin, preadiposit doku oluşumu ve yeni adipositlerin çoğalmasını arttırdığı gösterilmiştir .Bu nedenle, farklı türde hücre tipleri içeren SVF, kültüre edilmiş YDKKH lere tercih edilmiştir. (135).

TZP nin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri yoğun miktarlarda dönüştürücü büyüme faktörü  $\beta 1$  ve  $\beta 2$  (TGF- $\beta 1$ , TGF- $\beta 2$ ), platelet faktor 4, VEGF, platelet(trombosit)-kökenli büyüme faktörü (PDGF-aa, PDGF-aB, and PDGF-BB) ve epitelyal hücre büyüme faktörü (EGF) içermesindedir (136).Bu büyüme faktörleri farklılaşmamış hücreleri yara dokusuna çekerek farklılaşmaları ve çoğalmalarını aktive eder, gerekliyse makrofajlarla etkileşerek inflamasyonu baskılar ve anjiogenezi aktive eder (137). Bu çalışmada TZP, YDKKH lerin çoğalma ve aktivasyonlarını desteklemek amacıyla kullanıldı (138).

Daha önceki yayınlarda radyasyon uygulanması sonrası kapsül oluşumu için bir aylık sürenin yeterli olacağı bildirilmişse de çalışmamızda 56 gün gibi bir süre kullanılarak , bu



zaman periyodunda YDKKH etkinliklerini gösterebilmeleri için yeterli zaman beklenmiş oldu. (11)

Bu çalışmada ototransplantasyonun getirdiği ek maliyet ve cerrahi olumsuzluklardan kaçınmak amacıyla allojenik SVF ve TZP kullanıldı. YDKKH ler prostoglandinE2 tarafından yönetilen major doku uyumluluk kompleksi-II (MHC-II) yi taşımamaları nedeniyle allojenik veya ksenojeneik olarak kullanılabilir (139-141). Son dönemde yapılan bir çalışmada, Allen ve arkadaşları ksenojeneik SVF kullandıklarını ve buna bağlı immun rejeksiyon görmediklerini bildirmiştir (142). Benzer şekilde bu çalışmada da, implant bölgesinde makroskobik veya histopatolojik olarak rejeksiyonu düşündüren yoğun inflamasyon veya iskemi bulgusu tespit edilmedi. İlaveten YDKKH lerin immunsupresif ve immunmodulator özelliklerinin varlığı da rejeksiyonu engellemiş olabilir (140,141).

Radyoterapinin fibrosis artırıcı etkisi vardır. Dermal bağ dokusunun başlıca hücresi fibroblastlardır. İn vivo ve invitro çalışmalar, iyonizan radyasyonun fibroblast proliferasyonu üzerine inhibitör etki yaptığını ve uzun dönem kalıcı hasar oluşturduğunu göstermiştir. Radyasyona maruz kalan dokuda dermis boyunca yeni kollajen oluşumu görülür. Bu klinik olarak belirgin fibrosis olarak karşımıza çıkar. Dermiste büyük, geniş, yıldız benzeyen "stellate" hücreler ya da "radyasyon fibroblastları" görülebilir. Yapılan çalışmalarda, implant ile meme rekonstruksiyonu sonrası radyoterapi uygulanan olgularda başta kapsüller kontraktür olmak üzere komplikasyon oranının yüksek olduğu ve radyoterapinin kötü estetik sonuçlara yol açtığı sonucuna varılmıştır (122). Bu çalışmada, implant çevresinde kapsül oluşumunu arttırmak amacıyla lineer akselerator kullanıldı. Radyobiyojji alanında tek doz 10Gy radyasyonun, klinikte kullanılan klasik fraksiyone radyasyon uygulamalarından daha fazla deri yan etkileri oluşturduğu bilinir (144). Hastanemizde radyoaktivite kaynağı olarak lineer akselerator kullanılmaktadır. Bu cihaz yüzeysel lezyonlar için elektronlar ve daha derin yerleşimli lezyonlar için foton içerir. Silikon implant deri yüzeyine oldukça yakın yerleştirildiği ve küçük olduğu için (10x10 x5 mm) düşük enerjili (10 Gy for 6 MeV)elektron tip radyasyon bu deneyde tercih edildi.

Bu çalışmadaki bir diğer kritik konu implant çevresindeki kapsülün kalınlığının ultrasonografik ölçümüdür. Meme dokusunda, ana süt kanallarının boyutları özellikle areola altında 1 mm den daha küçük olabilir ve 10 mm ye kadar çıkabilir. Memenin deri altı dokularının özellikle de areola altı duktusların incelenmesinde ultrasonun yakın alan rezolusyonu mümkün olduğunca yüksek olmalıdır. Son dönemdeki teknik ilerlemeler yüksek frekanslı lineer array transduser (7-12 MHz) larının kullanımıyla ultrasonografik olarak yüzeysel yapıları ve hatta sinir, damar, süt kanalları gibi detayların bile incelenmesine imkan

tanılmaktadır (145-147). Yüksek frekanslı transduser kullanımının sonucu olarak yüzeysel yerleşimli implant çevresindeki kapsülün kalınlığını ultrasonografik olarak ölçmek ve milimetrik ayrımları yapmak mümkün olmuştur.

Meme protezleri çevresinde gelişen kapsül kontraktürü kozmetik veya rekonstruktif meme cerrahisi sonrası sık karşılaşılan ve iyi bilinen klinik durum olup, bu amaca yönelik çalışmamızda grup 1 de kontrol grublarına göre daha ince kapsul oluşumu gözlemlendi. ultrasonografik inceleme sonucunda grup1 de ortalama kapsül kalınlığı 0,4875 mm iken, grup 2’de 0,6625 mm ve grup 3’te 0,525 mm olarak ölçüldü. Histopatolojik inceleme sonrası kesit alanında grup 1 de ortalama kapsul kalınlığı 109,6288889  $\mu\text{m}$  grup 2 de 343,6644444  $\mu\text{m}$  , grup 3 te ise 157,3711111  $\mu\text{m}$ , grup1de ortalama fibroblast sayısı 218,3 grup2 de 287,7 grup3 te 193,88 ,ortalama nötrofil sayısı grup1 de 19,2 grup2 de 48,7 grup3 te 29,2 olarak ve son olarak grup1 de ortalalama neovaskularizasyon sayısı 25, grup2de 31,2 ve grup3te 31,4 olarak bulundu. Gruplar arası karşılaştırmada neovaskularizasyon açısından tedavi ve kontrol grupları ile arasında anlamlı fark bulunmamış iken diğer tüm değişkenler için anlamlı fark bulunmuştur.( $p < 0,05$ )

### 1.2.6.SONUÇ

Bu çalışmada, radyoterapi uygulanarak indüklenen silikon implantlar etrafında gelişen kapsül formasyonu üzerine TZP ve mezenkimal kök hücre içeren yağ greftinin etkisi araştırılmıştır. Elde edilen histopatolojik bulgular ve istatistiksel verilere göre; tedavi grubu kontrol grupları ile karşılaştırıldığında USG tetkik ve histopatolojik incelemedeki kapsül kalınlığı, fibroblastve nötrofil sayısının istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az olduğu ancak neovaskularizasyon açısından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

Bu bilgiler ışığında özellikle özellikle onkolojik cerrahi sonrası postoperatif radyoterapi uygulanacak hastalarda ve implant ile meme ameliyatlarında protezlere karşı gelişecek olan yabancı cisim reaksiyonu daha az olacağından kapsul kalınlığının ve gelişecek olacak kontraktür derecesinin azalacağı sonucuna varılmıştır.

### **1.3.KAYNAKLAR:**

1. American Society of Plastic and Reconstructive Surgeons. *More Mastectomy Patients Opting for Breast Reconstruction*. Arlington Heights, Ill: ASPRS; 1991.
2. Gabriel SE, Woods JE, O'Fallon WM, Beard CM, Kurland LT, Melton LJ 3rd. Complications leading to surgery after breast implantation. *N Engl J Med*. 1997; 336:677-682.
3. Skillman J.M., Ahmed O., Rowsell AR. Incidental improvement of breast capsular contracture following treatment of arthritis with glucosamine and chondroitin. *Br J Plast Surg* 2002; 56: 454
4. Lipa JE, Qiu W, Huang N, Alman BA, Pang CY. Pathogenesis of radiation-induced capsular contracture in tissue expander and implant breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2010;125:437-445.
5. Wyatt LE, Sinow JD, Wollman JS, Sami DA, Miller TA. The influence of time on human breast capsule histology: Smooth and textured silicone-surfaced implants. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102:1922-1931.
6. Burkhardt B, Dempsey P, Schnur P, Tofield JJ. Capsular contracture: A prospective study of the effect of local anti-bacterial agents. *Plast Reconstr Surg*. 1986;77:919-932.
7. Kamel M, Protzner K, Fornasier V, Peters W, Smith D, Ibanez D. The peri-implant breast capsule: An immunophenotypic study of capsules taken at explantation surgery. *J Biomed Mater Res*. 2001;58:88-89.
8. Sieminski AL, Gooch KJ. Biomaterial-microvasculature interactions. *Biomaterials*. 2000;21:2233-2241.
9. Anderson JM. Biological responses to materials. *Annu Rev Mater Res*. 2001;31:81-110.

10. Castner DG, Ratner BD. Biomedical surface science: Foundations to frontiers. *Surf Sci.* 2002;500:28-60.
11. Burchardt BR., Capsular contracture: a prospective study of the effect of local antibacterial agents, *Plast Reconstr Surg* 1986; 77(6): 919-32.
12. O. Oymak. Meme protezleri ve silikon. Giriş, silikonun kimyası, protez çeşitleri, kapsül. 1992;9-11, 15-23, 31-47, 65-77 OPC, İstanbul.
13. 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 Plastic Surgery* 2001; 25: 118-128.
14. Çek D.İ., Perk C., Özcan G., Histologic changes in capsule formation around silicone implants after a single dose injection of amniotic fluid. *Eur J Plast Surg* 1992; 15: 289-291.
15. Katzel EB, Koltz PF, Tierney R, et al. The impact of Smad3 loss of function on TGF- $\beta$  signaling and radiation-induced capsular contracture. *Plast Reconstr Surg.* 2011;127:2263-2269.
16. Erenchun RR, Dotor de las Herrerias J, Hontanilla B. Use of the transforming growth factor- $\beta$ 1 inhibitor peptide in periprosthetic capsular fibrosis: Experimental model with tetraglycerol dipalmitate. *Plast Reconstr Surg.* 2005;1370-1378.
17. 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;54:293-296.
18. Williams SK, Berman SS, Kleinert LB. Differential healing and neovascularization of ePTFE implants in subcutaneous versus adipose tissue. *J Biomed Mater Res.* 1997;35:473-481.
19. Pichard HL, Reichert WM, Klitzman B. Adult adipose-derived stem cell attachment to biomaterials. *Biomaterials.* 2007;28:936-956.
20. Breitbart A.S., Ablaza V.J. Implant Materials. In: Grabb and Smith (Ed.) *Plastic Surgery. General*, Chapter 4, 1997; 39-46 Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia, PA.
21. Flood J., Hobar P.C., Implantation: Bone, cartilage and alloplastics. *Selected Readings in*

Plastic Surgery 1995; 8: 31-33.

22. Gregory S. La Trenta. Breast Augmentation. In: T.D Rees (Ed) Aesthetic Plastic Surgery. Vol: 2, Chapter 35, 1994; 1003-1058 W.B Saunders Company.

23. Shah Z., Capsular contracture around silicone implants: The role of intraluminal antibiotics, Plast Reconstr Surg 1982, 69(5): 809-14.

24. Mc grego IA, Morgan g Axial ve random patern flaps, BR j plast Surg)

25. Naci Karacal., Effect of amniotic fluid on peri-implant capsular formation. Aesth Plast Surg2005, 29(3): 174-80

26. Hall EJ: Radiobiology for the Radiologist, (Ed ) 3. Philadelphia JB. Lippincott, 1988; 108-136.

27. Bernstein EF, Sullivan FJ, Mitchell JB, Salomon GD and Glatstein E: Biology of chronic radiation effect on tissues and wound healing. Clin. Plast. Surg. 1993; 20:3, 435-453.

28. Aydıngöz İE: İyonize radyasyonun deri ve yara iyileşmesi üzerine etkileri. Erden C, Çelebi C:Tüm yönleriyle yara iyileşmesi. Türk dermatoloji derneği yayınları. No: 1, Ankara, 1996;47-56.

29. Lever WF, Schaumburg- Lever G: Inflammatory diseases due to physical agents and foreign substances. In histopatology of the skin, Philedelphia, JB Lippincott,1990; 232-251

30. Spear SL, E lmaraghy M., Hess C. Textured surface saline- filled silicone breast implants for augmentation mammoplasty. Plast Reconstr Surg 2000; 105:1542.

31. Yager JS, ChaglassianT. Polyester as a bioimplantable material. Ann Plast Surg 1998;40:502-505.

32. Cronin TD, Gerw FJ. Augmentation mammoplasty, a new “natural feel” prostheses.

Transactions of the third international Congress of Plastic Surgery, 1963;Oct. 13-18.

Amsterdam.

33. Hester TR , Ford NF, Gale J.Measurement of 2,4 touenediamine in urine and serum samples from women with Meme or replicon breast implants *Plast Reconst Surg* 100;1291-1298, 1997
34. Ersek RA, Glaes KL, Navarro JA. Results of reaugmentation with MISTI prostheses after failure of smooth silicone prostheses. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 83
35. Spear SL, Elmaraghy M. Textured surface saline filled silicone breast implants for augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105: 1542.
36. Ersek RA., Salisbury A.V. Textured surface, nonsilicone gel breast implants: Four years clinical outcome. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100: 1729-1739.
37. Ginsbach G., Busch L.C.,Kühnel W., The nature of the collagenous capsules around breastimplants. *Plast Reconstr Surg* 1979; 64: 456-464
38. Siggelkow W., Faridi A., Spiritus K. histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture. *Biomaterials* 2003; 24: 1101-1109
39. Smahel J.Histology of the capsules causing costrictive fibrosis around breast implant. *Br J Plast Surg* 1977; 30: 324-329
40. Van Rappard J.H.A. Capsule formation in cotrolled tissue expansion In: *Controlled tissue expansion in reconstructive surgery. Part II, Experiments in tissue expansion, Chapter 5,* 1991; 52-57 SSN
41. Peterson HD and Burt GB. The role of steroids in prevention of circumferential capsular scarring in augmentation mammoplasty. *Plast Reconst Surg* 1974; 54-28
42. Vinnik C.A. Spherical contracture of fibrous capsules around breast implants. *Plast Reconstr Surg* 1976; 58: 555-560
43. Gayou R.M. A histological comparison of contracted and non contracted capsules around silicone breast implants. *Plast Reconst Surg* 1979; 63:700-707

44. Rudolph R., Abraham J., Woodward M. Myofibroblasts and free silicone around breast implants. *Plast Reconstr Surg* 1978; 62: 185-195
45. Fagrell D., Berggren A. Capsular contracture around saline filled fine textured and smooth mammary implants: a prospective 7,5 year follow up. *Plast Reconstr Surg* 2001; 108: 2108-2112.
46. 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.
47. Barton F.E., Augmentation Mammoplasty. *Selected Readings in Plastic Surgery* 1994; 7: 9-10
48. Sumner A. Slavin. Augmentation Mammoplasty and Its complications. In: Grabb and Smith(Ed.) *Plastic Surgery. Breast*, Chapter 58, 1997; 713-725
49. Hakelius L., Ohlsen L. Tendency to capsular contracture around smooth and textured gel filled silicone mammary implant: A 5 year follow-up. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100: 1566-1569
50. Caffee H., Rotatori D.S., Intracapsular injection of triamcinolone for prevention of contracture *Plast Reconstr Surg* 1993; 92: 1073
51. Nurden AT., Platelets, inflammation and tissue regeneration. 2011 May; 105 Suppl 1: S13-33.
52. Hamad OA, Bäck J, Nilsson PH, Nilsson B, Ekdahl KN Platelets, complement, and contact activation: partners in inflammation and thrombosis. *Adv Exp Med Biol*. 2012; 946: 185-205.
53. Italiano JE Jr, Battinelli EM. Selective sorting of alpha-granule proteins *J Thromb Haemost*. 2009 Jul; 7 Suppl 1: 173-6



54. Jedlitschky G, Greinacher A, Kroemer HK. Transporters in human platelets: physiologic function and impact for pharmacotherapy. *Blood*. 2012 Apr 12;119(15):3394-402.
55. Blair P, Flaumenhaft R .Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev*. 2009 Jul;23(4):177-89.
56. Gunay-Aygun M, Huizing M, Gahl WA. Molecular defects that affect platelet dense granules. *Semin Thromb Hemost*. 2004 Oct;30(5):537-47
57. Polasek J. Lysosomal concept of platelet secretion--revisited. *Eur J Haematol Suppl*. 1989;50:3-24
58. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006 Nov;118(6):147e-159e
59. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004 Apr;62(4):489-96
60. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8
61. Yuksel E, Weinfeld AB, Cleek R, et al. Augmentation of adipofascial flaps using the long-term local delivery of insulin and insulin-like growth factor-1. *Plast Reconstr Surg*. 2000 Aug;106(2):373-82
62. Yuksel E, Weinfeld AB, Cleek R et al. Increased free fat-graft survival with the long-term, local delivery of insulin, insulin-like growth factor-I, and basic fibroblast growth factor by PLGA/PEG microspheres. *Plast Reconstr Surg*. 2000 Apr;105(5):1712-20.
63. Ailhaud G, grimaldi P, Negrel R: Cellular and molacular aspects of aipose tissue development. *Ann. Rev nutr* 12:209,213 , 1992
64. Patrick CW Jr,: Tissue .engineered adipose tissue. In patrick CW Jr, Mikos AG, McIntre LV. *Frontiers In Tössue Engineering*. Houston, Elsevier Science, 1998, pp 369-382
65. Lau DC. Adipose tissue growth and differentiation: view from the chair. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000 Nov;24 Suppl 4:S20-2

66. Lau DC. Paracrine interactions in adipose tissue development and growth. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1996 Mar;20 Suppl 3:S16-25.
67. Dabson DE, Kambe A, 1-Butyryl-glycerol: a novel angiogenesis factor secreted by differentiating adipocytes. *Cell.* 1990 Apr 20;61(2):223-30.
68. Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, Pell CL, Johnstone BH, Considine RV, March KL. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation.* 2004 Mar 16;109(10):1292-8. Epub 2004 Mar 1.
69. Patricia A. Zuk, Min Zhu, Peter Ashjian et al. Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells, *Circulation*, Vol. 13, Issue 12, 4279-4295, December 2002
70. Bauer CA, Valentino J, Hoffman HT. Long-term result of vocal cord augmentation with autogenous fat. *Scand J Infect Dis.* 1989;21(3):299-302
71. Mikaelian DO, Lowry LD, Sataloff RT Lipoinjection for unilateral vocal cord paralysis. *Laryngoscope.* 1991 May;101(5):465-8
72. Mayfield FH. Autologous fat transplants for the protection and repair of the spinal dura. *Clin Neurosurg.* 1980;27:349-61
73. Shakhov AA Fat transplantation and breast augmentation.. *Aesthetic Plast Surg.* 2002 Jul-Aug;26(4):323-5
74. Tzikas TL Autologous fat grafting for midface rejuvenation. . *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2006 Aug;14(3):229-40
75. Butterwick KJ Rejuvenation of the aging hand.. *Dermatol Clin.* 2005 Jul;23(3):515-27
76. Craft RO, Rophael J, Morrison WA, Vashi AV, Mitchell GM, Penington AJ.

Effect of local, long-term delivery of platelet-derived growth factor (PDGF) on injected fat graft survival in severe combined immunodeficient (SCID) mice. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009 Feb;62(2):235-43

77. Pires Fraga MF, Nishio RT, Ishikawa RS, et al. survival of free fat grafts with platelet-rich plasma in rabbits. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010 Dec;63(12):e818-22

78. Kassolis JD, Reynolds MA Evaluation of the adjunctive benefits of platelet-rich plasma in subantral sinus augmentation. *J Craniofac Surg.* 2005 Mar;16(2):280-7

79. 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 Oct;53(4):671-83

80. Klaus S.

Functional differentiation of white and brown adipocytes.

*Bioessays.* 1997 Mar;19(3):215-23

81. Bartness TJ, Bamshad M. Innervation of mammalian white adipose tissue: implications for the regulation of total body fat. *Am J Physiol.* 1998 Nov;275(5 Pt 2):R1399-411

82. Cinti S The adipose organ..

*Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2005 Jul;73(1):9-15

83 Harrison P, Cramer EM.. Platelet alpha-granules.

*Blood Rev.* 1993 Mar;7(1):52-62

84. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M.

Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery.

*Plast Reconstr Surg.* 2006 Nov;118(6):147e-159

85. Pietrzak WS, Eppley BL Platelet rich plasma: biology and new technology.

J Craniofac Surg. 2005 Nov;16(6):1043-54

86. Platelet-rich plasma in sinus augmentation procedures: a systematic literature review: Part II.

Arora NS, Ramanayake T, Ren YF, Romanos GE.

Implant Dent. 2010 Apr;19(2):145-57

87. Arora NS, Ramanayake T, Ren YF, Romanos GE.

Platelet-rich plasma: a literature review.

Implant Dent. 2009 Aug;18(4):303-10

88. 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 Sep-Oct;10(5):336-40

89. Yarak S, Okamoto OK. Human adipose-derived stem cells: current challenges and clinical perspectives. An Bras Dermatol. 2010 Sep-Oct;85(5):647-56.

90. de Wert G, Mummery C.

Human embryonic stem cells: research, ethics and policy.

Hum Reprod. 2003 Apr;18(4):672-82

91. Fuchs E, Tumber T, Guasch G

Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. Cell. 2004 Mar 19;116(6):769-78.

92. Keating A.

Stem cells from adipose tissue. Cellular & Molecular Biology Letters June 2011, Volume 16, Issue 2, pp 236-257

93. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D et al.

Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates.

J Cell Physiol. 2006 Jul;208(1):64-76

94. Mesenchymal stromal cells: new directions. Cell Stem Cell. 2012 Jun 14;10(6):709-16

92. Malgorzata Witkowska-Zimny, Katarzyna Walenko

95. Behr B, Ko SH, Wong VW, Gurtner GC, Longaker M

Stem cells. Plast Reconstr Surg. 2010 Oct;126(4):1163-71

96. Rieck B, Schlaak S. Measurement in vivo of the survival rate in autologous adipocyte transplantation.

Plast Reconstr Surg. 2003 Jun;111(7):2315-23

97. Comparative study of the integration and viability of autologous and nonautologous fat tissue grafts--experimental model in rabbits.

Fraga MF, Helene A Jr, Nakamura F, Lellis RF, Kikuchi W, Esteban D.

J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2008 Sep;61(9):1044-8

.

98. Hall EJ, Cox, JD: Physical and biologic basis of radiation therapy. Radiation Oncology:

Rationale, Technique, Results. (Ed.) Stamathis G., Sixth edition. USA, CV Mosby Company

1989; 1-11.

99. Chahbazian CH: the skin . Radiation Oncology: Rationale, Technique. Results. (Ed.)

Stamathis G. Sixth edition. 1989; 702-721.

100. Khan FM: The Physics of Radiation Therapy. Baltimore, Williams& Wilkins 1984; 23-38.

101. Hopewell JW: Mechanism of the actions of radiation on skin and underlying tissues. Br J Radiol 1986; 59: 39-51.

102. Hopewell JW: The skin : Its structure and response to ionizing radiation. Int. J. Radiat. Biol.

1990; 57: 751-773.

103. Morris GM, Hopewell JW: Changes in the cell kinetics of pig epidermis after repeated daily

doses of x rays. Br J Radiol 1986; 59 : 34-38.

104. Hellman S. Principles of radiation therapy. In Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA: Cancer

, Principles and Practice of Oncology, Philadelphia, JB, Lippincott, 1985; 227-255.

105. Joseph DL, Shumrick DL. Risks of head and neck surgery in previously irradiated patients.

Arch Otolaryngol 1993; 97: 381-384

106. Fowble B., Glick J. and Goodman R. Radiotherapy for the prevention of local-regional recurrence in high risk patients post mastectomy receiving adjuvant chemotherapy. Int. J.

Oncol. Biol. Phys.1988; 15:627.

107.. Overgaard M., Hansen P.S. Overgaard J., et al. Post-operative radiotherapy in high risk

- premenopausal women with breast cancer who receive adjuvant chemotherapy; Danish Breast Cancer Cooperative Group 82b trial. *N.Engl.J.Med.* 1997; 337: 949
108. Evans GR, Schusterman MA, Kroll SS, Reconstruction and the radiated breast: is there a role for implants?; *Plast Reconstr Surg.* 1995, 96(5): 1111-5.
109. Spear S.L., Onyewu C. Satged breast reconstruction with saline-filled implants in the irradiated breast: Recent trends and therapeutic implications. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 105: 930.
- 110.. Vandeweyer R E., Deraemaeker R. Radiation therapy after immediate breast reconstruction with implants. *Plast Reconstr. Surg* 2000; 106: 56.
111. Forman D., Chiu J., Restifo R.J., Ward B.A., Haffty B. And Ariyan S. Breast reconstruction in previously irradiated patients using tissue expanders and implants: A potentially unfavorable result. *Ann. Plast. Surg.* 1995; 96: 1119
112. . Cordeiro P., Pusic A., Irradiation after immediate tissue expander/ implant breast reconstruction: Outcomes, complications, Aesthetic Results, and Satisfaction among 156 patients. *Plast Reconstr Surg* , 2004; 113(3):877-881.
113. Wang Q, Dickson GR, Abram WP, Carr KE. Electron irradiation slows down wound repair in rat skin: a morphological investigation. *British Journal of Dermatology.* 1994; 130: 551-560.
114. Vacanti F.X. PHEMA as a fibrous capsule- resistant breast prosthesis. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113(3): 949-952.
115. Graaf RM., Bernades A., Rippel R., Araujo LR., Damasio RC., Auersvald A., Subfacial breast implant: A new procedure. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 111:904.

116. Vagedis GK., A new pocket for breast augmentation : Subfacial tecnique. 10 th Congress ESPRAS 2005. Abstract book. Pp: 117, Vienna 2005.
117. Brent B. Reconstruction of the auricle. In: Mc Carthy JG ( Ed) Plastic Surgery. Vol: 3, The Face II, Chapter 40, 1990; 2094-2152 WB. Saunders Company.
118. Baş L. Üretra fistüllerinin onarımı için fasya fleplerinden yararlanılarak geliştirilen yeni bir modifikasyon. GATA Bülteni 1983; 25: 1101-1112.
119. Siemian W.R., Samiian MR. Malar augmentation using autogenous composite conchal cartilage and temporalis fascia. *Plast Reconstr Surg* 1988; 82: 395-402
120. Caffè H.H. Capsule injection for the prevention of contracture. *Plast Reconstr Surg* 2002; 110: 1325-1328
121. Baker J.L. 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
122. ErenchunR. Use of the transforming growth factor-beta 1 inhibitör peptide in periprosthetic capsular fibrosis: experimental model with tetraglycerol dipalmitate. *Plast Reconstr Surg* 2005 ; 116(5): 1370-8)
123. Lipa JE, Qui W, Huang N, Alman B, Pang CY. Pathogenesis of radiation-induced capsular contracture in tissue expander and implant breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2010;125:437-444.
124. Katzel EB, Koltz PF, Tierney R, et al. The impact of Smad3 loss of function on TGF-B signaling and radiation-induced capsular contracture. *Plast Reconstr Surg*. 2011;127:2263-2269.



125. Erenchun RR, Dotor de las Herrerias J, Hontanilla B. Use of the transforming growth factor-B1 inhibitor peptide in periprosthetic capsular fibrosis: Experimental model with tetraglycerol dipalmitate. *Plast Reconstr Surg.* 2005;1370-1378.
126. 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;54:293-296.
127. Williams SK, Berman SS, Kleinert LB. Differential healing and neovascularization of ePTFE implants in subcutaneous versus adipose tissue. *J Biomed Mater Res.* 1997;35:473-481.
128. Pichard HL, Reichert WM, Klitzman B. Adult adipose-derived stem cell attachment to biomaterials. *Biomaterials.* 2007;28:936-956.
129. Suga H, Eto T, Shigeura K, Inoue H, et al. IFATS Collection: Fibroblast growth factor-2-induced hepatocyte growth factor secretion by adipose-derived stromal cells inhibits postinjury fibrogenesis through a c-Jun N-terminal kinase-dependent mechanism. *Stem Cells.* 2009;27:238-249.
130. Rigotti G, Marchi A, Galie M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119:1409-1422.
131. Montesano R, Vassalli JD, Baird A, et al. Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986;83:7297-7301.
132. Plant-Berard V, Silvestre JS, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: Physiological and therapeutic perspectives. *Circulation.* 2004;109:656-663.
133. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol.* 2006;208:64-76.
134. Suga H, Matsumoto D, Inoue K, et al. Numerical measurement of viable and nonviable adipocytes and other cellular components in aspirated fat tissue. *Plast Reconstr Surg.* 2008;122:103-114.

135. Chazenbalk G, Bertolotto C, Haneidi S, et al. Novel pathway of adipogenesis through cross-talk between adipose tissue macrophages, adipose stem cells and adipocytes: Evidence of cell plasticity. *PLoS One*. 2011;6(3):e17834.
136. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: A review of biology and applications in plastic Surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(6):147e-159e.
137. Mishra A, Woodall J Jr, Vieira A. Treatment of tendon and muscle using platelet rich plasma. *Clin Sports Med*. 2009;28:113-125.
138. Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, et al. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblast. *Plast Reconstr Surg*. 2008;122:1352-1360.
139. Lin CS, Lin G, Lue TF. Allogeneic and xenogeneic transplantation of adipose-derived stem cells in immunocompetent recipients without immunosuppressants. *Stem Cells Dev*. 2012;21:2770-2778.
140. Yanez R, Lamana ML, Garcia-Castro J, Colmenero I, Ramirez M, Bueren JA. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease. *Stem Cells*. 2006;24:2582-2591.
141. Le Blanc K, Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med*. 2007;262:509-525.
142. Allen RJ Jr, Canizares O Jr, Scharf C, et al. Grading lipoaspirate: Is there an optimal density for fat grafting? *Plast Reconstr Surg*. 2013; 131: 38-45.
143. Akbulut H, Cuce G, Aktan TM, Duman S. Expression of mesenchymal stem cell markers of human adipose tissue surrounding the vas deferens. *Biomed Res*. 2012;23: 166-169.
144. Turesson I, Thames HD. Repair capacity and kinetics of human skin during fractionated radiotherapy: erythema, desquamation, and telangiectasia after 3 and 5 year's follow-up. *Radiother Oncol*. 1989;15(2):169-88.
145. Hatfield A, Bodenham A. Ultrasound: an emerging role in anaesthesia and intensive care. *B J Anaesth* 1999; 83: 789-800.

146. Geddes DT. The use of ultrasound to identify milk ejection in women – tips and pitfalls. *International Breast Feeding Journal* 2009; 4: 5.

147. Amann P, Botta U, Montet X, Bianchi S. Sonographic Detection and Localization of a Clinically Nondetectable Subcutaneous Contraceptive Implant. *J Ultrasound Med* 2003; 22: 855–859.

148. Katzel EB, Koltz PF, Tierney R, Williams JP, Awad HA, O'Keefe RJ, Langstein HN. A novel animal model for studying silicone gel-related capsular contracture. *Plast Reconstr Surg*. 2010 Nov;126(5):1483-91

151. Diao ZY, Fu HL, Nie CL, Hao LJ, Yang DP, Chen WH. Controlled release of transforming growth factor beta receptor kinase inhibitor from the mosensitive Chitosan-based hydrogel: application for prevention of capsular contracture. *Chin Med J (Engl)*. 2011 Jan;124(2):284-90.

152. Lew DH, Yoon JH, Hong JW, Tark KC. Efficacy of antiadhesion barrier solution on periimplant capsule formation in a white rat model. *Ann Plast Surg*. 2010 Aug;65(2):254-8.

