



T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**POST TRAVMATİK STRES BOZUKLUĞUNUN YARA
İYİLEŞMESİ VE DERMAL SKARLAŞMA ÜZERİNDEKİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. ENES AGAH KODALAK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

SAMSUN-2020



T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**POST TRAVMATİK STRES BOZUKLUĞUNUN YARA
İYİLEŞMESİ VE DERMAL SKARLAŞMA ÜZERİNDEKİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Enes Agah KODALAK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Tekin ŞİMŞEK

SAMSUN-2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana her zaman bir hocadan daha yakın davranan, mesleki tecrübe ve duruşuyla şüphesiz örnek aldığım, kıymetli hocam Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof.Dr. Ahmet DEMİR'e,

Değerli tecrübelerinden yararlandığım Prof.Dr. Lütfi EROĞLU'na,

Değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, ahlaki kişiliği, duruşu ve ilmiyle kendime her zaman örnek aldığım, danışman hocam Doç.Dr. Tekin ŞİMŞEK'e,

Uzmanlık eğitimimdeki katkıları için Doç.Dr. Murat Sinan ENGİN ve Dr.Öğr.Üy. Kamil YILDIRIM'a,

Tez çalışmamdaki yol göstericilikleri ve uzmanlık eğitimimdeki katkıları için Doç.Dr.Çağlayan YAĞMUR'a,

Bilgi, beceri ve tecrübelerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, birlikte çalışmış olmaktan ötürü şanslı olduğum Doç.Dr. İsmail KÜÇÜKER'e,

Birlikte gece gündüz demeden çalıştığımız; sevinçlerimizi, üzüntülerimizi paylaştığımız; aynı yerde çalışmaktan ötürü mutlu olduğum kıymetli asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmamın laboratuvar safhasındaki yardımları ve katkılarından ötürü İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalından Prof.Dr. Elif İlkay ARMUTAK ve Arş.Görv.Dr. Ayça ÜVEZ'e,

OMÜ Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi ailesinin ameliyathane, servis ve poliklinik birimlerindeki tüm hemşire, sekreter ve yardımcı personellerine,

Bugüne kadar gelmemdeki en büyük katkının sahipleri olan, benim için ömürleri boyunca her türlü fedakarlığı gösteren, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili annem Gülşen KODALAK ve babam Veysel KODALAK ile desteklerini her zaman gördüğüm sevgili kardeşlerim Dr. Sümeyye KODALAK ve doktor adayı Sena KODALAK'a,

Henüz uzun bir yolun başlangıcında olduğumuz sevgili eşim Dr. Sinem GÜN KODALAK'a,

Teşekkür ederim...

02.2020

Dr. Enes Agah KODALAK

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Enes Agah KODALAK

Doğum Tarihi ve Yeri : 18.03.1990 Trabzon

Öğrenim Durumu : Yüksek Lisans

İlköğretim : Trabzon Maçka Cumhuriyet İlköğretim Okulu /
1997-1998
Gümüşhane Torul Namık Kemal İlköğretim Okulu /
1998-2000
Trabzon 24 Şubat İlköğretim Okulu /2000-2001
Trabzon Cumhuriyet İlköğretim Okulu / 2002-2004

Lise : Trabzon Yomra Fen Lisesi / 2004-2007

Lisans /Yüksek lisans : Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi /
2007-2014

Görevler : Pratisyen Tabip – Trabzon Fatih Devlet Hastanesi
/2014

Yayınlar

:

1-Simsek T, Engin MS, Yildirim K, Kodalak EA, Demir A. Reconstruction of Extensive Orbital Exenteration Defects Using an Anterolateral Thigh/Vastus Lateralis Chimeric Flap.J Craniofac Surg. 2017 May;28(3):638-642.

Sözlü Bildiri

:

1- Zorlu Replantasyon Olguları. Dr. Enes Agah KODALAK.TPRECD 41. ULUSAL KURULTAYI 26-30 Ekim 2019 Sheraton Sheraton Grand Samsun Hotel / SAMSUN.

ÖZET

Post travmatik Stres Bozukluğunun Yara İyileşmesi Ve Dermal Skarlaşma Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

Amaç: Aşırı skarlaşma, üzerinde yıllardır çalışmaların yapılmakta olduğu bir alan olmasına rağmen patofizyolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Gün geçtikçe yeni yolaklar keşfedilmekte, teoriler ortaya atılmaktadır. Bunların arasında önemi giderek artan nörojenik inflamasyon teorisi dikkati çekmektedir. Mekanik uyarılar sonrasında akson refleksi ile temas bölgesinde lokal nörojenik inflamasyon oluşumunun skarlaşmaya olan etkisi bilinmektedir. Santral kökenli nörojenik inflamasyonun etkileri ise henüz araştırılmamıştır. Çalışmamızda post travmatik stres bozukluğunun nörojenik inflamasyon ile olan ilişkisini ve bu yolla yara iyileşmesi ve dermal skarlaşma üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda toplam 60 adet 8 haftalık Sprague-Dawley türü dişi sıçan kullanıldı. Her grupta 10 adet sıçan olacak şekilde 6 grup oluşturuldu. Post travmatik stres bozukluğu oluşturma modeli, insizyonel dermal skar oluşturma modeli ve oral paroksetin uygulanması değişkenleri gruplara farklı kombinasyonlar ile uygulandı. Grup 1'e post travmatik stres bozukluğu oluşturma modeli, insizyonel dermal skar oluşturma modeli ve oral paroksetin uygulaması; Grup 2'ye post travmatik stres bozukluğu oluşturma modeli ve insizyonel dermal skar oluşturma modeli; Grup 3'e post travmatik stres bozukluğu oluşturma modeli ve oral paroksetin uygulaması; Grup 4'e sadece post travmatik stres bozukluğu oluşturma modeli; Grup 5'e sadece insizyonel dermal skar oluşturma modeli uygulandı. Grup 6 ya herhangi bir işlem uygulanmadı, kontrol grubu olarak alındı. Skar oluşturulan gruplar arasında ise Grup 5 kontrol grubu olarak alındı. 28. gün sonunda sıçanlar sakrifiye edilerek deri ve skar dokuları 5 mm sağlam cilt marjini ile eksize edilerek toplandı. Makroskopik, histopatolojik, immunohistokimyasal ve histomorfometrik incelemeye tabi tutuldu. Nörojenik inflamasyonun ana belirteçlerinden biri olan Substans P (H-skor) değeri tayini ve immatür skar kesit alanı tayini yapıldı. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrasında Tukey çoklu karşılaştırmalar testi ile istatistiksel analiz yapıldı.

Bulgular: Makroskopik olarak en fazla skar formasyonu Grup 2 de, en az ise Grup 1 de görüldü. İmmunhistokimyasal inceleme sonucu elde edilen Substans P (H-Skor) değerleri; Grup 1= 171,2±3,309 ++, X ,Y; Grup 2= 226,2± 2,750***, +++; Grup 3 = 141,1± 2,305*** Z; Grup 4 = 203,0± 3,177**; Grup 5 = 190,0± 2,887 ; Grup 6 = 179,3± 3,651 (**P<0,01, ***P<0,001; kontrol grubuna göre anlamlılık değeri. ++ P<0,01 ve +++ P<0,001; İnsizyonel dermal skar modeli uygulanan gruplar arasında Grup 5'e göre skarlı grupların anlamlılık değerleri. X:P<0,001; Grup 1 in Grup 2 ye göre anlamlılık değeri. Y:P<0,01; Grup 1 in Grup 3 ye göre anlamlılık değeri. Z:P<0,001; Grup 3 ün Grup 4 e göre anlamlılık değeri.) şeklinde bulunmuştur. İmageJ programı ile yapılan histomorfometrik inceleme sonucu yapılan immatür skar kesit alanı bulgularına göre Grup 1= 11792± 2373* +++; Grup 2= 41868± 8855*** ; Grup 5= 19950± 6664 (*P<0,05, ***P<0,001; kontrol grubuna(Grup 5) göre anlamlılık değeri, +++ P<0,001; Grup 1 in Grup 2 ye göre anlamlılık değeri) olarak bulunmuştur. Çalışmamızın istatistiksel analiz verilerindeki anlamlı farklı sonuçlara göre; post travmatik stres bozukluğu sağlam cilt ve skar dokusunda nörojenik inflamasyonu arttırmakta, aşırı skarlaşmaya sebep olmaktadır. Oral paroksetin alımı post travmatik stres bozukluğunun yol açtığı nörolojik inflamasyonu baskılamakta, skar oluşumunu azaltmaktadır. Ayrıca sağlam deride bazal nörojenik inflamasyonu da baskılamaktadır. Deride yapılan insizyonel cerrahi işlemler ise lokal nörojenik inflamasyona yol açarlar.

Sonuç: Çalışmamız bu alanda yapılan ilk çalışma olması nedeniyle dermal skar patofizyolojisine yeni bir bakış açısı kazandıracaktır. Post travmatik stres bozukluğu ve paroksetinin skarlaşma üzerindeki etkilerinin ilerleyen zamanlarda başka çalışmalarla desteklenmesi, nörojenik inflamasyonun önemini daha çok ortaya çıkaracaktır.

Anahtar Kelimeler: Nörojenik inflamasyon; Paroksetin; Post travmatik stres bozukluğu; Skarlaşma; Substans P.

ABSTRACT

Research of the Effect of Post traumatic Stress Disorder on Wound Healing and Dermal Scarring

Aim: Although excessive scarring has been an area where studies have been carried out for years, its pathophysiology has not been fully elucidated yet. New pathways are discovered day by day, theories are put forward. Among these, the theory of neurogenic inflammation, which is of increasing importance, attracts attention. The effect of local neurogenic inflammation on scarring in the contact area with axon reflex after mechanical stimuli is known. The effects of neurogenic inflammation of central origin have not been investigated yet. In our study, we aimed to examine the relationship of post traumatic stress disorder with neurogenic inflammation and its effects on wound healing and dermal scarring in this way.

Material-Method: A total of 60 8-week-old Sprague-Dawley female rats were used in our study. 6 groups were created, with 10 rats in each group. The variables of post traumatic stress disorder formation model, incisional dermal scar formation model, and oral paroxetine administration were applied to the groups with different combinations. Post-traumatic stress disorder induction model, incision dermal scar formation model and oral paroxetine application to group 1; Post-traumatic stress disorder modeling and incisional dermal scar formation model for Group 2; Model of post traumatic stress disorder and administration of oral paroxetine to group 3; The only model of creating post traumatic stress disorder in group 4; Only incisional dermal scar formation model was applied to Group 5. No procedure was applied to group 6, it was taken as the control group. Among the groups where scar was created, Group 5 was taken as the control group. At the end of the 28th day, the rats were sacrificed and the skin and scar tissues were excised with 5mm solid skin margin. It was subjected to macroscopic, histopathological, immunohistochemical and histomorphometric examination. Substance P (H-score) value, which is one of the main markers of neurogenic inflammation, and immature scar cross-section area were determined. After one-way analysis of variance (ANOVA), statistical analysis was performed with Tukey multiple comparisons test.

Results: Most macroscopically scar formation was seen in Group 2 and the least in Group 1. Substance P (H-Score) values obtained as a result of immunohistochemical examination; Group 1 = 171.2 ± 3.309 ++ X, Y; Group 2 = 226.2 ± 2.750 *** +++; Group 3 = 141.1 ± 2.305 *** Z; Group 4 = 203.0 ± 3.177 **; Group 5 = 190.0 ± 2.887 ; Group 6 = 179.3 ± 3.651 (** P <0.01, *** P <0.001; significance value compared to the control group. ++ P <0.01 and +++ P <0.001; Incisional dermal scar model applied among groups, significance values of scarred groups according to Group 5. X: P <0.001; Group 1's significance value compared to Group 2. Y: P <0.01; Group 1's significance value compared to Group 3. Z: P < 0.001; the significance value of Group 3 compared to Group 4.). According to the findings of the immature scar cross-sectional area made as a result of histomorphometric examination with the ImageJ program: Group 1 = 11792 ± 2373 * +++; Group 2 = 41868 ± 8855 ***; Group 5 = 19950 ± 6664 (* P <0.05, *** P <0.001; significance value compared to the control group (Group 5), +++ P <0.001; significance value of Group 1 compared to Group 2) . According to the meaningful different results in the statistical analysis data of our study; post traumatic stress disorder increases neurogenic inflammation in solid skin and scar tissue, causing excessive scarring. Oral intake of paroxetine suppresses neurological inflammation caused by post traumatic stress disorder and reduces scar formation. It also suppresses basal neurogenic inflammation in intact skin. Incisional surgical procedures on the skin lead to local neurogenic inflammation.

Conclusions: Since our study is the first study in this field, it will give a new perspective to dermal scar pathophysiology. Supporting the effects of post traumatic stress disorder and paroxetine on scarring with other studies in the future will reveal the importance of neurogenic inflammation.

Keywords: Neurogenic inflammation ; Paroxetine ; Posttraumatic stress disorders, Scarring; Substance P.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
TEŞEKKÜR	i
ÖZGEÇMİŞ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1-GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Dermisin Histolojik Yapısı	3
2. 2. Fizyolojik Yara İyileşmesi	4
2. 2. 1. İnflamatuvar evre	4
2. 2. 2. Proliferatif evre	8
2. 2. 3. Yeniden şekillenme-matürasyon evresi	16
2. 3. Uygunsuz Yara İyileşmesi (Aşırı Skar Oluşumu)	17
2. 3. 1. Aşırı skar oluşumu etiyojisi	17
2. 3. 1. 1. Lokal faktörler	17
2. 3. 1. 2. Sistemik faktörler	18
2. 3. 1. 3. Genetik faktörler	18
2. 3. 1. 4. Epidemiyolojik faktörler	20
2. 3. 2. Hipertrofik skar ve keloid	20
2. 4. İnflamasyon Ve Aşırı Skarlaşma İlişkisi	22
2. 4. 1. TGF-Beta yolağı	23
2. 4. 2. Wnt/Beta-Katenin yolağı	25
2. 4. 3. Homebox (hox) b13 yolağı	27

2. 4. 4. EGR-1 molekülü	27
2. 4. 5. PDGF molekülü	27
2. 4. 6. Mekanosinyal yolağı	28
2. 4. 6. 1. TGF-Beta'nın rolü	29
2. 4. 6. 2. İntegrinlerin rolü	29
2. 4. 6. 3. Kalsiyum iyonunun rolü	30
2. 5. Nörojenik İnflamasyon	31
2. 5. 1. Nöropeptidlerin serbest sinir uçlarından salınımı	35
2. 5. 2. Nörojenik inflamasyonda rol oynayan nöropeptidler	36
2. 5. 2. 1. Substans P	37
2. 5. 2. 2. CGRP (calcitonin gene-related peptide)	38
2. 6. Santral Sinir Sisteminin Dermal Skarlaşma Ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri	40
2. 7. Stresin İmmünolojik Etkileri	43
2. 8. Post Travmatik Stres Bozukluğu (PTSB)	44
2. 9. Psikokutanöz Hastalıklar	46
2. 9. 1. Psöriazis	47
2. 9. 2. Atopik dermatit	48
2. 9. 3. Pruritis	48
2. 10. Plastik Cerrahi, Ptsb, Yara İyileşmesi Ve Skar	49
2.11. PTSB Oluşturma Modeli Ve İnsizyonel Dermal Skar Oluşturma Modeli	51
2. 11. 1. PTSB oluşturma modeli	51
2. 11. 2. İnsizyonel dermal skar oluşturma modeli	52
3- YÖNTEM VE GEREÇLER	54
3. 1. Deney Grupları	54
3. 2. Sıçanlarda PTSB Oluşturulması Modeli Ve İnsizyonel Dermal Skar Oluşturma Modeli	55

3. 2. 1. PTSSB oluşturulması modeli	55
3. 2. 2. İnsizyonel dermal skar oluşturma modeli	59
3. 2. 3. Oral paroksetin çözeltilisi hazırlama	62
3. 3. Sıçanların Sakrifiye Edilmesi Ve Biyopsi Materyallerinin Alınması	64
3. 4. Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Histomorfolojik Çalışma Yöntemi	75
3. 4. 1. Histolojik inceleme	75
3. 4. 2. İmmünohistokimyasal protein işaretleme	76
3. 4. 3. Histolojik Skor (H-Skor)'un hesaplanması	76
3. 4. 4. Histomorfometrik inceleme	77
3. 5. İstatistiksel Analiz	77
4- BULGULAR	
4. 1. Makroskopik Bulgular	78
4. 2. Histopatolojik Bulgular	79
4. 3. İmmünohistokimyasal Bulgular	82
4. 4. Substans P (H-Skor) Değerleri ve İstatistiksel Analiz	88
4. 5. Histomorfolojik İnceleme ve İstatistiksel Analiz	90
5- TARTIŞMA	93
6- SONUÇLAR VE ÖNERİLER	101
7- KAYNAKLAR	103
8- EKLER	158

TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ

TABLolar:

Tablo 1: Yara iyileşmesinde rol alan büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler; kaynakları ve görevleri.

Tablo 2 : Deney grupları ve içerikleri.

Tablo 3: Gruplara ait Substans P (H-Skor) değerleri

Tablo 4: Gruplara ait Substans P (H-Skor) değerlerinin istatistiksel analiz grafiği

Tablo 5: İnsizyonel dermal skar modeli uygulanan grupların İmageJ programı ile histomorfometrik incelemelerinin istatistiksel analiz grafiği

SEKİLLER:

Şekil 1: Uygunsuz sitokin salınımı sonucu yara yerinde uzamış ve güçlü bir inflamasyon olması yara iyileşmesinde gecikmeyle birlikte patolojik skarlaşmaya yol açar.

Şekil 2: Transforme Edici Büyüme Faktörü –Beta (TGF-beta) Sinyal Yolağı

Şekil 3: Wnt/beta katenin sinyal yolağı

Şekil 4: Dermal skarlaşmadaki ana mekanosinyal yolları

Şekil 5: Ciltte mekanik gerim sonrası nörojenik inflamasyon oluşumu ve etkileri.

Şekil 6: Nörojenik inflamasyon ve beyin-deri ilişkisi

Şekil 7: Restrainer içinde 2 saat süre ile immobilizasyona tabi tutulan sıçanlar

Şekil 8: 2/3 ü su dolu olan akrilik havuzda zorunlu yüzmeye tabi tutulan (A) ve 20 dk sonunda havuzdan çıkarılan (B) sıçanlar

Şekil 9: 1mA şiddetinde elektrik akımı sağlayacak olan güç kaynağı (Tussle TPS-303 0-30V 3A Laboratuvar Tip Ayarlı Güç Kaynağı)

Şekil 10: Elektrik akımını iletcek olan metal aparatlar

Şekil 11: Sıçanın elektrik akımı uygulanacak olan sağ arka bacağına aparatların yerleştirilmiş hali

Şekil 12: Sırtları traş edilmiş (A) ve povidon iyot ile antisepsi uygulanmış (B) sıçanlar

Şekil 13: Sırt bölgesine vertikal tam kat cilt insizyonu gerçekleştirilmesi

Şekil 14: Sırttaki tam kat vertikal cilt insizyonunun primer sütürasyon ile kapatılması (A) ve akabinde antiseptik yara bakımı spreyi uygulanması (B)

Şekil 15: Sıçanlar kafeslerinde besin ve su/ilaçlı su ulaşımı serbest olacak şekilde tutuldular

Şekil 16: Paroksetin içeren hapların havanda dövülerek solüsyon aşaması için hazırlanması

Şekil 17: Hazırlanmış olan 0,1mg/ml paroksetin içeren ilaçlı su solüsyonları. 1. Grup ve 3. Grubun içme suları

Şekil 18: İnsizyonel dermal skar modeli uygulamasının 28. gününde kurban edilen 1. Gruba ait rastgele seçilmiş bir sıçanın sırtındaki skar hattının makroskopik görüntüsü

Şekil 19: Sırt bölgesindeki skar hattının 4x1cm boyutunda olacak şekilde biyopsi materyali olarak planlanması (1. Grup)

Şekil 20: Skar hattının biyopsi materyalinde cilt dokusunu tam kat içerecek şekilde kaldırılması (1. Grup)

Şekil 21: Sırt bölgesindeki skar hattını içeren eksize edilmiş biyopsi materyali görüntüsü (1. Grup)

Şekil 22: İnsizyonel dermal skar modeli uygulamasının 28. gününde kurban edilen 2. Gruba ait rastgele seçilmiş bir sıçanın sırtındaki skar hattının makroskopik görüntüsü

Şekil 23: Sırt bölgesindeki skar hattının 4x1cm boyutunda olacak şekilde biyopsi materyali olarak planlanması (2. Grup)

Şekil 24: Skar hattının biyopsi materyalinde cilt dokusunu tam kat içerecek şekilde kaldırılması sonrası eksizyon alanı görüntüsü (2.Grup)

Şekil 25: Sırt bölgesindeki skar hattını içeren eksize edilmiş biyopsi materyali görüntüsü (2. Grup)

Şekil 26: İnsizyonel dermal skar modeli uygulamasının 28. gününde kurban edilen 5. Gruba ait rastgele seçilmiş bir sıçanın sırtındaki skar hattının makroskopik görüntüsü

Şekil 27: Sırt bölgesindeki skar hattının 4x1cm boyutunda olacak şekilde biyopsi materyali olarak planlanması (5. Grup)

Şekil 28: Skar hattının biyopsi materyalinde cilt dokusunu tam kat içerecek şekilde kaldırılması (5. Grup)

Şekil 29: Sırt bölgesindeki skar hattını içeren eksize edilmiş biyopsi materyali görüntüsü (5. Grup)

Şekil 30: Toplanan spesmenlerin her biri ayrı ayrı özel tamponlu formaldehit solüsyonlarının olduğu kaplarda muhafaza edildi (60 adet biyopsi materyali)

Şekil 31: İnsizyonel dermal skar modeli uygulanmış grupların eksizyonel biyopsi öncesi karşılaştırmalı makroskopik görüntüleri

Şekil 32: *Grup 1* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü Bar: 200-100 µm

Şekil 33: *Grup 2* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü Bar: 200-100 µm

Şekil 34: *Grup 3* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü Bar: 200-100 µm

Şekil 35: *Grup 4* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü Bar: 200-100 µm

Şekil 36: *Grup 5* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü Bar: 200-100 µm

Şekil 37: *Grup 6* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü Bar: 200-100 µm

Şekil 38: *Grup 1* ; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm

Şekil 39: *Grup 2* ; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm

Şekil 40: *Grup 3* ; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm

Şekil 41: *Grup 4* ; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm

Şekil 42: *Grup 5* ; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm

Şekil 43: *Grup 6* ; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm

Şekil 44: Grup 1 20x büyütmede histomorfometrik inceleme; immatür skar kesit alan ölçümü

Şekil 45: Grup 2 20x büyütmede histomorfometrik inceleme; immatür skar kesit alan ölçümü

Şekil 46: Grup 5 20x büyütmede histomorfometrik inceleme; immatür skar kesit alan ölçümü

KISALTMALAR

ACTH	:Adrenokortikotropik hormon
ADAM-12	:Metalloproteinaz-12
ADP	:Adenozin difosfat
ANP	:Atrial Natriuretic Peptide
APC	:Adenomatöz Polipozis Koli
ATP	:Adenozin trifosfat
bFGF	:Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
Ca	:Kalsiyum
cAMP	:Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP	:Siklik Guanozin Monofosfat
CGRP	:Calcitonin Gene-Related Peptide
CRH	:Corticotropin Relasing Hormon
CTAP-III	:Chemokine-Connective Tissue-Activating Peptide-III
CXCR2	:CXC Chemokine Receptor 2
DAG	:Diaçilgliserol
DEHAM	:Deney Hayvanları Araştırma Merkezi
DNMT	:DNA metil transferaz
Dsh	:Dishevelled
EGF	:Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	:Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
EGR-1	:Early Growth Response -1
eNOS	:Endotelyal Nitrik Oksit Sentetaz
EMT	:Epitelyal-Mezankimal Geçiş Hücreleri
ERK	:Extracellular Signal-Related Kinase
ET1	:Endotelin-1
FAK	:Fokal Adezyon Kinaz
FDA	:Food and Drug Administration

FGF	:Fibroblast Büyüme Faktörü
GAG	:Glikozaminoglikanlar
GPCR	:G-Protein Coupled Receptors
GSK3	:Glikojen Sentaz Kinaz 3
HADYEK	:Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu
Homebox b13	:Hox b13
HPA	:Hipotalamik-Pituiter-Adrenal
ICAM	:İntraselüler adezyon molekülleeri
IFN	:İnterferon
IGF-1	:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IL	:İnterlökin
lncRNAs	:Long Non-Coding RNAs
iNOS	:İndüklebilir Nitrik Oksit Sentetaz
IP3	:İnositol Trifosfat
IP-10(CXCL10)	:İnterferon-Gama-İndüklebilir Protein-10
JNK	:c-Jun N-terminal Kinase
KGF	:Keratinosit büyüme faktörü
LAP	:Latency-Associated Peptide
LEF	:Lenfoiid Çoğaltıcı Faktör
LLC	:Large Latent Complex
LTBP-1	:Latent TGF-Beta1-Binding Protein
MAPK	:Mitogen-Activated Protein Kinas
MCP-1	:Monosit Kemoatraktan Protein-1
MDC(CCL22)	:Makrofaj Kaynaklı Kemokin
Mig(CXCL9)	:İnterferon-gama kaynaklı monokin
MMP	:Matriks Metalloproteinaz
Mrgpr	:Mas-Related G-Coupled Protein Receptors
MSH	:Melanin Stimulating Hormon

NAP-2	:Neutrophil-Activating Peptide-2
NEDD4	:Neuronal precursor cell-Expressed Developmentally Downregulated 4
NEP	:Nötral Endopeptidaz
NF-κB	:Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells
NGF	:Sinir Büyüme Faktörü
NK	:Natural Killer
NK1R	:Nörokinin 1 Reseptör
NO	:Nitrik Oksit
PACAP	:Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide
PAF	:Trombosit Aktivasyon Faktörü
PAİ	:Plasminojen Aktivatör İnhibitörü
PAR	:Protease-Activated Receptor
PBS	:Phosphate Buffer Solution
PDGF	:Platelet Derived Growth Factor
PDAF	:Trombosit Kaynaklı Anjiogenez Faktörü
PKC	:Fosfokinaz C
PLC	:Fosfolipaz C
PTSB	:Post Travmatik Stres Bozukluğu
RTK	:Reseptör Tirozin Kinaz
SM α-aktin	:Düz Kas Alfa-Aktin
SNARE	:Soluble N-Ethymalemid-Sensitive Factor Attachment Protein Receptor
SSRI	:Serotonin Reuptake İnhibitörü
SPS	:Single Prolonged Stress
TCF	:T-Hücre Faktörü
TGF-α	:Transforming Growth Factor- Alfa
TGF-Beta	:Transforming Growth Factor- Beta

TNF-α	:Tumor Necrosis Factor-Alfa
TNFAIP6	:TNF Alfa Induced Protein 6
TRPV1	:Transient Receptor Potential Vanilloid 1
TRPA1	:Transient Receptor Potential Ankyrin 1
TSP-1	:Trombospondin-1
VCAM	:Vasküler hücre adezyon molekülleri
VEGF	:Vazoaktif Endotelyal Büyüme Faktörü
VIP	:Vazoaktif İntestinal Peptid



1-GİRİŞ VE AMAÇ

Deri, insan vücudundaki en geniş alana sahip olan dokudur. Bir bariyer olarak bütün vücudu örtmektedir. Bu nedenle dışarıdan gelecek olan travmalarda öncelikle deri dokusu hasara uğrar. Buna yanıt olarak da ilgili travmanın gerçekleşme anından itibaren yara iyileşmesi basamakları devreye girer.(1) Sırasıyla; inflamatuvar faz, proliferatif faz ve matürasyon (remodelling) fazları görülür. Trombositlerin toplanması, fibrin tıkaçı meydana gelmesi ile hemostaz oluşumu ve ilgili bölgede yoğunlaşan hücrelerce oluşturulan inflamasyon inflamatuvar fazda görülürken devamında gelişen yeni bir ekstraselüler matriks sentezi, fibroblastlarca kollajen üretimi, granülasyon dokusu birikimi, anjiyogenezis ve epitelizasyon ise proliferatif fazda gerçekleşir.(2-23) Matürasyon fazında ise oluşturulmuş olan yeni matriks dokusunun şekillenmesi, içeriğindeki kollajen dengesinin tip1 lehine dönmesi ve maksimum tensil kuvvetine erişim ile skar dokusu oluşumu sağlanır.(18,24-26)

Ancak bazı durumlarda inflamasyon sınırlanmaz ve proliferasyonu sürekli uyararak olması gerekenden daha fazla ekstraselüler matriks ve granülasyon dokusu birikimi ile hipertrofik skar veya keloid dokusu oluşumuna yol açarlar.(27,28) Buna etki eden lokal, sistemik ve genetik olmak üzere bir çok faktör vardır.(29) Vücuttaki yerleşimi, yaranın durumu ve etiyojisi, eşlik eden sistemik hastalık varlığı, ırk, yaş, cinsiyet gibi temel faktörler skarın akıbeti için belirleyicidirler.(30-52) Hipertrofik skar ve keloid dokuları ciltten kabarık, etraf dokuya göre daha eritematöz, zaman zaman ağrılı ve kaşıntılı olan, görsel olarak sorun teşkil eden patolojik oluşumlardır.(44,53-57) Patofizyolojisinde inflamatuvar sitokinlerin lokal ve sistemik olarak aşırı ve uzamış salınımları görülmektedir.(58,59) TGF-beta bu sitokinlerin en önemlisi ve en iyi bilinenidir.(60-63) Başlıca TGF-beta yolağı, Wnt/beta katenin yolağı, Homeobox b13, Early Growth Response -1(EGR-1), Platelet Derived Growth Factor (PDGF) molekülleri ile integrin, kalsiyum ve TGF-beta aracılığıyla işlev gören mekanosinyal yolağı fibroblastlar üzerinden etki ederek fibrozisi uyarıp aşırı skar oluşumuna yol açarlar.(60-77)

Skar oluşumunda bir diğer önemli ana etken ise nörojenik inflamasyondur.(78-83) Travma bölgesinde oluşan uyarı duyu sinirlerince (serbest

sinir uçları) ortodromik olarak dorsal kök gangliyonu üzerinden santral sinir sistemine doğru iletilirken akson refleksi prensibine göre dallanma noktalarından antidromik olarak arborizasyonu sonucu serbest sinir uçlarından nöropeptit salınımı gerçekleştirir.(34,81,84-91) Substans P, CGRP (calcitonin gene related peptide), nörokinin A, vazoaaktif intestinal peptid (VİP) ve somatostatin bu nöropeptitlerin başlıcalarıdır.(92,93) Salınan nöropeptidler hücre proliferasyonu, sitokin üretimi, antijen sunumu, duyuusal sinir iletimi, mast hücre degradasyonu, vazodilatasyon ve artmış vasküler geçirgenlikten sorumludurlar.(92-96) Böylece ortamdaki inflamatuvar yanıtın süregelen hale gelmesine sebep olarak fibrozise eğilim oluştururlar.(87,88,97-99) Hipertrofik skar ve keloid oluşumunda altta yatan önemli bir etkidir.(34,87,88,99)

Nörojenik inflamasyon eksternal/periferal uyaranlara bağlı olarak ilgili bölgede akson refleksi ile oluşturulurken, post travmatik stress bozukluğu (PTSB) gibi yoğun psikolojik stress durumlarında da nörotransmitter dengesi değişmiş olan serebral korteks ve bazal gangliyonlardan internal/santral kökenli olarak kalkan uyarıların spinotalamik yolla yine duyu sinirleri üzerinde antidromik olarak ilerleyerek serbest sinir uçlarından nöropeptit salınımına neden olması sonucu ciltte yaygın kutanöz nörojenik inflamasyon oluşmaktadır.(86,100,101)

Psöriazis, atopik dermatit, ürtiker, pruritis, rozasea, seboreik deramatit, akne ekskorie gibi psikokutanöz hastalık tablolarında da görüldüğü üzere PTSB özelinde santral sinir sistemi üzerindeki artmış psikolojik stres durumları cilt düzeyinde nörojenik inflamasyona neden olarak bu hastalıkların semptomlarının ortaya çıkmasına veya alevlenmesine neden olmaktadır.(102-105)

Bu çalışmada PTSB'nin deri dokusunda sebep olduğu yaygın nörojenik inflamasyonun yara iyileşmesini bozduğu ve aşırı dermal skar oluşumuna neden olduğu hipoteziyle sıçanlarda post travmatik stres bozukluğu oluşturma modeli, insizyonel dermal skar oluşturma modeli ve post travmatik stress bozukluğu tedavisinde kullanılan Paroksetinin oral uygulamasının kombine edildiği bir deneysel çalışma planı yapıldı. Literatürde daha önce bu alanda yapılmış bir çalışma olmaması yönüyle özgün bir çalışma olan tezimizde post travmatik stres bozukluğunun yara iyileşmesi ve dermal skarlaşma üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlandı.

2-GENEL BİLGİLER

2. 1. Dermisin Histolojik Yapısı

Deri insan vücudundaki en büyük doku ve aynı zamanda onu dış etkenlerden koruyan en büyük bariyedir. Bu özelliğinden ötürü çeşitli katmanlardan oluşmaktadır. Cilt ; epidermis ve dermis olmak üzere iki ana katmandan oluşur. Epidermis daha çok keratinize tabakadan oluşurken dermis ise ekstraselüler matriks komponenti açısından oldukça zengin bir yapıdadır. Başlıca fibroblastlar tarafından üretilen kollajen ve glikozaminoglikanlar (GAG)ın yanında, pilosebaseöz üniteler, ter bezleri, dermal adipoz hücreleri, mast hücreleri ve infiltratif lökositler bu tabakada önemli yer tutarlar.(106) Ekstraselüler matriks iki ana sınıf makro molekülden oluşur; proteoglikanlar ve fibröz proteinler.(107,108) Bu ana ekstraselüler matriks fibröz proteinleri; kollajenler, elastinler, fibronektinler ve lamininlerden oluşmaktadır. Dermisin ana iskeletini ise kollajen yapı oluşturur. Buradaki başlıca kollajen tipleri; Tip 1 ve Tip 3 tür.(109) Tip 1 kollajen fibril formundadır, gerime dayanıklılığı sağlar.(110) Kıkırdak doku hariç vücudun her yerinde bulunmaktadır. Yine dermis, fasya ve tendonların temel kollajeni olup matür skar dokusunun da ana komponentidir.(111) Tip 3 kollajen de fibril formunda bir kollajendir.(112) Bir çok yerde tip 1 kollajen ile birlikte lokalizedir.(113-117) Fetal yara ve cilt dokularının histolojik incelemelerinde tip 3 kollajen miktarının tip 1 kollajene oranla daha yüksek seyrettiği görülmüştür.(118). Ancak erişkin cilt dokusunda tip 1 kollajen oranı daha yüksektir.(109) Dermiste çok çeşitli proteoglikan ve glikozaminoglikan türleri vardır. Heparan sülfat, heparin, kondrotin sülfat, keratan sülfat, hiyalüronik asit, dermatan sülfat başlıcalarıdır.(119) Hidrasyon, tamponlama, bağlanma ve güce karşı direnç uygulama gibi bir çok fonksiyonları vardır.(120) Dermisteki kollajen fibrillerin çapı, dermatan sülfat, hiyalüronik asit gibi GAG ların miktarı mekanik dayanıklılık için ana belirleyici etkindir.(121)

2. 2. Fizyolojik Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi vücutta dokuların bütünlüğünün sağlanması için gerekli olan en önemli ana fizyolojik olaylardan biridir.(122,123) Birçok hücre türü ve grubunun ortaklaşa rol aldığı bir süreçtir. Her dokunun hasara karşı verdiği bir yara iyileşmesi yanıtı vardır. Cilt düzeyindeki yara iyileşmesi aşamaları yüz yıldan fazla bir süredir histolojik çalışmalarla ortaya konmuştur. Deri kompleks yapıda bir dokudur. Tam kat yaralanmalarda bir çok yapıda hasar oluşmaktadır. Dıştan içe doğru bakıldığında ; epidermis, ter bezleri, kıl folikülleri, basal membran, dermis, sinirler, kan damarları, lenfatik damarlar hasar gören yapılardır.

Deride bir hasar oluştuğu andan itibaren iyileşme fazları da eş zamanlı olarak başlar. Bu iyileşme sürecindeki aşamalar keskin sınırlarla birbirinden ayrılmış değil, aksine birbirleriyle kısmen örtüşecek şekilde olmaktadır.(1) Bu aşamalar oluşan travmayı takiben inflamatuvar faz, proliferasyon fazı, migrasyon fazı ve kontraksiyon fazı ile matürasyon (remodelling-yeniden şekillenme) fazlarıdır.

2. 2. 1. İnflamatuvar evre

Yaralanma oluşuktan sonra bütünlüğü bozulan deri katmanlarında inflamatuvar yanıt başlar. Ana hatlarıyla ilk olarak vasküler bir inflamatuvar cevap olan vasküler kontraksiyon ve sızan kanın koagülasyonu görülür. İnflamasyon evresindeki hücre yanıtı yaralanmış alana lökositlerin infiltrasyonu ile karakterizedir. (2) Erken hücre yanıtı normalde ilk 24 saatte oluşur ancak 2 güne kadar da uzayabilir.

İnflamatuvar faz yara iyileşmesinin hemostaz ve inflamasyon ile karakterize olan ilk fazıdır. Yaralanma sonucu açığa çıkan kollajen (doku faktörü) intrinsik ve ekstrinsik pıhtılaşma yollarını aktive ederek hemostazı başlatır. Aynı zamanda doku hasarı sonucu yara yatağına salınan tromboksan A2 ve prostaglandin 2-alfa potent vazokonstrüktör ajanlardır.(4,5,6) Ekstravaze olan kan, koagülasyon kaskadının devreye girmesiyle protrombinin trombine dönüşmesi ve onun da fibrinojeni fibrine çevirmesiyle fibrin tıkaçı oluşur.(7,8,9,10)

Koagülasyon, trombositlerin aggregasyonu ve bir fibrin ağı içinde yer almalarıyla oluşur. (11) Bu fibrin ağı (tıkaç) bir çok önemi ve görevi vardır; kanama alanını tıkayarak hemostazı sağlar, bir bariyer görevi görerek mikroorganizmaların invazyonunu engeller, gerekli hücrelerin migrasyonu için geçici bir ekstraselüler matriks oluşturur.(12) Fibronektin ile bağ yapmış haldeki fibrin yapısı monositlerin, fibroblastların ve endotel hücrelerin içine ilerleyebileceği bir ekstraselüler matriks görevi görür.(124-130) Bu fibronektin/fibrin matriksi fibroblastların sitokin cevabını ve integrinlerin endotel hücre ile olan ilişkilerini de module eder.(131,132) Göç eden hücreler integrin reseptörlerini kullanarak fibrin, fibronektin ve vitronektin yapılarını tanıyarak bu neomatrix içine ilerlerler.(133-136) Bu durum lezyonun mikroçevresine hücre migrasyonu olabildiğini ve fibroblast proliferasyonunun stimüle edilmesine imkan sağlar.(137)

Fibrin oluşumu sonrasında ortamdaki dengeyi sağlayan katabolik enzimler de devrededir. Major proteolitik enzimler (plasminojen aktivatörleri ve plasmin) fibrin yumağına ve hücre yüzeylerine bağlanarak proteaz inhibitörlerinin [Plasminojen Aktivatör İnhibitörü (PAİ) ve α 2-antiplasmin] inaktivasyon etkisinden kaçarlar.(138,139) Plasminojen aktivatörü ve plasmin ekstraselüler matriks proteinlerini yıkabilmesine rağmen PAİ-1 ekstraselüler matrikse bağlanarak yara alanında hücresel mikroçevredeki matriks yıkımını sınırlarlar.(140) Ancak buna rağmen yetersiz matriks yıkımı da fibrozise neden olabilmektedir.(141) Örneğin pulmoner fibrozis vakalarında azalmış fibrinolizis ile birlikte fibrin depolanması görülür.(142,143) Yara alanından azalmış fibrin uzaklaştırılması da normal yara iyileşmesinin seyrini bozar. Örneğin plasminojen aktivitesi olmayan transgenik farelerde kutanöz yara iyileşmesinin gecikmiş olduğu gösterilmiştir.(144)

Trombositler yaralanmaya cevap veren öncü hücreler arasında hemostatik plak oluşumundaki anahtar hücrelerdir. İçlerindeki granüllerden birçok kemokin ve büyüme faktörü salgılanır. Bunlar sayesinde vazokonstriksiyon, fibrin stabilizasyonu, makrofaj ve fibroblastların aktivasyonu sağlanır. Bu kemokin ve büyüme faktörleri şunlardır; (3)

Alfa granüllerden salınanlar ;

- P-selektin,
- Fibrinojen,
- Fibronektin,
- Faktör 5,
- Faktör 8,
- Platelet Faktör 4,
- PDGF
- TGF- α
- TGF-Beta
- PDAF
- PAF
- IGF-1
- Tromboksan A2
- Prostaglandin 2-alfa
- EGF
- FGF

Dens (yoğun) granüllerden salınanlar ;

- ATP
- ADP
- Kalsiyum (Ca)
- Serotonin
- Histamin
- Epinefrin
- Bradikinin

Trombosit degranülasyonu aynı zamanda kompleman kaskadını aktive eder. Özellikle de nötrofiller için kemotaktik bir protein olan C5 aktive olur.(145) Aktive olmuş koagülasyon kaskadı, kompleman yolları ve parankimal hücreler tarafından

salınan vazoaktif mediatörler ve kemokinler inflamatuvar lökositlerin yara alanına taşınmasında anahtar rol oynarlar.

Hemostaz sağlandıktan sonra aktive olmuş kompleman kaskadından salınan histamine sekonder olarak vazodilatasyon ve kapiller sızma gerçekleşir.(146) Bu, yara alanına artmış kan akımı ve bozulmuş damar geçirgenliği ile inflamatuvar hücrelerin yara yatağına göç etmesine olanak sağlar.(2) Eğer ortamda yabancı organizmalar da var ise alternatif kompleman yolağı da aktive olur. Kompleman C3 aktivasyonu non-enzimatik protein yıkım kaskadını ve sonunda bakteri lizisi için inflamatuvar hücreleri uyarır.

Kompleman aktivasyonu ve trombosit kümelenmesi sonrasında yara alanına göç eden ikincil cevapçıl hücreler nötrofillerdir. Yara oluşumundan 1 gün sonra ortamdaki hücrelerin yüzde ellisini oluştururlar.(147) Nötrofiller ortamdaki debrisleri temizlemek, kompleman uyarımlı opsonizasyon, yabancı organizmaların lizisi ve oksidatif mekanizmalar ile bakterilerin ortadan kaldırılmasında rol oynar.(1,148-150) Bu maddeler daha sonra ya eskar dokusunun yapısına katılarak yada makrofajlarca fagosite edilerek ortamdan uzaklaştırılır. Aktive trombositler, endotel hücreleri ve yıkıma uğramış bakteri proteinleri nötrofilleri uyarırlar.

Dolaşımdaki hücrelerin büyük bir bölümünü nötrofiller oluşturmaktadır. Yaralanma sonrasında damar yaralanması ve beraberinde oluşan ekstrasvazasyon nedeniyle yara alanında pasif olarak toplanan kan pıhtısının içeriğinde nötrofiller de vardır. Nötrofiller bu pasif ekstrasvazasyon sonrası hızlıca yara alanına göç ederek etken patojenlere karşı sıkı bir bariyer oluştururlar. Bu nötrofil trafiğini bir çok kemoatraktan molekül düzenler.(144,147,151,152)

Trombositlerin agregasyonu ve fibrin tıkaç içerisinde yerlerini almasıyla salgıladıkları büyüme faktörleri (PDGF vs.) ve kemokinler vardır. CTAP-III trombuslardaki nötrofiller tarafından proteolizis ile NAP-2'ye çevrilir(153). NAP-2, nötrofil kemotaksisini CXCR2 reseptörleri aracılığıyla dakikalar içinde başlatan ilk aşama mediatörlerdendir. Genel olarak lökosit kemoatraktanları, trombin tarafından fibrinojenden ayrılan fibrinopeptid yapılardan ve fibrinin plasmin ile yıkım ürünlerinden oluşur.(154,155)

Makrofajlar yara iyileşmesinde anahtar rol oynayan önemli fagositik hücrelerdendir.(156,157) Ekstraselüler matriks protein fragmanları, TGF-Beta, MCP-1 gibi sitokin ve proteinlerin uyarımıyla monositlerden farklılaşarak oluşurlar. Bakterilerin ve yabancı materyallerin direkt fagositozunda rol oynarlar. Birçok enzim ve sitokin salgırlarlar.(158) Örneğin kollajenaz salgılayarak yara alanında debridman yaparlar, interlökinler ve TNF- α salgılayarak fibroblastları uyarıp anjiogenezisi desteklerler, TGF-Beta salgılayarak keratinositleri uyarırlar.(159,160) Aynı zamanda PDGF ve VEGF salgılayarak granülasyon dokusu formasyonunun oluşumunu ve proliferatif faza geçişi sağlarlar. (161)

Makrofajlar ve nötrofillerin yanı sıra mast hücreleri yara iyileşmesindeki mediatörlerin kaynağının büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Normal cilt ile kıyaslandığında yara alanında daha yüksek oranda oldukları görülmüştür. (162,163) Mast hücreleri yüksek oranda IL-4 üretirler, fibroblast proliferasyonunu uyarırlar.(164) Yüksek miktarlardaki IL-4'ün, MCP-1 ve IL-8 gibi kemokinleri down-regüle ederek infamasyonu baskılama özelliği de vardır.(165)

Lenfositler bilinenin yanında immünolojik görevlerine ek olarak yara iyileşmesi sürecinde büyüme faktörleri salgırlarlar.(166) Kemokin salınımını araştıran çalışmalara bakıldığında lenfositlerin birçok spesifik kemokinlerce hedefte olan lökosit alt birimlerini sunduğunu gösterilmiştir.(167-169) Bu kemokinler arasında başlıca MCP-1 olmak üzere 4. günden sonra IP-10 (CXCL10), Mig(CXCL9) ve MDC(CCL22) lenfosit toplanmasıyla ilişkili bulunmuştur.(147) IP-10 ve Mig, interferonlar tarafından özellikle salınmaları teşvik edilen moleküllerdir. Bu moleküllerin 4. günden itibaren olan güçlü salınımları ortamdaki sitokin profilinde TNF-a/IL-1 den IFN-gama ya major bir kaymaya neden olur.(170)

2. 2. 2. Proliferatif evre

Proliferatif evrenin amacı lezyone alanı kontraksiyon ve fibroplazi ile ortadan kaldırmak ve aktive keratinositlerle yeni bir epiteliyal bariyer kurmaktır. Bu evre; yaranın kendini kapatması, anjiogenezis, fibroplazi ve reepitelizasyon ile

karakterizedir. Bu aşamalar içiçe olarak lezyonun mikroçevresinde ilk 48. saatte başlar ve lezyonun oluşumundan 21. güne kadar devam eder. (13)

Reepitelizasyon keratinositlerin migrasyonunu ve proliferasyonunu gerektirir. Yaralanmadan saatler sonrasında bir gün sonrasına kadar olan zamanda yara kenarlarından keratinositler göç etmeye başlarlar. Keratinositler yara kenarlarının bazal membranı konumunda olup, yaralanmadan 2-3 gün sonra oluşmaya başlayan kıl folikülleri ve ter bezlerinin de epitel kök hücreleridir.(171) Reepitelizasyon yara ile ilişkili birçok uyarıcı tarafından uyarılır. Örneğin ana olarak makrofajlardan salınan nitrik oksit ve sitokinlerle çeşitli hücrelerden salınan EGF, KGF, IGF-1 ve NGF gibi büyüme faktörleri reepitelizasyonu uyarırlar.(14)

Yara kenarındaki epitel hücreler apikal ve bazal kutuplarındaki bağları gevşeterek psödotopodlar oluşturmaları sayesinde bazolateral yönde yara içine doğru yönelirler. Eğer epidermal bazal membran hasarlanırsa içeriğinde fibronektin, tenasin, vitronektin, ve fibrinojen olan öncül yara dokusu matriksi yara kenarı epidermisinin altında stromal tip 1 kollajen lifleri etrafında toplanırlar.(172-176) Normal epidermis hücrelerinin aksine yara dokusu keratinositleri fibronektin, tenasin ve vitronektin için integrin reseptörleri üretirler.(177-180) Normalde bazal keratinositlerin lateral yarılarında bulunan $\alpha 2\beta 1$ tip 1 kollajen reseptörleri yara keratinositlerinin bazal membranında dağılım göstererek dermal tip 1 kollajen fibrilleri ile ilişki kurarlar. İn vitro deneylere göre bu reseptörlerin keratinositlerin tip 1 kollajen üstünde göç edebilmesi için gerekli olduğu düşünülmektedir. (181)

Yara dokusunda epidermis hücreleri göç ederken öncül matriks dokusunu disseke ederek ilerlerler, eskar dokusunu canlı dokudan ayırırlar.(172) Yara epidermal hücrelerinin kollajenöz dermis ve fibrin eskar dokusu arasında disseksiyon yaparak göç edebilmeleri için ekstraselüler matriksin yıkımı şarttır. Bunu da yapılarından salgılanan kollajenaz ve plasminojen aktivatörüyle yaparlar.(144,181-183) Plasminojen aktivatörü, plasminojeni aktive ettiği gibi kollajenazı da aktive eder ve interstisyel kollajenin yıkımına yardım eder.(184) Bu proteazlar enzimatik olarak epidermal hücrelerin göç yolundaki ekstraselüler matriksi yıkarlar. Canlı ve ölü dokular arasındaki epitel hücre göçü ve disseksiyonu en nihayetinde eskar dokusunu oluşturur. Bu disseksiyon yolu göç eden epidermal hücrelerin

membranlarında yer alan integrin reseptörleri aracılığıyla belirlenir. Epidermal hücreler ortamda fibrin varlığında fibronektine bağlanamazlar ancak fibrinojen varlığında bağlanabilirler. Buna karşın ne fibrin ne de fibrinojen varlığı tip 1 kollajene bağlanmayı olumsuz etkilemez.(185) Çünkü yara hattının altında yer alan fibrinojen pıhtılaşmamıştır. Göç eden yara epidermal hücreleri fibrin/fibronektinden zengin pıhtı dokusundan uzak dururlar; fibrinojen, fibronektin ve tip 1 kollajenden oluşmuş matriks üzerinde göç ederler.(175)

Yeni stromal doku yani granülasyon dokusu yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra lezyone alanı doldurmaya başlar. Granülasyon dokusu olarak adlandırılmasının nedeni dışarıdan bakıldığında ve insize edildiğinde granüler bir görünümde olmasından ötürüdür. Bu neostroma dokusunun bünyesindeki zengin kapiller ağ granüler görüntüye katkı sağlar. Makrofajlar, fibroblastlar ve yeni kan damarları yara iyileşmesi sürecinde yara alanına ilerleyen temel ünitelerdir. Makrofajlar, fibroplazi ve anjiogenez için gerekli olan büyüme faktörlerinin devamlı üreticisidir. Fibroblastlar hücrelerin yerleşebilmesi için gerekli olan yeni ekstraselüler matriksi üretirler. Kan damarları ise hücre metabolizması için gerekli oksijen ve besin yapı taşlarını sağlar.

Hemostaz aşamasında yara alanında oluşan fibrin içerikli öncül yara dokusu ekstraselüler matriksi granülasyon dokusuna dönüşür. Granülasyon dokusu içerisinde fazla sayıda fibroblast, granülosit, makrofaj, kan damarları ve kompleks kollajen yapıları içerir.(16) Yara alanındaki makrofajlar ve trombositler tarafından üretilen PDGF, TGF-beta gibi büyüme faktörleri ve sitokinlerce yara kenarındaki dermisten uyarılarak göç eden fibroblastlar, granülasyon dokusunun oluşumunda ana rol oynarlar.(16,186) Bu büyüme faktörleri fibroblastları uyararak, fibrin matriks proteinleri olan fibrin ve fibronektin ile birlikte, yara etrafından doku proliferasyonunu uyarıp uygun integrin reseptörleri salgılatır ve lezyone alana hücre göçünü sağlar.(187-191)

Eğer yara durumu uzun sürer ise yara alanındaki fibroblastlar kemik iliği kaynaklı mezenkimal progenitör bir hücre olan fibrositlerden köken alırlar.(192,193) Dolaşımdaki fibrositler ciltteki yara alanına göç ederek sadece fibroblastlara dönüşmezler aynı zamanda yara iyileşmesini de sitokin, kemokin, büyüme faktörleri

salgılayarak uyarırlar, antijen sunan hücreler gibi davranarak anjiogenezise katkıda bulunurlar.(17)

Fibroblastlar öncül ekstraselüler matriks dokusuna göç ettikten sonra çoğalırlar ve matriks metalloproteinaz (MMP) gibi proteinaz enzimleri salgılayarak matriks dokusunu yıkarlar.(194,195) Bir yandan da kollajen, proteoglikanlar, hyalüronik asit, glikozaminoglikanlar ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks komponentlerini depolayarak granülasyon dokusunu şekillendirirler.(18) Yara alanını doldurup hücre adezyonu, göçü, büyümesi ve farklılaşması için bir taslak çatı doku oluştururlar.(196,197)

Anjiogenez belirli basamaklardan oluşan çoklu koordine bir süreçtir. Vasküler yeniden yapılanma kan akımı değişikliğini uyarır. Endotelial hücre proliferasyonu, basal membranın rüptüre olup yeniden oluşması, migrasyon ve tübüler yapıların oluşması, perivasküler hücrelerin toplanması sırasıyla görülen olaylardır. Angiyogenez; yara iyileşmesinin yanında embriyogenez, metastaz ve tümör büyümesi gibi organik olaylarda da görülmektedir. Anjiogenezisten; bFGF, VEGF, anjiopoetin, PDGF ve bir çok diğer faktörler sorumludur.(19-23) VEGF ve anjiopoetin çeşitli isoformlarının endotelial hücre büyümesi ve anjiogeneziste etkili olduğu gösterilmiştir.(198,199) Fibrinin anjiogenezisi direk olarak uyardığı gösterilmiştir.(200-202)

Lezyone alanda damar ağının yeniden oluşturulması önemlidir. Yara iyileşmesi sürecinde besin monomerleri ve oksijen ihtiyacı artmaktadır. Anjiogenez olarak bilinen yeni damar oluşması süreci VEGF, PDGF, bFGF, TGF-Beta gibi büyüme faktörleri ve serin proteaz trombin tarafından endotelial hücreleri uyararak yara alanında başlatılır.(15) Proteolitik enzimlerin salınımı ve basal membranın çözülmesi sonrasında endotelial hücreler mevcut damar yapılarından anjiogenik uyarılara doğru proliferasyon olarak göç ederler. Ve tübüler yapıyı şekillendirerek yeni damar yapılarını oluştururlar.

MEDİATÖRLER	SALINDIĞI HÜCRE	GÖREVİ
VEGF	Endotelial hücreler	Anjiyogenezis
FGF-2	Makrofajlar, mast hücreleri, endotelial hücreler, T lenfositler	Anjiyogenezis Keratinosit, fibroblast ve endotelial hücre göçü Epitelizasyon
PDGF	Trombositler, Makrofajlar, Endotelial hücreler	Kollajen ve proteoglikan sentezi Makrofaj ve Fibroblast çağırıcı
KGF	Fibroblastlar	Keratinosit büyüme ve gelişmesi Epitel hücrelerden büyüme faktörleri salınımı kontrolü
EGF	Trombositler, Makrofajlar	Kollajenaz salınımı Matriks remodelingi
TGF-Beta	Trombositler, Makrofajlar, T ve B lenfositler, Hepatositler, Timositler, Plasenta	Anjiogenezis Kemoatraktan salınımı Proinflamatuvar molekül salınımı Lökosit ve fibroblast göçü uyarımı Proteaz inhibisyonu Kollajen ve proteoglikan sentezi aktivasyonu
TNF- α	Makrofajlar, T ve B lenfositler, NK hücreler	Kollajen sentezi aktivasyonu Polimorfonükleer(PMN) hücre göçü Sitotoksikite

IFN- α	Makrofajlar, T ve B lenfositler, Fibroblastlar, Epitelyal hücreler	Makrofaj aktivasyonu Fibroblast çoğalma inhibisyonu
IL-1	Makrofajlar, Keratinositler, Endotelyal hücreler, Lenfositler, Fibroblastlar, Osteoblastlar	Proinflamatuvar kemokin PMN hücre aktivasyonu, kemotaksisi Fibroblast, keratinosit aktivasyonu
IL-4	T hücreleri, Bazofiller, Mast hücreleri, kemik iliği stroma hücreleri	Fibroblast çoğalması uyarımı Kollajen ve proteoglikan sentezi aktivasyonu
IL-8	Monositler, Nötrofiller, Fibroblastlar, Endotelyal hücreler, Keratinositler, T hücreleri	PMN ve Makrofaj kemotaksi aktivasyonu Keratinosit aktivasyonu
eNOS	Endotelyal hücreler, nöronlar	Nitrik oksit Endotelyal hücrelerde üretilmesi
iNOS	Nötrofiller, Endotelyal hücreler	NO nun makrofajlar ve bazal keratinositlerde üretilmesi

Tablo 1: Yara iyileşmesinde rol alan büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler; kaynakları ve görevleri.

Normal dermal fibroblastlar travma sonrası deri bütünlüğünün bozulmasıyla mikroçevrelerinde dramatik bir değişiklik gösterirler. Bunlar büyüme faktörleri ve sitokin salgılama şeklinde olduğu gibi kollajen sentezi yoluyla da mikroçevrelerini yapısal olarak değiştirirler. Bu değişimler daha sonra fibroblastların öncelikle ara form olan protomiyofibroblastta daha sonra da miyofibroblastta dönüşümü için uyarıcıdır.(204) Miyofibroblastlar yapılarında düz kas α -aktin (SM α -aktin) fibrilleri

bulundurulur. Bu aktin fibril izoformları vasküler düz kas hücrelerinde ve fokal adhezyon alanlarında da bulunurlar, aktin-miyozin içeren stres fibrilleri olarak bilinirler.(205-207) Fibroblastlar ile karşılaştırıldığında miyofibroblastların artmış miktarda tip 1 ve tip 3 kollajen, proteoglikan, fibronektin, kontraktıl proteinler, büyüme faktörleri, sitokinler ve hücre siklusunu regüle eden proteinler salgıladığı görülmüştür. (208) Yapılan bazı çalışmalarda miyofibroblastların kaynağının sadece normal bağ doku fibroblastları olmadığı başka miyofibroblast progenitör hücreleri olduğu da gösterilmiştir. Disintegrin ve metalloproteinaz-12 (ADAM-12) içeren perivasküler hücreler, fibrositler ve epitelyal-mezankimal geçiş hücreleri (EMT) bunlara örnek olarak verilebilir.(209-211)

Yapılan deneysel çalışmalarda normal akut yara iyileşmesi seyrinde yaklaşık 7-14. günlerde miyofibroblastların yapısında artmış kollajen ve fibronektin depolanması görülmüştür.(212-215) Fibrozis ve aşırı skar dokusu oluşumunda kollajenden zengin ekstrasellüler matrikste SM α -aktin pozitif miyofibroblastlarca aşırı kollajen ve fibronektin üretimi ve depolanması olduğu gösterilmiştir.(216) Yapılan çalışmalarda miyofibroblastlardaki SM α -aktin izoformlarının intraselüler gerimi artırıp ekstraselüler matriks ile ilişkiyi sıkılaştırarak yara dokusu matriksindeki matürasyona katkıda bulunduğu bildirilmiştir.(217) Fakat yara iyileşmesinde SM α -aktin izoformları yüzde yüz gerekli değildir. Genetik olarak SM α -aktin fibrilleri eksik olan farelerde yapılan çalışmalarda yara iyileşmesinin süre olarak uzamış da olsa tam olduğu izlenmiştir.(218) Buna sebep olarak da aktin fibrillerinin başka izoformlarının kompensatuar etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Miyofibroblastların normal akut yara iyileşmesindeki fonksiyonları geçici ve sınırlı iken hipertrofik skar, keloid ve yanık kontraktürü gibi patolojik skar oluşumu durumlarında tam tersi bir tablo çizmektedir. Miyofibroblastların yapı olarak anormal görünümde olduğu ve kalıcı fonksiyon sürdürmeleri, Dupuytren kontraktürü ve skleroderma gibi fibrotik cilt hastalıklarında ve diğer organlardan akciğer, karaciğer ve böbreğin fibrotik hastalıklarında olmak üzere açıkça gösterilmiştir.(186,204,219,220)

Granülasyon dokusunun erken aşamalarında fibroblastlara bakıldığında, artmış aktin-miyozin gerim fibrilleri ve daha çok fokal adhezyon yapısı gösterdiği

görülmektedir.(221,222) Bu hücreler tipik olarak proto-myofibroblast olarak adlandırılırlar ve SM α -aktin sentezleyemezler.(204) Miyofibroblastların bu diferansiasyon basamaklarına etki eden anahtar faktörler; TGF-Beta1 varlığı, ortamda yeterli mekanik kıvamin oluşması ve spesifik fibronektin izoformlarının bulunmasıdır.(207,215,223,224) Bunlara ek olarak inflamatuvar hücrelerin, diğer mekanik sinyallerin, ekstraselüler matriksin, profibrotik büyüme faktörünün ve TGF-Beta1 in miyofibroblast farklılaşması üzerindeki etkilerinin anlaşılması noktasına son yıllarda bir çok çalışma yayınlanmıştır. (24,186,204,208,220,225,226)

TGF-Beta1, hücrelerden LLC (large latent complex) halinde LAP (latency-associated peptide) ve LTBP-1 (latent TGF-Beta 1-binding protein) ile birlikte salınır.(227) LTBP-1, fibronektin ,vitronektin ve fibrillin gibi ekstraselüler matriks proteinlerine bağlanabilir ve ekstraselüler matriks içinde nerede isteniyorsa orada LLC ye bağlı biçimde latent TGF-Beta1 rezervini sağlar.

TGF-Beta1 birçok mekanizma ile LLC de ayrılabilir. Başlıca MMPs-9 ve serin proteaz plazmin ile LAP ve LTBP-1 den belirli peptit sekanslarını proteolize uğratarak TGF-Beta1 i serbestleştirirler. (227,228) Bu proteaz enzimler yara iyileşmesi sürecinde ortamda bulunan enzimlerdir.(229,230) TSP-1 ve LLC arasındaki etkileşim de TGF-Beta1 serbestlenmesi ve aktivasyonu yapmaktadır.(231) TSP-1, matriselüler proteinler sınıfında bir protein olup yapısal rolünden çok regülatör rolü vardır.(232)

İnaktif haldeki TGF-Beta1 in yapılan bazı çalışmalarda mekanik etkilerle de aktive hale geldiği gösterilmiştir.(233,234) Dermal skar çalışmalarındaki mekanik gerim uygulanması sonucu skar dokusu miktarının fazla olmasının altında bu mekanizmanın da etkisi vardır. Aşırı TGF-Beta1 aktivasyonu artmış fibrozise neden olmaktadır. Mekanik gerimin uygulandığı yara iyileşmesi gösteren dokularda myofibroblastların daha hızlı diferansiye olduğu, aksine gerimin düşürüldüğü granülasyon dokusu modellerinde ise SM α -aktin miktarında kayıp olduğu izlenmiştir.(235) TGF-Beta1 ayrıca granülasyon dokusundaki hücrelerden PDGF salınımını uyarır. PDGF, fibroblastlardan kollajen sentezini uyarır fibrozisi tetikler, myofibroblastlarda ise kontraksiyonu uyarır.(236)

2. 2. 3. Yeniden şekillenme-matürasyon evresi

Yara iyileşmesinin üçüncü ana fazı yeniden şekillenme (remodelling)-matürasyon fazıdır. Lezyon oluşumunun 2-3. haftasında başlar, yaklaşık bir yıl sürer. Yaklaşık olarak granülasyon dokusu gelişimi sonlandığında remodelling evresi başlamış olur. Remodelling fazı matürasyon ile karakterizedir. Matürasyonun ana amacı, ekstraselüler matriksteki yıkım, yeniden sentez ve reorganizasyon işlemleri ile iyileşme dokusunda maksimum tensil kuvvetine erişmektir. Mekanik gerim, TGF-Beta vb sitokinler yukarıda da anlatıldığı gibi fibroblastların myofibroblastlara farklılaşmasını ve yapılarından SM α -aktin üretilmesini uyararak yara dokusunda kontraktiliteye neden olurlar.(24) Yara iyileşme evreleri tamamlandığında da myofibroblastlar apoptoza giderler.(18) Bu evrede başlangıçta ekstraselüler matrikste hızlıca üretilmiş olan tip 3 kollajenin yerini gerim kuvveti daha fazla olan ama daha uzun sürede depolanan tip 1 kollajen alır. İnflamasyon evresinden itibaren ortamda oluşan ve proliferasyon evresinde granülasyon dokusu olarak şekillenen immatür matriks dokusu yıkılarak yerine daha aselüler ve avasküler olan matür bir matriks dokusu şekillendirilir.(26) Ortamdaki damar sayısı ve kan akımı miktarı giderek azalır. Bu matürasyon süresince ortamdaki hücreler ve matriks metalloproteinazlar tarafından yıkılan hyalüronik asit ve fibronektik asit miktarında azalma görülür. Eğer ciddi bir yaralanma olmuş ise ter bezi ve kıl folikülleri gibi deri eklentileri tamamen onarılamayabilir. Böyle bir hasar sonrası iyileşen derinin gerim kuvveti maksimum yüzde 80 civarında olabilmektedir.(25)

Endojen ve ekzojen birçok faktör yara iyileşmesi aşamalarına etki ederek sürecin gidişatına olumlu yada olumsuz katkıda bulunurlar. Daha spesifik bakacak olursak diyabet gibi sistemik hastalıklar, immünsüpresyon, venöz staz, kortikosteroid kullanımı, sigara içiciliği vs. yara iyileşmesini geciktirirler. Bu yara iyileşmesini komplike edici faktörler daha sonra hipertrofik skar yada keloid dokularının oluşumuna neden olabilmektedirler.

2. 3. Uygunuz Yara İyileşmesi (Aşırı Skar Oluşumu)

Deri bütünlüğünün bozulmasını takiben yara iyileşme süreçleri devreye girer. Çevresel ve genetik faktörler açısından olumsuz bir etken yok ise yara iyileşmesi doğal seyrinde seyreder. Ancak bazı komorbid durumlarda yara iyileşmesi olması gerekenden fazla olur. Aşırı kollajen depolanmasının neden olduğu aşırı skar dokusu üretimi ile karakterize durumlar ortaya çıkabilmektedir.(27,28) Bu durumlar hipertrofik skar ve keloid olarak adlandırılan farklı klinik ve histopatolojik özelliklerle seyreden tablolar olarak ortaya çıkabilmektedir. Özellikle keloidlere eşlik eden ağrı, hiperestezi ve inatçı kaşıntı durumları görülebilmektedir.(44)

2. 3. 1. Aşırı skar oluşumu etiyojisi

Bu patolojik dokuların oluşmasında birçok lokal, sistemik ve genetik faktör rol oynamaktadır. Ayrıca yapılan epidemiyolojik çalışmalarla da genelleme yapılabilecek faktörler ortaya koyulmuştur.

2. 3. 1. 1. Lokal faktörler

Bu faktörlere ayrıntılı bakacak olursak; yara yerinde enfeksiyon olması, kronik irritasyon, yara alanının kaşınması vb etkenlerle travmatize edilmesi, yanık yaraları, su çiçeği hastalığı cilt bulguları, yaranın yerleşim yeri gibi faktörler lokal etkenler arasında sayılabilir.(29)

Yaranın yerleşim yeri lokal etkenler arasındaki en önemli faktörlerdendir. Mekanik gerimin aşırı skarlaşma yönündeki etkisi açıkça bilinmektedir. Bu yüzden vücutta mekanik gerime fazlaca maruz kalınan yerlerde aşırı skarlaşma daha çok izlenmektedir.(31,32) Omuz, göğüs ön duvarı, kol, çene ve kulak gibi harekete ve gerime maruz kalan alanlar bu yerlere örnek verilebilir.(29,30) Keloidlerin yaygın yerleşim yerlerine baktığımızda kebek benzeri yada yengeç kısıkağı benzeri yerleşim ile omuzlarda halter benzeri yerleşim göstermesi cilt gerginliğinin bu bölgelerde fazla olması ile ilişkilidir.(34-39) Buna karşın keloidler gerimin az olduğu

skalp ve tibia ön yüzünde de nadir de olsa görülebilirler.(33) Alt ekstremitelerde daha az izlenmektedirler.

2. 3. 1. 2. Sistemik faktörler

Sistemik etkenlerden yaş aralığı önemli bir etkidir. Adölesan ve gebelik dönemi artmış skar formasyonu ile ilişkilidir.(40,41) Bu dönemlerdeki artmış östrojen ve androjenlerin yara alanında ve vücutta vazodilatasyona sebep olarak inflamasyonu arttırdığı düşünülmektedir. Adölesan döneme ve gebelik dönemine giren bireylerin mevcut eski skarlarında da artma izlenmiştir.(42) Yapılan çalışmalarda bir diğer sistemik faktör olarak hipertansiyonun keloid oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir. Artmış kan basıncının damar çeperlerine hasar verip geçirgenliği arttırması sonucu inflamasyonu arttırması yönünde etkide bulunduğu öne sürülmüştür.(43-48) Bir diğer etken de artmış sistemik inflamasyondur. Nadir görülen bir lenfoproliferatif hastalık olan Castleman hastalığında kontrolsüz artmış IL-6 vardır. Sistemik dolaşımında artmış halde bulunan inflamatuvar sitokinler bu kişilerin vücutlarında bulunan keloid dokularında büyümeye yol açmaktadır.(42) Geniş yanık alanları içeren hastalarda da artmış sistemik inflamatuvar yanıt vardır ve bu da kontrolsüz skarlaşmaya yatkınlık yaratır.

2. 3. 1. 3. Genetik faktörler

Artmış skarlaşma üzerinde genetik faktörlerin de etkisi vardır. Keloid öyküsü olan hastaların çoğunda bir aile öyküsü vardır.(237) Koyu ten rengi olanların açık ten renklilere kıyasla 15 kat daha fazla keloid oluşturduğu gösterilmiştir.(49) Albinolarda ise keloid/skar izlenmemiştir.(50) Bazı tek nükleotid gen mutasyonları (Kromozom 15q21.3 üzerindeki NEDD4 geni) durumunda klinik olarak şiddetli keloid tabloları izlenmiştir.(238-242) NEDD4 fibronektin ve tip 1 kollajen üretimini artırarak ekstraselüler matriks birikimini ve fibrosisi uyarır.(243) Tek nükleotid mutasyonlarından farklı olarak ailesel keloid yatkınlığına neden olan kromozom mutasyonları da gösterilmiştir. 2q23,7p11, ve 10q23.31 kromozom mutasyonları

Japon, Afrika-Amerikan ve Han Çin ailelerinde keloid oluşumundan sorumlu mutasyona uğramış kromozomlardır.(244,245)

Son zamanlarda yapılan çalışmalar çeşitli epigenetik mekanizmaların da keloid oluşumuna yatkınlık yarattığını göstermiştir.(246,247) Örneğin DNA'nın metilasyonu ile DNA'nın yapısını değiştirip hücrenin bölünme özelliklerini ve fenotipini değiştirmektedir.(248,249) Bir diğer epigenetik değişiklik ise non-coding RNA larca olup hücre fenotipinde değişikliğe neden olurlar.(250) Non-coding RNA lar protein translasyonunda bulunmayan RNAlardır. Bir çok alt tipi vardır; tRNAs, rRNAs, sRNAs (microRNAs) ve lncRNAs örnek verilebilir.(251) Protein translasyonu yapmazlar, gen ekspresyonunu regüle ederler. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda keloid dokusunda ve keloid fibroblastlarında, normal doku fibroblastlarına kıyasla farklı seviyelerde miRNA ve lncRNA bulunması non-codingRNA ların keloid patogenezinde yer aldığı düşüncesini kuvvetlendirmiştir.(252) DNA metilasyonunun fibroblast diferansiyasyonuna neden olup doku fibrozisini uyardığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.(220,253,254) Özel olarak DNMT(DNA metil transferaz)aracılı DNA metilasyonu miyofibroblast diferansiyasyonu esnasında SM α -aktin genini kontrol eder.(255) Yine bir diğer çalışmada DNA hipometilasyonunun artmış fibrozis ile ilişkisinde TGF-Beta1 reseptör ekspresyonunun artmasına sebep olduğu gösterilmiştir. Bu da skar formasyonu oluşumunda DNA metilasyonu kontrolünün önemli olduğunu göstermektedir.(256,257) Buradan yola çıkarak sadece gen mutasyon analizlerinin keloid oluşumunu açıklamada yetersiz kalması DNA metilasyonu gibi epigenetik mekanizmaların önemini ortaya koymaktadır.(258-260)

İlginç olarak son yıllardaki bazı çalışmalarda fibrozis ile ilişkili yolak olan TGF-Beta yolağı ile ilgili birçok gen tanımlanmıştır. Bunlar; TGF-Beta1,2,3; TGF-Beta1,2,3 reseptörleri, SMAD3, SMAD6, SMAD7, EGFR ve TNFAIP6dır.(261-266)

Bazı çalışmalarda bir takım HLA genlerinin belirgin olarak keloidler ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.(267-269) Bunlardan HLA-DRB1*15 , Çinli ve Kafkas etnik gruplarında HLA- keloid ilişkisinin en güçlü şekilde gözlemlendiği genidir.(267,268) Artmış keloid riski ile karakterizedir.HLA-DRB5 in yer aldığı

6p21.32 kromozomal bölgesi de keloid patogenezi ile belirgin şekilde ilişkili bulunmuştur.(269)

2. 3. 1. 4. Epidemiyolojik faktörler

Bazı çalışmalarda kadın cinsiyetin daha fazla keloid formasyonu gösterdiği ifade edilirken diğer çoğu araştırmada anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.(51) 2019 yılında Japonyada yapılan 1659 hastanın katıldığı geniş bir kohort çalışmasına göre kadın cinsiyet keloid gelişimi için risk faktörü olarak gösterilmiştir.(52) Ancak hem hipertrofik skar hem de keloid formasyonunun 11-30 yaş civarında daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Bunda genç yaşlarda ciltteki epidermal yenilenmenin yüksek hızda olmasıyla ilişkili artmış kollajen üretimi döngüsünün etkisi olduğu düşünülmektedir.(32) Genç yaşlardaki popülasyonda cilt gerginliği ve immün sistem daha aktif iken ilerleyen yaşlarda cilt elastikiyetinin artması ve immün sistemin aktifliğinin azalması da önemli bir etken olarak gösterilmektedir.(51)

2. 3. 2. Hipertrofik skar ve keloid

Hipertrofik skar ve keloid dokuları kendi içlerinde kıyaslandığında birçok yönden farklılık arz ettiğini görürüz. Bu ayırıcı tanıyı yapmak tedavilerinin de farklı olmaları nedeniyle zorunludur. Keloidleri diğer skar tiplerinden ayırmakta yardımcı olan belli başlı histolojik bulgular vardır. Keloid dokularının histopatolojik incelemelerinde normal skar dokularına kıyasla mast hücre miktarı artmıştır. Epidermis katmanında daha fazla keratinosit vardır. Bu nedenle görece daha kalın bir epidermise sahiptirler. Normal dermal dokuda iki tabakadan oluşan bir dermis vardır. Bunlar papiller dermis ve retiküler dermisdir. Ancak keloid dokularında bu iki yapı belirgin izlenmez, ayırımı yapılamaz. Keloid dokularında kollajen dizilimi düzensizdir. Hipertrofik skar ve normal skar paterninde ise paralel bir şekilde düzenli seyrettiğini görürüz. Keloid dokusunda normal cilt dokusuna kıyasla tip 1/tip 3 kollajen oranı aşırı artmıştır. Ancak normal cilt dokusuna kıyasla her iki kollajen tipinin miktarı da oldukça fazladır.(53) Keloid dokusunda multiple yoğun eosinofilik

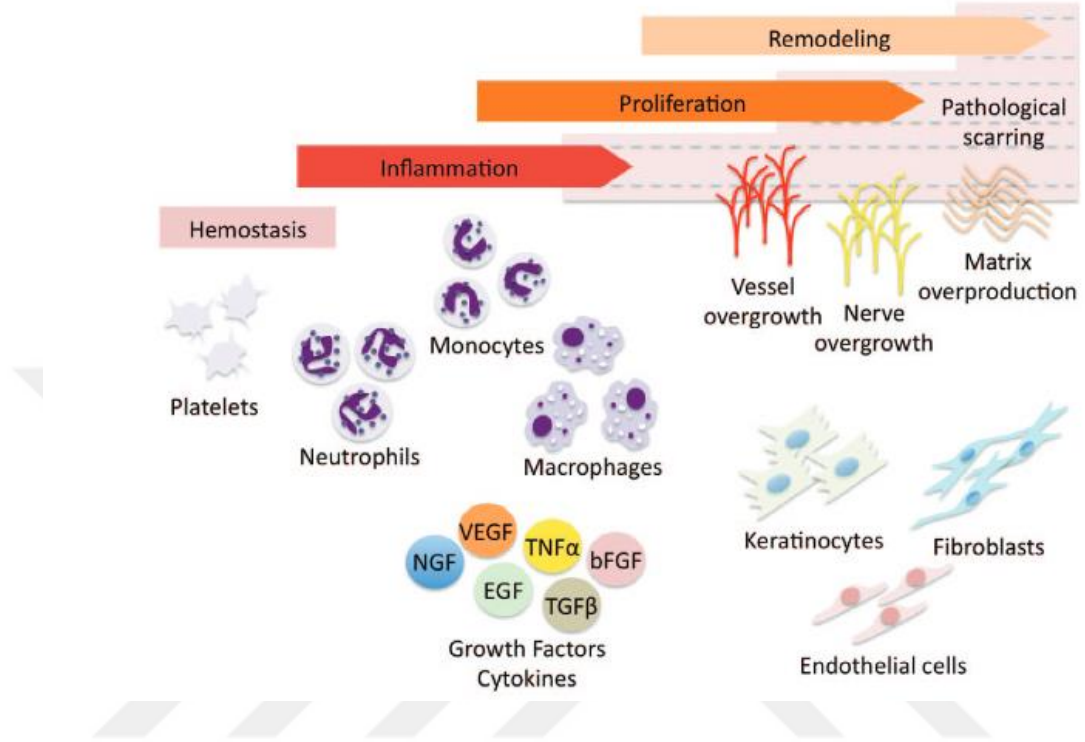
(hyalinizan) kollajenler içeren dermal nodüller vardır. Hipertrofik skarda bu hyalinizan yoğunluk içeren dermal nodüller görülmez.(270)

Hipertrofik skara baktığımızda daha düz ve ince bir epidermis görürüz. Normal cilt dokusuna kıyasla artmış miktarda olan kollajen fibrilleri dermiste paralel düzende dizilidir. Kan damarları vertikal olarak yer alır. Papiller ve retiküler dermal skar hattı seçilebilir şekilde oluşmuştur. (54) Keloid dokusuna kıyasla kollajen miktarı daha iyi ve daha düzgün dizilimde olmasının yanında tip 1 kollajene kıyasla tip 3 kollajen miktarı daha fazladır. Keloidlerden farklı olarak hipertrofik skar dokusunda myofibroblastlar ve SM α -aktin fibrilleri yer almaktadır.(55)

Keloid ve hipertrofik skar dokularının her ikisinde de kalın bir skar dokusunun yanında artmış selülarite ve kollajen miktarı vardır.(53) Keloid dokusu bir travmadan sonra oluşabileceği gibi kulak memesi, omuzlar, göğüs duvarı, sırt, yanaklar ve dizlerde de spontan olarak oluşabilir. Koyu ten renkli insanlarda daha sık görülmektedir. Ağrılı ve inatçı kaşıntı ile seyredebilirler. Genellikle travmadan 3 ay kadar sonra ortaya çıkarak gerileme olmaksızın büyüme eğilimi gösterirler. Yara sınırını aşarlar.(56,57) Eksizyon ile tedavi sonrasında yüksek oranda nüks gelişir. Hipertrofik skarlara göre tedavisi daha zordur.(55)

Hipertrofik skarların görülme insidansları keloidlerden daha fazladır. Orjinal yara sınırlarını aşmazlar.(56,57) Keloidlerde olduğu gibi bir genetik alt yapı yoktur. Bütün cilt tiplerinde görülebilir. Sıklıkla gerimin artmış olduğu ekstensör yüzeylerde görülürler. Travma sonrası birinci ayda görülmeye başlarken 6 ay sonra gerilemeye başlarlar. Eğer eksizyon ile tedavi yapılırsa rekürrens oranları keloidlere oranla düşüktür. Tedaviye cevapları keloidlere kıyasla daha iyidir.(55)

2. 4. İnflamasyon ve Aşırı Skarlaşma İlişkisi



Şekil 1: Uygunsuz sitokin salınımı sonucu yara yerinde uzamış ve güçlü bir inflamasyon olması yara iyileşmesinde gecikmeyle birlikte patolojik skarlaşmaya yol açar. [Huang C, Murphy GF, Akaishi S, Ogawa R. Keloids and hypertrophic scars: update and future directions. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2013;1(4):e25](59)

Normal yara iyileşmesinde inflamatuvar faz, proliferatif faz ve remodelling (matürasyon) fazı şeklinde 3 aşama vardır. Skar oluşumuna etki eden en önemli aşama inflamatuvar faz aşamasıdır. Bu aşamada skar oluşumunda etkisi büyük olan IL-6, IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinler ortamda bulunurlar. Bu proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin üretimindeki değişiklikler artmış keloid ve hipertrofik skar insidansı ile ilişkilidir.(58) IL-10, bir skar modülatörü olarak çalışmaktadır. Yapılan deneysel bir çalışmada IL-10 ürettiren adenoviral vektör ile tedavi edilen erişkin sıçanlarda inflamasyonun ve skar oluşumunun azaldığı görülmüştür. (271) IL-10 üretemeyen transgenik fare embriyolarında yapılan çalışmalarda erişkindeki gibi skar dokusu oluşumu izlenmiştir.(272) Normal fetal yara iyileşmesinde skar dokusu izlenmemektedir.(273)

Normal de erişkinde yara oluşumunu takiben ilk 72 saatte ortamdaki IL-6 ve IL-8 miktarı maksimum seviyeye çıkarken fetal yara dokusunda 12. Saatte ortamdan kaybolurlar.(274,275) Bu sayede proinflamatuvar sitokinlere maruziyet azaltıldığından fetal yara iyileşmesi skarsız bir şekilde sonuçlanır.

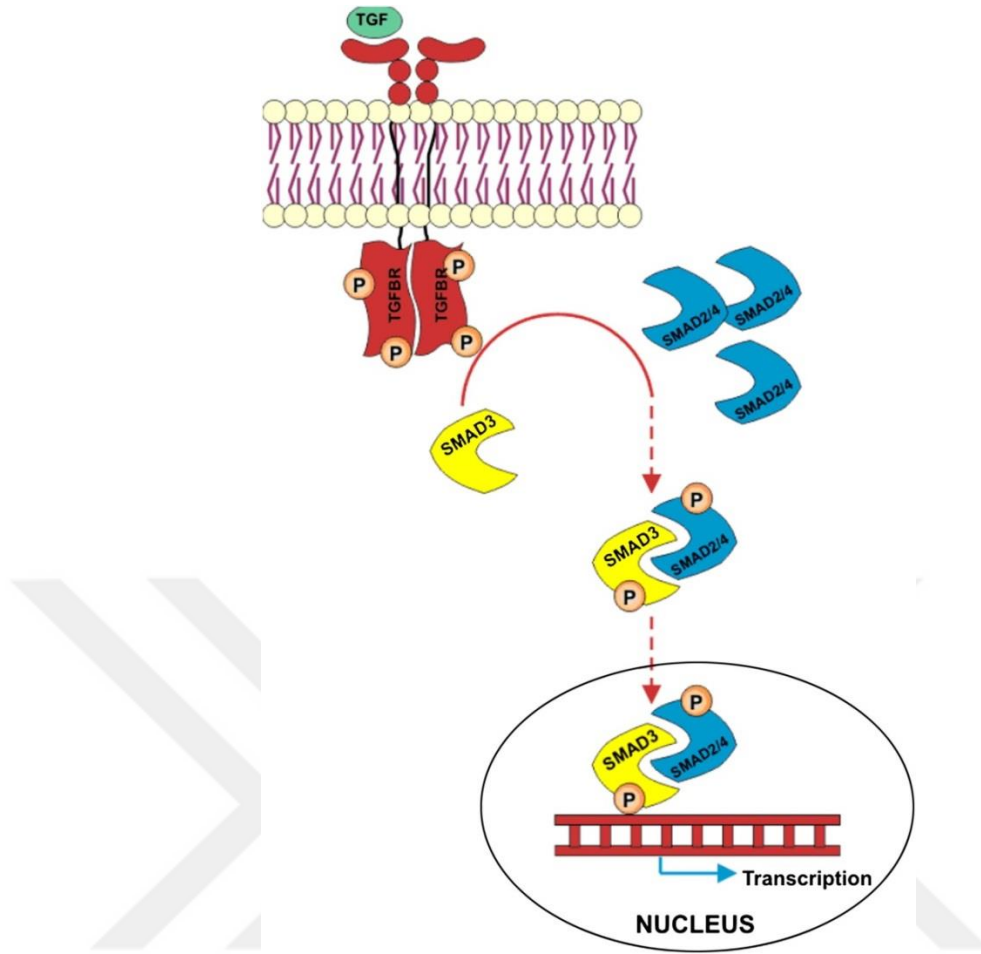
2. 4. 1. TGF-Beta yolu

İyileşmenin proliferatif fazında ise ortama gelen makrofajlar TGF-Beta gibi fibroblastlardan kollajen üretimi yaptıran büyüme faktörleri ve sitokinler salgırlar. TGF-Beta 20 yılı aşkın bilinen bir sitokin olup hipertrofik skar ve keloid oluşumunda önemli rolü oynadığı bilinmektedir.(60-63) Bilinen 3 farklı izoformu vardır. TGF-Beta1 ve TGF-Beta2 fibroblast aktivasyonu yaparlar, fibrozis ve aşırı skar dokusu oluşumunda etkilidirler.(276) TGF-Beta3 ise bir reseptör antagonisti olarak çalışır.(277,278) Fibroblast aktivitesini düşürür. TGF-Beta1 ve 2'nin artmış ekspresyonu ile birlikte TGF-Beta3'ün azalmış ekspresyonu artmış ekstraselüler matriks madde üretimi ve kollajen birikimi ile anormal skarlaşmaya yol açar. Bu anormal kollajen birikimi hipertrofik skarlarda 3 kata kadar olur iken keloidlerde 20 kata kadar olmakta ve geniş kabarık skar görünümüne neden olmaktadır.

Yapılan bir çalışmada TGF-Beta1, 2 ,3 ve TGF-Beta1, 2, 3 reseptörlerinin hipertrofik skar ve keloid dokularındaki varlıkları incelenmiş. Sonuç olarak TGF-Beta3 miktarının keloid dokusunda, hipertrofik skar ve normal cilt dokusuna kıyasla istatistiki olarak anlamlı farklı şekilde düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca TGF-Beta1 reseptör/TGF-Beta2 reseptör oranının artmış olduğu durumların keloid yatkınlığına neden olduğu gösterilmiştir.(279) TGF-Beta1 ve TGF-Beta2 proteinlerinin keloid fibroblastlarından oluşan kültürlerde normal insan cilt fibroblastlarından oluşan kültürlerle kıyasla oldukça fazla olduğu görülmüştür. (64) Yine TGF-Beta1, 2, 3 ve reseptörlerinin dağılımlarının bozulmuş yara iyileşmesi olan dokularda ve yanık skar dokularındaki miktarları da incelenmiş anlamlı farklılıklar ortaya koyulmuştur.(280,281) Hipertrofik skar ve keloid dokularındaki immünohistolojik çalışmalar TGF-Beta1 miktarının inflamasyonun erken evrelerinde oldukça fazla olduğunu göstermektedir.(282). TGF-Beta1 ve 2 miktarının erken evrelerde

azaltılabilmesinin keloid ve hipertrofik skar oluşumunu önleyeceği düşünülmektedir. Buna yönelik yapılan çalışmalarda nötralizan TGF-Beta1 ve 2 antikoları kullanılan sıçan yara modellerinde skar oluşumunun azaldığı gösterilmiştir.(283) Fetal yara iyileşmesi açısından bakıldığında hasar alanındaki TGF-Beta1 ve 2 miktarı erişkinin göre oldukça az olup neredeyse değişmezken, TGF-Beta3 miktarı artmıştır.(284,285) Eksojen olarak TGF-Beta3 verilen erişkin sıçan yara modellerinde skar oluşumunun azaldığı görülmüştür.(286)

TGF-Beta1 ve 2 etkilerini dimerik yapıdaki TGF-Beta reseptör komplekslerine bağlanarak gösterir. Bağlanma sonrası aktivasyon ile bu reseptör kompleksi tarafından SMAD4 ün dimer alt birimleri olan SMAD2 ve SMAD3 fosforile edilir. Fosforile olmuş agregre hale gelen bu dimerik SMAD4 molekülü nükleusa transloke olup transkripsiyon faktörü olarak çalışır. TGF-Beta1 ve 2 bu reseptör kompleksini aktive edip sinyal kaskadını başlatırken, TGF-Beta3 ise bir reseptör antagonisti olarak çalışarak sinyal iletimini bloke eder.(277,278) Hipertrofik skar ve keloid dokularındaki fibroblastlar TGF-Beta sinyal yolağındaki proteinleri devamlı olarak normalin çok üzerinde üretirler.(60-64) SMAD3 molekülünü transkripte edemeyen transgenik farelerde yapılan çalışmalarda yara iyileşmesinin azalmış skar dokusuyla birlikte iyiye gittiği görülmüştür.(287) Yine son yapılan çalışmalarda skar odaklı yara iyileşmesindeki TGF-Beta1 uyarı mekanizmasının Wnt/beta-katenin yolağı üzerinden çalıştığı gösterilmiştir. Beta-katenin üretemeyen transgenik farelerin yara modellerine eksojen TGF-Beta1 verilğinde minimal skar oluşumu izlenmiştir.(65) SMAD3 üretemeyen transgenik farelerdeki yapısal olarak üretilen beta-katenin molekülünün aktif hali yalnızca SMAD3 eksikliği olan hayvanlarda skarsız iyileşmeye neden olur. Buradan yola çıkarak TGF-Beta1 in SMAD3 ü indükleyip protein transkripsiyonu yaptırdığını ve bu proteinlerin de Wnt yolağını aktive ederek skar oluşumunu uyardığını biliyoruz.

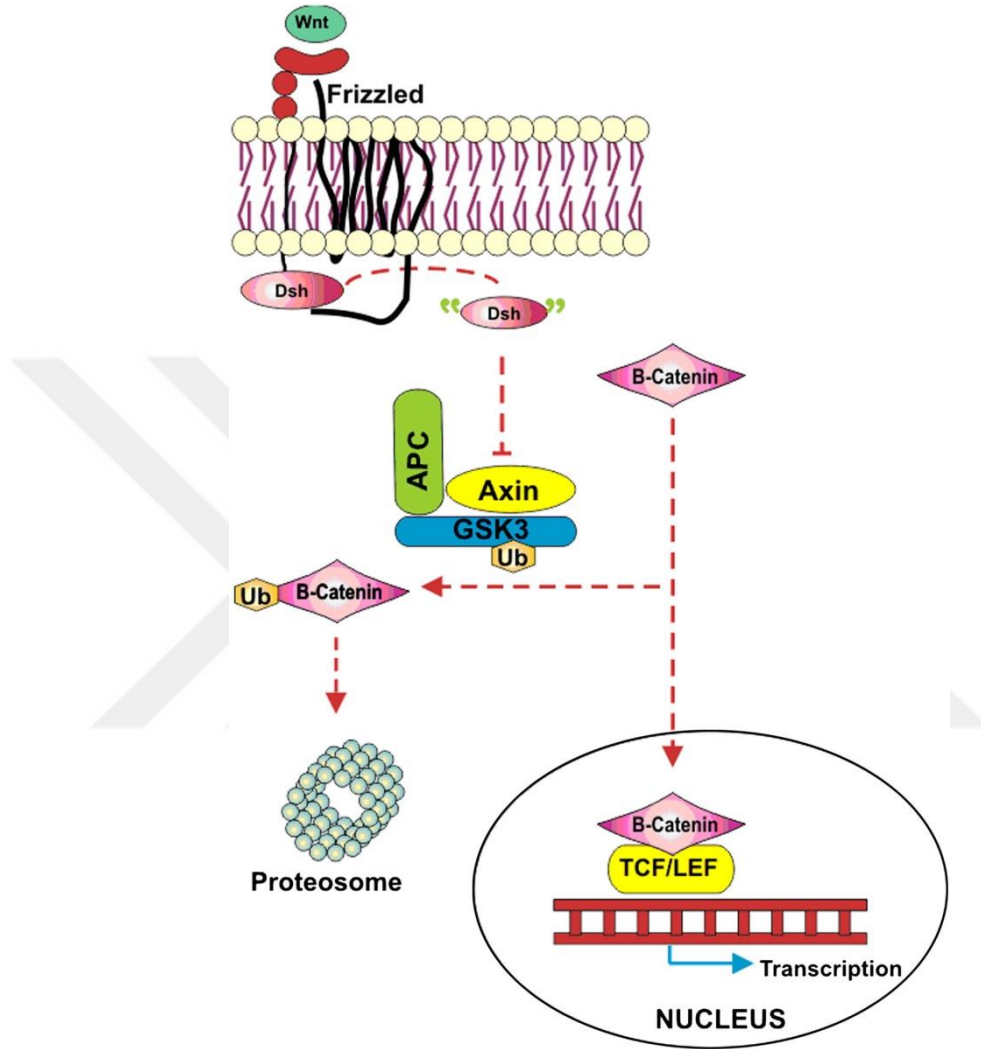


Şekil 2: TGF-Beta Sinyal Yolağı. (75) [Profyris C, Tziotzios C, Do Vale I. Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics Part I. The molecular basis of scar formation. J Am Acad Dermatol. 2012 Jan;66(1):1-10; quiz 11-2.]

2. 4. 2. Wnt/Beta-Katenin yolağı

Wnt yolağının aberran uyarımı nedeniyle agresif fibromatosiz, desmoid tümörler ve aşırı skarlı iyileşme cevabı oluşabilmektedir.(66) Hipertrofik skar ve keloid problemi olan kişilerde de bu Wnt sinyal yolağının aşırı çalışması sorununu görmekteyiz.(67) Wnt yolağının devamlı aktivasyon halinde olduğu transgenik farelerde yapılan kutanöz yara modeli çalışmalarında hipertrofik skar ve keloid oluşumuna aşırı yatkınlık izlenmiştir.(68) Beta-katenin geninde delesyon olan fareler

ve diğer hayvanların daha az skar formasyonu gösterdiği ve granülasyon dokularında daha az fibroblast görüldüğü bildirilmiştir.(65)



Şekil 3: Wnt/beta katenin sinyal yolağı. Wnt yedi-transmembran bölge içeren reseptöre bağlanarak Dsh'yi aktive eder. Aktive olan Dsh; axin, GSK3 ve APC'den oluşan 3'lü ubiquine edici kompleksi inhibe eder. Ve Azalmış ubiquinasyon sonucu beta-kateninin proteazomlarda yıkımı azalır. Böylece ortamda artan beta-katenin nükleusa transloke olur ve transkripsiyon faktörleri olan T-hücre faktörü (TCF) ve lenfoid çoğaltıcı faktör (LEF) ile birlikte transkripsiyonu uyarır.(75) [Profyris C, Tziotzios C, Do Vale I. Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics Part I. The molecular basis of scar formation. J Am Acad Dermatol. 2012 Jan;66(1):1-10; quiz 11-2.]

2. 4. 3. Homebox (hox) b13 yolağı

Aşırı skarlaşma mekanizmasında etkili olan bir diğer molekül ise Homebox (hox) b13 tür. Skarsız iyileşen fetus yara dokularında hoxb13 molekülüne rastlanmamıştır. Bunun aksine erişkin yara dokularında oldukça fazla bulunmaktadır.(69) Bu fetal yara iyileşmesi modelini tekrar etmek için hoxb13 üretemeyen transgenik farelerde çalışmalar yapılmıştır. Yara iyileşmesinin oldukça hızlı artmış yara gerimi ve azalmış skar dokusu ile seyrettiği görülmüştür. Bu hayvanların skar alanları histolojik olarak incelendiğinde sanki yaralanma geçirmemiş bir dermis gibi sağlam cilt benzeri kollajen dizilimi gösterdiği rapor edilmiştir. Buradan yola çıkarak hoxb13 transkripsiyonunun durdurulmasının rejeneratif iyileşmeyi aktive edeceği söylenebilir.(70)

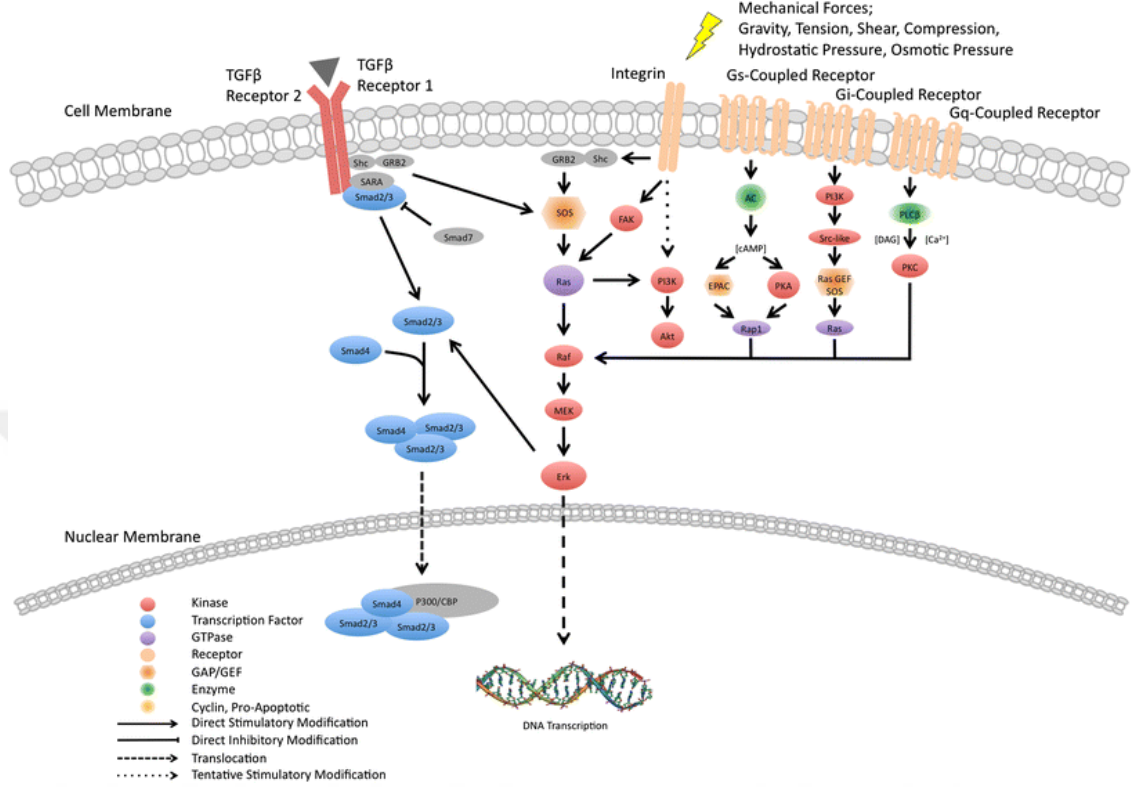
2. 4. 4. EGR-1 molekülü

Aşırı skarlaşma mekanizmasında etkili olan bir diğer molekül de EGR-1 dir. Çinko-parmak tipi transkripsiyon faktörlerindedir. Cilt hasarlarında fibroblastlardaki konsantrasyonları akut olarak artar.(71) Aşırı EGR-1 üretimi olan fare embriyolarından yapılan eksizyonel yara örneklerinde artmış kollajen depolanması ve yara kontraksiyonu izlenmiştir. Çünkü EGR-1, TGF-Beta1 ve PDGF'nin salınımını artırır ve fibroplazi yönünde etkide bulunur.(72)

2. 4. 5. PDGF molekülü

PDGF, makrofajlar tarafından yara iyileşmesinin proliferatif fazında salınırlar. Birçok izoformu vardır. Dimerik transmembran tirozin kinaz reseptörleri üzerinden sinyal gönderir. Fibroblastları uyararak tip 3 kollajen ürettirirler, osteopontinin ekzositozunu sağlarlar. Hipertrofik skar ve keloid durumlarında PDGF ve reseptörleri aşırı miktarda üretilmektedir.(73,74)

2. 4. 6. Mekanosinyal yolağı



Şekil 4: Dermal skarlaşmadaki ana mekanosinyal yolları.

Mekanik uyarılara cevap oluşturmada ana mekanosinyal yolları; TGF-Beta/SMAD, fokal adhezyon/integrin ve kalsiyum iyon sinyal yollarıdır. TGF-Beta sinyalleri SMADlar üzerinden ilerler. Reseptörler aktive olduktan sonra SMAD2/3 kompleksi SMAD4 ile birlikte nükleusa ilerleyerek DNA da bağlandıkları hedef gen bölgesinde aktivasyonu başlatırlar. Integrin sinyalleri peşi sıra olarak gen ekspresyonunu sağlayan Ras ve PI3K moleküllerini aktive eder. Ras-ERK-MAPK kaskadının aktivasyonu Shc ve FAK moleküllerine bağlıdır. Kalsiyum iyon geçirgen kanallar GPCR (G-protein coupled receptors) yada RTK (reseptör tirozin kinaz)lar ile birlikte hareket ederek hücre içinde PKC, PLCβ-IP3, PLCγ-DAG moleküllerini ve onların ardından gelecek olan Ras/Raf/Erk yolaklarını aktive ederek harekete geçirirler.(77) [Huang C, Akaiishi S, Ogawa R. Mechanosignaling pathways in cutaneous scarring Arch Dermatol Res (2012) 304: 589.]

Ciltte skar oluşumunda etkisi olduğu bilinen bir diğer yol ise mekanik uyarılar ile ilişkili olan mekanosinyal yollarıdır. Bu sinyal yolağının cevaplılığı üzerinde TGF-Beta/SMAD, fokal adhezyon/integrin ve kalsiyum iyon sinyallerinin etkisi gösterilmiştir. MAPK/G protein, Wnt/Beta-katenin, TNF-alfa/NF-κB ve interlökin yolları da yine mekanosinyal cevaplılığı üzerinde etkilidir.

2. 4. 6. 1. TGF-Beta'nın rolü

Myofibroblastlarca oluşturulmuş ekstraselüler matrikste stress fibrillerinde mekanik bir gerim olduğunda latent halde olan TGF-Beta1 in hemen aktive olduğu görülmüştür. Bu ekstraselüler matriksteki kontraksiyon ilişkili TGF-Beta1 aktivasyonunun gerçekleşmesi için üç ana element vardır. Bunlar; yüksek kontraktıl aktivite sağlayan SM α -aktin pozitif stress fibrilleri varlığı, integrinler vasıtası ile stressin LAP-TGF-Beta1'e taşınması ve LLC'in mekanorezistan ekstraselüler matrikse integre olmasıdır.(234)

TGF-Beta sinyal yolağının diğer yollarla da çapraz ilişkisi vardır. İntegrin α 2 β 1 yolu buna örnektir. TGF-Beta1 indüklü SM α -aktin regülasyonunda ve hücre içi gerimi yönetmede ana rolü oynar.(288) Dermal miyofibroblastların TGF-Beta1 aracılı farklılaşmasında integrin bağımlı kinazlar gereklidir.(289) Mekanik etkilerle ortamda artmış TGF-Beta, Wnt/beta-katenin yolağını da aktive eder.(67) , JNK ve p38 MAPK yollarını da aktive eder.(290)

2. 4. 6. 2. İntegrinlerin rolü

İntegrinler bir uçları hücre memranında diğer uçları da ekstraselüler matrikste olan bir taraflarıyla da hücre iskeletine bağlı olan ve adeta bir mekanoreseptör gibi çalışan yapılardır. (76) En az 24 heterodimerden oluşmakta olan α ve β alt birimlerinden oluşur. Fibroblast proliferasyonuna, kollajen kontraksiyonuna ve miyofibroblast farklılaşmasına katılan 3 ana integrin alt tipi vardır: α 1 β 1, α 2 β 1, α 11 β 1.(291-293) Mekanik gerim olduğunda bunu hücre içine ve iskeletine ileterek fibroblastları farklılaştırır, kollajen üretimini tetikler. Spesifik

integrin alt tiplerine karşı antikör kullanılarak yapılan çalışmalarda mekanik gerimin reseptör cevapsızlığı nedeniyle yeterince iletilememesinden ötürü azalmış kontraktilite ve azalmış tip 1 kollajen birikimi izlenmiştir.(292,294) İntegrinler hücre iskeleti üzerinden gerim iletimi haricinde başka yollarla da çalışırlar. Gerim kuvveti uygulandığında stress altındaki bölgelerdeki fibroblastlarda integrinlerce RhoA aktivasyonu olur. Böylece aktin fibrili ile Rho-ROCK-LIMK-coifilin yolağı modüle edilir.(295) Yine dermal fibroblastlardaki p38 aktivasyonu integrin $\beta 1$ e bağlıdır.(296) İntegrin $\beta 1$ ayrıca insan keratinosit hücrelerindeki mekano-bağımlı ERK1/2 aktivasyonunda yer alırlar.(297) Anti-İntegrin $\beta 1$ antikörleri ile preinkübasyon uygulanmış dermal fibroblastlarda siklik-gerim döngüsü kaynaklı FAK, Rho ve p38/MAPK aktivasyonu ortadan kalkar.(296)

2. 4. 6. 3. Kalsiyum iyonunun rolü

Bir diğer mekanik uyaran yoluyla salınıp hücre içinde fibrotik süreçleri tetikleyen molekül ise kalsiyum iyonudur. Mekanik güçler sonucu çalışan birçok yolağın kalsiyum hücre içine girişi ile ilişkisi vardır. Kalsiyum iyon geçirgen kanallara baktığımızda; voltaj kapılı yada gerimle aktive edilmiş; GPCR yada reseptör tirozin kinazlar ile birlikte hareket ederler. Böylece hücre içinde PKC, PLC β -IP3, PLC γ -DAG moleküllerini ve onların ardından gelecek olan Ras/Raf/Erk yollarını aktive ederek harekete geçirirler. (298-301)

Kalsiyum iyonları mekanik uyarıya cevap olarak farklı hücre tiplerinde görev alırlar. Uygulanan hidrolik basınç, hipotonik stres ve kaşıma sonrasında fibroblastlarda ve keratinositlerde, artmış intraselüler kalsiyum iyonu miktarı izlenir.(302-304) Eksternal hidrolik basınç uygulama sonrası keratinositlerdeki kalsiyum iyon yayılımı fibroblastlardan daha uzun sürer. Seçici olmayan geçici kalsiyum kanal blokerleri kullanılarak yapılan çalışmalarda keratinositlerin eksternal basınca karşı daha sensitif olduğu gösterilmiştir.(303) Ayrıca kalsiyum iyonunun miyofibroblastlarda hücreler arası iletişimde yer aldığı düşünülmektedir. Bir miyofibroblastta hücre içi kalsiyum iyon miktarı artıp hücre kontraksiyonu olduğunda bunu bitişik kanallar aracılığıyla komşu hücrelere iletir. Bu da komşu

hücre içine kalsiyum iyon akışına neden olur. Bu şekilde myofibroblast kontraktıl aktivitesi senkronize hale gelir ve tüm bağ dokuda remodellingi kolaylaştırır.(305)

Kalsiyum iyonu sadece G-protein, PKC, IP3 ve MAPK ile yakından ilişkili değildir. Aynı zamanda integrin ve hücre iskeleti ile de yakından ilişkilidir. Mekanik uyarının transdüksiyonunda integrinlerin kanallara bağlanıp kalsiyum iyonlarının hücre içine akışını sağladığı ve hücre iskeletinin uyarılmasında rolü olduğu görülür.(306) Bununla birlikte integrinlerin hücre iskeletine bağlanması için de intraselüler kalsiyum iyonu gereklidir. Buradan çıkan sonuç intraselüler kalsiyum iyonu hem integrin bağımlı dışarıdan içeriye hem de içeriden dışarıya sinyal yollarında görev almaktadır.(307)

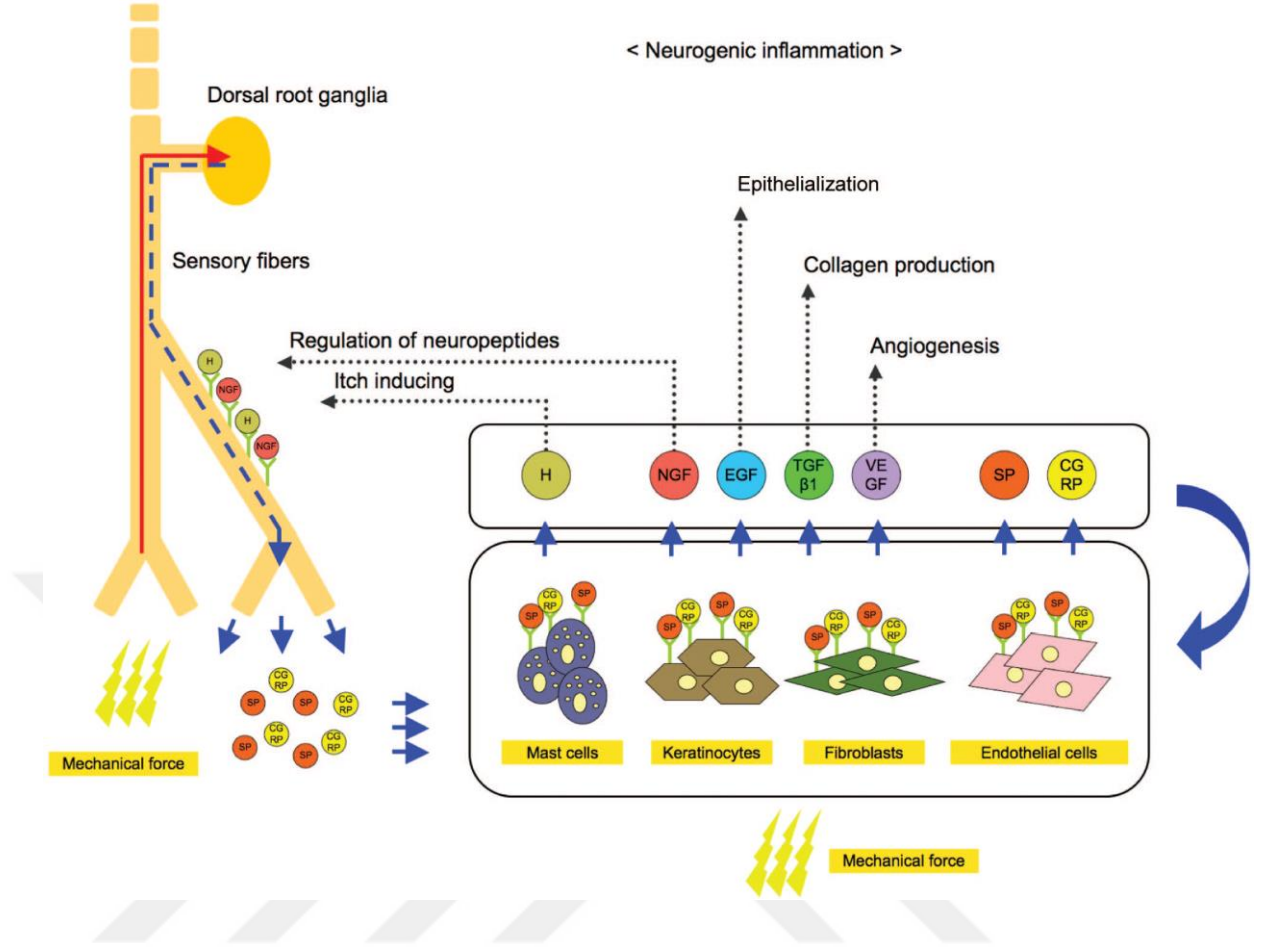
Hücre içi aktin stress fibrillerinin aktivasyonu için gerekli olan yeterli intraselüler kalsiyum miktarı gerimle aktive olan kalsiyum kanallarınca sağlanır.(299,308) Hücre iskeleti ve kalsiyum iyon sinyal mekanizması arasındaki bu yakın koordinasyon durumu, hücrelerin kendilerine zarar verecek potansiyel fiziksel güçlere karşı dengelerini sürdürebilmeleri için bir refleks hücre koruyucu sistemleri olduğunu düşündürmektedir.(309)

2. 5. Nörojenik İnflamasyon

Hücre sel boyuttan çıkıp bakış penceresimizi daha da genişletip doku seviyesinden baktığımızda deride adeta bir mekanoreseptör gibi davranan sensöriyal sinir liflerini görürüz.(310) Ciltteki duyu sinirleri nörofizyolojik karakterlerine göre düşük eşik değerli (low-threshold) mekanoreseptörler, termoreseptörler ve nosiseptörler şeklinde gruplara ayrılmışlardır.(311) Büyük myelinli Aβ lifleri düşük eşik değerli mekanoreseptörlerin enkapsüle sinir sonlanmalarıyla (Ruffini, Meissner, Krause ve Vater-Pacini korpüskülleri) direkt bağlantılıdır. Nosiseptörler ise yüksek eşik değerli myelinsiz C lifleri ve hafif myelinli Aδ lifleri aracılığıyla ana olarak ağrı duyusunu taşırlar.(312,313) Ciltteki nosiseptif sinir uçlarının (nosiseptörler) aktive edilmesiyle aksiyon potansiyeli oluşur ve spinal korda iletilir. Bu nosiseptif duyu bilgisi işlendikten sonra santral sinir sisteminde ağrı yada kaşıntı şeklinde algılanır.

Myelinsiz C lifleri ve hafif myelinli A δ lifleri ayrıca termoreseptör olarak da görev alırlar.

A β ve A α liflerinin aksine nosiseptif C ve A δ lifleri polimodaldırlar. Yani mekanik uyarılar gibi geniş bir stimülasyon aralığına cevap verebilirler.(311,312) Oluşmuş olan aksiyon potansiyeli, iletim yönünün aksine primer afferent nöronların dallanma noktalarından tekrar periferine doğru retrograt arborizasyon (ağaç gibi dallanma) şeklinde antidromik uyarı oluşturular. Bu durum akson refleksi olarak adlandırılmaktadır.(84-86) Bu akson refleksi mekanizmasıyla C ve A δ liflerinin serbest sinir uçlarından nöropeptitler ortama salınır ve inflamatuvar cevap (nörojenik inflamasyon) oluşturular.(34,87-91) Ciltteki afferent sinir liflerinin potansiyel olarak bir efferent fonksiyon göstermesi ilk olarak 1901 yılında Bayliss tarafından tarif edilmiştir.(314) Bayliss dorsal kök gangliyonlarına antidromik (anterograt) elektrik stimülasyonu uygulamasının ardından ciltte vazodilatasyon gözlemiştir. Bu efferent fonksiyon durumundan çeşitli nöropeptidlerin sorumlu olduğu belirlenmiştir.(315-317)



Şekil 5: Ciltte mekanik gerim sonrası nörojenik inflamasyon oluşumu ve etkileri.

Cilde gerim uygulanması sonucunda akson refleksi ile dallama noktasından antidromik uyarı ile serbest sinir uçlarından nöropeptid salınımı olur. Böylelikle mekanosensitif nosiseptörlerin yanında ciltteki diğer yardımcı hücreler de stimule edilir. Birçok büyüme faktörü ve kimyasal mediyatör bu nörolojik inflamasyon olayında yer almaktadır. (98) [Chin MS, Lancerotto L, Helm DL, Dastouri P, Prsa MJ, Ottensmeyer M, Akaishi S, Orgill DP, Ogawa R. Analysis of neuropeptides in stretched skin. *Plast Reconstr Surg* 2009; 124: 102–13.]

Dış ortamdan gelen mekanik uyarılar mekanosensitif nosiseptörler aracılığıyla alınır. Bu sinyaller afferent spinal sinir hücre gövdelerinin yer aldığı dorsal kök ganglionlarına iletilirler. Bu iletim deri ile komşu epidermal ve dermal hücreleri innerve eden primer afferent duyu sinirlerinin periferel sinir uçlarından akson refleksi ile nöropeptid salınımına neden olur. Salınan bu nöropeptidler direkt olarak keratinositlerin, fibroblastların, langerhans hücrelerinin, mast hücrelerinin,

dermal mikrovasküler endotelial hücrelerin ve infiltratif immün sistem hücrelerinin fonksiyonlarını modüle ederler.(94-96) Substans P, CGRP, nörokinin A, VIP ve somatostatin başlıca sayılabilecek nöropeptidlerden olup; hücre proliferasyonu, sitokin üretimi, antijen sunumu, duyu sinir iletimi, mast hücre degradesyonu, vazodilatasyon ve artmış vasküler geçirgenlikten fizyolojik yada patolojik olarak sorumludurlar.(92,93) Endotelial hücrelerde ve düz kas hücrelerinde kapiller sızmaya ve vazodilatasyona sebep olurlar. Mast hücrelerinden ve diğer lökosit alt grubu hücrelerden de histamin ve çeşitli inflamatuvar mediatörler salgılatırlar. Bu proinflamatuvar cevap 'Nörojenik İnflamasyon' olarak adlandırılır.(78-83)

Derinin bütün katmanlarında ağ şeklinde yayılmış olarak bulunan otonom ve duyu sinirlerinden çeşitli nöropeptitlerin salınımıyla farklı hücreler ve deri katmanları arasındaki iletişim de sağlanır. Hemen her deri hücresinde sinirlerden gelecek olan uyarıları alacak nöropeptid reseptörleri vardır. Özellikle immunolojik yanıtta bu reseptörler önemlidir. Substans P, NK1R (nörokinin 1 reseptör) üzerinden etki ederken, CGRP ise CGRP1 reseptörü üzerinden etki eder.(318,319) Bu reseptörler NGF'nin regülasyonu altında sentezlenirler.(320-323) Aynı zamanda deri hücrelerinden üretilip sinir hücrelerin uyarıcı nöropeptitler ve nörotrofinler de bulunmaktadır. Bu karşılıklı uyarımlar inflamatuvar cevabı yönetmede iki yönlü (bidirectional) bir pozitif feedback ortaya koyarlar.(311,324-327) Bazı cilt hastalıklarında peptiderjik sinir liflerinden aşırı salınan nöropeptitlerce oluşturulan kronik inflamasyon patofizyolojik olarak altta yatan sebeptir.(324) İleride bahsedeceğimiz psikokutanöz hastalıklar bu tablolara örnektir.

Nörojenik inflamasyon mekanik stresin neden olduğu bir inflamasyon tipidir. Serbest sinir sonlanmalarından salınan nöropeptidlerin neden olduğu kutanöz antidromik vazodilatasyon ve plazma ekstrasvazasyonu ile karakterizedir.(84) Nörojenik inflamasyonun duyu liflerinin antidromik stimülasyonu ile oluştuğu yaklaşık 40 yıl önce kanıtlanmıştır.(328) Nöropeptitlerin deride yol açtıkları inflamasyonun bulguları olarak eritem, ödem, ısı artışı ve kaşıntı gözlenmiştir.(81,329) Bu fenomen keloid ve hipertrofik skar ile birliktelik gösterebilmektedir. Myelinsiz ve hafif myelinli aksonlardan (C ve Aδ lifleri) oluşan mekanosensitif nosiseptörler cilde gerim uygulandığında uyarılırlar.(330) Yapılan bir

çalışmada gerim uygulanan deri dokusunda anlamlı miktarda nöropeptid (SubstansP, CGRP vs.) artışı saptanmıştır.(98) Nörojenik inflamasyonun proliferatif skar oluşumu fizyopatogenezinde rol aldığı gösterilmiştir.(34,87,88,99) İnflamatuar etkilerinin yanında nöropeptitlerin direkt fibrinojenik etkileri de vardır.(81,331-333) Yapılan bazı çalışmalarda yanıklarda ve keloid/hipertrofik skar gibi anormal skarlaşmada nörojenik inflamasyonun/nöropeptit aktivitesinin rol oynadığı gösterilmiştir.(87,88,97-99)

2. 5. 1. Nöropeptidlerin serbest sinir uçlarından salınımı

Nöropeptidler; serbest sinir sonlanmaları, immun sistem hücreleri ve cilt hücreleri arasında iletişimi sağlarlar.(89,334,335) Nöron somasında sentezlendikten sonra aksonal transport ile serbest sinir uçlarına transfer edilirler.(336) Serbest sinir uçlarından nöropeptitlerin salınması sitozolik kalsiyum iyon konsantrasyonunun artmasıyla tetiklenir.(337) Kutanöz duyu sinirleri voltaj kapılı kalsiyum iyon kanalları özelinde ‘GPCR’ ler sentezleyerek hücre içi kalsiyum iyon konsantrasyonunun artırılmasıyla aktivasyonu sağlar. Kutanöz nörojenik inflamasyonda yer alan 5 çeşit spesifik GPCR vardır. Bunlar PAR-2 ile PAR-4 ve MrgprC11, MrgprA3 ile MrgprX’den oluşmaktadır.(338-342) TRPV1 ve TRPA1 gibi nosiseptif kalsiyum iyon kanalları bu kanallarla (GPCR) birlikte (co-localize) yer alırlar.(343) PAR-2 ler kaşıntı ve atopik dermatit gibi çeşitli deri hastalıklarında ön plandayken; PAR-4 ler lökosit toplanması, ödem formasyonu ve analjezi durumlarında aktiftir.(344-350) Çeşitli nöropeptitlerle birlikte lokalize halde olan MrgprA3 ve C11, duyu nöronlarındaki TRPV1 ve TRPA1 kanallarını sensitize ederek nöropeptitlerin selüler sekresyonunu sağlarlar.(351,352) MrgprX1 in aktive olması nörojenik inflamasyon gelişimi için duyu sinirleri ve kutanöz hücreler arasında iletişimi sağlayan mast hücre degranülasyonunu sağlar.(353)

Serbest duyu siniri sonlanmalarında nöropeptit salınımıyla ilişkili olan TRP kanalları katyonik iyon kanallarıdır. TRPV1 yüksek sıcaklıkta (>43°C) cevap oluşturan nosiseptif bir katyonik kanaldır ve kapsaisin bu kanalın doğal agonistidir.(354) TRPV1 bu gibi direkt aktivatörlerle uyarıldığında hücre içine

kalsiyum iyon akışı başlar ve nörojenik inflamasyonu indükleyecek olan Substans P ve CGRP gibi nöropeptidlerin salınımı olur. PAR ve Mrgpr de olduğu gibi TRPV1 tarafından deride hücre içine kalsiyum iyonu girişi sağlanması immün sistem hücrelerini etkileyecek olan proinflamatuvar gen ekspresyonunu uyarır ve nöropeptit üretimi ve salınımına yol açar. TRPV1'in duyu sinirlerinde bulunmasının yanında; keratinositler, mast hücreleri, dendritik hücreler, sebositler, dermal kan damarları, saç folikülleri ve ter bezleri gibi cilt komponenti hücrelerde de bulunarak ağrı için sensör görevi gördüğü ve kimyasal stimülasyon yaptığı bilinmektedir.(355) Endotelial hücrelerde ve düz kas hücrelerinde TRPV1 aracılı hücre içine kalsiyum iyon girişi NO salınımına ve böylece vazodilatasyona yol açar. TRPA1 ise TRPV1'in aksine ligand kapılı non-selektif bir kalsiyum iyon kanalı olup soğuk termal duyuya(<17°C) cevap oluşturur. TRPA1 C-liflerinin %60-75 inde yer alırken, TRPV1 C-liflerinin tamamında yer alır.(356) Bir TRPA1 agonisti olan sinnamaldehit insan derisine uygulandığında aşırı bir kaşıntı hissi oluşturur ve bu da TRPA1 in kaşıntı hissi mekanizmasında ana rolü oynadığını göstermektedir.(357) Kaşıntı mekanizmasında TRPA1'e ET1 ve klorokin kanalları da eşlik eder.(352,357,358) Buna karşın TRPV1 ise tersi bir rol izler.(359-361) Sonuç olarak TRPA1 özelinde TRP kanalları, duyu sinirlerinin aktivasyonu ile kutanöz nörojenik inflamasyonu yönlendiren nöropeptid sinyalleri için bekçi görevi gören kanallardır.(362-364)

2. 5. 2. Nörojenik inflamasyonda rol oynayan nöropeptidler

Serbest sinir uçlarından salınarak nörojenik inflamasyona neden olduğu bilinen birçok nöromediatör adı altında toplanan nöropeptit ve nörotrofin vardır. Substans P, ve CGRP bunların başlıcalarıdır. Nörokinin A, VIP, somatostatin, nöropeptid Y, endorfin, dinorfin, enkefalin, galanin, ürokortin, ANP, MSH, CRH ve NO sayılabilecek diğer nöromediatörlerdir.

2. 5. 2. 1. Substans P

Taşikininler bir nöropeptid ailesidir. Memelilerde 5 çeşit taşikinin tanımlanmıştır. Bunlar; Substans P, nörokinin A, nöropeptid K, nöropeptid- γ ve nörokinin-B 'dir. Preprotaşikinin şeklinde transkripte edilen uzun moleküller daha sonra endopeptidaz aktivitesiyle enzimatik olarak bölünerek aktif taşikininlere ayrılırlar.(365) Substans P, 11 aminoasitten oluşan bir moleküldür.(366) Santral sinir sistemi ve periferel sinir sisteminde cevap oluşturan nöromediatör olarak yaygın bulunurlar. Nörojenik inflamasyonda CGRP ile birlikte ana rolü oynayan nöropeptittir. NK1R, NK2R ve NK3R olmak üzere GPCR yapısında olan en az 3 spesifik reseptörü vardır.(367) Substans P bütün NK reseptörlerine bağlanabilirken, özellikle NK1R e affinite gösterir.(368-370) NK1 antagonisti olan aprepitant'ın atopik dermatitteki inatçı kaşıntıyı inhibe ettiği gösterilmiştir.(371) Serbest sinir sonlanmalarından salgılanan Substans P çevre hücrelere birçok etkide bulunur. Substans P, mast hücrelerine NK1R bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki şekilde etki edebilir. GPCR aracılığıyla etki ederek mast hücre degranülasyonu ve histamin deşarjına neden olurlar.(372-374) Mast hücreleri, Substans P pozitif sinir liflerinin yoğun olduğu dokularda nörojenik inflamasyon oluşumu açısından bu nöronlarla yakın ilişkidedir.(375-377) Yapılan çalışmalar mast hücreler ve serbest sinir sonlanmalarının arasında iki yönlü (bidirectional) bir sinyal iletimi varlığını ortaya koymuştur. Mast hücrelerinden salınan triptaz enzimi ile de sinir hücrelerindeki PAR-2 reseptörleri aktive edilerek nörojenik inflamasyonu tetikleyen Substans P salınımı sağlanır.(378) Serbest duyu sinir uçlarından salınan Substans P ler mast hücrelerinde TNF- α ve VEGF üretimine neden olur. (379,380) VEGF, endotelial hücre proliferasyonunu ve vaskülarizasyonu uyararak inflamasyonu hızlandırır. Substans P, fibroblast ve keratinosit proliferasyonunda rol alır.(81,304,378) Lökositlerden direkt olarak TNF- α ve IL-6 salgılatırır.(83,381,382) Sitokin aracılı fibrozisi indüklerler. Keloid ve hipertrofik skar oluşumundan nörojenik inflamasyona yol açması nedeniyle dolaylı olarak, fibroblastları uyarması nedeniyle de direkt olarak sorumludur.(87)

Epidermiste; sinir liflerince salınarak keratinositlerden IL-1, IL-6, IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler salgılatırırılar.(327,383-386) Langerhans hücrelerini

uyararak migrasyonunu ve antijen sunumunu kuvvetlendirir, allerjik sensitizasyona ön ayak olurlar.(387-389) Dermiste yer alan fibroblastlar Substans P veya IFN- γ ile karşılaştıklarında Substans P reseptörü (NK1R) üretirler.(96,390) Nörojenik inflamasyon tablosunda iki yönlü pozitif aşırı sentezlenen Substans P, NGF ve IFN- γ daha sonra kronik cilt inflamasyonu ile fibrozise neden olur.(391)

Substans P ve CGRP, vasküler endotel hücreleri ve düz kasları etkileyerek vasküler etkilere sebep olan klasik nöropeptidlerdir.(392,393) Ortamdaki Substans P artışı vasküler geçirgenliği artırarak plasma ekstrasvazasyonuna ve ödeme sebep olur.(392,393) Vasküler epitel hücrelerde ICAM ve VCAM sentezini artırır. Mast hücrelerinden, hipervaskülarizasyon yaptıran ve böylelikle inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu kolaylaştıran VEGF'in salınımına neden olur.(394-396)

Substans P, NEP enzimi ile yıkılarak ortamdaki uzaklaştırılır. NEP' in inhibe edildiği çalışmalarda artmış nörojenik inflamasyon ile karşılaşılmıştır.(397) Akut yanık yaralarında ve hipertrofik skar dokularında yapılan bir çalışmada azalmış nötral endopeptidaz aktivitesi izlenmiş olup, buna karşın artmış Substans P miktarı görülmüştür. Bu durumun mevcut aşırı nörojenik inflamasyonun sebebi olduğu rapor edilmiştir.(398)

2. 5. 2. 2. CGRP

CGRP 37 amino asitten oluşan bir nöropeptittir. Primer olarak C ve A δ duyu sinir liflerinde bulunurlar.(399,400) Kalsitonin geni üzerinden sentezlenir.(401) α CGRP ve β CGRP olmak üzere %90 dan fazla homoloji gösterdiği aynı biyolojik aktiviteyi gösteren iki formu vardır.(401-403) α CGRP, ana formu olup santral ve periferik sinir sisteminde yer alırken; β CGRP, daha çok enterik sinir sisteminde görülür.(404,405) Makrofajlar ve keratinositlerden salınan NGF lokal salınımlarında ve sentezlerinin uyarılmasında rol oynar. Bir TRPV1 agonisti olan kapsaisin ile muamele sonrasında sinir uçlarındaki artmış deşarj sonucu azalmış nöropeptitlerin sentezi için ortamda NGF olması gereklidir.(406) Sentezlendikten sonra duyu siniri sonlanmalarında geniş yoğun veziküller (dense-core vesicles) içinde depolanırlar.(407) Nöronal depolarizasyon sonrasında TRP kanallarınca sinir

uçlarına kalsiyum geçişi olur ve kalsiyum bağımlı ekzositoz yapan SNARE aracılığıyla veziküllerden CGRP salınımı gerçekleştirilir.(408) Mast hücre aktivasyonu sonrasında ortama salınan triptaz enzimi CGRP yi hidrolize eder.(409)

CGRP, nörojenik vazodilatasyondan ve inflamatuvar hücrelerin toplanmasından ana olarak sorumlu nöropeptiddir.(410,411) Vazodilatör potensi, bilinen en potent prostaglandinlerden ve asetilkolin, Substans P gibi moleküllerden 10-100 kat daha fazladır. Bu özelliği CGRP yi bilinen en potent mikrovasküler vazodilatör ajan yapmaktadır.(412) Substans P ve CGRP; GPCR, NK1R ve CGRP reseptör kompleksleri üzerinden etki gösterirler.(318,319) Serbest sinir uçlarından salınan CGRP endotelyal hücre zarında reseptörüne bağlanarak hücre içinde cAMP artışına ve NO sentezine neden olur. Üretilen NO in düz kaslara difüzyonu ile guanilat siklaz yolağı aktive olarak cGMP üretilir ve bu da düz kasta gevşemeyi sağlar.(413) CGRP nin kan basıncını ayarlama ve hipertansiyon patofizyolojisinde rol aldığı gösterilmiştir.(404,414,415) Bununla birlikte hipertansiyonun hipertrofik skar ve keloid gelişimi patofizyolojisindeki yeri de artık bilinmektedir.(43,45-47). Selektif CGRP reseptör antagonistleri ve CGRP antikorları, patofizyolojisinde etkeni oldukları migren tedavisinde deneysel olarak kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır.(416) Sepsis tablosunda plazma CGRP seviyeleri artar ve hipotansiyona neden olur.(417,418)

CGRP immün sistem üzerine de aktif olarak etkilidir. Makrofajların aktivitesine etki eder.(419) Langerhans hücrelerinden Th2 hücrelerine antijen sunumunu arttırırken Th1 cevabını inhibe eder.(416) CGRP gibi PACAP ve VIP de langerhans hücrelerinden Th1 hücreler için antijen sunumunu inhibe ederken Th2 cevabı için antijen sunumunu arttırırlar. Ayrıca PACAP ve VIP Th2 cevabında olduğu gibi Th hücrelerin Th17 ye diferansiasyonunu da destekler.(420) Atopik dermatit tablosuda CGRP periferik kandaki mononükleer hücrelerden ve T lenfositlerden IL-13 salınımını arttırarak dermatit tablosunun şiddetlenmesine neden olur.(421) CGRP salınımı sonrasında ciltte proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-1 β , TNF- α ve NGF artışı izlenir. Cilde kapsaisin uygulaması sonrasında CGRP deşarjı ve duyu siniri desensitizasyonu meydana gelir. Kapsaisin uygulaması öncesinde CGRP antagonisti olan telcagepant uygulaması kapasaisine bağılı oluşacak olan artmış kan

akımını inhibe eder. Bu da CGRP nin nörojenik vazodilatasyonda anahtar rolü oynadığını bir kez daha göstermektedir.(422)

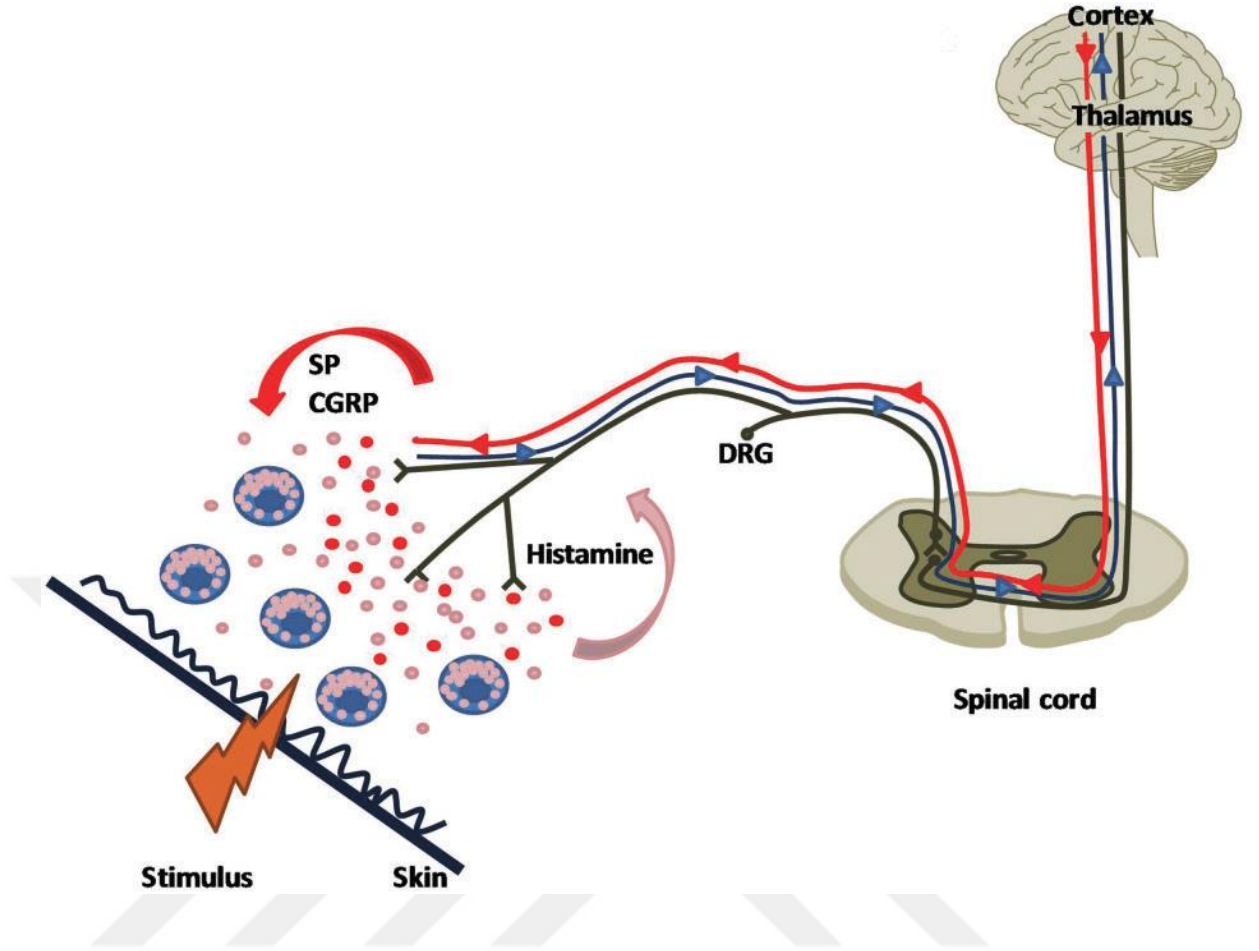
CGRP varlığı fizyolojik dozlarda yara iyileşmesi için gereklidir. Kapsaisin ile muamele edilmiş sıçan cilt flep modelinde flep canlılığının azaldığı görülmüştür. Normal yara iyileşmesi sürecinde CGRP içeren duyu sinirlerinin yara alanında erkenden varlığını oluşturabilmesi elzemdir.(423,424) CGRP yara iyileşmesi sürecinde potent vazodilatör aktivitesinin yanında anjiogenezis ve fibroziste rol oynayan VEGF, FGF ve TGF-Beta salınımını tetikler. CGRP, keratinosit proliferasyonunu indükleyerek cilt rejenerasyonunu sağlar.(425) Ayrıca fibroblastları da direkt olarak uyarır.(426) Her iki major duyuşal nöropeptit olan Substans P ve CGRP dermal yanıklardaki akut ödem formasyonundan sorumludurlar.(427)

2. 6. Santral Sinir Sisteminin Dermal Skarlaşma Ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri

Günümüzde yara iyileşmesi ve dermal skarlaşma patogeneğinde nörojenik inflamasyonun rolü ve önemi artık açık olarak bilinmektedir. Derideki lokal bir uyarıya sekonder olarak gelişen ve akson refleksi mekanizmasıyla ilgili bölgedeki serbest sinir uçlarından nöropeptit deşarjı sonucu o bölgede oluştan inflamasyon ile karakterizedir.(86) Bu durumun abartılı olması hallerinde bozulmuş yara iyileşmesi, artmış fibrozis ve uygunsuz skarlaşma kaçınılmazdır. Tüm bu eksojen uyarılar serbest duyu siniri sonlanmalarından alınır ve dorsal kök gangliyonlarına iletilir. Daha sonra uyarı dorsal kök gangliyonundan santral sinir sistemine iletilir. Bu süreç periferik sinir sistemi üzerinde bu şekilde işlemektedir. Ancak bilinmektedir ki santral sinir sisteminin etkilendiği psikolojik stress durumlarında cilt düzeyinde inflamatuvar değişiklikler olmaktadır.(428) Nörokutanöz komponenti olan psöriazis, atopik dermatit, pruritis, ürtiker gibi hastalıkların cilt semptomlarında şiddetlenmeler bildirilmiştir.(103,104) Bu semptomların oluşma mekanizmaları açıklanırken stres sonucu salınan hormonlar üzerinden immün sistem aktivasyonu olduğu ve bu nöroimmün mekanizmalar aracılığıyla semptomların şiddetlendiği düşünölmektedir.

Ancak nöroimmun teori tek başına bu semptomların oluşma biçimini açıklamaya yetmemektedir.

Ciltteki artmış nörojenik inflamasyon nöroimmün mekanizmalarla açıklanamamaktadır. Bu da bize duyu sinirlerinde meydana gelen antidromik iletinin sadece periferik sinir sisteminde değil santral sinir sisteminde de olduğunu ve böylece cilt düzeyinde nörojenik inflamasyona neden olduğuna işaret etmektedir. Ancak farklı olarak eksternal uyarı sonucu gelişen nörojenik inflamasyon sadece uyarı bölgesi mikroçevresinde lokal olarak kalır iken, santral sinir sistemi kaynaklı ‘internal’ kökenli antidromik uyarılar tüm duyu sinirleri serbest sonlanmalarında etki eder. Yani tüm deride artmış bir inflamatuvar yanıt vardır. Diğer yandan stresin immün sistem üzerinden de etkileri vardır.



Şekil 6: Nörojenik inflamasyon ve beyin-deri ilişkisi. Eksternal uyarılarla serbest sinir sonlanmalarında oluşan aksiyon potansiyeli ortodromik olarak dorsal kök gangliyonlarına ulaşırken dallanma noktalarından akson refleksi ile antidromik olarak sinir uçlarından nöropeptit salınımına neden olur. Bu nöropeptitler mast hücrelerini uyararak histamin deşarjına neden olur. Ortamdaki histamin serbest sinir uçlarını uyarır ve bu histamin uyarısı ortodromik olarak önce duyu gangliyonuna oradan da spinal kordun dorsal boynuzunun superfisiyal katmanına iletilir. Daha sonra bu sinyaller kontralateral spinotalamik yollarla asendan olarak talamusa ve nihayetinde de somatosensöryal ve singulat kortekse iletilirler. Anterior singulat korteks beyinde emosyonel ve kognitif aktivitelerin modüle edildiği bölgedir.(429) Daha sonra aynı spinotalamik yolak üzerinden antidromik yolla serbest sinir sonlanmalarından nöromediatör (Substans P, CGRP vs.) salınımına neden olur. (86,100) [Rosa AC, Fantozzi R. The role of histamine in neurogenic inflammation. Br J Pharmacol. 2013 Sep;170(1):38-45.]

Bu sistem santral sinir sisteminin duyu sinirleri üzerinden periferik sinir sisteminde oluşturduğu etkiyi açıklamaktadır. Stres altındaki bir beyinde hem korteks hem de talamik ve bazal ganglionlar seviyesinde elektriksel ve kimyasal değişiklikler olmaktadır.(430-436) Bunların bir yansıması olarak cilt seviyesindeki semptomlar antidromik yollarca iletilen uyarıların sonucu olarak gelişen nörojenik inflamasyon neticesinde vuku bulur.(100)

2. 7. Stresin İmmünolojik Etkileri

Stresin insan sağlığı üzerinde olan olumsuz etkileri bir çok çalışmada gösterilmiştir.(437,438) Bu çalışmalarda kronik yada uzun dönem stresörlerin ciddi zarar verici etkileri olduğu ortaya konmuştur. Bunların bazıları immün mekanizmalar ile gerçekleşmektedir. Stres, immün mekanizmaları mücadele etmesi için hazırlar. Bu durumlar bir yaralanma yada enfeksiyon sonrasında olabileceği gibi günümüzde cerrahi bir operasyon sonrasında da gelişebilir.(439,440)

Çalışmalar kısa süreli stresörlerin immün sistem hücrelerinin vücuttaki yayılımını ve özellikle deri gibi organların akut stres anındaki lökosit fonksiyonlarını arttırdığını göstermektedir. Ayrıca dendritik hücre, nötrofil, makrofaj ve lenfositlerin göçleri, matürasyonları ve fonksiyonlarının da akut stres durumunda adaptif immünite yoluyla arttığını göstermektedir. Ancak bu durumun aksine kronik stres durumlarında eğer lökosit sayısında ve fonksiyonlarında azalma var ise kanser ve enfeksiyonlara karşı savunmasız kalma, bozulmuş yara iyileşmesi, aşılara karşı yeterli cevap geliştirememesi gibi immünsüpresyon tablosu ile seyreder. Fakat kronik strese bağlı artmış düzensiz proinflamatuvar yanıt var ise otonom hastalıklara yatkınlık ve yaygın bir inflamasyon durumu oluşur.(441) İmmünite; doğal bağışıklık sistemi üyeleri olan monosit, makrofaj, dendritik hücre gibi antijen sunan hücreler ve edinilmiş/uyarılabilen bağışıklık sistemi üyeleri olan Th1, Th2 ve Treg hücreleri tarafından sağlanır. İmmün sistemin dengesi büyük oranda sitokinlere bağlıdır.

Stres durumunda vücutta hipotalamik-pituiter-adrenal (HPA) aks aktive olur ve stres hormonları salınır. Bunlar hipotalamustan salınan CRH, hipofizden salınan ACTH ve adreneal bezden salınan glukokortikoidler ve katekolaminlerdir. HPA aks

ve sempatik sinir sistemi, stres tablosunun periferdeki yansımalarını gösterdiği iki ana yoldur. Stres sisteminin santral komponentine baktığımızda HPA aksın ve sempatik sinir sisteminin periferel aktivitelerini kontrol eden hipotalamustan salınan CRH ve lokus seruleusu görürüz. (428,442,443) Stres indüklü salgılanan hipotalamik CRH immün cevap üzerine etkili olan glukokortikoidlerin (kortizol) ve katekolaminlerin (adrenalin ve noradrenelin) sistemik sekresyonuna neden olur.(442,444) Glukokortikoidler ve katekolaminlerin her ikisi de hücre yanıtında Th2 hücreleri yönüne diferansiasyona neden olurlar. Th2 hücre uyarımı sonucu antijen sunan hücreleri, Th1 hücreleri ve sitokin sentezlerini baskılanır. (445) Th1 hücrelerde cevap oluşturan ana sitokin olan IL-12 nin antijen sunan hücrelerden salınımını inhibe ederler. (446-449) Glukokortikoidler ayrıca Th2 hücrelere direkt olarak etki ederek IL-4, IL-10 ve IL-13 salınımını uyarırlar.(447,450) Katekolaminler Th2 hücrelere direkt etki edemezler çünkü bağlandıkları 'catecholamine-binding β 2-adrenoceptors' sadece Th1 hücrelerinde bulunmaktadır.(451) Deride stresle tetiklenmiş hücresele immünizasyon sonrası IFN- γ , TNF- α , MCP-1, MIP-3 α , IL-1 ve IL-6 seviyelerinde artış görülür.(452,453) Ancak kronik stres durumlarında ise immün sistemde baskılanma görülür.(441) Hücresele kutanöz immünite aktivasyonunda azalma olur. Ancak buna karşın kronik stres durumlarında psikokutanöz hastalıklarda deri semptomlarının artarak devam etmesi yada alevlenmelere yatkınlık göstermesi immün sistem harici bir yola işaret etmektedir. Beyinden (korteks ve bazal ganglionlar) kalkan uyarıların antidromik olarak spinotalamik yolla serbest duyu sinir sonlanmalarınca nöropeptit salınımına neden olması, nörojenik inflamasyonu tetiklemesi bu durumu açıklar bir hipotezdir.(86,100)

2. 8. Post Travmatik Stres Bozukluğu (PTSB)

Beyin üzerinde kimyasal ve elektriksel değişikliklere yol açarak emosyonel, motivasyonel ve kognitif manada ciddi değişikliklere neden olan duyu durum bozukluklarının başında post travmatik stress bozukluğu (PTSB) gelmektedir. PTSB toplumda yaygın görülen, sıklıkla kronik olan ve kişileri bireysel olarak ciddi şekilde etkilediği gibi toplumsal hayatlarında da olumsuz etkileyen bir durumdur.(454-457)

Post travmatik stres bozukluğu DSM-5 tanı kriterlerine göre ele alındığında: Kişinin karşılaşmış olduğu; ölüm, ölüm tehdidi, ciddi yaralanma yada yaralanma tehdidi; cinsel şiddet yaşama yada yaşama tehdidi durumlarından herhangi birine direkt olarak maruz kalma; şahit olma; bir akrabasının yada arkadaşının yaşamış olduğunu öğrenme; yaşamış olanların anlattıklarına maruz kalma durumlarından birinin olması gereklidir. Buna ek olarak intrüzyon semptomlarından en az biri, kaçınma semptomlarından en az biri, biliş ve duygu durumunda gerileme semptomlarından en az ikisi, uyarılma ve tepki vermedeki değişikliklerden en az ikisi görülmelidir. Semptomlar 1 aydan fazla sürmelidir.(454) PTSD tablosu travmayı takiben 1-3 ay arasında ise akut, 3 aydan uzun süreli ise kronik olarak adlandırılır.

Bu tanıyı almış olan kişilerin duygu durumları ve normal insanlardan farklı olarak beyinlerindeki nörotransmitter düzeyleri ve düzenleri değişmektedir. NK1 reseptörü üzerinden etki eden Substans P nöropeptidi memeli sinir sisteminde yaygın olarak bulunmaktadır.(458,459) Beynin korku merkezi olan amigdala da bu yerlerden biridir.(460,461) Yapılan hayvan çalışmaları Substans P- NK1 sisteminin stres ve anksiyete ilişkili davranışları modüle ettiğini ve bunların seviyelerindeki değişikliklerin ise insanda anksiyete bozukluklarına yol açtığını göstermiştir.(460,462-466) PTSD olan hastalar normal bireylerle karşılaştırıldıklarında; serebrospinal sıvılarında (BOS) artmış Substans P konsantrasyonu ve amigdalada artmış NK1 reseptör miktarı izlenmiştir.(467,468) Yapılan manyetik rezonans görüntüleme işlemlerinde kontrol grubuna kıyasla PTSD li hastalarda hipokampus, sol amigdala ve anterior singulat korteks de hacim azalması görülmüştür.(469-470)

Yapılan çalışmalarda PTSD'li hastalarda serotonin ile modüle olan aşırı artmış amigdala aktivitesi ve azalmış serotonin transporter erişimi görülmüştür.(471-476) Buradan yola çıkılarak PTSD tedavisinde SSRI (selektif serotonin reuptake inhibitörü) kullanımı sonrası semptomlarda azalma görülmüştür.(477) Kanıta dayalı medikal PTSD tedavisinde sadece iki SSRI olan paroksetin ve sertralinin FDA onayı vardır.(478-482) Ancak fluoksetin, venlafaksin, fluvoksamin ve sitalopram da tedavide kullanılmaktadır.(483,484) Psikolojik stres durumunda serotonin sentezi azaltılır. Bu azalma proinflatuar sitokinlerin miktarında artışa yol açar.(485-487)

2015 yılında yayınlanan ‘post travmatik stres bozukluğu tablosunda inflamatuvar işaretçiler’ başlıklı, 1960-2015 yılları arasında yayınlanan 8057 makale özetini ve 20 çalışmayı içeren metaanaliz raporuna göre; PTSTB tanıli kişilerde IL-6, IL-1 β ve IFN- γ değerleri sağlıklı kontrol grubuna göre artmıştır. TNF- α düzeyi tedavi almamış PTSTB lilerde tedavi almış olanlardan ve kontrol grubundan yüksek çıkmıştır. PTSTB tablosunun süresinin IL-1 β seviyesiyle, PTSTB tablosunun şiddetinin ise IL-6 seviyesiyle pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir.(488) 2019 yılında yayınlanan bir diğer metaanaliz raporuna göre de 2015 deki metaanaliz sonuçlarına ek olarak kontrol grubuna kıyasla CRP seviyesinde önemli artış, IL-10 seviyesinde ise azalma olduğu gösterilmiştir.(489)

Histamin, santral sinir sistemindeki strese bağlı durumun aktifliğini sürdüren bir diğer ana nörotransmitterdir. Ayrıca SSS nin uyarılmasında ve cilt düzeyindeki etkilerden de sorumludur. Örneğin PTSTB li hastalarda otonom sinir sistemi reaktivitesi ve aşırı uyarılmış sempatisite kronik idiopatik ürtiker tablosu ile sonuçlanabilmektedir.(490)

PTSTB altında en sık şiddetlenme psikokutanöz hastalıkların seyrinde olmaktadır. Psöriyatik cilt bulguları alevlenmektedir. Atopik dermatit tablosunda şiddetlenme olmaktadır. Pruritis inatçı bir alevlenme yaşar. Akne rozasea şikayetleri artar.(102-105). Ülkemizde 17 Ağustos 1999 Marmara depremi sonrasında yapılan bir çalışmada PTSTB gelişen kişilerde eritematöz-skuamatöz hastalıkların arttığı, pruritis, egzema ve diğer nörokutanöz dermatozların alevlendikleri gösterilmiştir.(491) Bu tabloların stres durumlarında SSS aracılığıyla cilt düzeyinde yoğun bir nörojenik inflamasyon oluşturulmasına bağlı olarak gerçekteştiği artık bilinmektedir.(86,100,428,492)

2. 9. Psikokutanöz Hastalıklar

Psikolojik stres durumunun sağlam cilt üzerindeki etkilerini değerlendirmek üzere yapılan insan çalışmalarına baktığımızda önemli sonuçlarla karşılaşmaktayız. Stresin derinin bariyer fonksiyonunun yenilenmesinde gecikmeye neden olduğu ve bununla birlikte plazma kortizol, norepinefrin, IL-1 β , IL-10, TNF- α ve dolaşımdaki

NK hücre ve aktivitesinde artmaya neden olduğu görülmektedir.(493) Ancak psikokutanöz hastalıklar olarak da bilinen psikofizyolojik bozukluklarla seyreden, semptomları stres altındayken alevlenen bir grup hastalık vardır.(492) Bunlar başlıca psöriazis, atopik dermatit, ürtiker, pruritus, rozacea, seboreik dermatit, akne ekskorie, aftöz stomatit olarak sayılabilir.(102-105)

2. 9. 1. Psöriazis

Psöriazis artmış keratinosit proliferasyonu ile seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır.(494) Psöriazisin başlangıcı yada alevlenmesi daha önce karşılaşmış olan birden çok stresöre bağlı gerçekleşebilir.(495-497) Stres, ilk kez psöriazis atağı geçiren kişilerde %44 oranında etken olarak görülürken alevlenme semptomları gösterenlerde ise bu oran %88 olarak görülmüştür.(498,499) Psöriazis bu yönüyle stres ve duygu durum bozukluklarıyla ilişkili bir hastalık olarak bilinmektedir.(497,500-502) 40 yaş öncesinde psöriazis başlangıcı olanlarda geç başlangıçlı olanlara göre stres ile daha kolay tetiklenme tespit edilmiştir. Psikolojik stres yükü altında olduğunu söyleyen psöriatik hastalarda cilt ve eklem semptomlarının daha ağır seyrettiği görülmüştür.(503-505) Yapılan bir çalışmada travma sonucu duyu siniri hasar görmüş psöriatik hastaların cilt plakları incelenmiş, sinir rejenerasyon olup duyu geri geldikten sonra tekrar aynı yerde plak oluşumu meydana geldiği görülmüştür. Buradan yola çıkarak serbest duyu sinir sonlanmalarının ve onlardan salınan nöropeptitlerin psöriatik plak oluşumundaki rolü ortaya konmuştur. Yapılan histopatolojik incelemelerde psöriatik plak doku biyopsi materyalinde sinir liflerinin yoğun olduğu, artmış Substans P, CGRP, VİP ve NGF ile seyrettiği gösterilmiştir.(500,506-508) NGF nin yüksek miktarda salınması T hücre ve keratinosit proliferasyonunu, mast hücre migrasyonunu, degranülasyonunu ve T hücre kemotaksisini uyarır.(506,509-511) 2019 yılında yapılan bir çalışma, beyindeki serotonin ve dopamin dengesinin psöriazis patofizyolojisinde ana rolü olduğunu göstermiştir.(494) Psikolojik stress durumunda serotonin sentezi azaltılır. Bu azalma proinflamatuvar sitokinlerin miktarında artışa yol açar.(485-487) Kronik stres durumu özellikle TNF- α , IL-1 β ve IL-6 olmak üzere proinflamatuvar sitokin seviyelerinde kronik yükselmeye yol açar.(512-513) Psöriazis tedavisinde bir

antidepresan olan SSRI ların kullanımı ile sistemik tedavi ihtiyacının azaltıldığı bildirilmiştir.(514) Tüm bu veriler ışığında cilt düzeyindeki nörojenik inflamasyonun psöriazis tablosunun alevlenmesinde ana patofizyolojik mekanizma olduğu açık olarak görülmektedir.

2. 9. 2. Atopik dermatit

Atopik dermatitli hastalar belirgin duygusal stres ve çöküntü halleri nedeniyle hayat kalitelerinde ciddi bir bozulma yaşarlar.(515) Bu ilişki iki yönlü (bidirectional) olup stresör etkenler atopik dermatit tablosunun alevlenmesinde önemli rol üstlenirler.(516,517) Yapılan deneysel bir çalışmada atopik dermatit tablosunda seyreden kaşıntının nedeni araştırılmıştır. Antihistaminik ilaç uygulaması kaşıntı davranışını tedavi etmemiştir. Yapılan moleküler incelemede ortamda histaminin yanında Substans P miktarının da yüksek olduğu görülmüş daha sonra NK1 reseptör antagonisti verilmesini takiben kaşıntı semptomu tedavi edilmiştir.(518) Yapılan bir diğer çalışmada atopik dermatitli hastaların cildindeki taşıkinin ekspresyonunun incelenmesini takiben Substans P ve Nörokinin A pozitif sinir liflerinin ve Nörokinin A pozitif mononükleer dermal hücrelerin kontrol grubuna göre artmış olduğu izlenmiştir. Ciltteki inflamasyon ve NK1R pozitif hücreler arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda depresyon skoru ile NK1R pozitif hücreler arasında da bir korelasyon varlığı rapor edilmiştir.(519) Tüm bu veriler stres durumunun cilt düzeyinde oluşturulmuş nörojenik inflamasyon ile atopik dermatitteki semptom şiddetlenmesine neden olduğunu göstermektedir.

2. 9. 3. Pruritis

Psikolojik durumun kaşıntı etkisi üzerine olan etkisi bir çok çalışma ile ortaya konmuştur. Yapılan deneysel bir çalışmada stres altındaki guinea pig cildinde histamin deşarjı artması sonucu kaşıntı davranışının ortaya çıktığı gösterilmiştir.(520) İnsanlarda psikosomatik ve psikososyal faktörlerin, mental stres durumunun histaminle tetiklenmiş kaşıntı ve alevlenmelerle ilişkili olduğu

gözlenmiştir.(521) Atopik dermatitli kişilere kaşıntı davranışını gösteren kişilerin videoları izlettiğinde kendilerinde de yoğun bir kaşıntı durumunun ortaya çıktığı gözlenmiştir.(522) Bu bulaşıcı kaşıntı durumunun santral sinir sistemindeki nörotransmitterlerde ve endojen opioidlerde değişiklik oluşturması sonucu antidromik yolla cilt düzeyinde yol açtığı nörojenik inflamasyonun bir sonucu olduğu düşünülmektedir.(86,100,523,524)

Son yıllarda beyinin kaşınma davranışı ile ilgili merkezleri ortaya konmuştur. Singulat korteksin kaşıntı mekanizmasındaki en önemli bölge olduğu bildirilmiştir. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında atopik dermatitli kişiler, histamin ile uyarım sonrasında hastalığın şiddetiyle korele olacak şekilde singulat korteks aktivasyonu göstermişlerdir.(525) Kaşınma davranışı yerine getirilmesini takiben singulat korteksin deaktive olduğu görülmüştür.(526) Asıl önemli olan nokta şudur; anterior singulat korteks beyinde emosyonel ve kognitif aktivitelerin modüle edildiği bölgedir.(429) Bu durum kaşıntının algılanmasının ve oluşturulmasının duygu durum ve motivasyon ile ilişkisini fizyolojik olarak açıklamaktadır.(100,429) Tüm bu veriler stres durumunun cilt düzeyinde nörojenik inflamasyon oluşturarak kaşıntı davranışının ortaya çıkmasında etkili olduğunu göstermektedir.

Psöriazis, atopik dermatit ve pruritis tablolarında da gördüğümüz üzere PTSD özelinde santral sinir sistemi üzerindeki psikolojik stres durumları cilt düzeyinde nörojenik inflamasyona neden olarak bu hastalıkların semptomlarının ortaya çıkmasına veya alevlenmesine neden olmaktadır. Bu da santral sinir sisteminin antidromik yolla deri serbest sinir sonlanmalarından nöropeptit salınımı gerçekleştirdiği bilgisini kanıtlar niteliktedir.

2. 10. Plastik Cerrahi, PTSD, Yara İyileşmesi ve Skar

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi pratiğindeki hasta profiline baktığımızda PTSD tanısı almış olan ve buna aday olan hastaların sayısının azımsanamayacak boyutta olduğu görülmektedir. PTSD ye neden olan durumlar arasında yüksek enerjili travma sonucu gerçekleşen yaralanmalar en büyük kısmı oluşturmaktadır. Dekübit ülserleri nedeniyle uzun süreli hospitalizasyon ve geçirilen

seri cerrahi işlemler, darp maruziyeti, savaş yaralanmaları, yanık yaralanmaları, araç içi yada araç dışı trafik kazaları sonrası yaralanmalar, iş kazaları nedeniyle uzuv kayıpları, fonksiyonel kayıplar yada hayatı tehdit eden ciddi yaralanmalar, malignite tutulumları gibi farklı nedenlerle cerrahi adayı olan hastalar kendilerinde PTSSB gelişmiş ya da gelişme ihtimali çok yüksek olan diğer hasta gruplarıdır. Yine bir çok çalışmada fiziksel bir yaralanma sonucu acil servise başvuran kişilerden kalp atım hızınının dakikada 95 in üzerinde olanların ve ağır fiziksel yaralanmaya sekonder akut şiddetli ağrı ile seyredenlerin PTSSB ye yatkınlığı olduğu gösterilmiştir.(527-530)

Peki PTSSB nin plastik cerrahi açısından ne önemi vardır? Günümüze kadar yara iyileşmesi ve dermal skarlaşma üzerine yapılan sayısız çalışmada uygunsuz yara iyileşmesine ve aşırı dermal skarlaşmaya (hipertrofik skar/keloid) neden olan bir çok faktör ve mekanizma gösterilmiştir. Bu etkenlerin en önemlisi şüphesiz nöronal etki ve özelinde nörolojik inflamasyondur. Nörojenik inflamasyon tarif edilirken; eksternal/periferal bir uyarının duyu sinirleri aracılığıyla periferik sinir sisteminde ortodromik olarak iletilirken akson refleksi prensibine göre dallanma noktalarından antidromik olarak arborize olup serbest sinir uçlarından nöropeptit salınımına neden olması ve buna bağlı inflamasyon gelişmesi şeklinde tarif edilmiştir. Ancak bilinmektedir ki PTSSB gibi yoğun psikolojik stres durumlarında nörotransmitter dengesi değişmiş olan serebral korteks ve bazal gangliyonlardan internal/santral kökenli olarak kalkan uyarıların spinotalamik yolla yine duyu sinirleri üzerinde antidromik olarak ilerleyerek serbest sinir uçlarından nöropeptit salınımına neden olarak yaygın kutanöz nörojenik inflamasyon oluşturulmaktadır.

PTSSB'nin deri dokusunda sebep olduğu bu yaygın nörojenik inflamasyonun yara iyileşmesini bozduğu ve bu yolla aşırı dermal skarlaşmaya neden olduğu hipotezimizdir. Bu ön görüşle sıçanlarda post travmatik stress bozukluğu oluşturma modeli ve insizyonel dermal skar oluşturma modelinin kombine olduğu bir deneysel çalışma planı yapıldı.

2.11. PTSD Oluşturma Modeli Ve İnsizyonel Dermal Skar Oluşturma Modeli

2. 11. 1. PTSD oluşturma modeli

Post travmatik stres bozukluğu bir psikiyatrik tanı olması nedeniyle literatür incelemelerinde de görüldüğü üzere psikiyatristler tarafından üzerinde ayrıntılı çalışılan bir konu olmuştur. Bu çalışmalar içerisinde deney hayvanı çalışmaları önemli yer tutmaktadır. Çoğunlukla fare ve sıçan tercih edilmektedir. Özellikle psikofarmakolojik çalışmaların ilgi odağı olan PTSD nin deney hayvanlarında oluşturulmasını tarif eden birçok çalışma bulunmaktadır. (532-538)

Liberzon tarafından literatüre katılan ‘tekli uzamış stres (single prolonged stress-SPS)’ uygulamaları ile PTSD belirtileri gösteren deney hayvanları elde edilmiştir.(544,545) Bu belirtiler hem davranışsal olarak yapılan testler (ör; Modified Holeboard testi) ile gözlemlenerek, hem de hipotalamopituiter aks hormon seviyelerinde meydana gelen değişikliklerce ortaya konmuştur.(546,547)

Modelin ortaya koyulmasında stresör olarak bir çok değişken tanımlanmıştır. Hareket kısıtlayıcı restrainer uygulamaları, zorlu yüzme uygulamaları, elektrik şoku uygulanması, aydınlık/karanlık alan uygulanması ve beslenmede kısıtlama bu değişkenlerden başlıcalarıdır.(536)

Tekli uzamış stres uygulamaları sonrasında beyindeki nöronlarda ve afferentleri olan amigdala PTSD benzeri histopatolojik değişimler ortaya konmuştur.(537)

Sıçanlar ilgili model uygulandıktan belirli bir süre sonra tekrar daha önce stres uyarısının uygulandığı aynı ortama koyulduğunda çığlık atma yada donma/hareketsiz kalma şeklinde kendilerinde PTSD geliştiğini gösteren semptomlar izlenmiştir.(540,548) Yine daha önce önlerine koyulan yemleri yiyen sıçanların PTSD gelişimi sonrası aynı yemleri aynı ortamda yemek için harekette bulunmaması da davranışsal bir belirti olarak izlenmiştir.(546)

Yapılan psikofarmakolojik çalışmalarda ise PTSD modeli uygulanan deney hayvanlarında değişken gruplarda tedavi amaçlı olarak paroksetin ve fluoksetin uygulamaları öne çıkmıştır. İlaç uygulamalarının günlük içme sularına katılmak

suretiyle çözümlenerek oral yolla verildiği görülmektedir.(538,540) Takahashi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada oral paroksetin çözeltisi hazırlanarak ad libitum şeklinde sıçanların erişimine bırakılması sonucu sıçanların serum paroksetin konsantrasyonlarının etkin düzeylere çıktığı gösterilmiştir.(540) Yapılan çalışmalarda paroksetin alımının bir defaya mahsus akut olarak değil, model süresince her gün kronik alımı durumunda PTSB semptomları gelişimini önlediği gösterilmiştir.(532,536)

PTSB modeli çalışmalarına bakıldığında tekli elektrik şoku uygulaması sonrasında 14. günde PTSB belirtileri gözlenmezken, tekli uzamış stres (SPS) ile kombine edilen tekli elektrik şoku uygulaması sonrasında 14. günde hem şartlı korku cevabı (conditioned fear response) hem de duyarlanmış korku cevabı (sensitized fear response) gelişmiş olmaktadır. (532,536) Bu modifiye tekli uzamış stres prosedürü çalışmamızda kullanılan PTSB oluşturma modelidir.(532)

2. 11. 2. İnsizyonel dermal skar oluşturma modeli

Literatürde uygulanmakta olan birçok insizyonel yara modeli mevcuttur. Bunların bir çoğu fare, sıçan ve tavşan üzerinde çalışılmıştır.(534,549-552)

Uygulanacak olan insizyonel dermal skar modelinin insanda yapılan işlemi birebir simüle etmesi amaçlanmaktadır. Bu sebeple literatüre baktığımızda mevcut modellerden standart olarak en çok uygulanan ve en optimum sonuçlara haiz olan yöntem tercih edildi.

Deney hayvanı olarak PTSB modeline de uygun olan sıçanlar seçildi. İntraperitoneal genel anestezi ve insizyon yapılacak sırt bölgelerinin traş edilmesi deney hayvanının acı çekmemesi ve cerrahi konfor açısından önemlidir. İnsizyon işleminde tercihen 15 numara cerrahi bistüri tercih edilmelidir. Uygulanacak insizyon sırt bölgesinde, vertikal olacak şekilde, 4 cm boyunda ve dermis ile pannikulusu geçerek kas fasyasına kadar incek derinlikte olmalıdır. Daha sonra da insizyon hattı emilemeyen dikiş materyalleri ile 5 mm aralıklarla olacak şekilde

primer sütürasyon ile kapatılmalıdır. Antiseptik yara spreyleri uygulanarak pansuman yapılmasına gerek kalmadan iyileşmeye bırakılabilir.(534)

Yara iyileşmesinin proliferatif evresinin tamamlandığı 28. gün sonunda da histopatolojik inceleme için insizyonel dermal skar spesmenleri toplanır. Başka bir prosedürde kullanılmayacaklar ise deney hayvanları sakrifiye edilir. Sırt bölgeleri tekrar traş edilir. Skar hattının sağ ve solunun 0,5 cm uzağından olacak şekilde tam kat dermal insizyon yapılarak spesmenler alınır.(534,549)



3- YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu deneysel çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun (HADYEK) 31.05.2019 tarihli ve 2019-27 sayılı karar ve proje kabul nolu izni ile planlandı.

Çalışmanın hayvan deneyi aşaması Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi (DEHAM) laboratuvarında gerçekleştirildi. Her grup ayrı kafeslerde olacak şekilde standart fiziki şartlar sağlandı. Çalışmanın histolojik inceleme aşaması ise İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3. 1. Deney Grupları

PTSB oluşturma modeli, insizyonel dermal skar oluşturma modeli ve oral paroksetin uygulanması değişkenlerinin kombinasyonlarıyla 6 adet deney grubu oluşturuldu.

Yapılan istatistiksel power analiz sonuçlarına göre ($\alpha:0,05$; power:0,99407) her grupta 10 adet olmak üzere toplamda 60 adet 8 haftalık Sprague-Dawley türü dişi sıçan bu çalışmada kullanıldı.(329,531)

	PTSB Modeli	İnsizyonel Dermal Skar Modeli	Paroksetin uygulaması
1. Grup	+	+	+
2. Grup	+	+	-
3. Grup	+	-	+
4. Grup	+	-	-
5. Grup	-	+	-
6. Grup	-	-	-

Tablo 2 : Deney grupları

3. 2. Sıçanlarda Ptsb Oluşturulması Modeli Ve İnsizyonel Dermal Skar Oluşturma Modeli

3. 2. 1. PTSD oluşturulması modeli

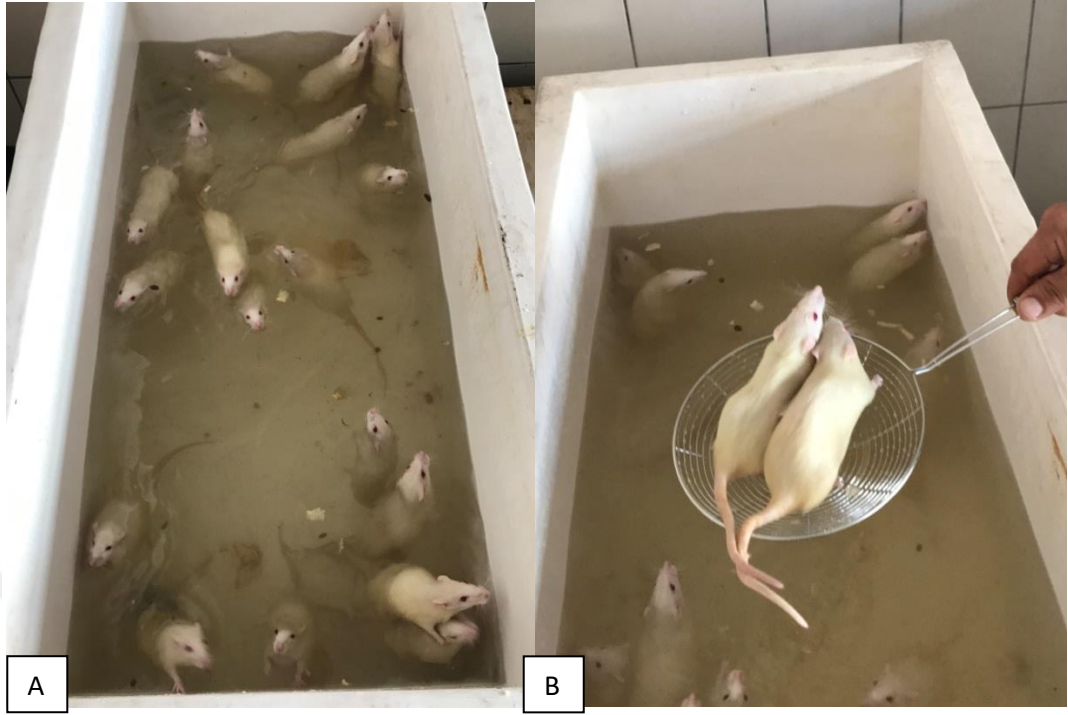
Planlamış olduğumuz deneysel çalışma için literatürde tanımlanmış olan PTSD modeli ve insizyonel dermal skar modeli uygulanmasına karar verildi.(532-538) Standart şartları sağlamak adına çalışma süresince sıçanlar kafeslerinde 12 saat gündüz 12 saat gece (08:00-20:00 arası aydınlık) olacak şekilde tutuldu. Ortam oda sıcaklığı ve neminde idi. Kafeslerinde olağan besin ve su erişimi sağlandı (ad libitum). 2 haftalık ortama alışma evresinden sonra PTSD oluşturma modeli işletilmeye başlandı. (532,533,536-538)

Randomize seçilen sıçanlar grup grup olmak üzere tanımlı modelin basamaklarına tabi tutuldular. 1., 2., 3. ve 4 . gruptaki toplam 40 adet sıçana PTSD modeli uygulanmaya başlandı. Öncelikle restrainer içinde 2 saatlik immobilizasyona tabi tutuldular.



Şekil 7: Restrainer içinde 2 saat süre ile immobilizasyona tabi tutulan sıçanlar

Daha sonra sıçanlar hızlıca restrainerden alınarak akrilikten yapılmış, 70 cm yüksekliğinde, 50 cm eninde ve 120 cm boyunda olan, yaklaşık $2/3$ ü $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ su ile dolu yüzme havuzu tankına koyuldular ve 20 dakika boyunca zorlu yüzmeye tabi tutuldular.

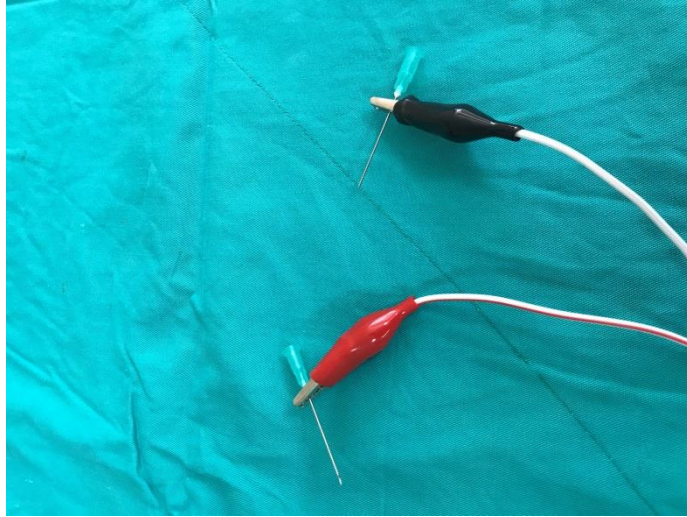


Şekil 8: 2/3 ü su dolu olan akrilik havuzda zorunlu yüzmeye tabi tutulan (A) ve 20 dk sonunda havuzdan çıkarılan (B) sıçanlar

Daha sonra sıçanlar dışarı alındı. Hipotermi gelişmemesi için kurulama işlemi uygulandı. Sıçanların yoruldukları gözlemlendi. 15 dk lık toparlanma evresi için beklendi. Sıçanlar kendine geldikten sonra şok uygulama alanına alınan sıçanlara 50 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar: Darke, Dawis, Eczacıbaşı) ve 10 mg/kg Xylazine hydrochloride (Rompun: Bayer, Almanya) intraperitoneal olarak verilerek anestezi uygulandı.(539)



Şekil 9: 1mA şiddetinde elektrik akımı sağlayacak olan güç kaynağı (Tusle TPS-303 0-30V 3A Laboratuvar Tip Ayarlı Güç Kaynağı)



Şekil 10: Elektrik akımını iletecek olan metal aparatlar.



Şekil 11: Sıçanın elektrik akımı uygulanacak olan sağ arka bacağına aparatların yerleştirilmiş hali

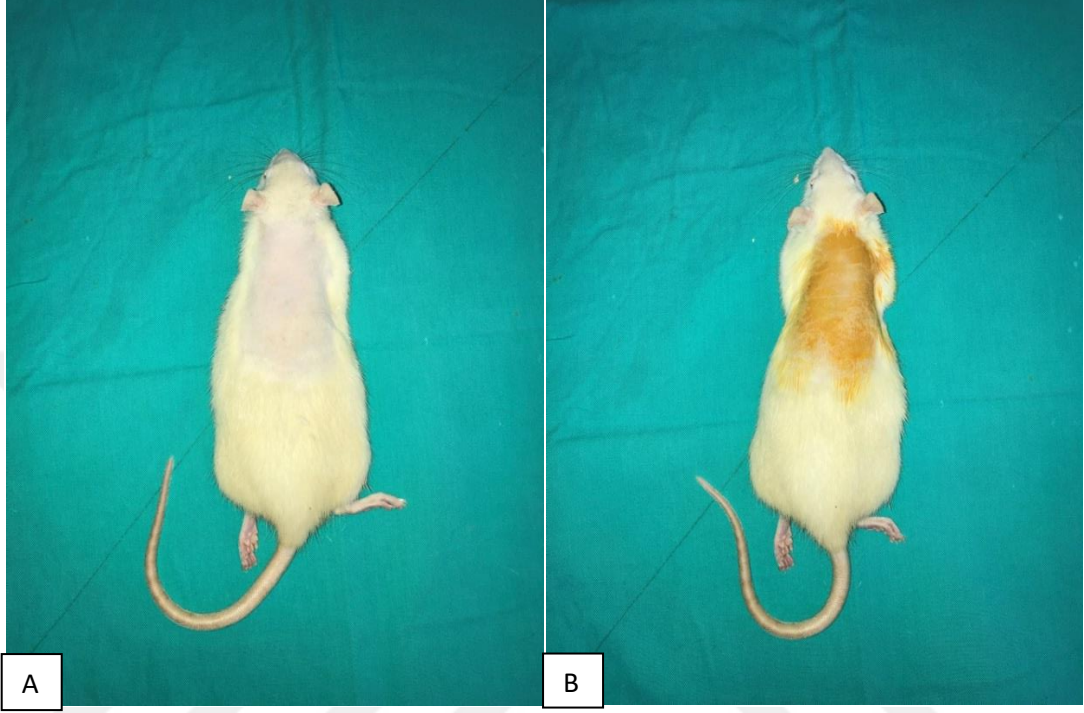
30 dakikalık toparlanma evresi sonrası sağ arka bacağına intramusküler olarak elektrik akımını iletecek olan metal aparatlar uygulandı. 196 saniye beklendi, daha sonra 4 saniye boyunca süren 1mA doğru akım şiddetinde tek bir şok uygulandı. Ağrı-acı işareti olarak zıplama yada ses çıkarma şeklinde beklenen etkinin olduğu izlendi. Şok uygulanması sonrası sıçan 60 saniye daha aynı alanda bekletildi. Ve daha sonra kafesine geri koyuldu.(532)

3. 2. 2. İnsizyonel dermal skar oluşturma modeli

Daha sonra skar modeli oluşturulacak olan sıçanlara (1., 2.ve 5. grup) (12 saatlik açlığı takiben) 50 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar: Darke, Dawis, Eczacıbaşı) ve 10 mg/kg Xylazine hydrochloride (Rompun: Bayer, Almanya) intraperitoneal olarak verilerek genel anestezi sağlandı.

Sırt derileri tıraş edilerek povidon iyot ile dezenfeksiyon uygulandı. Paraspinal hat boyunca vertikal doğrultuda 4cm uzunlukta tam kat olacak şekilde 15 numara bistüri ile ciltte insizyonel yara oluşturuldu. Daha sonra 3.0 ipek ile yaralar primer suture edildi. (534). Yara antiseptiği spreyi uygulandı.

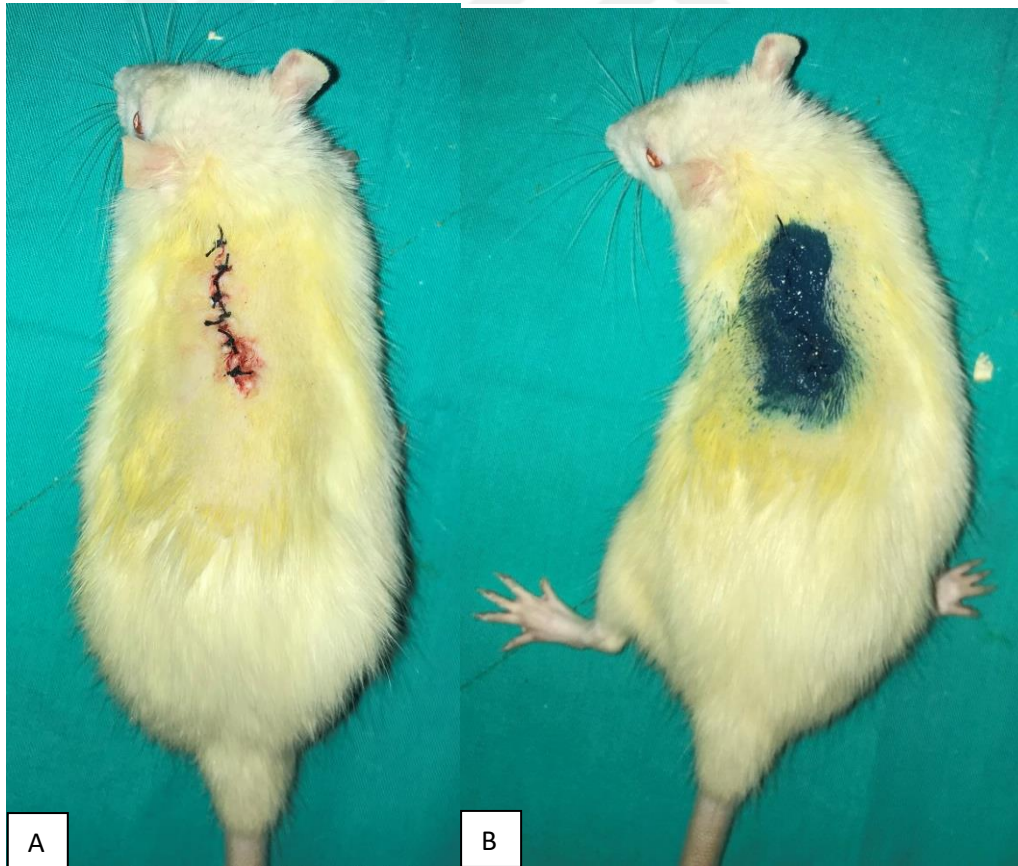
Ve sıçanlar kafeslerine koyularak 28 gün boyunca besin ve su ulaşımı serbest olacak şekilde takip edildiler.



Şekil 12: Sırtları traş edilmiş (A) ve povidon iyot ile antisepsi uygulanmış (B) sıçanlar



Şekil 13: Sırt bölgesine vertikal tam kat cilt insizyonu gerçekleştirilmesi



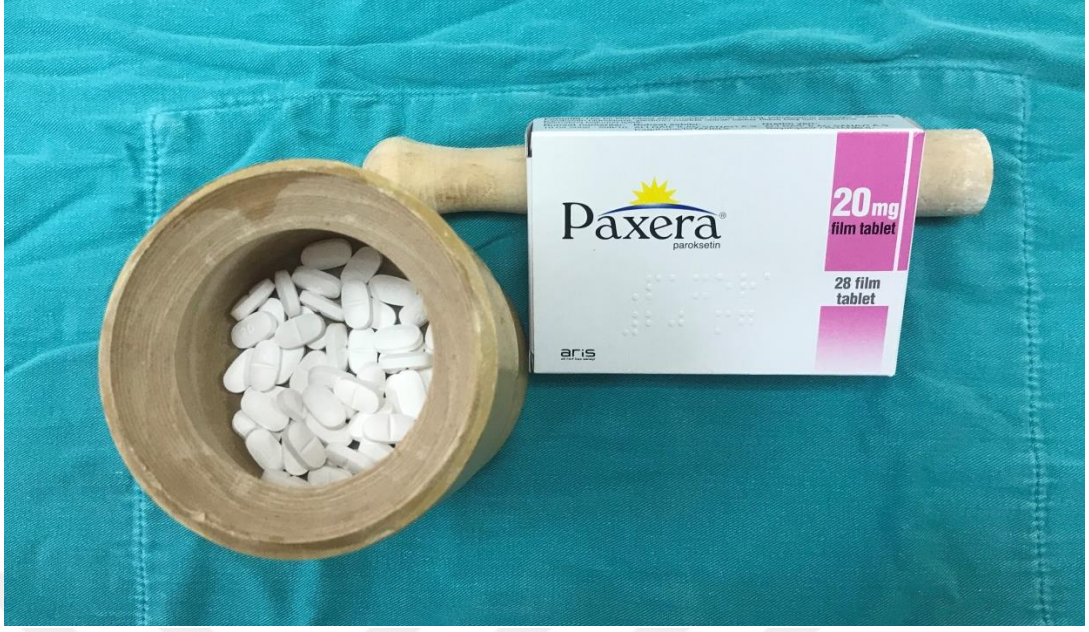
Şekil 14: Sırttaki tam kat vertikal cilt insizyonunun primer sutureasyon ile kapatılması (A) ve akabinde antiseptik yara bakımı spreyi uygulanması (B)



Şekil 15: Sıçanlar kafeslerinde besin ve su/ilaçlı su ulaşımı serbest olacak şekilde tutuldular

3. 2. 3. Oral paroksetin çözeltisi hazırlama

Bu 28 günlük süreçte gruplardan antidepresan uygulaması yapılacak olanların (1. Grup ve 3. Grup) günlük olarak içtikleri suya katılmak üzere ilgili model uyarınca 0,1mg/ml dozunda Paroksetin hidroklorür (Paxil:GlaxoSmithKline,İngiltere; Paxera: Aris,Türkiye) suda çözülerek oral alacakları içme suları hazırlandı.(538,540) Diğer sıçanlar sıvı olarak sadece su içtiler.



Şekil 16: Paroksetin içeren hapların havanda dövülerek solüsyon aşaması için hazırlanması

İlaçlı su hazırlamak için sıçanların günlük tükettiği sıvı miktarı ortalama olarak 50ml alındı.(541) İlaçlı su tüketecek iki grupta toplam 20 sıçan mevcut idi. Günlük toplam 1 lt tüketecekleri düşünülerek 30 lt ilaçlı su çözeltisi hazırlanması kararlaştırıldı. 0,1mg/ml paroksetin çözeltisi hazırlanması için her biri 20 mg paroksetin içeren tabletlerden en az 150 tane olacak şekilde alındı. 50 şer adetler halinde havanda dövülerek 10 ar litrelik solüsyon kaplarına karıştırıldı.(538) Ve böylelikle 3 adet 10 litrelik 0,1mg/ml paroksetin içeren ilaçlı su çözeltisi hazırlandı. Deney süresince 1. ve 3. grupların içme suları bu çözeltilerden tedarik edildi.



Şekil 17: Hazırlanmış olan 0,1mg/ml paroksetin içeren ilaçlı su solüsyonları. 1. Grup ve 3. Grubun içme suları.

Uygulamış olduğumuz literatürde tanımlı PTSB oluşturma hayvan deneyi modeli gereğince uygulanan basamakları takiben 14 gün inkübasyon sonrasında sıçanlarda PTSB semptomları oturmaktadır.(532,533)

3. 3. Sıçanların Sakrifiye Edilmesi ve Biyopsi Materyallerinin Alınması

Sakrifiye edilmeden önce yapılan muayenelerinde sıçanların fiziki olarak sağlıklı oldukları görüldü. PTSB modeli uygulamasına bağlı olarak her hangi bir sekel gelişimi izlenmedi. İnsizyonel dermal skar modeline bağlı olarak enfeksiyon,

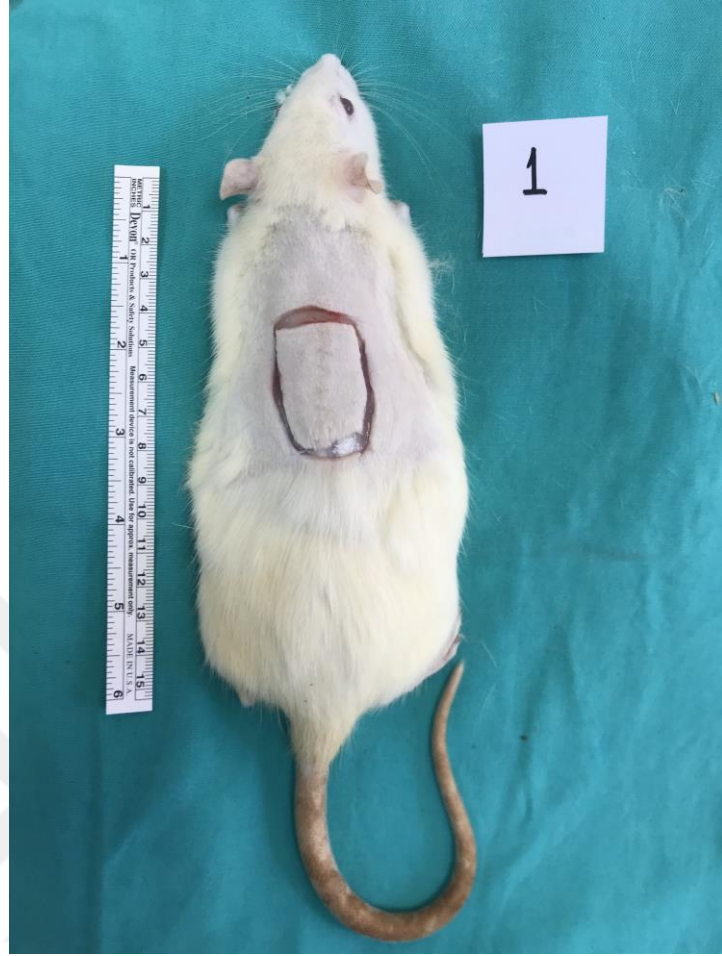
yara yeri detaşmanı gibi her hangi bir komplikasyon ile karşılaşılmadı. Deney süresince deney hayvanı kaybı yaşanmadı.

Yara iyileşmesinin proliferasyon fazının tamamlanması ile (28. Gün) tüm gruptaki sıçanlar yüksek doz intraperitoneal genel anestezi uygulanarak sakrifiye edildi. Sırtları traş edildi.

1.grup, 2. grup ve 5. gruptaki sıçanların sırtlarındaki skar hatları sağdan ve soldan en az 0,5cm sağlam deri dahil edilerek 4x1cm boyutunda ve tam kat deri kalınlığında olacak şekilde spesmenler halinde bisturi yardımıyla toplandı.Yine 3.grup, 4.grup ve 6. Gruptaki skar modeli uygulanmayan sıçanların da sırtlarından 4x1cm boyutlarında tam kat deri kalınlığında sağlam deri spesmenleri toplandı. Bütün spesmenler (60 adet) ayrı ayrı olacak şekilde özel tamponlu formaldehit solüsyonlarının olduğu kaplara alındı.



Şekil 18: İnsizyonel dermal skar modeli uygulamasının 28. gününde sakrifiye edilen 1. Gruba ait rastgele seçilmiş bir sıçanın sırtındaki skar hattının makroskopik görüntüsü.



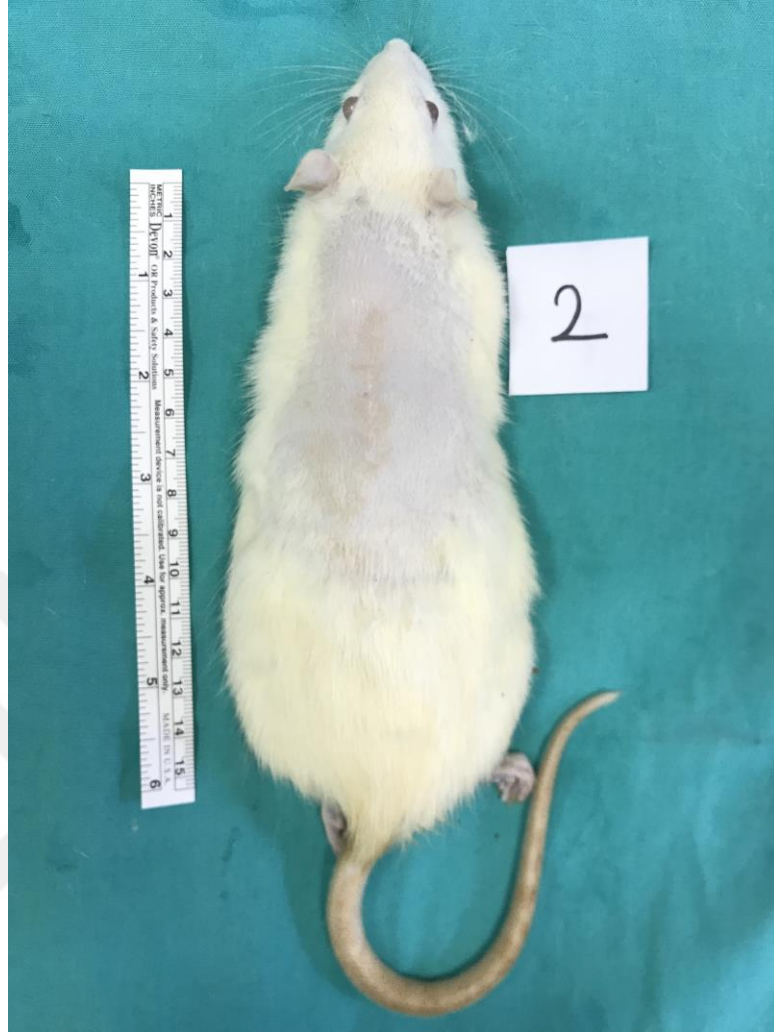
Şekil 19: Sırt bölgesindeki skar hattının 4x1cm boyutunda olacak şekilde biyopsi materyali olarak planlanması (1. Grup)



Şekil 20: Skar hattının biyopsi materyalinde cilt dokusunu tam kat içerecek şekilde kaldırılması (1. Grup)



Şekil 21: Sırt bölgesindeki skar hattını içeren eksize edilmiş biyopsi materyali görüntüsü (1. Grup)



Şekil 22: İnsizyonel dermal skar modeli uygulamasının 28. gününde sakrifiye edilen 2. Gruba ait rastgele seçilmiş bir sıçanın sırtındaki skar hattının makroskopik görüntüsü.



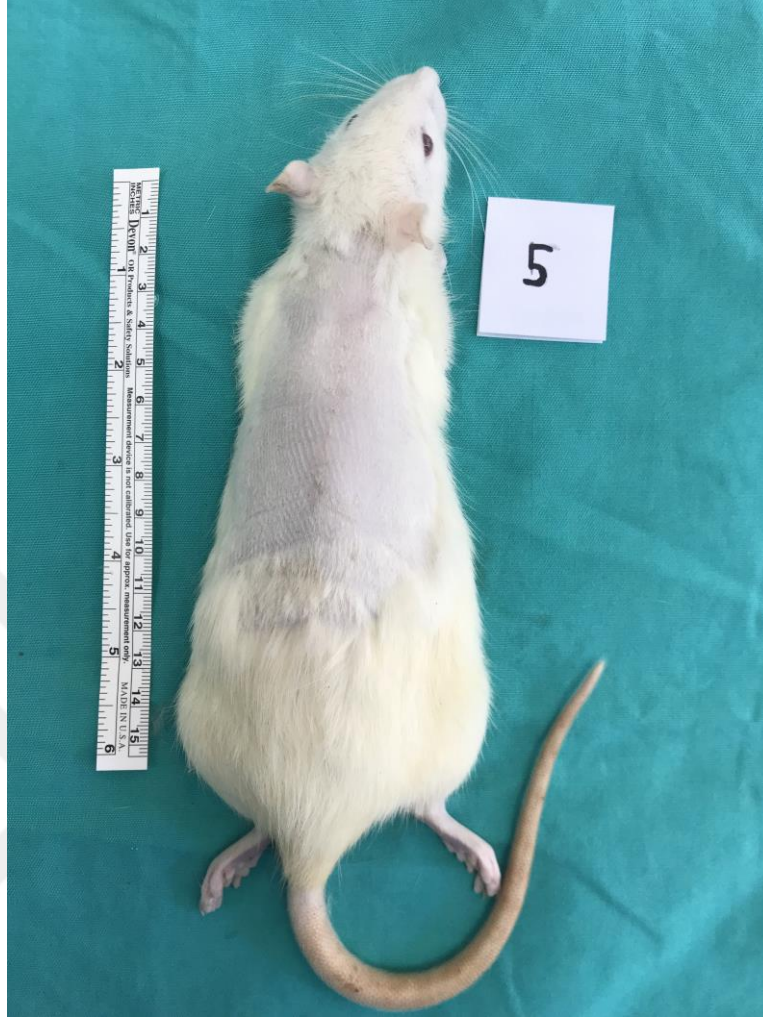
Şekil 23: Sırt bölgesindeki skar hattının 4x1cm boyutunda olacak şekilde biyopsi materyali olarak planlanması (2. Grup)



Şekil 24: Skar hattının biyopsi materyalinde cilt dokusunu tam kat içerecek şekilde kaldırılması sonrası eksizyon alanı görüntüsü. (2.Grup)



Şekil 25: Sırt bölgesindeki skar hattını içeren eksize edilmiş biyopsi materyali görüntüsü (2. Grup)



Şekil 26: İnsizyonel dermal skar modeli uygulamasının 28. gününde sakrifiye edilen 5. Gruba ait rastgele seçilmiş bir sıçanın sırtındaki skar hattının makroskopik görüntüsü.



Şekil 27: Sırt bölgesindeki skar hattının 4x1cm boyutunda olacak şekilde biyopsi materyali olarak planlanması (5. Grup)



Şekil 28: Skar hattının biyopsi materyalinde cilt dokusunu tam kat içerecek şekilde kaldırılması (5. Grup)



Şekil 29: Sırt bölgesindeki skar hattını içeren eksize edilmiş biyopsi materyali görüntüsü (5. Grup)



Şekil 30: Toplanan spesmenlerin her biri ayrı ayrı özel tamponlu formaldehit solüsyonlarının olduğu kaplarda muhafaza edildi. (60 adet biyopsi materyali)

3. 4. Histolojik, İmmünohistokimyasal Ve Histomorfolojik Çalışma Yöntemi

3. 4. 1. Histolojik inceleme

Histopatolojik ve immünohistokimyasal çalışma için hayvanlardan alınan doku örnekleri, %10'luk tamponlu formalinde 24 saat fikse edildi. Fiksasyonun ardından, doku örnekleri tam otomatik doku takip cihazında (Histokinet) (Leica TP 1020 ve Leica EG 1160; Leica, Wetzlar, Germany) alkol (70°, 80°, 90°, 96° ve 100°) ve kloroform serilerinde işlem gördükten sonra (42-44 °C) yumuşak parafine alındı ve ardından 56- 58°C'lik parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica

RM2155; Leica, Wetzlar, Germany) ile alınan 4-µm kalınlığındaki kesitlere, histolojik inceleme için Masson trikrom boyama yapıldı.

3. 4. 2. İmmünohistokimyasal protein işaretleme

Parafin kesitler deparafinizasyon işleminden sonra hidrate edilmiş, saf su ile çalkalanarak yıkanmıştır. Lamlar saf suda yıkandıktan sonra, 10-15 dakika boyunca tuzlu fosfat tamponu (PBS) (pH 7.2)'nda bekletilmiştir. Oda sıcaklığında ve nemli ortamda %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂)'de endojen peroksidaz aktivitesinin engellenmesi için 5 dakika tutulduktan sonra PBS'e alınmıştır ve 10 dakika boyunca yıkanmıştır. Ardından sekonder boyanmaları engellemek için preparatlar 20 dakika süt tozunda bekletilmiştir. Ardından 5 dakika distile su ile ve ardından 10 dakika boyunca dokular PBS ile iyice yıkanmıştır. Daha sonra, oda sıcaklığında 10 dakika bloklanmıştır. Kesitler, antikör uygulama protokolüne uygun olarak oda sıcaklığında 1,5 saat tutulmuştur. Anti-Substans P antikoru (ABCAM; ab10353) antikör sulandırıcı ile 1:300 konsantrasyonda sulandırılarak uygulanmıştır. Kesitler, PBS'de 3 kez 5'er dakika yıkandıktan sonra, 30 dakika oda sıcaklığında, sekonder antikör ile inkübe edilmiş ve ardından PBS'de yıkanmıştır. Bunu takiben kesitler, peroksidaz ile işaretli streptavidin'de oda sıcaklığında 30 dakika tutulmuştur. Renkli reaksiyon ürününün oluşması için, 12 dakika 3-amino-9-etilkarbazol (AEC) ile inkübe edildikten sonra, distile su ile yıkanan ve 45 saniye boyunca Mayer hematoksilende tutularak zıt boyama yapılan kesitler, 5 dakika musluk suyunda yıkandıktan sonra gliserol jelatin ile kapatılmıştır. Tüm preparatlar, Olympus BX53F Tokyo-Japon mikroskobu ile incelendi ve Olympus DP21 kamera görüntüleme sistemi kullanılarak kesitlerin fotoğrafları çekildi.

3. 4. 3. Histolojik Skor (H-Skor)'un hesaplanması

Tüm değerlendirmeler, iki kör gözlemci tarafından bağımsız olarak yapıldı. Yapılan immünohistokimyasal boyama sonrasında deri/skar dokusundan alınan doku kesitlerindeki reaksiyonlar, grupların tüm bireylerinde, 40x büyütmede ve rastgele seçilmiş 8-10 farklı alanda değerlendirildi. İmmünohistokimyasal olarak Substans P reaksiyonunu analiz etmek için, kesitlerdeki immün pozitif hücreler histolojik skor

(H-Skor) kullanılarak değerlendirildi. Pozitif boyanan hücreler sayılarak, boyanma yoğunluğuna bağlı olarak derecelendirildi: 0, negatif; 1, hafif; 2, orta; 3, yoğun olarak kabul edildi. Her bir dokuda H-Skor değeri, $H\text{-Skor} = \sum_{i=1}^n P_i$ formülüyle belirlendi. Formülde, “i” yoğunluk skoru (derecesi), “ P_i ” ise boyanma gösteren hücrelere ait yüzde değeridir.(542,543)

3. 4. 4. Histomorfometrik inceleme

İnsizyonel dermal skar modeli uygulanmış olan Grup 1, Grup 2 ve Grup 5 in immünohistokimyasal ve histolojik incelemelerinin 20X büyütme kesitlerinin mikroskop üzerindeki kamera aracılığıyla elektronik veri ortamına aktarılmış görüntüleri üzerinde ‘ImageJ’ programı kullanılarak histomorfometrik inceleme yapılmıştır.(553) Kesitlerdeki immatür skar alanlarının dermiste horizontal ve vertikal hatta göstermiş oldukları skar dokusu ile uyumlu morfolojik hücre dizilim farklılıkları esas alınarak histomorfometrik immatür skar alanları hesaplanmıştır.

3. 5. İstatistiksel Analiz

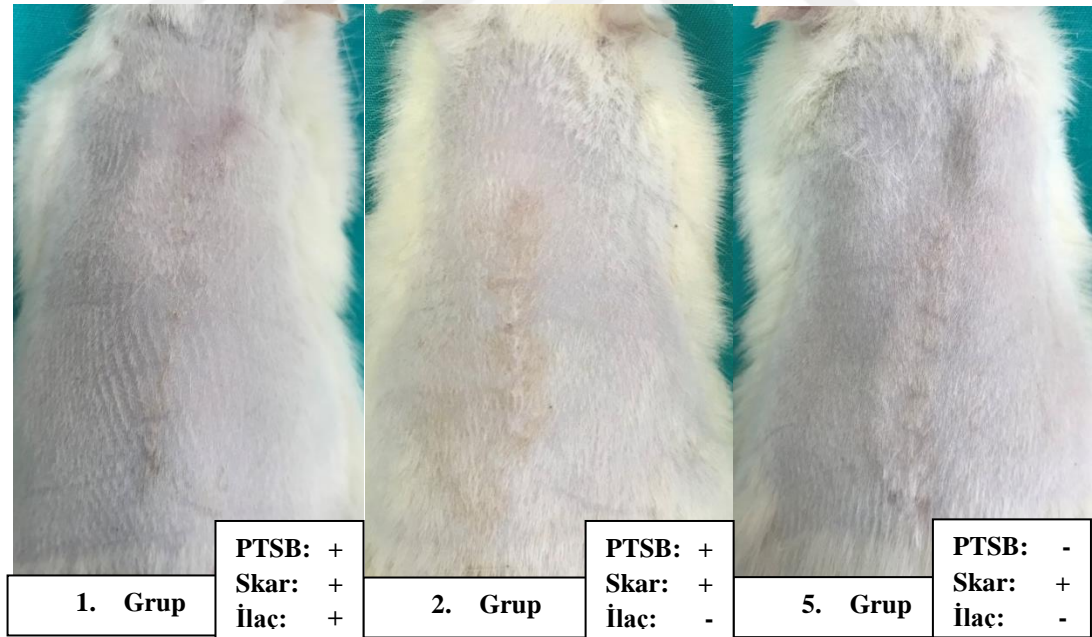
Çalışma sonunda elde edilen bulgular, ortalama±standart hata (S.E.M.) olarak hesaplandı. Grupların dağılımının normal dağılıma uygunluğunun test edilmesini takiben, istatistiksel değerlendirme GraphPad Prism (GraphPad Prism Version 6 Software Program, San Diego, CA) Programı kullanılarak, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrasında Tukey çoklu karşılaştırmalar testi ile yapıldı. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4- BULGULAR

Çalışmada yer alan 60 adet sıçanın tamamı sakrifiye edildikleri 28. güne kadar sağlıklı olarak yaşadılar. Hepsi çalışmaya dahil edildi, çalışmadan çıkartılmalarını gerektirecek bir komplikasyon izlenmedi.

4. 1. Makroskopik Bulgular

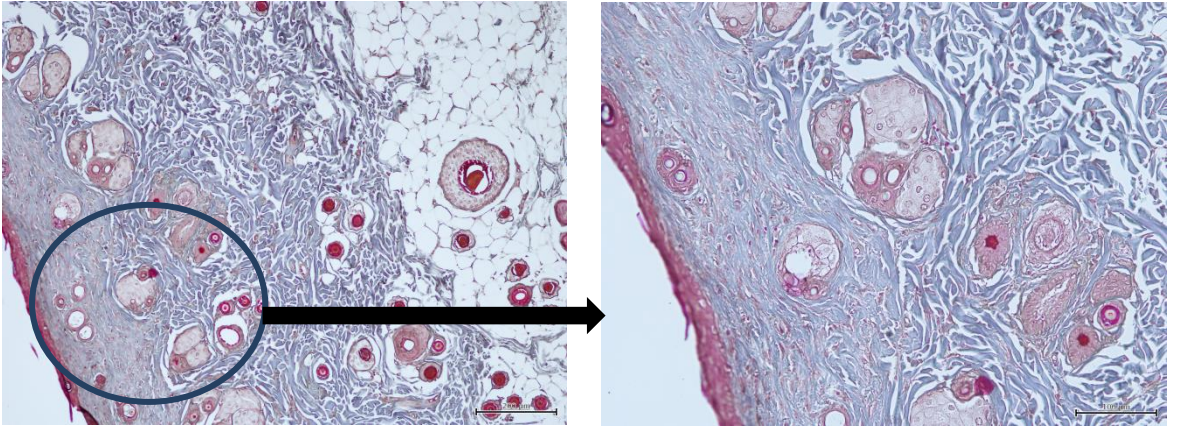
Spesmenlerin toplanması öncesinde insizyonel dermal skar oluşturma modeli uygulanmış olan Grup 1, Grup 2 ve Grup 5 teki sıçanların skar hatları makroskopik olarak incelendi. Grup 2 deki sıçanların skar iyileşme hattının diğer iki gruptan hipertrofi ve kalınlık açısından belirgin fark gösterdiği izlendi. Makroskopik olarak en iyi iyileşme gösteren, skar belirginliği en az olan 1. Grup idi. (Resim 25) (Fotoğraflamalar aynı ortam ve aynı ışık altında aynı cihaz ile standart olarak yapılmıştır.)



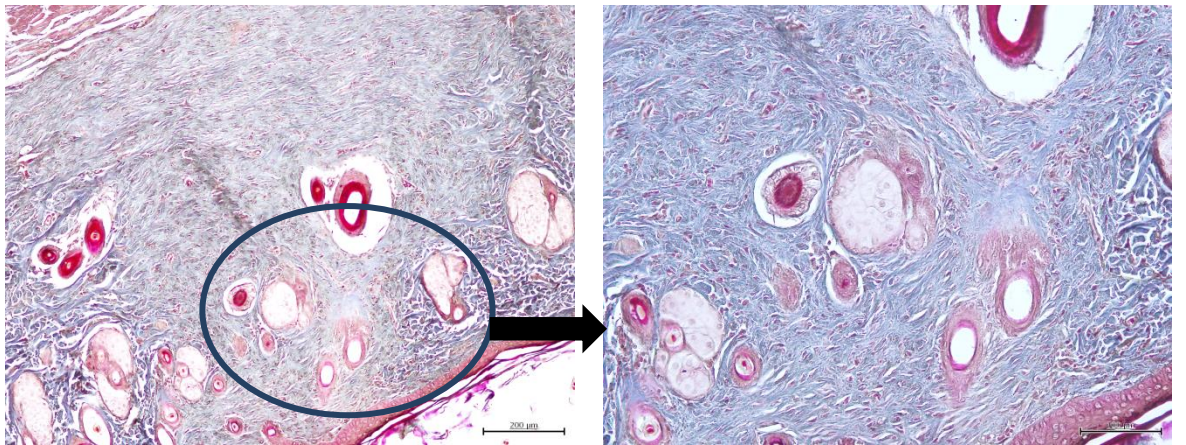
Şekil 31: İnsizyonel dermal skar modeli uygulanmış grupların eksizyonel biyopsi öncesi karşılaştırmalı makroskopik görünümleri.

4. 2. Histopatolojik Bulgular

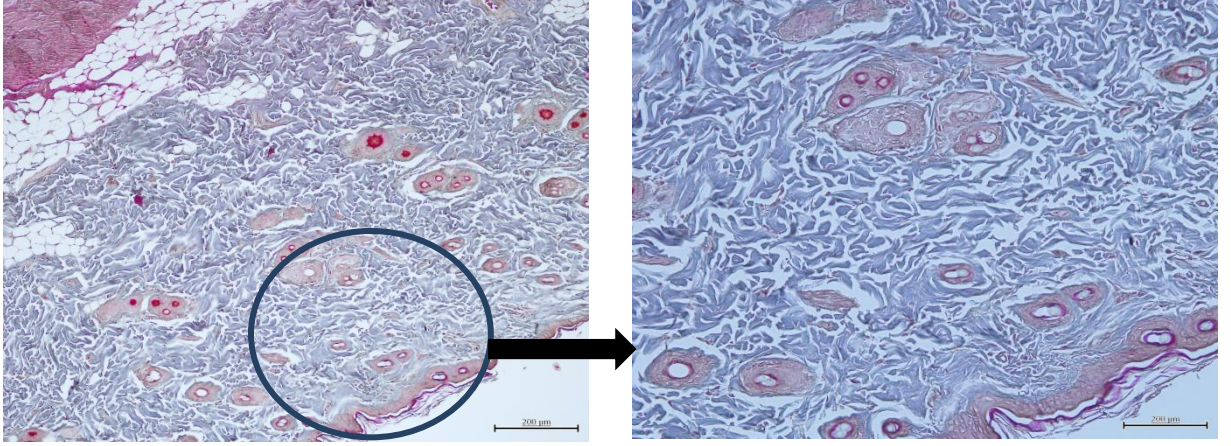
Histopatolojik inceleme için bütün spesmenler uygun kesitlerde Masson trikrom boyama yöntemiyle hazırlandı. İnsizyonel dermal skar modeli uygulanan grupların iyileşme hatlarındaki immatür skar dokuları ve histolojik dağılımı gösterildi. Skar modeli uygulanmayan gruplarda sağlam deri alanlarının histolojik kesitleri gösterildi.



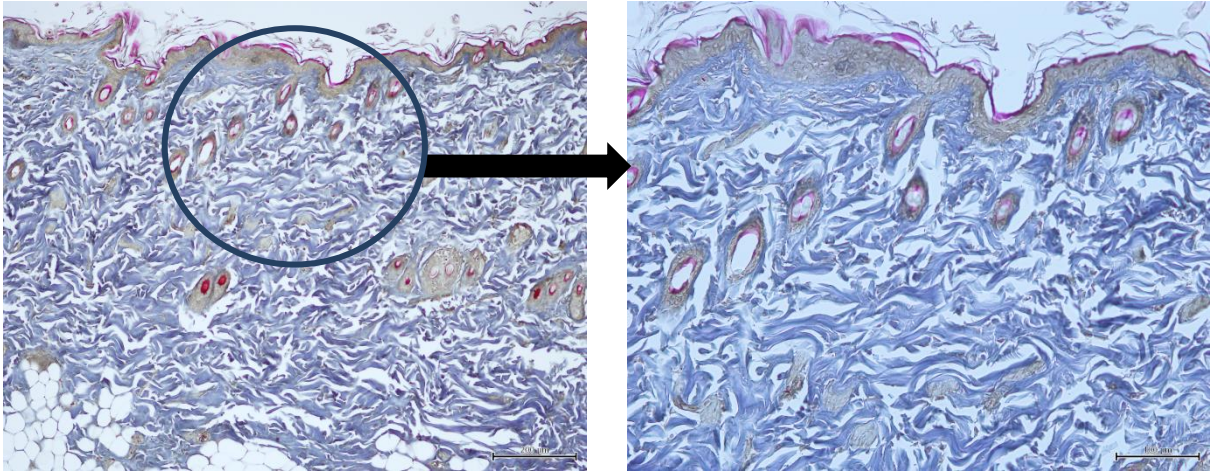
Şekil 32: *Grup 1* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü. Bar: 200-100 μm



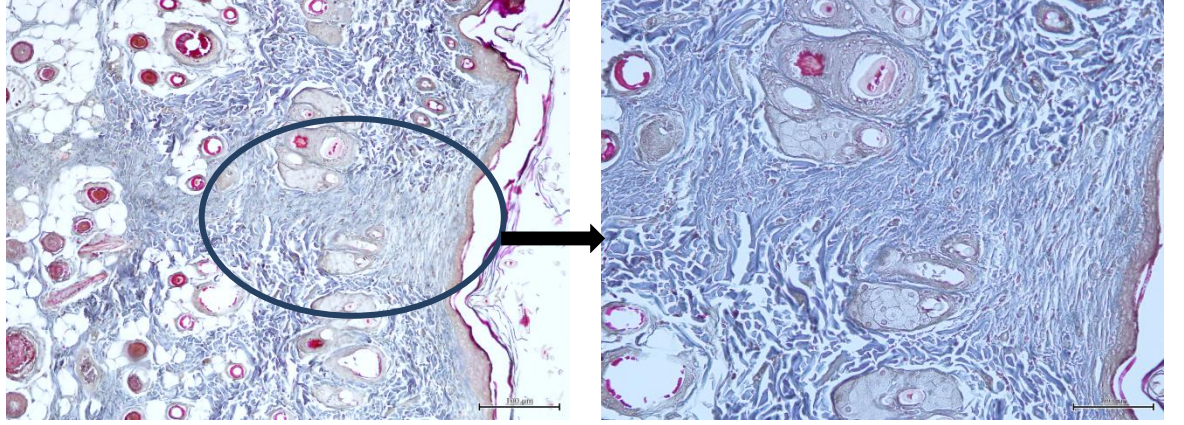
Şekil 33: *Grup 2* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü. Bar: 200-100 μm



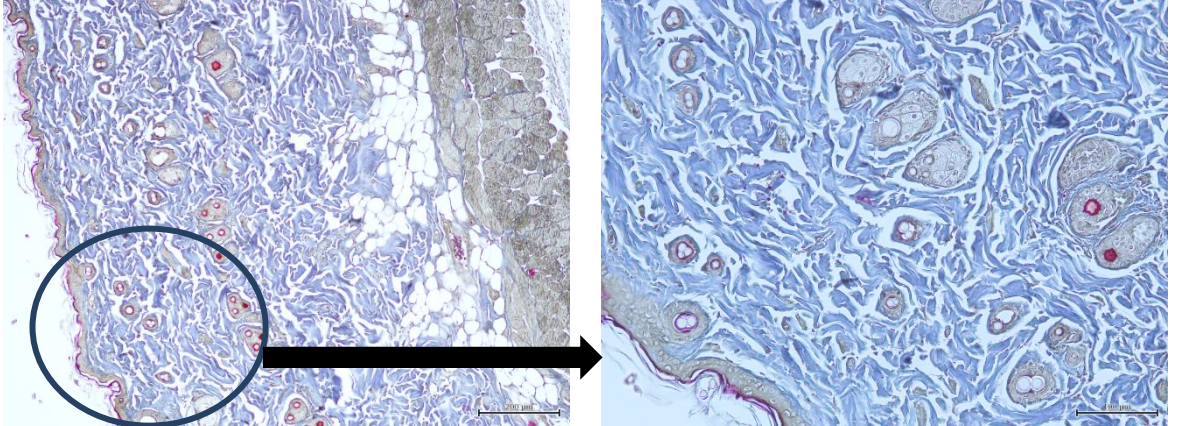
Şekil 34: *Grup 3* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü. Bar: 200-100 μm



Şekil 35: *Grup 4* ; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü. Bar: 200-100 μm



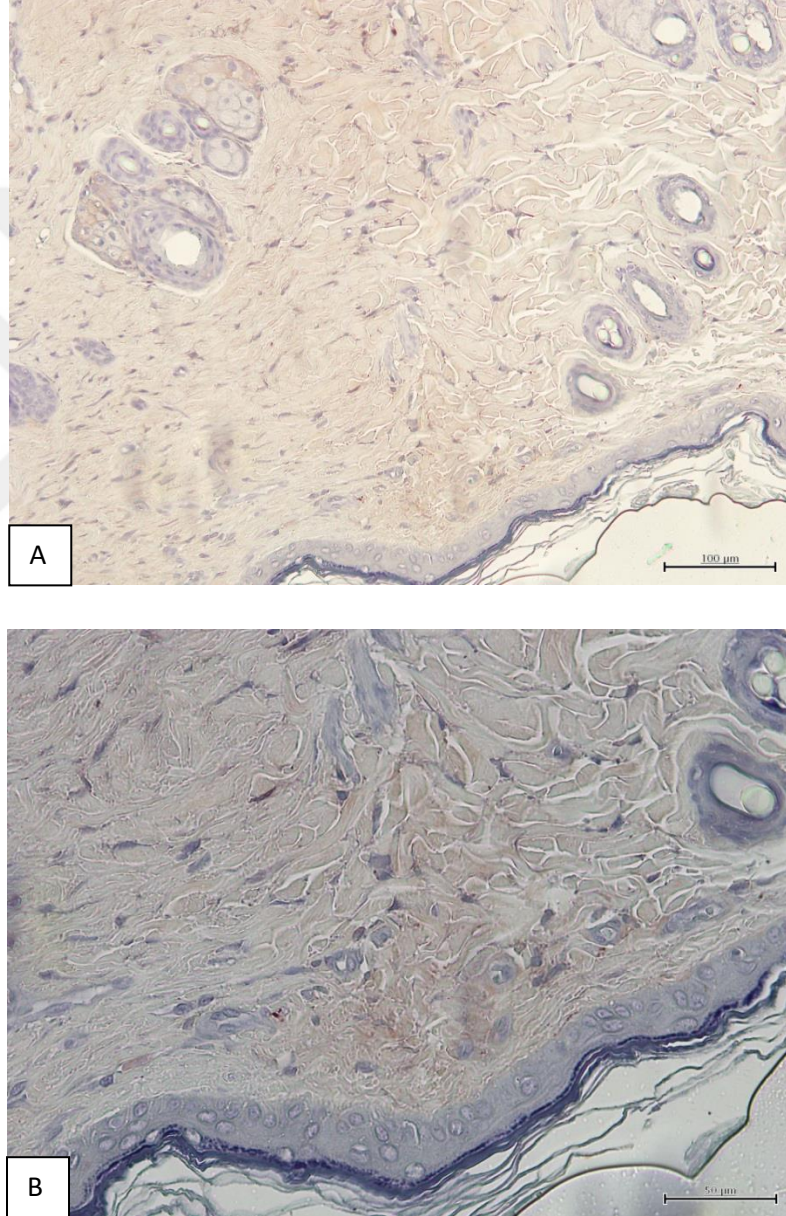
Şekil 36: *Grup 5*; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü. Bar: 200-100 μm



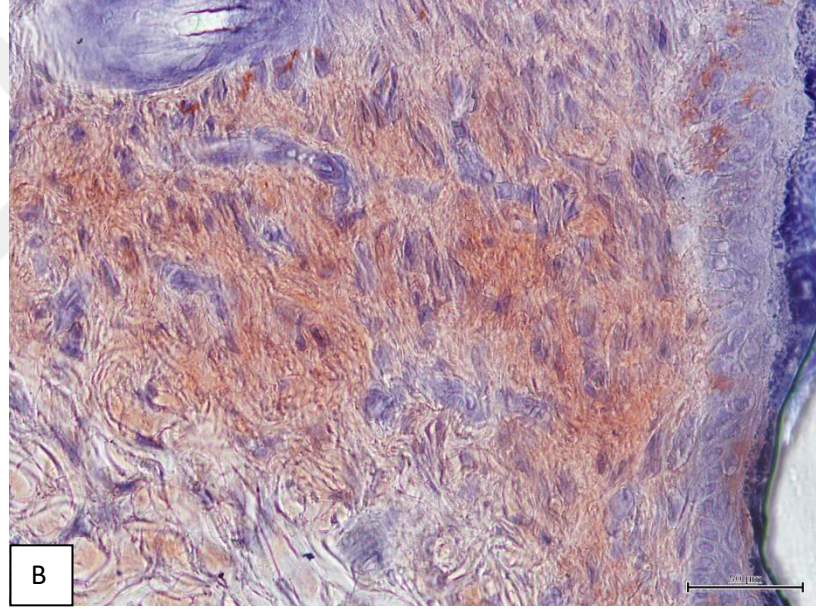
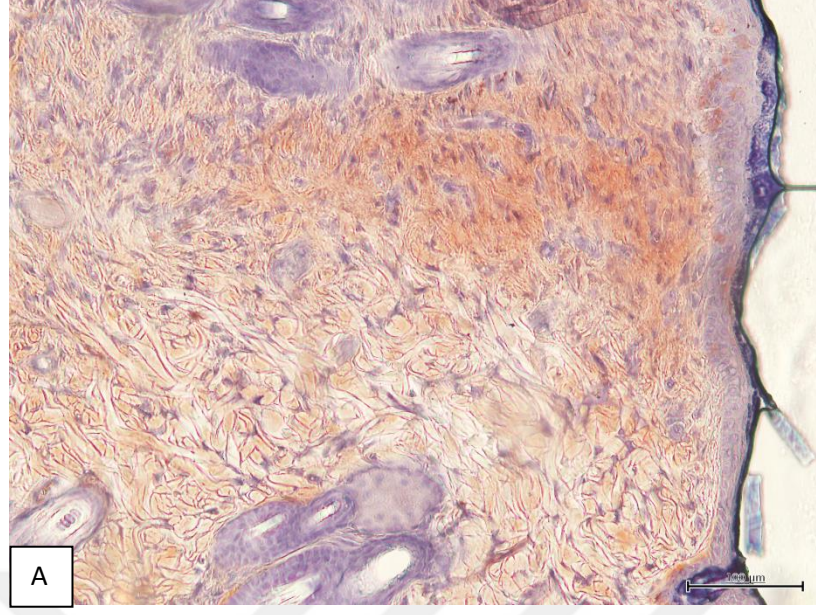
Şekil 37: *Grup 6*; Deri kesitlerinin Masson trikrom ile 10x ve 20x büyüklükteki görüntüsü. Bar: 200-100 μm

4. 3. İmmünohistokimyasal Bulgular

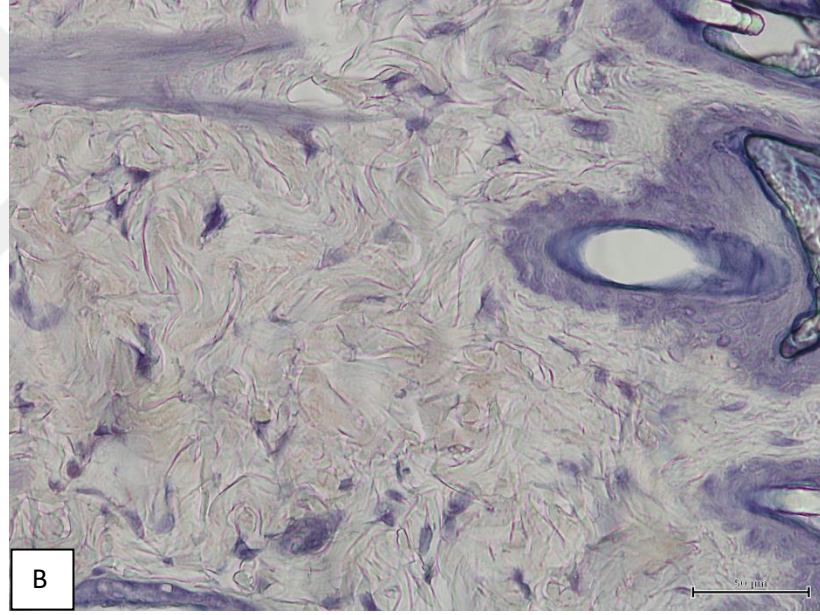
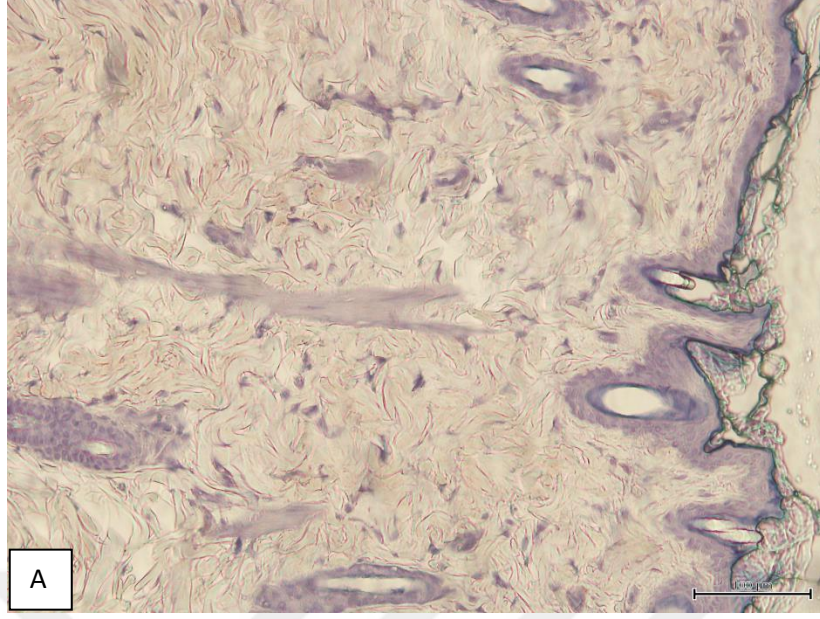
Nörojenik inflamasyonun en önemli işaretçisi olan Substans P nin tüm deney gruplarındaki spesmenlerden alınan kesitlerdeki tutulumlarını görmek ve miktarlarını ölçmek amacıyla Anti-Substans P antikoruna ile immünohistokimyasal çalışma yapıldı. 6 deney grubunun bütün spesmenlerinden alınan kesitler çalışıldı. Substans P tutulum miktarlarının tespiti için H-skorları hesaplandı. Ve istatistiksel analiz yapıldı.



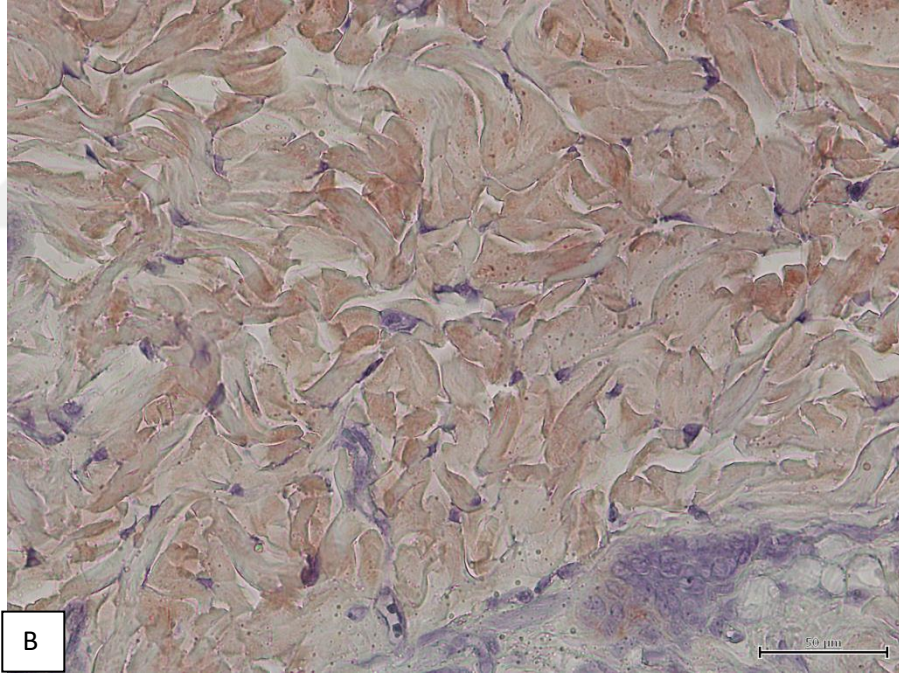
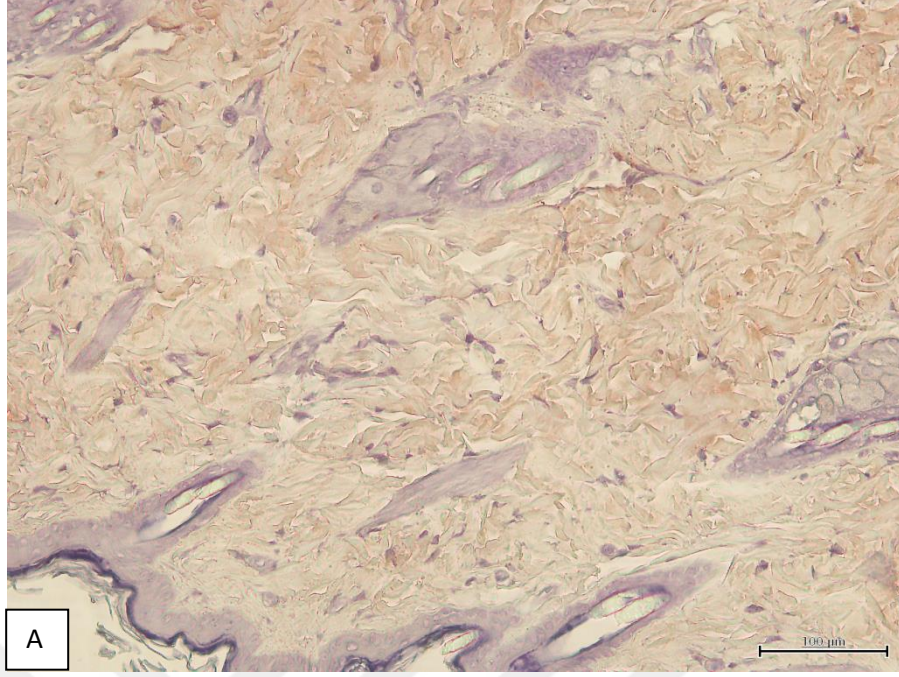
Şekil 38: *Grup 1*; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm



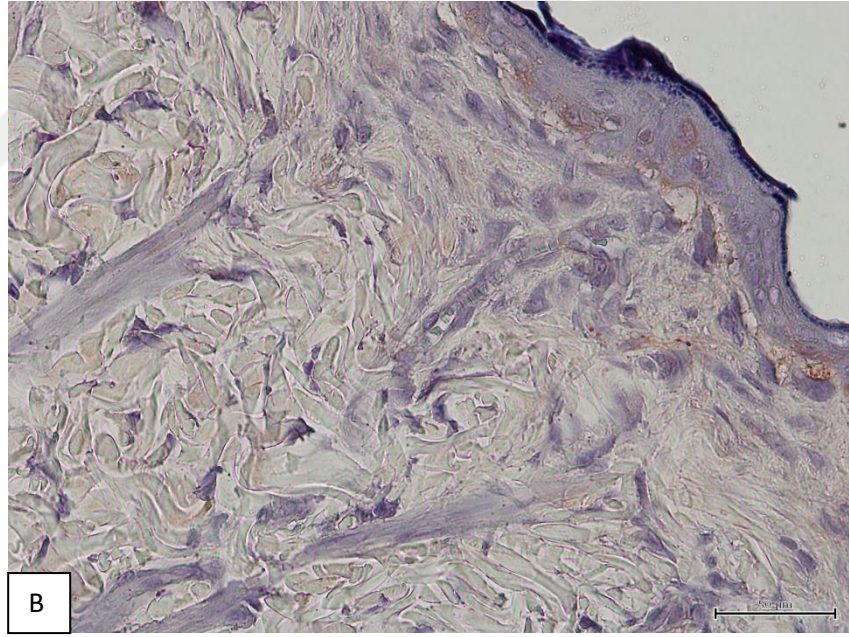
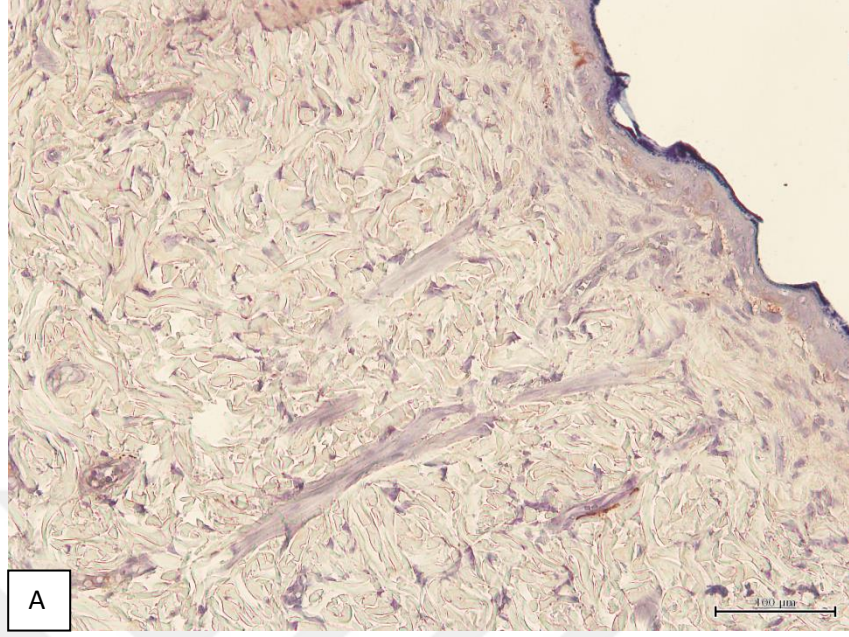
Şekil 39: *Grup 2*; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm



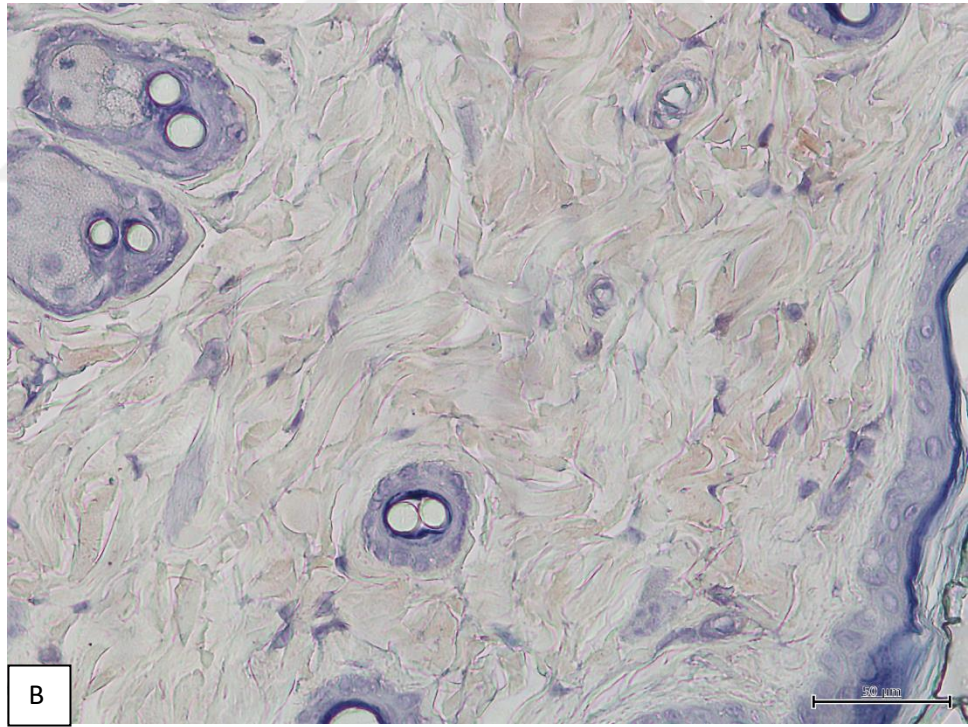
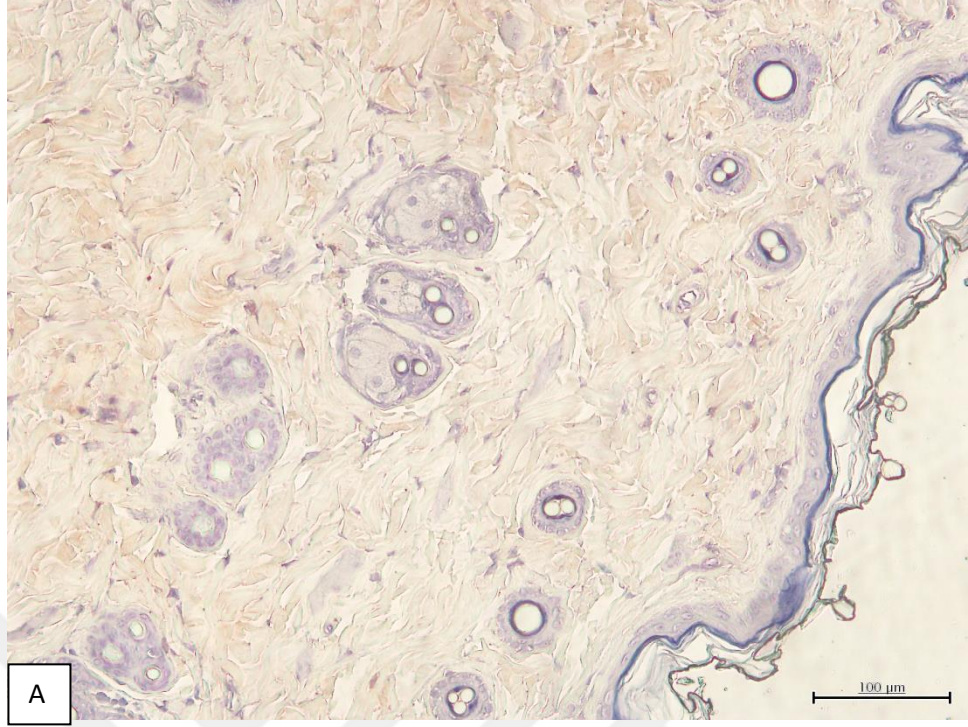
Şekil 40: *Grup 3* ; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm



Şekil 41: *Grup 4*; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm



Şekil 42: *Grup 5*; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm



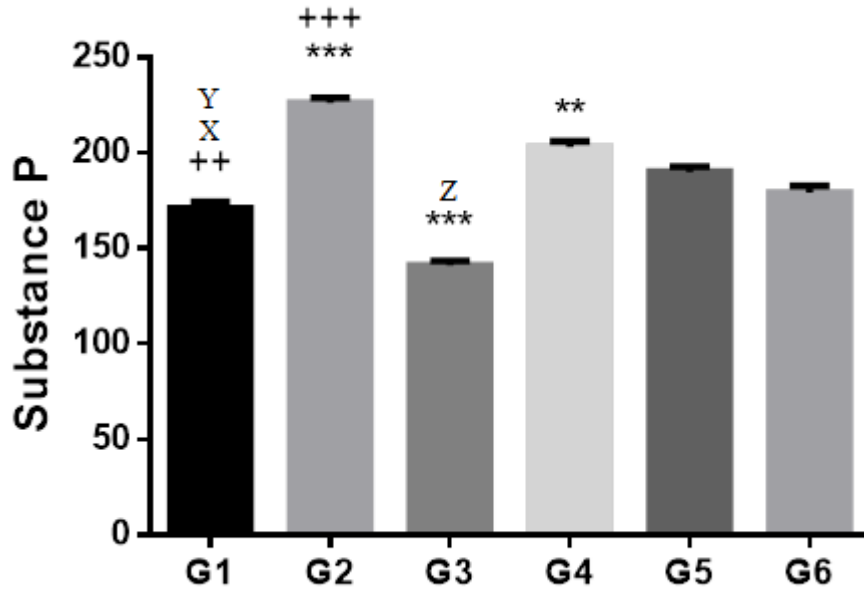
Şekil 43: *Grup 6*; Deri kesitlerine ait Substans P reaksiyonunun 20x(A) ve 40x(B) büyüklükteki görüntüsü. Zıt boya: Mayer Hematoksilen. Bar: 200-100 µm

4. 4. Substans P (H-Skor) Değerleri ve İstatistiksel Analiz

Gruplar	Substans P (H-Skor)
Grup 1	171,2± 3,309 ++ ,X ,Y
Grup 2	226,2± 2,750***, +++
Grup 3	141,1± 2,305*** ,Z
Grup 4	203,0± 3,177**
Grup 5	190,0± 2,887
Grup 6	179,3± 3,651

Tablo 3: Gruplara ait Substans P (H-Skor) değerleri

(**P<0,01, ***P<0,001; kontrol grubuna göre anlamlılık değeri. ++ P<0,01 ve +++ P<0,001; İnsizyonel dermal skar modeli uygulanan gruplar arasında Grup 5'e göre skarlı grupların anlamlılık değerleri. X:P<0,001; Grup 1 in Grup 2 ye göre anlamlılık değeri. Y:P<0,01; Grup 1 in Grup 3 ye göre anlamlılık değeri. Z:P<0,001; Grup 3 ün Grup 4 e göre anlamlılık değeri.)



Tablo 4: Gruplara ait Substans P (H-Skor) değerlerinin istatistiksel analiz grafiği

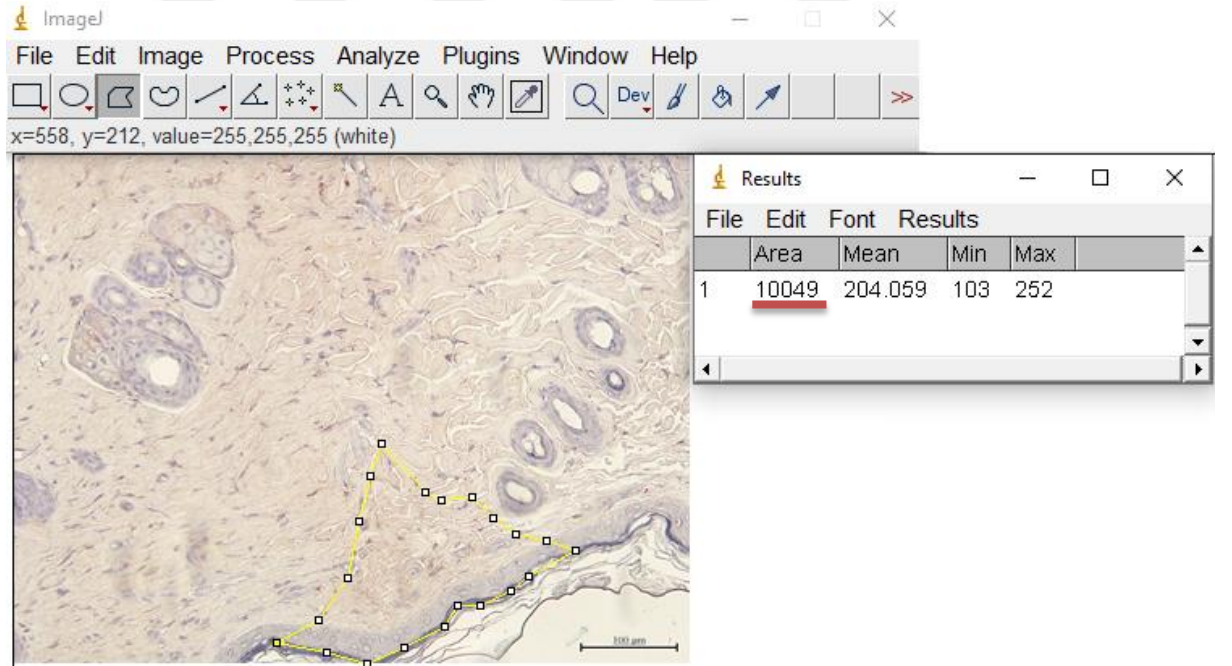
(**P<0,01, ***P<0,001; kontrol grubuna göre anlamlılık değeri. ++ P<0,01 ve +++ P<0,001; İnsizyonel dermal skar modeli uygulanan gruplar arasında Grup 5'e göre skarlı grupların anlamlılık değerleri. X:P<0,001; Grup 1 in Grup 2 ye göre anlamlılık değeri. Y:P<0,01; Grup 1 in Grup 3 ye göre anlamlılık değeri. Z:P<0,001; Grup 3 ün Grup 4 e göre anlamlılık değeri.)

Hesaplanan Substans P (H-Skor) değerlerinin istatistiksel analiz sonuçlarına göre;

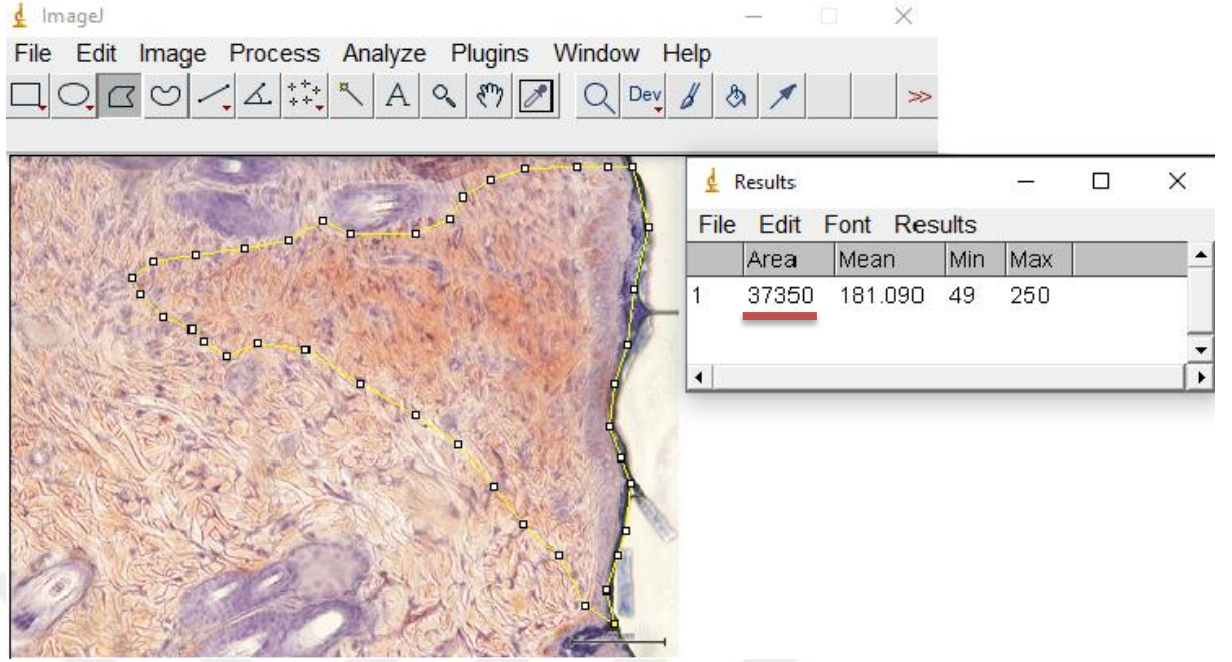
- Grup 2 nin Substans P (H-Skor) değerinin kontrol grubu olan Grup 6 ya göre yüksekliği anlamlı farklılık göstermiştir.(P<0,001)
- Grup 2 nin insizyonel dermal skar modeli uygulanan gruplar (Grup1, 2 ve 5) arasında Grup 5 e göre yüksekliği anlamlı farklılık göstermiştir.(P<0,001)
- Grup 3 ün Substans P (H-Skor) değerinin kontrol grubu olan Grup 6 ya göre düşüklüğü anlamlı farklılık göstermiştir.(P<0,001)
- Grup 4 ün Substans P (H-Skor) değerinin kontrol grubu olan Grup 6 ya göre yüksekliği anlamlı farklılık göstermiştir.(P<0,01)
- Grup 1 in Substans P (H-Skor) değerinin insizyonel dermal skar modeli uygulanan gruplar (Grup1, 2 ve 5) arasında Grup 5 e göre düşüklüğü anlamlı farklılık göstermiştir.(P<0,01)

- Grup 1 in Substans P (H-Skor) değeri, kontrol grubu olan Grup 6 ya göre anlamlı farklılık göstermemiştir.
- Tüm gruplar arasındaki en düşük Substans P (H-Skor) değeri Grup 3 te bulunmuştur.
- Tüm gruplar arasındaki en yüksek Substans P (H-Skor) değeri Grup 2 de bulunmuştur.
- Grup 1 in Substans P (H-Skor) değerinin Grup 2 ye göre düşüklüğü anlamlı farklılık göstermiştir. (P<0,001)
- Grup 1 in Substans P (H-Skor) değerinin Grup 3 e göre yüksekliği anlamlı farklılık göstermiştir. (P<0,01)
- Grup 3 ün Substans P (H-Skor) değerinin Grup 4 e göre düşüklüğü anlamlı farklılık göstermiştir. (P<0,001)

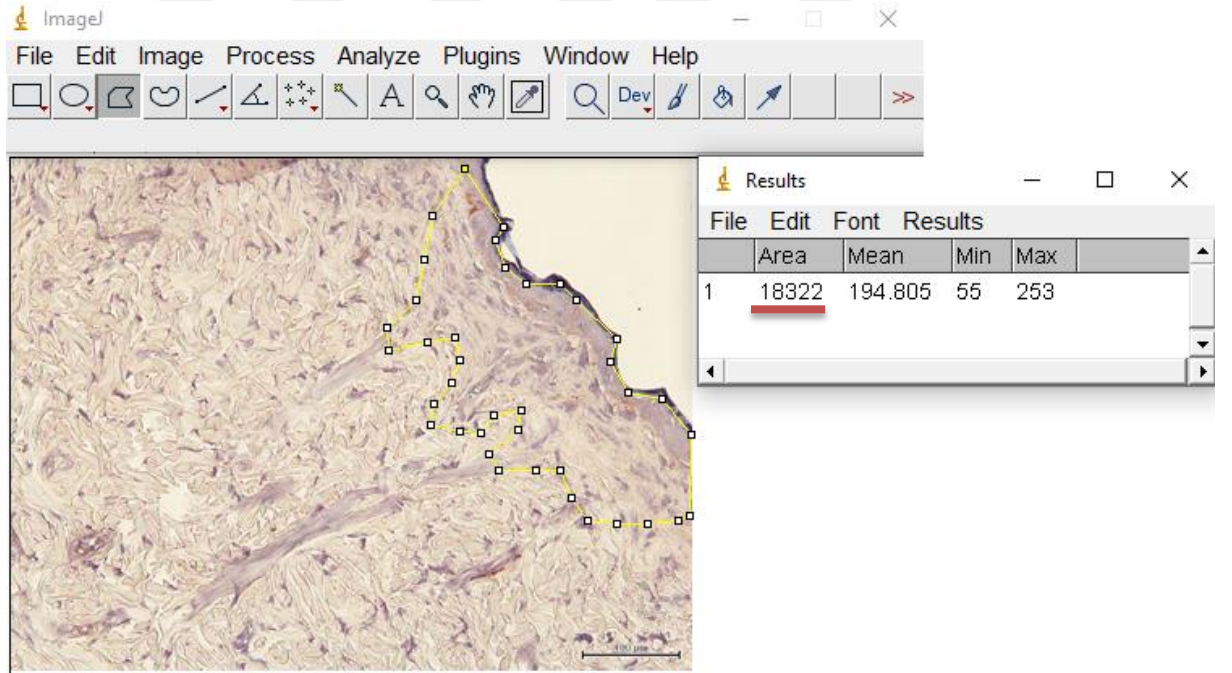
4. 5. Histomorfometrik İnceleme ve İstatistiksel Analiz



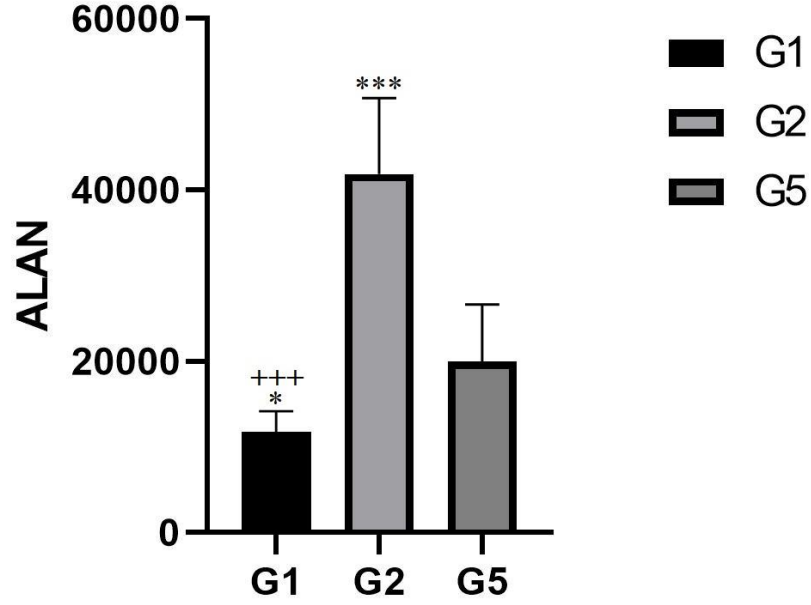
Şekil 44: Grup 1 20x büyütmede histomorfometrik inceleme; immatür skar kesit alan ölçümü



Şekil 45: Grup 2 20x büyütmede histomorfometrik inceleme; immatür skar kesit alan ölçümü



Şekil 46: Grup 5 20x büyütmede histomorfometrik inceleme; immatür skar kesit alan ölçümü



Tablo 5: İnsizyonel dermal skar modeli uygulanan grupların İmageJ programı ile histomorfometrik incelemelerinin istatistiksel analiz grafiği. Grup 1= 11792± 2373* +++; Grup 2= 41868± 8855*** ; Grup 5= 19950± 6664 (*P<0,05, ***P<0,001; kontrol grubuna (Grup 5) göre anlamlılık değeri, +++ P<0,001; Grup 1 in Grup 2 ye göre anlamlılık değeri)

İmageJ programı ile yapılan histomorfometrik incelemelerin istatistiksel analiz sonuçlarına göre;

- Grup 2 ye ait kesitlerdeki immatür skar alanlarının kontrol grubuna göre yüksekliği anlamlı farklılık göstermiştir.(P<0,001)
- Grup 1 e ait kesitlerdeki immatür skar alanlarının kontrol grubuna göre düşüklüğü anlamlı farklılık göstermiştir.(P<0,05)
- Grup 1 e ait kesitlerdeki immatür skar alanlarının Grup 2 ye göre düşüklüğü anlamlı farklılık göstermiştir.(P<0,001)

5- TARTIŞMA

Deri, vücudu çepe çevre örten en büyük dokudur. Bu sebeple fiziksel travmalar söz konusu olduğunda ilk etkilenen yapıdır. Bütünlüğü bozulduğu andan itibaren yara iyileşmesi mekanizmaları devreye girer.(1) Hemostazı takiben inflamatuvar faz, proliferatif faz ve matürasyon (remodelling) fazları görülür.(13) Sonuç olarak, erken evrede hasarlı alanda immatür bir skar dokusu oluşturulur.(18) Bu skar dokusunun davranışına etki eden bir çok faktör ortaya koyulmuştur.(29) Yara alanının vücuttaki lokalizasyonu, yaranın durumu ve etiyolojisi, eşlik eden sistemik hastalık varlığı, ırk, yaş, cinsiyet gibi temel faktörler skar dokusunun davranışı için belirleyici olabilmektedir.(30-52) Bunun yanında yara iyileşmesi sürecinin çeşitli nedenlerden ötürü sağlıklı seyretmediği, inflamasyonun sınırlanamayıp proliferasyonu sürekli uyardığı durumlarda aşırı skarlaşmayla karşı karşıya kalınmaktadır.(27,28) Buna neden olan ana etkenlerden biri de son yıllarda üzerinde önemle durulan 'Nörojenik İnflamasyon'dur. (78-83)

Nörojenik inflamasyon; eksternal/periferal uyaranlara bağlı olarak ilgili bölgede akson refleksi ile oluşturulurken, PTSD gibi yoğun psikolojik stres durumlarında da nörotransmitter dengesi değişmiş olan serebral korteks ve bazal gangliyonlardan internal/santral kökenli olarak kalkan uyarıların spinotalamik yolla yine duyu sinirleri üzerinde antidromik olarak ilerleyerek serbest sinir uçlarından nöropeptit salgınımına neden olması sonucu ciltte yaygın olarak oluşmaktadır.(86,100,101) Doku seviyesinde bir çok nöropeptit üzerinden etki etmektedir ancak en önemli belirteçleri Substans P ve CGRP dir.(92,93)

PTSD'nin yara iyileşmesi ve dermal skarlaşma üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla yapılan bu çalışma literatüre bakıldığında benzeri olmayan özgün bir çalışmadır. Bu yüzden elde edilen sonuçların birebir kıyaslanacağı emsal sonuçlar literatürde bulunmamaktadır. Kanıta dayalı bilim dünyasında sürekli yeni verilerin literatüre katıldığı ve keşfedilmemiş birçok yönü olduğunu tahmin ettiğimiz yara iyileşmesi ve skar patogenezi alanındaki bu çalışmamız birçok yönden anlamlı sonuçlar vermiştir. PTSD modeli, insizyonel dermal skar modeli ve oral paroksetin

uygulanması suretiyle meydana getirilen gruplar deney sonunda makroskopik, histopatolojik, immunhistokimyasal ve histomorfometrik incelemeye tabi tutuldu. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre hipotezimizle uyumlu istatistiksel anlamlı farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Kontrol grubuna (Grup 6) kıyasla PTBSB modeli uygulanmış olan Grup 4 ün Substans P (H-Skor) değerinin $p < 0,01$ olacak şekilde anlamlı farklı yüksek çıkması; PTBSB modeli uygulanması sonucunda sağlam deride Substans P miktarının anlamlı yükseldiğini göstermektedir. Pavlovic ve arkadaşları 2008 yılında fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada beyin-deri ilişkisine işaret eden, stresin deride Substans P aracılı inflamasyon yoluyla dermatit lezyonlarını şiddetlendirdiğini göstermişlerdir.(554) Frick ve arkadaşlarının 2016 ve 2018 yıllarında yaptıkları çalışmalarda PTBSB tanısı almış bireylerin BOS materyallerinde artmış Substans P konsantrasyonu ve amigdalalarında Substans P reseptörü olan NK-1 reseptör miktarında artma tespit edilmiştir.(467,468) Ebner'in 2006 da yayınladığı çalışmada ise stres durumunda beyin dokularında Substans P miktarının arttığı gösterilmiştir.(460) SSS'de meydana gelen bu değişikliklerin cilt düzeyinde etki ettiği yolaklar ise Rosa ve Fantozzi tarafından 2013 yılında yayınladıkları makalelerinde tarif edilmiştir.(100) Buradan yola çıkarak PTBSB'nin santral sinir sisteminde meydana getirmiş olduğu değişikliklerin cilt düzeyinde bir nörojenik inflamasyon yanıtına yol açtığını söyleyebiliriz.

Paroksetin oral alımı olmayan ama PTBSB modeli ve insizyonel dermal skar modeli uygulanmış Grup 2'nin Substans P (H-Skor) değerinin sadece insizyonel dermal skar modeli uygulanmış olan Grup 5 (skar kontrol grubu)e göre $P < 0,001$ anlamlı farklı yüksek olması bize önemli sonuçlar vermektedir. PTBSB modeli uygulanması sonucunda skar dokusunda Substans P miktarı anlamlı farklı yükselmiştir. Bu da skar dokusundaki PTBSB nedenli artmış nöroinflamasyonun bir göstergesidir. Scott ve arkadaşlarının 2005 yılında akut yanık yaralı ve buna bağlı hipertrofik skar dokuları üzerinde yaptığı bir çalışmada skar dokusunda Substans P seviyelerinin arttığını göstermiştir.(398) Akut yanık olguları sebep oldukları psikolojik etkileri yönüyle PTBSB'nin DSM 5'teki tanı kriterlerini sağlamaktadır.(454) Bulgularımız bu yönüyle literatürü destekler niteliktedir.

Grup 2 nin histomorfometrik analizlerde Grup 5 e kıyasla $P<0,001$ anlamlı farklı daha yüksek immatür skar kesit alanı göstermesi ise PTSD'nin tek başına skar dokusunda artmış nöroinflamasyona neden olarak aşırı skarlaşmaya sebep olduğunu göstermektedir. Nörojenik inflamasyonun aşırı skarlaşmaya neden olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir.(34,87,88,99) Akaishi ve Ogawa nın 2008 yılında yayınladıkları ayrı iki makalede keloid ve hipertrofik skar dokularının patofizyolojisindeki mekanik gerimin nörojenik inflamasyona yol açarak aşırı skarlaşmayı tetiklediği gösterilmiştir.(34,87) Yapılan bazı çalışmalarda yanıklarda ve keloid/hipertrofik skar gibi anormal skarlaşmada nörojenik inflamasyonun/nöropeptit aktivitesinin rol oynadığı gösterilmiştir.(88,97-99) Aşırı skarlaşma patofizyolojisinde nörolojik inflamasyonun altta yatan ana sebeplerden biri olduğu aşıkardır. Bu yönüyle çalışmamızın verileri literatür ile uyumludur. Ancak çalışmamızda buna mekanik stres değil PTSD neden olmuştur. Yani eksternal/periferal değil; internal/santral kaynaklıdır.

Deney modelindeki bir diğer değişken de oral paroksetin uygulamasıdır. PTSD'nin klinik tedavisinde SSRI'ların kullanılmasının yanı sıra, deneysel PTSD modelinin kullanıldığı çalışmalarda da SSRI'ların PTSD semptomlarını ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. (477,478,481,482) FDA onayı olanlar paroksetin ve sertralindir. Ancak fluoksetin, venlafaksin, fluvoksamin ve sitalopram da klinik tedavide kullanılmaktadır.(483,484) Biz çalışmamızda uyguladığımız modelde paroksetin kullanmayı tercih ettik. Takahashi ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı bir çalışma paroksetin uygulamasının tekli uzamış stres uygulamasına bağlı gelişen semptomları baskıladığını göstermiştir.(540) Keck ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı bir çalışmada ise kronik paroksetin uygulamasının PTSD semptomlarını ortadan kaldırdığı görülmüştür.(555)

PTSD modeli uygulanmış ve paroksetin oral alımı olan Grup 3'ün Substans P (H-Skor) değerinin, sadece PTSD modeli uygulanmış olan Grup 4'e göre belirgin düşüklük gösterip, $P<0,001$ olacak şekilde yüksek derecede anlamlı farklı çıkması; literatür ile uyumlu olarak paroksetin uygulamasının PTSD oluşumunu engelleyerek cilt düzeyinde PTSD'ye bağlı artmış nörojenik inflamasyonun önemli bir işaretçisi olan Substans P'yi baskıladığını göstermektedir.

Hatta şaşırtıcı bir sonuç olarak paroksetin uygulaması (Grup 3) ile elde edilen Substans P (H-Skor) değerlerinin kontrol grubuna (Grup 6) kıyasla $P < 0,001$ olacak şekilde düşük olması yüksek derecede anlamlı farklı bulunmuştur. Bu veriler ile paroksetinin nöroinflamasyonu baskılayıcı etkisinin yanında sağlıklı olgularda uygulanması halinde de cilt düzeyindeki bazal nörojenik inflamasyonu baskılayacağını söyleyebiliriz.

İnsizyonel dermal skar uygulaması yapılan gruplardan Grup 1'in Grup 5 (skar kontrol grubu)'e göre $P < 0,01$ anlamlı farklı düşük Substans P (H-Skor) değeri göstermesi ve Grup 1' in histomorfometrik analizlerde Grup 5'e kıyasla $P < 0,05$ anlamlı farklı daha düşük immatür skar kesit alanı göstermesi paroksetin uygulamasının PTSB nedenli nörojenik inflamasyon artışı ve aşırı skarlaşma sonuçlarının önüne geçmesinin ötesinde daha ileri fayda sağladığını göstermektedir. Kontrol grubunun bazalinin de önüne geçmiştir. Bu durum makroskopik görüntülerde de açıkça belli olmaktadır.(Resim 25) Buradan yola çıkarak yara iyileşmesi patofizyolojisine farklı bir açıdan bakılıp, iyileşmenin daha az skar dokusu ile sağlanmasında ve hatta hipertrofik skar/keloid patolojilerinin önüne geçilebilmesi için paroksetin ve türevlerinin kullanılabilirliği açısından ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Paroksetin oral alımı uygulanan Grup 1 ve Grup 3 ün her ikisinin de kontrol grubuna kıyasla daha az Substans P(H-skor) değeri ve Grup 1'in daha az immatür skar kesit alanı göstermesi çalışmamızın kendi içinde tutarlı olduğunun bir göstergesidir. Makroskopik görüntü verileri de bu bulguları destekler niteliktedir.(Resim 25)

PTSB modeli ve insizyonel dermal skar modeli uygulanmış, paroksetin oral alımı olan Grup 1'in Substans P (H-Skor) değerinin paroksetin oral alımı olmayan ama PTSB modeli ve insizyonel dermal skar modeli uygulanmış Grup 2'ye kıyas ile $P < 0,001$ anlamlı farklı düşük olması; paroksetin oral alımının PTSB'yi baskıladığını, skar dokusunda nörojenik inflamasyon artışına izin vermediğini göstermektedir.

Histomorfometrik analizlerine baktığımızda Grup 1'in Grup 2'ye kıyasla $P < 0,001$ anlamlı farklı daha düşük immatür skar kesit alanı göstermesi ise bize;

paroksetin oral alımının PTSD'ye bağılı oluşacak olan aşırı skarlaşmanın önüne geçilip skar dokusunun belirgin azaltılmasında etkili olduğunu göstermektedir. Bunun yanında sıçanların sakrifiye edilmesi sonrası yapılan makroskopik incelemede de Grup 2'nin diğeri iki gruba kıyasla daha fazla belirgin immatür skar hattına sahip olduğu izlenmektedir.(Resim 25) Schumacher ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptığı bir çalışmada paroksetin kullanımının miyokardiyal infarktüsüne sekonder gelişen fibrozisi azaltarak kardiyak disfonksiyonu azalttığını göstermiştir.(567)

Sadece insizyonel dermal skar modeli uygulanmış olan Grup 5'in Substans P (H-Skor) değeri kontrol grubuna göre bir miktar yüksek olsa da istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır. Ancak Grup 1'in Substans P (H-Skor) değerinin Grup 3'e göre $P < 0,01$ olacak şekilde anlamlı yüksek bulunması ise insizyonel dermal skar uygulanması işleminin de tek başına bir stres etkeni olarak nöroinflamasyona katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Buradan yola çıkarak her cerrahi işlemin ilgili bölgede mekanik etki sonucu akson refleksi prensibiyle nörojenik inflamasyona yol açtığı söylenebilir.(34,86-88,98,100,101) Aynı zamanda maruz kalınan cerrahi stresin büyüklüğüne göre SSS'nde depresyona varan bir yanıt gelişebilir.(568) Zatzick ve arkadaşlarının 2003 yılında yayınladığı bir çalışmada travmaya bağılı yaralanmaya sekonder cerrahi tedavi sonucu uzun süre hastanede yatan hastalarda PTSD semptomlarının görüldüğü bildirilmiştir.(556) Cremeans-Smith ve arkadaşlarının 2012 de yayınladığı bir çalışmada ise ortopedi ameliyatlarına giren hastalarda cerrahi sonrasında PTSD bulguları izlenmiştir.(557) Dao ve arkadaşlarının 2010 yılında yayınladığı bir çalışmada ise koroner arter bypass greftleme cerrahisi sonrasında gelişen PTSD sendromunun artmış ölüm oranlarıyla ilişkili olduğu vurgulanmıştır.(558)

PTSD ayrıca psikokutanöz hastalıkların da seyrini şiddetlendirmektedir.(492) Literatürü taradığımızda psöriazis, atopik dermatit, ürtiker, pruritus, akne rozacea, seboreik dermatit gibi psikokutanöz hastalıklar başlığı altında toplanmış bu tabloların semptomlarının psikolojik stres durumlarında alevlendiği belirtilmiştir.(102-105) Ancak altta yatan mekanizmalar için net bir yolak tarif edilmemektedir. Nöroimmün mekanizmalar ve hipotalamopituitör aks üzerindeki değişikliklerden bahsedilse de cilt düzeyinde artmış olan inflamasyonu tam olarak açıklayamamaktadır.(442,444)

Bu noktada çalışmamız sonucunda varmış olduğumuz sonuçlardan PTSD'nun ciltte yaygın artmış nörolojik inflamasyona neden olduğu bilgisi psikokutan hastalıkların artmış psikolojik stres durumlarındaki semptom alevlenmelerinin patofizyolojisini açıklamakta aydınlatıcı olmaktadır. Psöriazis (sedef hastalığı) bir çok alt tipi olan, cilt tutulumundan küçük eklem tutulumuna kadar şiddetli seyredebilen bir hastalıktır.(494) Tedavisinde seyrine göre takip ile gidilebildiği gibi daha şiddetli olgularda immunmodülatör ilaçlar ve monoklonal antikorlar da kullanılabilir.(561) Bu da beraberinde hastaya ve devlete ciddi mali yük olmasının yanında çeşitli ciddi yan etkileri de getirmektedir.(569) Thorslund ve arkadaşlarının 2013 yılında yayınladığı bir makalada 2003 ve 2006 yılları arasında 1282 psöriazis hastasının en az 6 ay boyunca SSRI (fluoksetin ve paroksetin) kullanımı sonrası yapılan incelemelerde; SSRI kullanan psöriatik hastaların sistemik tedavi ihtiyaçlarının azaldığı rapor edilmiştir.(562) Makalede buna etken olarak SSRI'ların antiinflamatuvar etkilerinin olduğunun düşünüldüğü ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre paroksetin tedavisi alan grupların kontrol gruplarına göre Substans P seviyelerini bazalin altına çekebiliyor olması, psikokutanöz hastalıkları olan kişilerde profilaktik paroksetin kullanımıyla semptomları baskı altında tutabilmesini açıklamaktadır. Aynı şekilde PTSD'nin atopik dermatitin semptomlarını şiddetlendirdiği ile ilgili birçok çalışma vardır.(516,517) Jiang ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı deneysel bir çalışmada paroksetin uygulamasının atopik dermatit ve benzeri lezyonların gelişimini önlediği gösterilmiştir.(563) Zylis ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı bir çalışmada dermatolojik kaynaklı olmayan şiddetli kaşıntının tedavisinde paroksetin kullanımının etkili olduğu yapılan randomize kontrollü çalışma ile gösterilmiştir.(564) Ständer ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptığı bir çalışmada ise kronik kaşıntının tedavisinde SSRI grubundan paroksetin ve fluvoksaminin kullanıldığı açık iki kollu bir çalışma yapılmıştır. Her iki ilacın da kaşıntının tedavisinde etkili olduğu, ancak aralarında anlamlı farklılık gösterilmediği, tedaviden en yüksek faydayı atopik dermatit, sistemik lenfoma ve solid malign tümör kaynaklı inatçı kaşıntıların gördüğü bildirilmiştir.(565)

Cerrahi sonrası yara iyileşmesinin optimum olması ve dermal skarlaşmanın en iyi estetik sonucu vermesi hem rekonstrüktif hem de estetik açıdan son derece önemlidir. Skarsız bir iyileşmenin şu anki bilgiler ile hala sağlanamadığı günümüzde

skar oluşumunu azaltabilecek her türlü bilimsel veri değerlidir. Bu yoldaki çalışmalara katkı sunmak adına gerçekleştirdiğimiz çalışmamıza göre skar gelişiminin azaltılması için nöroinflamasyonun baskılanması mantıklı bir yaklaşım olacaktır.

Hipertrofik skar ve keloid patolojileri plastik cerrahinin tanı ve tedavi alanındadır. Artmış nörojenik inflamasyon ile ilişkileri gösterilmiş olan bu aşırı skarlaşma durumlarının önüne geçmek adına PTSB gelişimi engellenmelidir. Gelişmiş ise tedavi edilmelidir. Aksi halde gecikmiş yara iyileşmeleri, yara ayrışmaları, hipertrofik skar ve keloid gibi aşırı dermal skarlaşma durumları ile karşı karşıya kalınabilecektir. Günümüzde hipertrofik skar ve keloid tedavisinde bir çok yöntem kullanılmaktadır. Ancak etkili olduğu gösterilen medikal yöntemlerin başında intralezyonel steroid tedavisi gelmektedir.(55,58,59) Steroid enjeksiyonunun bu faydasını çalışmamızın sonuçlarıyla beraber değerlendirdiğimizde; intralezyonel olarak uygulandığı skar bölgesinde anti inflamatuvar etkisiyle lokal nörojenik inflamasyonu baskılayarak skar oluşumunun azaltılmasına katkı sağladığını düşünebiliriz.(570)

Nörojenik inflamasyonun en önemli işaretçilerinden biri olan Substans P, ciltte ve SSS'de NK1 reseptörleri üzerinden etkilidir.(318,319) Löndahl'ın 2019 yılında yaptığı bir çalışmada ciltteki inflamasyonun şiddeti ile NK1 reseptör pozitif hücrelerin sayısı arasında ve depresyon skoru arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir.(519) NK1 reseptörleri, PTSB durumunda beyinde artarken ciltte de artmaktadırlar.(467,468,519) Ancak belirli bir bölgedeki inflamasyonu baskılamak adına sistemik olarak SSRI kullanımı istenmeyen yan etkilere neden olabilir.(566)

Çalışmamız sonunda elde ettiğimiz sonuçlar Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi açısından da oldukça önem arz etmektedir. Yara iyileşmesi plastik cerrahinin en temel ögesidir. PTSB'ye bağlı artmış nörojenik inflamasyon yara iyileşmesini geciktirir, anormal sağlıklı bir iyileşme dokusu ortaya çıkarır.(18,34) Bu tanıyı almış cerrahi hastaları, yara iyileşmesinin kötü olması nedeniyle uzun süre hastanelerde yatabilmektedirler.(571,572) Etkin iyileşme sağlanamadığından tedavi maliyetleri artmaktadır. Bu tür hastaların tedavi protokollerinde SSRI'ların kullanımının, yara iyileşmesinin önündeki PTSB nedenli etkileri ortadan kaldırarak

daha kısa sürede tedavi başarısı sağlama ve taburcu olma yolunda faydalı olabileceği düşünülebilir. Meme redüksiyonu, abdominoplasti, yüz germe gibi skar dokusunun kaçınılmaz olduğu estetik cerrahi işlemlerin sonucundaki skar kalitesini artırmak adına SSRI'ların bu alanda kullanımının faydalı olacağı düşünülebilir. Yanık hastalarında hipertrofik skar ve keloid gelişimi patofizyolojisinde nörojenik inflamasyonun rolü gösterilmiştir.(87,88,97-99) Buradan yola çıkarak yanığa bağlı hipertrofik skar, keloid ve kontraktür gelişimlerinin önlenmesinde SSRI'ların kullanımının faydalı olabileceği düşünülebilir.

Çalışmamızın bir handikapı olarak; tarifli modellerde uygulanan paroksetin, çözelti şeklinde sıçanların günlük içme sularına katılmaktaydı.(538,540) Bu yüzden biz de çalışmamızda aynı yolu izledik. Sıçanlar, günlük su tüketimleri hesaba katılarak hazırlanmış olan 0,1mg/ml dozunda toplam 30 litre çözeltinin 20 litresini tüketmişlerdi. Bu durum Grup 1 ve Grup 3 te de homojen olarak aynıydı. Bu da bize sıçanların planlanan günlük paroksetin dozundan bir miktar daha az aldıklarını göstermektedir. Buna rağmen deney sonuçlarına olumsuz etki görülmemiştir. Takahashi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada oral paroksetin çözeltisinin hazırlanarak ad libitum şeklinde sıçanların serbest erişimine bırakılması sonrasında serum paroksetin konsantrasyonlarının tüm bireylerde homojen olarak etkin düzeylere ulaştığı gösterilmiştir.(540) İleri PTSSB modeli çalışmalarında günlük oral gavaj uygulaması yada intraperitoneal uygulanabilecek SSRI formlarının günlük enjeksiyonunu içeren modellerin tanımlanması bu handikapı ortadan kaldıracaktır.

6- SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Cerrahi sonrası yara iyileşmesinin optimum olması, dermal skarlaşmanın en iyi estetik sonucu vermesi hem rekonstrüktif hem de estetik açıdan son derece önemlidir. Skarsız bir iyileşmenin şu anki bilgiler ile hala sağlanamadığı günümüzde, skar oluşumunu azaltabilecek her türlü bilimsel veri değerlidir. Çalışmamız PTSB'nun yara iyileşmesi ve dermal skarlaşma üzerindeki etkilerini araştıran ilk çalışmadır. Bu yönüyle dermal skar oluşumu ve önlenmesi alanında yapılan çalışmalara yeni bir bakış açısı kazandırması açısından önemlidir. Elde ettiğimiz sonuçlar çalışmaya başlarken kurduğumuz hipotezi destekler nitelikte olmuştur. Çalışmamız nihayetinde elde ettiğimiz sonuçları şu şekilde özetleyebiliriz;

- PTSB, yara iyileşmesini ve dermal skarlaşmayı olumsuz yönde etkiler.
- PTSB, sağlam cilt ve skar dokusunda nörojenik inflamasyonu artırır.
- PTSB, aşırı skarlaşmaya sebep olur.
- Oral paroksetin uygulaması PTSB'nin yol açtığı nörolojik inflamasyonu baskılar.
- Oral paroksetin uygulaması skar oluşumunu azaltır.
- Oral paroksetin uygulaması PTSB'li sağlam deride nörojenik inflamasyonu baskılar.
- İnsizyonel cerrahi işlemler deride lokal nörojenik inflamasyona yol açarlar.

Çalışmamızda cilt ve skar dokusunda meydana getirilen nörojenik inflamasyonun boyutunu ölçmek için Substans P tayini yapıldı. Bu alanda yapılacak ileri çalışmalar için CGRP ve NK1 reseptör proteini ek olarak çalışılabilir.(92,93,318,319) PTSB'nin nöroimmün etkilerini ortaya koymak adına plazma kortizol ve CRH düzeyleri ölçülerek bunun mevcut skar hacmiyle ve ölçülen Substans P miktarıyla olan ilişkisinin ortaya koyulması literatüre katkı açısından değerli bir çalışma olacaktır.(493) Ayrıca PTSB'de cilt ve skar dokularında yeni sinir oluşumlarını göstermek adına sinir dokusunun bir belirteci olan PGP9,5 maddesinin tayini ve nörojenik inflamasyonun şiddetiyle ilişkisinin gösterilmesi de incelemeye

değerdir.(560) Tedavi ve profilaksi yönünden ele alır isek; aşırı dermal skar oluşumunu önlemede SSRI (paroksetin, sertralin, fluoksetin, fluvoksamin, sitalopram, essitalopram v.s.)ların kullanımı yada lokal olarak nörojenik inflamasyonu engelleyecek ajanların kullanımı yakın gelecekteki deneysel ve klinik araştırmalar açısından dikkat çekici olmalıdır. Topikal NK1 reseptör blokerlerinin dermal skarlaşma üzerindeki etkisi de üzerinde çalışılması gereken bir konudur. Yara iyileşmesi ve dermal skarlaşma üzerine yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar hiç şüphesiz ileri çalışmalar için yol gösterici nitelikte olacaktır.



7-KAYNAKLAR

1. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008 May 15;453(7193):314-21
2. Buckley C. Why does chronic inflammation persist: an unexpected role of fibroblasts. *Immunol Lett*. 2011;138:12-4.
3. Heemskerk JW, Bevers EM, Lindhout T. Platelet activation and blood coagulation. *Thromb Haemost*. 2002 Aug;88(2):186-93
4. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, Pober JS, Wick TM, Konkle BA, Schwartz BS, Barnathan ES, McCrae KR, Hug BA, Schmidt AM, Stern DM. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*. 1998 May 15;91(10):3527-61.
5. Lasne D, Jude B, Susen S. From normal to pathological hemostasis. *Can J Anaesth*. 2006 Jun; 53(6 Suppl):S2-11.
6. Triplett DA. Coagulation and bleeding disorders: review and update. *Clin Chem*. 2000Aug;46(8Pt2):1260-9.
7. Swieringa F, Spronk HMH, Heemskerk JWM, van der Meijden PEJ. Integrating platelet and coagulation activation in fibrin clot formation. *Res Pract Thromb Haemost*. 2018;2(3):450–460.
8. Owens AP 3rd, Mackman N. Tissue factor and thrombosis: The clot starts here. *Thromb Haemost*. 2010 Sep; 104(3):432-9.
9. Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology: Enhanced E-Book. 11th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2010. Hemostasis and blood coagulation; pp. 457–9
10. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2010. Hemodynamic disorders, thromboembolic disease and shock; pp. 118–20.
11. Sidelmann JJ, Gram J, Jespersen J, Kluft C Fibrin clot formation and lysis: basic mechanisms. *Semin Thromb Hemost*. 2000;26(6):605-18.

12. Laurens N, Koolwijk P, de Maat MP. Fibrin structure and wound healing. *J Thromb Haemost.* 2006 May;4(5):932-9.
13. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol.* 2007;25:9-18
14. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, TomicCanic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16(5):585–601
15. Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech* 2003; 60(1):107–114
16. Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair Regen* 2009; 17(2):153–162
17. Blakaj A, Bucala R. Fibrocytes in health and disease. *Fibrogenesis Tissue.* 2012 Jun 6;5(Suppl 1):S6
18. Xue M, Jackson CJ. Extracellular matrix reorganization during wound healing and its impact on abnormal scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2015; 4(3):119–136
19. Folkman J, Klagsbrun M.. Angiogenic factors. *Science.* 1987;235: 442–448.
20. Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, Sanzo K, Warren T, Feder J, Connolly DT. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science* 1989 Dec 8;246(4935):1309-12
21. Suri C, Jones PF, Patan S, Bartunkova S, Maisonpierre PC, Davis S, Sato TN, Yancopoulos GD.1996. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis [see comments]. *Cell* 1996 Dec 27;87(7):1171-80.
22. Bategay EJ, Rupp J, Iruela-Arispe L, Sage EH, Pech M.. PDGF-BB modulates endothelial proliferation and angiogenesis in vitro via PDGF β -receptors. *J. Cell Biol.* 1994 May;125(4):917-28.

23. Clark RAF. Wound repair: Lessons for tissue engineering. In Principles of Tissue Engineering. R.P. Lanza, R. Langer & W.L. Chick, Ed. Academic Press. 2000.
24. Hinz B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *J Invest Dermatol.* 2007;127:526.
25. Schilling JA. Wound healing. *Surg Clin North Am* 1976; 56(4):859–874
26. Cotran RS, Abbas AK, Fausto N, Robbins SL, Kumar V. Robbins & Cotran: Patologia - Bases Patológicas das Doenças. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. 1592 p
27. Appleton I, Brown NJ, Willoughby DA. Apoptosis, necrosis, and proliferation: possible implications in the etiology of keloids. *Am J Pathol* 1996; 149: 1441–1447.
28. Bran GM, Goessler UR, Hormann K, Riedel F, Sadick H. Keloids: current concepts of pathogenesis (review). *Int J Mol Med* 2009; 24: 283–293.
29. Huang C, Liu L, You Z, Wang B, Du Y, Ogawa R. Keloid progression: A stiffness gap hypothesis. *Int. Wound J.* 2017 Oct;14(5):764-771.
30. Robles DT, Berg D. Abnormal wound healing: keloids *Clin Dermatol.* 2007 Jan-Feb;25(1):26-32.
31. Barnes LA, Marshall CD, Leavitt T, Hu MS, Moore AL, Gonzalez JG, Longaker MT, Gurtner GC. Mechanical Forces in Cutaneous Wound Healing: Emerging Therapies to Minimize Scar Formation. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2018;7(2):47–56
32. Butzelaar L, Ulrich MM, Mink van der Molen AB, Niessen FB, Beelen RH. Currently known risk factors for hypertrophic skin scarring: A review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2016 Feb;69(2):163-9
33. Park TH, Chang CH. Location of keloids and its treatment modality may influence the keloid recurrence in children. *J Craniofac Surg* 2015; 26: 1355–1357
34. Akaishi S, Akimoto M, Ogawa R, Hyakusoku H. The relationship between keloid growth pattern and stretching tension: visual analysis using the finite element method. *Ann Plast Surg* 2008; 60: 445–451.

35. Akaishi S, Akimoto M, Hyakusoku H, Ogawa R. The tensile reduction effects of silicone gel sheeting. *Plast Reconstr Surg* 2008; 126: 109–111e.
36. Ogawa R, Akaishi S, Huang C, Dohi T, Aoki M, Omori Y, Koike S, Kobe K, Akimoto M, Hyakusoku H. Clinical applications of basic research that shows reducing skin tension could prevent and treat importance of fascial/subcutaneous tensile reduction sutures and flap surgery for keloid and hypertrophic scar reconstruction. *J Nippon Med Sch* 2011; 78: 68–76
37. Ogawa R. Mechanobiology of scarring. *Wound Repair Regen* 2011; 19: s2–9.
38. Ogawa R, Okai K, Tokumura F, Mori K, Ohmori Y, Huang C, Hyakusoku H, Akaishi S. The relationship between skin stretching/contraction and pathologic scarring: the important role of mechanical forces in keloid generation. *Wound Repair Regen* 2012; 20: 149–157.
39. Omori Y, Akaishi S, Ogawa R, Hyakusoku H. Analysis of the regions where keloids tend to occur. *Scar Management* 2010; 4:112–115
40. Moustafa MF, Abdel-Fattah MA, Abdel-Fattah DC. Presumptive evidence of the effect of pregnancy estrogens on keloid growth. Case report. *Plast. Reconstr. Surg.* 1975; 56, 450–453.
41. Mendelsohn ME, Karas RH. Estrogen and the blood vessel wall. *Curr. Opin. Cardiol.* 1994; 9, 619–626.
42. Ogawa R. Keloid and Hypertrophic Scars Are the Result of Chronic Inflammation in the Reticular Dermis. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):606.
43. Arima J, Huang C, Rosner B, Akaishi S, Ogawa R.. Hypertension: A systemic key to understanding local keloid severity. *Wound Repair Regen.* 2015 Mar-Apr;23(2):213-21.
44. Mofikoya BO, Adeyemo WL, Abdus-salam AA. Keloid and hypertrophic scars: a review of recent developments in pathogenesis and management. *Nig Q J Hosp Med* 2007; 17: 134–139.
45. Ogawa R, Arima J, Ono S, Hyakusoku H. Case report total management of a severe case of systemic keloids associated with high blood pressure (hypertension): clinical symptoms of keloids may be aggravated by hypertension. *Eplasty* 2013; 3: e25.

46. Huang C, Ogawa R. The link between hypertension and pathological scarring: does hypertension cause or promote keloid and hypertrophic scar pathogenesis? *Wound Repair Regen* 2014; 22: 462–466.
47. Ogawa R. High blood pressure (hypertension) may influence the results of clinical trials for scar and keloid treatments. *Plast Reconstr Surg* 2013; 132: 1074e–1075e.
48. Ogawa R, Akaishi S. Endothelial dysfunction may play a key role in keloid and hypertrophic scar pathogenesis - Keloids and hypertrophic scars may be vascular disorders. *Med Hypo* 2016; 96: 51–60
49. Miller MC, Nanchahal J. Advances in the modulation of cutaneous wound healing and scarring. *BioDrugs* 2005; 19, 363–381
50. Baisch A, Riedel F. Hyperplastic scars and keloids. Part I: Basics and prevention. *HNO* 2006; 54, 893–904.
51. Mahdavian Delavary B, van der Veer WM, Ferreira JA, Niessen FB. Formation of hypertrophic scars: evolution and susceptibility. *J Plast Surg Hand Surg*. 2012 Apr;46(2):95-101
52. Noishiki C, Hayasaka Y, Ogawa R. Sex Differences in Keloidogenesis: An Analysis of 1659 Keloid Patients in Japan. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2019 Dec;9(4):747-754.
53. Jumper N, Paus R, Bayat A. Functional histopathology of keloid disease. *Histol. Histopathol*. 2015 Sep;30(9):1033-57.
54. Trace AP, Enos CW, Mantel A, Harvey VM. Keloids and Hypertrophic Scars: A Spectrum of Clinical Challenges. *Am J Clin Dermatol*. 2016 Jun;17(3):201-23.
55. Arno AI, Gauglitz GG, Barret JP, Jeschke MG. Up-to-date approach to manage keloids and hypertrophic scars: a useful guide. *Burns*. 2014 Nov;40(7):1255-66.
56. Huang C, Akaishi S, Hyakusoku H, Ogawa R. Are keloid and hypertrophic scar different forms of the same disorder? A fibroproliferative skin disorder hypothesis based on keloid findings. *Int Wound J* 2014; 11(5): 517–522.
57. Ogawa R, Akaishi S, Izumi M. Histologic analysis of keloids and hypertrophic scars. *Ann Plast Surg* 2009; 62(1): 104–105

58. Berman B, Maderal A, Raphael B. Keloids and Hypertrophic Scars: Pathophysiology, Classification, and Treatment. *Dermatol Surg*. 2017 Jan;43 Suppl 1:S3-S18
59. Huang C, Murphy GF, Akaishi S, Ogawa R. Keloids and hypertrophic scars: update and future directions. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2013;1(4):e25.
60. Schmid P, Cox D, Bilbe G, McMaster G, Morrison C, Stahelin H. TGF-beta s and TGF-beta type II receptor in human epidermis: differential expression in acute and chronic skin wounds. *J Pathol* 1993;171:191-7.
61. Scott PG, Dodd CM, Tredget EE, Ghahary A, Rahemtulla F. Immunohistochemical localization of the proteoglycans decorin, biglycan and versican and transforming growth factor-beta in human post-burn hypertrophic and mature scars. *Histopathology* 1995;26:423-31.
62. Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G. Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol* 1993;122:103-11.
63. Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK, Smith JM, Roche NS, Wakefield LM. Transforming growth factor type beta rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83:4167-71
64. Lee TY, Chin GS, Kim WJ, Chau D, Gittes GK, Longaker MT. Expression of transforming growth factor beta 1, 2, and 3 proteins in keloids. *Ann Plast Surg*. 1999;43:179-184.
65. Cheon SS, Wei Q, Gurung A, Youn A, Bright T, Poon R. Beta-catenin regulates wound size and mediates the effect of TGF-beta in cutaneous healing. *FASEB J* 2006;20:692-701.
66. Alman BA, Li C, Pajerski ME, Diaz-Cano S, Wolfe HJ. Increased beta-catenin protein and somatic APC mutations in sporadic aggressive fibromatoses (desmoid tumors). *Am J Pathol* 1997;151:329-34.
67. Sato M. Upregulation of the Wnt/beta-catenin pathway induced by transforming growth factor-beta in hypertrophic scars and keloids. *Acta Derm Venereol* 2006;86:300-7.

68. Cheon SS, Cheah AY, Turley S, Nadesan P, Poon R, Clevers H. Beta-Catenin stabilization dysregulates mesenchymal cell proliferation, motility, and invasiveness and causes aggressive fibromatosis and hyperplastic cutaneous wounds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:6973-8.
69. Stelnicki EJ, Komuves LG, Kwong AO, Holmes D, Klein P, Rozenfeld S. HOX homeobox genes exhibit spatial and temporal changes in expression during human skin development. *J Invest Dermatol* 1998;110:110-5
70. Mack JA, Abramson SR, Ben Y, Coffin JC, Rothrock JK, Maytin EV. Hoxb13 knockout adult skin exhibits high levels of hyaluronan and enhanced wound healing. *FASEB J* 2003;17:1352-4.
71. Grose R, Harris BS, Cooper L, Topilko P, Martin P. Immediate early genes krox-24 and krox-20 are rapidly up-regulated after wounding in the embryonic and adult mouse. *Dev Dyn* 2002;223:371-8.
72. Bryant M, Drew GM, Houston P, Hissey P, Campbell CJ, Braddock M. Tissue repair with a therapeutic transcription factor. *Hum Gene Ther* 2000;11:2143-58.
73. Niessen FB, Andriessen MP, Schalkwijk J, Visser L, Timens W. Keratinocyte-derived growth factors play a role in the formation of hypertrophic scars. *J Pathol* 2001;194:207-16.35.
74. Haisa M, Okochi H, Grotendorst GR. Elevated levels of PDGF alpha receptors in keloid fibroblasts contribute to an enhanced response to PDGF. *J Invest Dermatol* 1994;103:560-3.
75. Profyris C, Tziotzios C, Do Vale I. Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics Part I. The molecular basis of scar formation. *J Am Acad Dermatol*. 2012 Jan;66(1):1-10; quiz 11-2
76. Ingber DE. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. *FASEB J* 2006; 20:811-827
77. Huang C, Akaishi S, Ogawa R. Mechanosignaling pathways in cutaneous scarring *Arch Dermatol Res* (2012) 304: 589.

78. Foreman JC. Substance P and calcitonin gene-related peptide: effects on mast cells and in human skin. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987; 82: 366–71.
79. Foreman JC. Peptides and neurogenic inflammation. *Br Med Bull* 1987; 43: 386–400
80. Foreman JC. The skin as an organ for the study of the pharmacology of neuropeptides. *Skin Pharmacol* 1988; 1: 77–83.
81. Zegarska B, Lelinska A, Tyrakowski T. Clinical and experimental aspects of cutaneous neurogenic inflammation. *Pharmacol Rep.* 2006;58;13–21.
82. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV, Jothianandan D. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1984;6:S336–S343.
83. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. Production of tumor necrosis factor-alpha, interleukin 1-beta, interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. *Neuropeptides* 2003;37:355–361
84. Sorkin LS, Eddinger KA, Woller SA, Yaksh TL. Origins of antidromic activity in sensory afferent fibers and neurogenic inflammation *Semin Immunopathol* (2018) 40: 237
85. Szolcsanyi J. Capsaicin-sensitive sensory nerve terminals with local and systemic efferent functions: facts and scopes of an unorthodox neuroregulatory mechanism. *Progress in brain research.* 1996; 113:343–359.
86. Roosterman D, Goerge T, Schneider SW, Bunnett NW, Steinhoff M. Neuronal control of skin function: The skin as a neuroimmunoendocrine organ. *Physiol Rev.* 2006;86:1309–1379
87. Akaishi S, Ogawa R, Hyakusoku H. Keloid and hypertrophic scar: Neurogenic inflammation hypotheses. *Med Hypotheses* 2008; 71: 32–38.
88. Ogawa R. Keloid and hypertrophic scarring may result from a mechanoreceptor or mechanosensitive nociceptor disorder. *Med Hypotheses* 2008; 71: 493–500
89. Scholzen TE, Brzoska T, Kalden DH, O'Reilly F, Armstrong CA, Luger TA, Ansel JC. Effect of ultraviolet light on the release of neuropeptides and

- neuroendocrine hormones in the skin: Mediators of photodermatitis and cutaneous inflammation. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 1999; 4:55–60.
90. Brain SD Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. *Immunopharmacology.* 1997 Oct;37(2-3):133-52.
 91. Papp A, Valtonen P. Tissue substance P levels in acute experimental burns. *Burns* 2006;32:842–845.
 92. Holzer P. Neurogenic vasodilatation and plasma leakage in the skin. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 5–11.
 93. Senba E, Kashiba H. Sensory afferent processing in multiresponsive DRG neurons. *Prog Brain Res* 1996; 113: 387–410.
 94. Weidner C, Klede M, Rukwied R, Lischetzki G, Neisius U, Skov PS, Petersen LJ, Schmelz M. Acute effects of substance P and calcitonin gene-related peptide in human skin--a microdialysis study. *J Invest Dermatol.* 2000 Dec;115(6):1015-20.
 95. Scholzen T, Armstrong CA, Bunnett NW, Luger TA, Olerud JE, Ansel JC. Neuropeptides in the skin: interactions between the neuroendocrine and the skin immune systems. *Exp Dermatol* 1998; 7: 81–96. Review.
 96. Liu JY, Hu JH, Zhu QG, Li FQ, Sun HJ. Substance P receptor expression in human skin keratinocytes and fibroblasts. *Br J Dermatol* 2006; 155: 657–62.
 97. Chiang RS, Borovikova AA, King K, Banyard DA, Lalezari S, Toranto JD, Paydar KZ, Wirth GA, Evans GR, Widgerow AD. Current concepts related to hypertrophic scarring in burn injuries. *Wound Repair Regen.* 2016 May;24(3):466-77
 98. Chin MS, Lancerotto L, Helm DL, Dastouri P, Prsa MJ, Ottensmeyer M, Akaishi S, Orgill DP, Ogawa R. Analysis of neuropeptides in stretched skin. *Plast Reconstr Surg* 2009; 124: 102–13.
 99. Scott JR, Muangman P, Gibran NS. Making sense of hypertrophic scar: a role for nerves. *Wound Repair Regen* 2007; (Suppl. 1): S27–31.
 100. Rosa AC, Fantozzi R. The role of histamine in neurogenic inflammation. *Br J Pharmacol.* 2013Sep;170(1):38-45.
 101. Black PH. Stress and the inflammatory response: a review of neurogenic inflammation. *Brain Behav Immun.* 2002 Dec;16(6):622-53.

102. Gupta MA, Jarosz P, Gupta AK. Posttraumatic stress disorder (PTSD) and the dermatology patient. *Clin Dermatol*. 2017 May - Jun;35(3):260-266.
103. Gupta MA. Commentary: psychodermatology. *Clin Dermatol*. 2013 Jan-Feb;31(1):1-2.
104. Jafferany M. Psychodermatology: a guide to understanding common psychocutaneous disorders. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2007;9(3):203–213.
105. Stumpf A, Schneider G, Ständer S. Psychosomatic and psychiatric disorders and psychologic factors in pruritus. *Clin Dermatol*. 2018 Nov - Dec;36(6):704-708
106. Menon GK. New insights into skin structure: scratching the surface. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002 Nov 1;54 Suppl 1:S3-17.
107. Jarvelainen H, Sainio A, Koulu M, Wight TN, Penttinen R. Extracellular matrix molecules: potential targets in pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.*2009. 61, 198-223
108. Schaefer L, Schaefer RM. Proteoglycans: from structural compounds to signaling molecules. *Cell Tissue Res*. 2010 Jan;339(1):237-46.
109. Meigel WN, Gay S, Weber L. Dermal Architecture and Collagen Type Distribution *Arch Dermatol Res*. 1977 Jul 21;259(1):1-10
110. Matsuda N, Koyama Y, Hosaka Y, Ueda H, Watanabe T, Araya T, Irie S, Takehana K. Effects of ingestion of collagen peptide on collagen fibrils and glycosaminoglycans in the dermis. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2006 Jun;52(3):211-5.
111. Bosman FT, Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular Matrix. *J Pathol* 2003; 200: 423–428.
112. Liu X, Wu H, Byrne M, Krane S, Jaenisch R. Type III collagen is crucial for collagen I fibrillogenesis and for normal cardiovascular development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Mar 4;94(5):1852-6.
113. Vuorio E, de Crombrughe B. The family of collagen genes. *Annu Rev Biochem*. 1990;59:837-72.
114. Piez KA, Reddi AH. *Extracellular Matrix Biochemistry*.(Elsevier,New York)1984; pp 1–40.

115. Mayne R, Burgeson R, Kuhn K. Structure and Function of Collagen Types, (Academic, New York) 1987; pp 1–37.
116. Epstein EH Jr, Munderloh NH. Isolation and characterization of CNBr peptides of human (alpha 1 (III))₃ collagen and tissue distribution of (alpha 1 (I))₂ alpha 2 and (alpha 1 (III))₃ collagens. *J Biol Chem* 1975;250:9304–9012
117. Bornstein P, Sage H. Structurally distinct collagen types. *Annu Rev Biochem.* 1980;49:957-1003.
118. Beanes SR, Hu FY, Soo C, Dang CM, Urata M, Ting K, Atkinson JB, Benhaim P, Hedrick MH, Lorenz HP. Confocal microscopic analysis of scarless repair in the fetal rat: Defining the transition. *Plast Reconstr Surg.* 2002 Jan;109(1):160-70.
119. Pomin VH, Mulloy B. Glycosaminoglycans and Proteoglycans. *Pharmaceuticals (Basel).* 2018Mar;11(1):27
120. Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci.* 2010 Dec 15;123(Pt 24):4195-200.
121. Rozario T, DeSimone DW. The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view. *Dev Biol.* 2010 May 1;341(1):126-40
122. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999 Sep 2;341(10):738-46
123. Martin P. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science.* 1997 Apr 4;276(5309):75-81
124. Yamada KM, Clark RAF. Provisional matrix. In *Molecular and Cellular Biology of Wound Repair.* R.A.F. Clark, 1996 ; Ed.: 51–93. Plenum, New York.
125. Ciano PS, Colvin RB, Dvorak AM. Macrophage migration in fibrin gel matrices. *Lab. Invest.* 1986; 54: 62–70.
126. Lanir N, Ciano PS, Van De Water L. Macrophage migration in fibrin gel matrices II. Effects of clotting factor XIII, fibronectin, and glycosaminoglycan content on cell migration. *J. Immunol.* 1988; 140: 2340–2349.

127. Knox P, Crooks S, Rimmer CS. Role of fibronectin in the migration of fibroblasts into plasma clots. *J. Cell Biol.* 1986; 102: 2318–2323.
128. Brown LF, Lanir N, McDonagh J. Fibroblast migration in fibrin gel matrices. *Am. J. Pathol.* 1993; 142: 273–283.
129. Greiling D, Clark RAF. Fibronectin provides a conduit for fibroblast transmigration from a collagen gel into a fibrin gel. *J. Cell Sci.* 1997;110: 861–870.
130. Clark RAF, Tonnesen MG, Gailit J, Cheresch DA. Transient functional expression of $\alpha v \beta 3$ on vascular cells during wound repair. *Am. J. Pathol.* 1996;148: 1407–1421.
131. Xu J, Zutter MM, Santoro SA, Clark RAF. PDGF induction of $\alpha 2$ integrin gene expression is mediated by protein kinase C- ζ . *J. Cell Biol.* 1996; 134: 1301–1311.
132. Feng X, Clark RAF, Galanakis D, Tonnesen MG. Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of $\alpha v \beta 3$ mRNA by fibrin. *J. Invest. Dermatol.* 1999; 113: 913–919.
133. Cheresch DA, Berliner SA, Vicente V, Ruggeri ZM.. Recognition of distinct adhesive sites on fibrinogen by related integrins on platelets and endothelial cells. *Cell* 1989; 58: 945–953.
134. Blystone SD, Graham IL, Lindberg FP, Brown EJ.. Integrin $\alpha v \beta 3$ differentially regulates adhesive and phagocytic functions of the fibronectin receptor $\alpha 5 \beta 1$. *J. Cell Biol.* 1994; 127: 1129–1137.
135. Newman D, Clark RAF, Honaken L. Human dermal microvascular endothelial cells use $\alpha 5 \beta 1$, as well as $\alpha v \beta 3$, to interact with the major fibrinogen breakdown product E1. *J. Invest. Dermatol.* 1996; 106: 823a.
136. Gailit J, Clarke C, Newman D. Human fibroblasts bind directly to fibrinogen at RGD sites through integrin $\alpha v \beta 3$. *Exp. Cell Res.* 1997; 232: 118–126.
137. Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol.* 2005 Nov;15(11):599-607

138. Castellino FJ, Strickland DK, Morris JP. Enhancement of the streptokinase-induced activation of human plasminogen by human fibrinogen and human fibrinogen fragment D1. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1983; 408: 595–601.
139. Hajjar K, Jacovina A , Chacko J. An endothelial cell receptor for plasminogen and tissue plasminogen activator: Identity with annexin II. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 21191–21197
140. Salonen EM, Vaheri A, Pollanen J. Interaction of plasminogen activator inhibitor (PAI-1) with vitronectin. *J. Biol. Chem.* 1989; 264: 6339–6343.
141. Oلمان MA, Mackman N, Gladson CL. Changes in procoagulant and fibrinolytic gene expression during bleomycin-induced lung injury in the mouse. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 1621–1630.
142. Chapman HA, Allen CL, Stone OL. Abnormalities in pathways of alveolar fibrin turnover among patients with interstitial lung disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1986; 133: 437–443.
143. Kuhn CI, Boldt J, King TEJ. An immunohistochemical study of architectural remodeling and connective tissue synthesis in pulmonary fibrosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989; 140: 1693–1703
144. Bugge TH, Kombrinck KW, Flick MJ. Loss of fibrinogen rescues mice from the pleiotropic effects of plasminogen deficiency. *Cell* 1996; 87: 709–719.
145. Fernandez HN, Henson PM, Otani A , Hugli TE. Chemotactic response to human C3a and C5a anaphylatoxins. I. Evaluation of C3a and C5a leukotaxis in vitro and under simulated in vivo conditions. *J. Immunol.* 1978; 120: 109–115.
146. Stimler NP, Bach MK, Bloor CM , Hugli TE. Release of leukotrienes from guinea pig lung stimulated by C5a des arg anaphylatoxin. *J. Immunol.* 1982; 128: 2247–2257.
147. Engelhardt E, Toksoy A, Goebeler M, Debus S, Brocker EB, Gillitzer R. Chemokines IL-8, Groa, MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leukocyte subsets in human wound healing. *Am. J. Pathol.* (1998) 153, 1849– 1860.

148. Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair. A study with antineutrophil serum *J Clin Invest*, 51 (1972), pp. 2009-2023
149. Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:181–218.
150. McCarthy K., Henson PM,. Induction of lysosomal enzyme secretion by macrophages in response to the purified complement fragments C5a and C5a des Arg. *J. Immunol*. 1979; 123: 2511–2517
151. Foxman EF, Campbell JJ, Butcher EC. Multistep navigation and the combinatorial control of leukocyte chemotaxis. *J. Cell Biol.* (1997) 139, 1349–1360
152. Williams TJ. Factors that affect vessel reactivity and leukocyte emigration. In *Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. R.A.F. Clark & P.M. Henson, Ed.: 115–183. Plenum Press, New York. 1988.
153. Brandt E, Petersen F, Ludwig A, Ehlert JE, Bock L, Flad HD. The beta-thromboglobulins and platelet factor 4: blood platelet-derived CXC chemokines with divergent roles in early neutrophil regulation. *J. Leukoc. Biol.* (2000) 67, 471–478
154. Richardson DL, Pepper DS, Kay AB. Chemotaxis for human monocytes by fibrinogen-derived peptides. *Br. J. Haematol*. 1976; 32: 507–513.
155. Gross TJ, Leavell KJ, Peterson MW. CD11b/CD18 mediates the neutrophil chemotactic activity of fibrin degradation product D domain. *Thromb. Haemost.* 1997; 77: 894–900.
156. Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair *Am J Pathol*,78(1975), pp.71-100
157. DiPietro LA. Wound healing: the role of the macrophage and other immune cells. *Shock* 4, (1995) 233–240
158. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines *Physiol Rev*, 83 (2003), pp. 835-870
159. Riches DWH. Macrophage involvement in wound repair, remodeling and fibrosis. In *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*, 2nd ed. (R. A. F. Clark, ed.), New York, London, Plenum, (1996) 95–141.

160. Sunderkötter C, Steinbrink K, Goebeler M, Bhardwaj R, Sorg C. Macrophages and angiogenesis. *J. Leukoc. Biol.* (1994) 55, 410–422
161. Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol* 2009;84:257-262.
162. Hebda PA, Collins MA., Tharp MD. Mast cell and myofibroblast in wound healing. *Dermatol. Clin.* (1993) 11, 685–696.
163. Trautmann A, Toksoy A, Engelhardt E, Brocker EB, Gillitzer R. Mast cell involvement in normal human skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cells which synthesize interleukin-4 in vivo. *J. Pathol.* (2000) 190, 100–106
164. Trautmann A., Krohne G., Brocker EB, Klein CE. Human mast cells augment fibroblast proliferation by heterotypic cell-cell contact and action of IL-4. *J. Immunol.* (1998) 160, 5053–5057
165. Leonard EJ, Skeel A, Yoshimura T, Rankin J. Secretion of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) by human mononuclear phagocytes. *Adv. Exp. Med. Biol.* (1993) 351, 55–64
166. Blotnik S, Peoples GE, Freeman MR, Eberlein TJ, Klagsbrun M. T lymphocytes synthesize and export heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and basic fibroblast growth factor, mitogens for vascular cells and fibroblasts: differential production and release by CD41 and CD81 T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994 ; 91, 2890–2894
167. Baggiolini, M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 1998; 392, 565–568.
168. Luster AD. Chemokines—chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N. Engl. J. Med.* 1998; 338, 436–445.
169. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 2000; 18, 217–242.
170. Farber JM. Mig and IP-10: CXC chemokines that target lymphocytes. *J. Leukoc. Biol.* 1997; 61, 246–257.
171. Lau K, Paus R, Tiede S, Day P, Bayat A. Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. *Exp Dermatol* 2009; 18(11):921–933

172. Clark RAF, Lanigan JM, Dellapelle P, Manseau E, Dvorak HF, Colvin RB. Fibronectin and fibrin provide a provisional matrix for epidermal cell migration during wound reepithelialization. *J. Invest. Dermatol.* 1982; 79: 264–269.
173. Mackie EJ, Halfter W, Liverani D. Induction of tenascin in healing wounds. *J. Cell Biol.* 1988; 107: 2757–2767.
174. Cavani A, Zambruno G, Marconi A. Distinctive integrin expression in the newly forming epidermis during wound healing in humans. *J. Invest. Dermatol.* 1993; 101: 600–604.
175. Clark RA. Fibronectin in the skin. *J Invest Dermatol.* 1983 Dec;81(6):475-9.
176. Odland G, Ross R. Human wound repair. I. Epidermal regeneration. *J. Cell Biol.* 1968; 39: 135–151.
177. Clark RAF. Fibronectin matrix deposition and fibronectin receptor expression in healing and normal skin. *J. Invest. Dermatol.* 1990; 94(6 Suppl):128S–134S
178. Larjava H, Salo T, Haapasali K. Expression of integrins and basement membrane components by wound keratinocytes. *J. Clin. Invest.* 1993; 92(3): 1425– 1435.
179. Juhasz I, Murphy GF, Yan H-C. Regulation of extracellular matrix proteins and integrin cell substratum adhesion receptors on epithelium during cutaneous human wound healing in vivo. *Am. J. Path.* 1993; 143: 1458–1469.
180. Clark RAF, Ashcroft GS, Spencer M-J. Reepithelialization of normal human excisional wounds is associated with a switch from $\alpha\text{v}\beta\text{5}$ to $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ integrins. *Br. J. Dermatol.* 1996; 135: 46–51.
181. Pilcher BK, Dumi JA, Sudbeck BD. The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *J. Cell Biol.* 1997; 137: 1445–1457.
182. Woodley DT, Kalebec T, Banes AJ. Adult human keratinocytes migrating over nonviable dermal collagen produce collagenolytic enzymes that degrade type I and type IV collagen. *J. Invest. Dermatol.* 1986; 86: 418–423.

183. Grondahl-Hansen J, Lund JR, Ralfkiaer E. Urokinase- and tissue-type plasminogen activators in keratinocytes during wound reepithelialization in vivo. *J. Invest. Dermatol.* 1988; 90: 790–795.
184. Mignatti P, Rifkin DB, Welgus HG, Parks WC. Proteinases and tissue remodeling. In *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. R.A.F. Clark, Ed.: 427–474. Plenum Press, New York. 1996
185. Kubo M, Van de Water L, Plantefaber LC, Mosesson MW, Simon M, Tonnesen MG, Taichman L, Clark RA. Fibrinogen is an anti-adhesive for human keratinocytes: A mechanism for fibrin eschar slough during wound repair. *J. Invest. Dermatol* 2001 Dec;117(6):1369-81.
186. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Galli A, Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G. The myofibroblast: one function, multiple origins. *Am J Pathol* 2007; 170(6):1807–1816
187. Heldin C-H, Westermark B. Role of Platelet-derived growth factor in vivo. In *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. R.A.F. Clark, Ed.: 249–274. Plenum Press, New York. 1996.
188. Roberts AB, Sporn MB. Transforming growth factor- β (TGF- β). In *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. R.A.F. Clark, Ed.: 275–310. Plenum Press, New York. 1996.
189. Postlethwaite AE, Keski-Oja J, Balian G, Kang A. Induction of fibroblast chemotaxis by fibronectin. Location of the chemotactic region to a 140,000 molecular weight nongelatin binding fragment. *J. Exp. Med* 1981; 153: 494–499.
190. Gray AJ, Bishop JE, Reeves JT, Laurent GJ. A α and B β chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts. *J. Cell Sci.* 1993; 104: 409–413
191. Xu J, Clark RAF. Extracellular matrix alters PDGF regulation of fibroblast integrins. *J. Cell Biol.* 1996; 132: 239–249.
192. Abe R, Donnelly SC, Peng T, Bucala R, Metz CN. Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites. *J Immunol* 2001; 166(12):7556–7562

193. Mori L, Bellini A, Stacey MA, Schmidt M, Mattoli S. Fibrocytes contribute to the myofibroblast population in wounded skin and originate from the bone marrow. *Exp Cell Res* 2005; 304(1):81–90
194. Gill SE, Parks WC. Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40(6–7):1334–1347
195. Nissinen LM, Kahari VM . Collagen turnover in wound repair—a macrophage connection. *J Invest Dermatol* 2015; 135(10):2350–2352
196. Barker TH. The role of ECM proteins and protein fragments in guiding cell behavior in regenerative medicine. *Biomaterials* 2011; 32(18):4211–4214
197. Eckes B, Nischt R, Krieg T. Cell-matrix interactions in dermal repair and scarring. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2010 Mar 11;3:4
198. Veikkola T, Alitalo K. VEGFs, receptors and angiogenesis *Semin. Cancer Biol.* 1999 Jun;9(3):211-220.
199. Davis S, Yancopoulos GD. The angiopoietins: Yin and Yang in angiogenesis. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 1999; 237: 173–185
200. Knighton DR, Hunt TK, Thakral KK, Goodson WH. Role of platelets and fibrin in the healing sequence: an in vivo study of angiogenesis and collagen synthesis. *Ann. Surg.* 1982; 196: 379–388.
201. Jakob W, Zipper J, Jentzsch ED. Is the formation of fibrin a necessary event for the initiation of angiogenic response in the chick chorioallantoic membrane? *Exper. Pathol.* 1982; 21: 251–262.
202. Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest.* 1987 Dec;57(6):673-86.
203. Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech* 2003; 60(1):107–114
204. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002;3:349.

205. Darby I, Skalli O, Gabbiani G. α -Smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab Invest.* 1990;63:21.
206. Dugina V, Fontao L, Chaponnier C, Vasiliev J, Gabbiani G. Focal adhesion features during myofibroblastic differentiation are controlled by intracellular and extracellular factors. *J Cell Sci.* 2001;114:3285.
207. Goffin JM, Pittet P, Csucs G, Lussi JW, Meister J-J, Hinz B. Focal adhesion size controls tension-dependent recruitment of alpha-smooth muscle actin to stress fibers. *J Cell Biol.* 2006;172:259.
208. Vedrenne N, Coulomb B, Danigo A, Bonté , Desmoulière A. The complex dialogue between (myo)fibroblasts and the extracellular matrix during skin repair processes and ageing. *Pathol Biol.* 2012;60:20.
209. Dulauroy S, Di Carlo SE, Langa F, Eberl G, Peduto L. Lineage tracing and genetic ablation of ADAM12(+) perivascular cells identify a major source of profibrotic cells during acute tissue injury. *Nat Med.* 2012;18:1262.
210. Quan TE, Cowper SE, Bucala R. The role of circulating fibrocytes in fibrosis. *Curr Rheumatol Rep.* 2006;8:145.
211. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest.* 2003;112:1776.
212. Brown LF, Dubin D, Lavigne L, Logan B, Dvorak HF, Van De Water L. Macrophages and fibroblasts express embryonic fibronectins during cutaneous wound healing. *Am J Pathol.* 1993;142:793.
213. Desmouliere A, Gabbiani G. The role of the myofibroblast in wound healing, fibrocontractive diseases. In: Clark RAF, editor. *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair.* New York: Plenum Press; 1988. pp. 391–423.
214. French-Constant C, Van De Water L, Dvorak HF, Hynes RO. Reappearance of an embryonic pattern of fibronectin splicing during wound healing in the adult rat. *J Cell Biol.* 1989;109:903.
215. Serini G, Bochaton-Piallat ML, Ropraz P, Geinoz A, Borsi L, Zardi L, Gabbiani G. The fibronectin domain ED-A is crucial for myofibroblastic

- phenotype induction by transforming growth factor-beta1. *J Cell Biol.* 1998;142:873.
216. Zhang K, Rekhter MD, Gordon D, Phan SH. Myfibroblasts and their role in lung collagen gene expression during pulmonary fibrosis. A combined immunohistochemical and in situ hybridization study. *Am J Pathol.* 1994;145:114.
 217. Hinz B, Celetta G, Tomasek J, Gabbiani G, Chaponnier C. Alpha-smooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity. *Mol Biol Cell.* 2001;12:2730.
 218. Tomasek J, Haaksma C, Schwartz R, Howard E. Whole animal knockout of smooth muscle alpha-actin does not alter excisional wound healing or the fibroblast-to-myofibroblast transition. *Wound Repair Regen.* 2013;21:166.
 219. Hinz B, Gabbiani G, Seemayer T, Schurch W. Myofibroblast. In: Mills SE, editor. *Histology for Pathologists*. 4th. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams and Wilkins; 2012. pp. 131–178.
 220. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Prunotto M, Desmouliere A, Varga J, De Wever O, Mareel M, Gabbiani G. Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling. *Am J Pathol.* 2012;180:1340
 221. Gabbiani G, Ryan GB, Majne G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia.* 1971;27:549.
 222. Singer II, Kawka DW, Kazazis DM, Clark RA. In vivo co-distribution of fibronectin and actin fibers in granulation tissue: immunofluorescence and electron microscope studies of the fibronexus at the myofibroblast surface. *J Cell Biol.* 1984;98:2091.
 223. Vaughan MB, Howard EW, Tomasek JJ. Transforming growth factor- β 1 promotes the morphological and functional differentiation of the myofibroblast. *Exp Cell Res.* 2000;257:180.
 224. Chrzanowska-Wodnicka M, Burridge K. Rho-stimulated contractility drives the formation of stress fibers and focal adhesions. *J Cell Biol.* 1996;133:1403.

225. Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med.* 2012;18:1028
226. Hinz B. The myofibroblast paradigm for a mechanically active cell. *J Biomechanics.* 2010;43:146.
227. Annes JP. Making sense of latent TGF β activation. *J Cell Sci.* 2003;116:217
228. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev.* 2000;14:163
229. Jenkins G. The role of proteases in transforming growth factor- β activation. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40:1068.
230. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol.* 2003;200:448.
231. Sweetwyne M, Murphy-Ullrich J. Thrombospondin1 in tissue repair and fibrosis: TGF- β -dependent and independent mechanisms. *Matrix Biol.* 2012;31:178.
232. Frangogiannis NG. Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. *Physiol Rev.* 2012;92:635.
233. Wipff P, Hinz B. Integrins and the activation of latent transforming growth factor β 1—an intimate relationship. *Eur J Cell Biol.* 2008;87:601
234. Wipff PJ, Rifkin DB, Meister JJ, Hinz B. Myofibroblast contraction activates latent TGF- β 1 from the extracellular matrix. *J Cell Biol.* 2007;179:1311
235. Hinz B, Mastrangelo D, Iselin CE, Chaponnier C, Gabbiani G. Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation. *Am J Pathol.* 2001;159:1009.
236. Moulin V, Laroche S, Langlois C, Thibault I, Lopez-Valle CA, Roy M. Normal skin wound and hypertrophic scar myofibroblasts have differential responses to apoptotic inductors. *J Cell Physiol* 2004;198:350–8.
237. Gauglitz GG, Korting HC, Pavicic T, Ruzicka T, Jeschke MG. Hypertrophic scar-ring and keloids:pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol Med* 2011; 17: 113–125.

238. Nakashima M, Chung S, Takahashi A, Kamatani N, Kawaguchi T, Tsunoda T, Hosono N, Kubo M, Nakamura Y, Zembutsu H. A genome-wide association study identifies four susceptibility loci for keloid in the Japanese population. *Nat. Genet.* 2010;42, 768–771.
239. Ogawa R, Watanabe A, Than Naing B, Sasaki M, Fujita A, Akaishi S, Hyakusoku H, Shimada T. Associations between keloid severity and single-nucleotide polymorphisms: Importance of rs8032158 as a biomarker of keloid severity. *J Invest Dermatol.* 2014 Jul;134(7):2041-2043
240. Halim AS, Emami A, Salahshourifar I, Kannan TP. Keloid scarring: understanding the genetic basis, advances, and prospects. *Arch Plast Surg* 2012; 39: 184–189.
241. Lee HJ, Jang YJ. Recent understandings of biology, prophylaxis and treatment strategies for hypertrophic scars and keloids. *Int J Mol Sci* 2018; 19: 711.
242. Zhao Y, Liu SL, Xie J. NEDD4 single nucleotide polymorphism rs2271289 is associated with keloids in Chinese Han population. *Am J Transl Res* 2016; 8: 544–555.
243. Chung S, Nakashima M, Zembutsu H, Nakamura Y. Possible involvement of NEDD4 in keloid formation; its critical role in fibroblast proliferation and collagen production. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2011; 87: 563–573.
244. Marneros AG, Norris JE, Watanabe S, Reichenberger E, Olsen BR. Genome scans provide evidence for keloid susceptibility loci on chromosomes 2q23 and 7p11. *J. Investig. Dermatol.* 2004;122, 1126–1132.
245. Chen Y, Gao JH, Yan X, Song M, Liu XJ. Location of predisposing gene for one Han Chinese keloid pedigree. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi* (Chinese Journal of Plastic Surgery). 2007; 23(2):137-140
246. Loddo I, Romano C. Inflammatory bowel disease: genetics, epigenetics, and pathogenesis. *Front Immunol* 2015; 6: 551.
247. Bataille V, Lens M, Spector TD. The use of the twin model to investigate the genetics and epigenetics of skin diseases with genomic, transcriptomic and methylation data. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26: 1067–1073

248. Kargul J, Laurent GJ. Epigenetics and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 1.
249. He Y, Deng Z, Alghamdi M. From genetics to epigenetics: new insights into keloid scarring. *Cell Prolif* 2017; 50: 1–8
250. Szyf M. Nongenetic inheritance and transgenerational epigenetics. *Trends Mol Med* 2015; 21: 134–144
251. Piletic K, Kunej T. MicroRNA epigenetic signatures in human disease. *Arch Toxicol* 2016; 90: 2405–2419.
252. Yu X, Li Z, Chan MT, Wu WK. MicroRNA deregulation in keloids: an opportunity for clinical intervention? *Cell Prolif* 2015; 48: 626–630
253. Mann J, Mann DA. Epigenetic regulation of wound healing and fibrosis. *Curr Opin Rheumatol* 2013; 25: 101–107.
254. Mann J, Oakley F, Akiboye F, Elsharkawy A, Thorne AW, Mann DA. Regulation of myofibroblast transdifferentiation by DNA methylation and MeCP2: implications for wound healing and fibrogenesis. *Cell Death Differ* 2007; 14: 275–285
255. Hu B, Gharaee-Kermani M, Wu Z, Phan SH. Epigenetic regulation of myofibroblast differentiation by DNA methylation. *Am J Pathol* 2010; 177: 21–28
256. Zou QP, Yang E and Zhang HS. Effect of the methylation enzyme inhibitors of 5-aza-2-deoxycytidine on the TGF-beta/smad signal transduction pathway in human keloid fibroblasts. *Chinese J Plast Surg* 2013; 29: 285–289.
257. Fu S, Sun L, Zhang X, Shi H, Xu K, Xiao Y, Ye W. 5-Aza-2'-deoxycytidine induces human Tenon's capsule fibroblasts differentiation and fibrosis by up-regulating TGF- β type I receptor. *Exp Eye Res* 2017; 165: 47–58.
258. Jones LR, Greene J, Chen KM, Divine G, Chitale D, Shah V, Datta I, Worsham MJ. Biological significance of genome-wide DNA methylation profiles in keloids. *Laryngoscope* 2017; 127: 70–78.
259. Jones LR, Young W, Divine G, Datta I, Chen KM, Ozog D, Worsham MJ. Genome-wide scan for methylation profiles in keloids. *Dis Markers* 2015; 2015: 943176.

260. Garcia-Rodriguez L, Jones L, Chen KM, Datta I, Divine G, Worsham MJ. Causal network analysis of head and neck keloid tissue identifies potential master regulators. *Laryngoscope* 2016; 126: E319–E324.
261. Brown JJ, Ollier WE, Arscott G, Bayat A. Association of HLA-DRB1* and keloid disease in an Afro-Caribbean population. *Clin Exp Dermatol* 2010; 35: 305–310.
262. Satish L, Lyons-Weiler J, Hebda PA, Wells A. Gene expression patterns in isolated keloid fibroblasts. *Wound Repair Regen* 2006; 14: 463–470.
263. Brown JJ, Ollier W, Arscott G, Ke X, Lamb J, Day P, Bayat A. Genetic susceptibility to keloid scarring: SMAD gene SNP frequencies in Afro-Caribbeans. *Exp Dermatol* 2008; 17: 610–613.
264. He S, Liu X, Yang Y, Huang W, Xu S, Yang S, Zhang X, Roberts MS. Mechanisms of transforming growth factor beta(1)/Smad signaling mediated by mitogen-activated protein kinase pathways in keloid fibroblasts. *British J Dermatol* 2010; 162: 538–546.
265. Xia W, Longaker MT, Yang GP. P38 MAP kinase mediates transforming growth factor-beta2 transcription in human keloid fibroblasts. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290: R501–R508.
266. Zhang Q, Oh CK, Messadi DV, Duong HS, Kelly AP, Soo C, Wang L, Le AD. Hypoxia-induced HIF-1 alpha accumulation is augmented in a co-culture of keloid fibroblasts and human mast cells: involvement of ERK1/2 and PI-3K/Akt. *Exp Cell Res* 2006; 312: 145–155.
267. Lu WS, Zhang WY, Li Y, Wang ZX, Zuo XB, Cai LQ, Zhu F, Wang JF, Sun LD, Zhang XJ, Yang S. et al. Association of HLA-DRB1 alleles with keloids in Chinese Han individuals. *Tissue Antigens* 2010; 76: 276–281.
268. Brown JJ, Ollier WE, Thomson W, Bayat A. Positive association of HLA-DRB1*15 with keloid disease in Caucasians. *Int J Immunogenet* 2008; 35: 303–307.
269. Shih B, Bayat A. Comparative genomic hybridisation analysis of keloid tissue in Caucasians suggests possible involvement of HLA-DRB5 in disease pathogenesis. *Arch Dermatol Res* 2012; 304: 241–249

270. Tsai CH, Ogawa R. Keloid research: current status and future directions. *Scars Burn Heal*. 2019;5:2059513119868659.
271. Gordon AD, Karmacharya J, Herlyn M. Scarless wound healing induced by adenoviral-mediated overexpression of interleukin-10. *Surg Forum*. 2001;52:568–569.
272. Liechty KW, Kim HB, Adzick NS, Crombleholme TM. Fetal wound repair results in scar formation in interleukin-10-deficient mice in a syngeneic murine model of scarless fetal wound repair. *J Pediatr Surg* 2000; 35:866-72
273. Larson BJ, Longaker MT, Lorenz HP. Scarless fetal wound healing: a basic science review. *Plast Reconstr Surg*. 2010;126(4):1172–1180
274. Liechty KW, Adzick NS, Crombleholme TM. Diminished interleukin 6 (IL-6) production during scarless human fetal wound repair. *Cytokine*. 2000;12:671–676
275. Liechty KW, Crombleholme TM, Cass DL. Diminished interleukin-8 (IL-8) production in the fetal wound healing response. *J Surg Res*. 1998;77:80–84.
276. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor b in tissue fibrosis. *N Engl J Med*. 1994;331:1286–1292
277. Schafer M, Werner S. Transcriptional control of wound repair. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007;23:69-92.10.
278. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70
279. Bock O, Yu H, Zitron S, Bayat A, Ferguson MW, Mrowietz U. Studies of transforming growth factors beta1-3 and their receptors I and II in fibroblast of keloids and hypertrophic scars. *Acta Dermatol Venereol*. 2005;85(3):216–220.
280. Frank S, Madlener M, Werner S. Transforming growth factor-b1, 2 and 3 and their receptors are differentially regulated in normal and impaired wound healing. *J Biol Chem*. 1996;271:10188–10193.
281. Hakvoort T, Altun V, van Zuijlen PP, de Boer WI, van Schadewij WA, van der Kwast TH. Transforming growth factor-beta(1), -beta(2), -beta(3), basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor expression in keratinocytes of burn scars. *Eur Cytokine Netw*. 2000 Jun;11(2):233-39.

282. Abdou AG, Maraee AH, Al-Bara AM, Diab WM. Immunohistochemical Expression of TGF- β 1 in Keloids and Hypertrophic Scars. *The American Journal of Dermatopathology*. 2011;33:84–91
283. Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralising antibody to TGF-beta 1,2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. *J Cell Sci*. 1994 May; 107 (Pt5):1137-57
284. Ellis IR, Schor SL. Differential effects of TGF-1beta on hyaluronan synthesis by fetal and adult skin fibroblasts: Implications for cell migration and wound healing. *Exp Cell Res*. 1996; 228:326–333
285. Nath RK, LaRegina M, Markham H, Ksander GA, Weeks PMJ. The expression of transforming growth factor type beta in fetal and adult rabbit skin wounds. *Pediatr Surg*. 1994 Mar; 29(3):416-21.
286. Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralization of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 or exogenous addition of TGF-beta 3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. *J Cell Sci*. 1995;108:985–1002.
287. Flanders KC, Major CD, Arabshahi A, Aburime EE, Okada MH, Fujii M. Interference with transforming growth factor-beta/Smad3 signaling results in accelerated healing of wounds in previously irradiated skin. *Am J Pathol* 2003;163:2247-57.
288. Arora PD, Narani N, McCulloch CA The compliance of collagen gels regulates transforming growth factor-beta induction of alpha-smooth muscle actin in fibroblasts. *Am J Pathol* 1999; 154:871–882
289. Vi L, de Lasa C, DiGuglielmo GM, Dagnino L Integrin-linked kinase is required for TGF-b1 induction of dermal myo-fibroblast differentiation. *J Invest Dermatol* 2011; 131:586–593
290. Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature* 2003; 425:577–584
291. Pozzi A, Wary KK, Giancotti FG, Gardner HA. Integrin α 1 β 1 mediates a unique collagen-dependent proliferation pathway in vivo. *J Cell Biol* 1998;142:587–594

292. Schiro JA, Chan BM, Roswit WT. Integrin alpha 2beta 1 (VLA-2) mediates reorganization and contraction of col-lagen matrices by human cells. *Cell* 1991; 67:403–410
293. Carracedo S, Lu N, Popova SN, Jonsson R, Eckes B, Gullberg D. The fibroblast integrin alpha11beta1 is induced in a mechanosensitive manner involving activin A and regulates myofibroblast differentiation. *J Biol Chem* 2010; 285:10434–10445
294. Khalsa PS, Ge W, Uddin MZ, Hadjiargyrou M. Integrinalpha2beta1 affects mechano-transduction in slowly and rapidly adapting cutaneous mechanoreceptors in rat hairy skin. *Neuro-science* 2004; 129:447–459
295. Zhao XH, Laschinger C, Arora P, Sza'csi K, Kapus A, McCullochCA. Force activates smooth muscle alpha-actin promoteractivity through the Rho signaling pathway. *J Cell Sci* 2007 ;120:1801–1809
296. Wen H, Blume PA, Sumpio BE. Role of integrins and focaladhesion kinase in the orientation of dermal fibroblasts exposedto cyclic strain. *Int Wound J* 2009; 6:149–15
297. Kippenberger S, Bernd A, Loitsch S. Signaling ofmechanical stretch in human keratinocytes via MAP kinases.*J Invest Dermatol* 2000;114:408–412
298. Yang S, Huang XY. Ca² influx through L-type Ca² channels controls the trailing tail contraction in growth factor-induced fibroblast cell migration. *J Biol Chem* 2005; 280:27130–27137
299. Ko KS, Arora PD, McCulloch CA.Cadherins mediateintercellular mechanical signaling in fibroblasts by activation ofstretch-sensitive calcium-permeable channels. *J Biol Chem* 2001; 276:35967–35977
300. Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signalling.*Nature* 1993; 361:315–325
301. Pawson T. Protein modules and signalling networks. *Nature* 1995; 373:573–580
302. Gönczi M, Szentandrassy N, Fülöp L. Hypotonic stress influence the membrane potential and alter the proliferation of keratinocytes in vitro. *Exp Dermatol* 2007; 16:302–310

303. Goto M, Ikeyama K, Tsutsumi M, Denda S, Denda M. Calcium ion propagation in cultured keratinocytes and other cells in skin in response to hydraulic pressure stimulation. *J Cell Physiol* 2010;224:229–233
304. Sakamoto Y, Ishijima M, Kaneko H, Kurebayashi N, Ichikawa N, Futami I, Kurosawa H, Arikawa-Hirasawa E. Distinct mechanosensitive Ca²⁺ influx mechanisms in human primary synovial fibroblasts. *J Orthop Res* 2010; 28:859–864
305. Follonier L, Schaub S, Meister JJ, Hinz B. Myofibroblast communication is controlled by intercellular mechanical coupling. *J Cell Sci* 2008; 121:3305–3316
306. Balasubramanian L, Ahmed A, Lo CM, Sham JS, Yip KP. Integrin-mediated mechanotransduction in renal vascular smooth muscle cells: activation of calcium sparks. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293:1586–1594
307. Nebe B, Bohn W, Sanftleben H, Rychly J. Induction of a physical linkage between integrins and the cytoskeleton depends on intracellular calcium in an epithelial cell line. *Exp Cell Res* 1996; 229:100–110
308. Ito S, Suki B, Kume H, Numaguchi Y, Ishii M, Iwaki M, Kondo M, Naruse K, Hasegawa Y, Sokabe M. Actin cytoskeleton regulates stretch-activated Ca²⁺ influx in human pulmonary microvascular endothelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010 Jul;43(1):26-34
309. Glogauer M, Arora P, Yao G, Sokholov I, Ferrier J, McCulloch CA. Calcium ions and tyrosine phosphorylation interact coordinately with actin to regulate cytoprotective responses to stretching. *J Cell Sci* 1997; 110:11–2
310. Steen KH, Reeh PW, Anton F, Handwerker HO. Protons selectively induce lasting excitation and sensitization to mechanical stimulation of nociceptors in rat skin, *in vitro*. *J Neurosci* 1992; 12: 86–95.
311. Choi JE, Di Nardo A. Skin neurogenic inflammation. *Semin Immunopathol*. 2018;40(3):249–259.
312. Boulais N, Misery L. The epidermis: A sensory tissue. *Eur J Dermatol*. 2008;18:119–127.

313. Lumpkin EA, Caterina MJ. Mechanisms of sensory transduction in the skin. *Nature* 2007;445:858–856.
314. Bayliss WM. On the origin from the spinal cord of the vasodilator fibres of the hindlimb, and on the nature of these fibers. *J Physiol (Lond.)* 1901; 32:1025–1043.
315. Kilo S, Harding-Rose C, Hargreaves KM, Flores CM. Peripheral CGRP release as a marker for neurogenic inflammation: A model system for the study of neuropeptide secretion in rat paws skin. *Pain* 1997;73:201–207.
316. Kress M, Guthmann C, Averbek B, Reeh PW. Calcitonin gene-related peptide and prostaglandin E2 but not substance P release induced by antidromic nerve stimulation from rat skin, in vitro. *Neuroscience* 1999;89:303–310.
317. Sauerstein K, Klede M, Hilliges M, Schmelz M. Electrically evoked neuropeptide release and neurogenic inflammation differ between rat and human skin. *J Physiol.* 2000;529:803– 810.
318. McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, Wise A, Brown J, Thompson N, Solari R, Lee MG, Foord SM. RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature.* 1998; 393(6683):333–339.
319. Garret C, Carruette A, Fardin V, Moussaoui S, Peyronel JF, Blanchard JC, Laduron PM. Pharmacological properties of a potent and selective nonpeptide substance P antagonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1991; 88(22):10208–10212.
320. Yamaoka J, Di ZH, Sun W, Kawana S. Erratum to “Changes in cutaneous sensory nerve fibers induced by skin-scratching in mice.” *J Dermatol Sci* 2007; 47: 172–82.
321. Supowit SC, Zhao H, DiPette DJ. Nerve growth factor enhances calcitonin gene-related peptide expression in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension.* 2001 Feb;37(2 Pt 2):728-32.
322. Liu L, Shenoy M, Pasricha PJ. Substance P and calcitonin gene related peptide mediate pain in chronic pancreatitis and their expression is driven by nerve growth factor. *JOP.* 2011;12(4):389–394.

323. Dang Z, Avolio E, Albertario A, Sala-Newby GB, Thomas AC, Wang N, Emanuelli C, Madeddu P. Nerve growth factor gene therapy improves bone marrow sensory innervation and nociceptor-mediated stem cell release in a mouse model of type 1 diabetes with limb ischaemia. *Diabetologia*. 2019 Jul;62(7):1297-1311
324. Liezmann C, Klapp B, Peters EM. Stress, atopy and allergy: A re-evaluation from a psychoneuroimmunologic perspective. *Dermato-endocrinology*. 2011; 3(1):37–40.
325. Peters EM, Ericson ME, Hosoi J, Seiffert K, Hordinsky MK, Ansel JC, Paus R, Scholzen TE. Neuropeptide control mechanisms in cutaneous biology: physiological and clinical significance. *The Journal of investigative dermatology*. 2006; 126(9):1937–1947.
326. Botchkarev VA, Yaar M, Peters EM, Raychaudhuri SP, Botchkareva NV, Marconi A, Raychaudhuri SK, Paus R, Pincelli C. Neurotrophins in skin biology and pathology. *The Journal of investigative dermatology*. 2006; 126(8):1719–1727.
327. Cevikbas F, Steinhoff A, Homey B, Steinhoff M. Neuroimmune interactions in allergic skin diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007; 7(5):365–373.
328. Jancso N, Janxso-Gabor A, Szolxanyi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pre-treatment with capsaicin. *Brit J Pharmacol* 1967;31:138–51
329. Kwak IS, Choi YH, Jang YC, Lee YK. Immunohistochemical analysis of neuropeptides (protein gene product 9.5, substance P and calcitonin gene-related peptide) in hypertrophic burn scar with pain and itching. *Burns*. 2014 Dec;40(8):1661-7.
330. Zheng Z, Lamotte RH, Grigg P. Comparison of responses to tensile and compressive stimuli in C-mechanosensitive nociceptors in rat hairy skin. *Somatosens Mot Res* 2002;19(2):109–13.
331. Younai S, Nichter LS, Wellisz T, Reinisch J, Nimni ME, Tuan TL. Modulation of collagen synthesis by transforming growth factor-beta in keloid and hypertrophic scar fibroblasts. *Ann Plast Surg*. 1994;33:148–151.

332. Nilsson J, von Euler AM, Dalsgaard CJ. Stimulation of connective tissue cell growth by substance P and substance K. *Nature* 1985;315:61–63.
333. Katayama I, Nishioka K. Substance P augments fibrogenic cytokine-induced fibroblast proliferation: Possible involvement of neuropeptide in tissue fibrosis. *J Dermatol Sci.* 1997; 15:201–206.
334. O’Sullivan RL, Lipper G, Lerner EA. The neuroimmunocutaneous-endocrine network: Relationship of mind and skin. *Arch Dermatol.* 1998;134:1431–1435.
335. Schmelz M, Petersen LJ. Neurogenic inflammation in human and rodent skin. *News Physiol Sci.* 2001;16:33–37.
336. Slominski A, Wortsman J. Neuroendocrinology of the skin. *Endocr Rev.* 2000;21:457–487
337. Jans R, Sartor M, Jadot M, Poumay Y. Calcium entry into keratinocytes induces exocytosis of lysosomes. *Archives of dermatological research.* 2004; 296(1):30–41
338. Zhao P, Metcalf M, Bunnett NW. Biased signaling of protease-activated receptors. *Frontiers in endocrinology.* 2014; 5:67.
339. Chen Y, Yang C, Wang ZJ. Proteinase-activated receptor 2 sensitizes transient receptor potential vanilloid 1, transient receptor potential vanilloid 4, and transient receptor potential ankyrin 1 in paclitaxel-induced neuropathic pain. *Neuroscience.* 2011; 193:440–451.
340. Steinhoff M, Neisius U, Ikoma A, Fartasch M, Heyer G, Skov PS, Luger TA, Schmelz M. Proteinase-activated receptor-2 mediates itch: a novel pathway for pruritus in human skin. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience.* 2003; 23(15):6176–6180.
341. Fu Q, Cheng J, Gao Y, Zhang Y, Chen X, Xie J. Protease-activated receptor 4: a critical participator in inflammatory response. *Inflammation.* 2015; 38(2):886–895.
342. Cocks TM, Moffatt JD. Protease-activated receptors: sentries for inflammation? *Trends in pharmacological sciences.* 2000; 21(3):103–108.
343. Gouin O, Lebonvallet N, L’Herondelle K, Le Gall-Ianotto C, Buhe V, Plee-Gautier E, Carre JL, Lefeuvre L, Misery L. Self-maintenance of neurogenic

- inflammation contributes to a vicious cycle in skin. *Experimental dermatology*. 2015; 24(10):723–726
344. Mollanazar NK, Smith PK, Yosipovitch G. Mediators of Chronic Pruritus in Atopic Dermatitis: Getting the Itch Out? *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2016; 51(3):263–292.
345. Briot A, Deraison C, Lacroix M, Bonnart C, Robin A, Besson C, Dubus P, Hovnanian A. Kallikrein 5 induces atopic dermatitis-like lesions through PAR2-mediated thymic stromal lymphopoietin expression in Netherton syndrome. *The Journal of experimental medicine*. 2009; 206(5):1135–1147.
346. Tourdot BE, Conaway S, Niisuke K, Edelstein LC, Bray PF, Holinstat M. Mechanism of race-dependent platelet activation through the protease-activated receptor-4 and Gq signaling axis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2014; 34(12):2644–2650.
347. Vellani V, Kinsey AM, Prandini M, Hechtfisher SC, Reeh P, Magherini PC, Giacomoni C, McNaughton PA. Protease activated receptors 1 and 4 sensitize TRPV1 in nociceptive neurones. *Molecular pain*. 2010; 6:61
348. Karanjia R, Spreadbury I, Bautista-Cruz F, Tsang ME, Vanner S. Activation of protease-activated receptor-4 inhibits the intrinsic excitability of colonic dorsal root ganglia neurons. *Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*. 2009; 21(11):1218–1221.
349. Asfaha S, Cenac N, Houle S, Altier C, Papez MD, Nguyen C, Steinhoff M, Chapman K, Zamponi GW, Vergnolle N. Protease-activated receptor-4: a novel mechanism of inflammatory pain modulation. *British journal of pharmacology*. 2007; 150(2):176–185.
350. Houle S, Papez MD, Ferazzini M, Hollenberg MD, Vergnolle N. Neutrophils and the kallikrein-kinin system in proteinase-activated receptor 4-mediated inflammation in rodents. *British journal of pharmacology*. 2005; 146(5):670–678.
351. Liu Q, Tang Z, Surdenikova L, Kim S, Patel KN, Kim A, Ru F, Guan Y, Weng HJ, Geng Y, Undem BJ, Kollarik M, Chen ZF, Anderson DJ, Dong

- X. Sensory neuron-specific GPCR Mrgprs are itch receptors mediating chloroquine-induced pruritus. *Cell*. 2009; 139(7):1353–1365
352. Wilson SR, Gerhold KA, Bifolck-Fisher A, Liu Q, Patel KN, Dong X, Bautista DM. TRPA1 is required for histamine-independent, Mas-related G protein-coupled receptor-mediated itch. *Nature neuroscience*. 2011; 14(5):595–602
353. Solinski HJ, Petermann F, Rothe K, Boekhoff I, Gudermann T, Breit A. Human Mas-related G protein-coupled receptors-X1 induce chemokine receptor 2 expression in rat dorsal root ganglia neurons and release of chemokine ligand 2 from the human LAD-2 mast cell line. *PloS one*. 2013; 8(3):e58756.
354. Boillat A, Alijevic O, Kellenberger S. Calcium entry via TRPV1 but not ASICs induces neuropeptide release from sensory neurons. *Molecular and cellular neurosciences*. 2014; 61:13–22.
355. Stander S, Moormann C, Schumacher M, Buddenkotte J, Artuc M, Shpacovitch V, Brzoska T, Lippert U, Henz BM, Luger TA, Metzke D, Steinhoff M. Expression of vanilloid receptor subtype 1 in cutaneous sensory nerve fibers, mast cells, and epithelial cells of appendage structures. *Experimental dermatology*. 2004; 13(3):129–139
356. Story GM, Peier AM, Reeve AJ, Eid SR, Mosbacher J, Hricik TR, Earley TJ, Hergarden AC, Andersson DA, Hwang SW, McIntyre P, Jegla T, Bevan S, Patapoutian A. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell*. 2003; 112(6):819–829.
357. Hojland CR, Andersen HH, Poulsen JN, Arendt-Nielsen L, Gazerani P. A human surrogate model of itch utilizing the TRPA1 agonist trans-cinnamaldehyde. *Acta dermato-venereologica*. 2015; 95(7):798–803.
358. Liang J, Ji Q, Ji W. Role of transient receptor potential ankyrin subfamily member 1 in pruritus induced by endothelin-1. *Neuroscience letters*. 2011; 492(3):175–178.
359. Liu T, Xu ZZ, Park CK, Berta T, Ji RR. Toll-like receptor 7 mediates pruritus. *Nature neuroscience*. 2010; 13(12):1460–1462.

360. Kim SJ, Park GH, Kim D, Lee J, Min H, Wall E, Lee CJ, Simon MI, Lee SJ, Han SK. Analysis of cellular and behavioral responses to imiquimod reveals a unique itch pathway in transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)-expressing neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108(8):3371–3376.
361. Yun JW, Seo JA, Jeong YS, Bae IH, Jang WH, Lee J, Kim SY, Shin SS, Woo BY, Lee KW, Lim KM, Park YH. TRPV1 antagonist can suppress the atopic dermatitis-like symptoms by accelerating skin barrier recovery. *Journal of dermatological science*. 2011; 62(1):8–15
362. Bautista DM, Pellegrino M, Tsunozaki M. TRPA1: A gatekeeper for inflammation. *Annual review of physiology*. 2013; 75:181–200.
363. Gouin O, L’Herondelle K, Lebonvallet N, Le Gall-Ianotto C, Sakka M, Buhe V, Plee-Gautier E, Carre JL, Lefeuvre L, Misery L, Le Garrec R. TRPV1 and TRPA1 in cutaneous neurogenic and chronic inflammation: pro-inflammatory response induced by their activation and their sensitization. *Protein & cell*. 2017;8: 644.
364. Kodji X, Aubdool AA, Brain SD. Evidence for physiological and pathological roles for sensory nerves in the microvasculature and skin. *Current research in translational medicine*. 2016; 64(4):195–201
365. Nawa H, Kotani H, Nakanishi S .Tissue-specific generation of two preprotachykinin mRNAs from one gene by alternative RNA splicing. *Nature* 1984;312(5996):729 – 734.
366. Chang MM, Leeman SE, Niall HD. Amino-acid sequence of substance P. *Nat New Biol* 1971;232(29):86 – 87.
367. Hershey AD, Krause JE .Molecular characterization of a functional cDNA encoding the rat substance P receptor. *Science* 1990;247(4945):958 – 962.
368. Nakanishi S. Mammalian tachykinin receptors. *Annu RevNeurosci* 1991;14:123 – 136
369. Okada T, Hirayama Y, Kishi S, Miyayasu K, Hiroi J, Fujii T. Functional neurokinin NK-1 receptor expression in rat peritoneal mast cells. *Inflamm Res*. 1999;48:274–279.

370. Kulka M, Sheen CH, Tancowny BP, Grammer LC, Schleimer RP. Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production. *Immunology*. 2008;123:398–410.
371. Stander S, Siepmann D, Herrgott I, Sunderkotter C, Luger TA. Targeting the neurokinin receptor 1 with aprepitant: a novel antipruritic strategy. *PloS one*. 2010; 5(6):e10968.
372. Repke H, Bienert M. Structural requirements for mast cell triggering by substance P-like peptides. *Agents Actions*. 1988;23:207–210.
373. Columbo M, Horowitz EM, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Substance P activates the release of histamine from human skin mast cells through a pertussis toxin-sensitive and protein kinase C-dependent mechanism. *Clin Immunol Immunopathol*. 1996;81:68–73
374. Erjavec F, Lembeck F, Florjanc-Irman T et al.: Release of histamine by substance P. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1981;317: 67770
375. Skofitsch G, Savitt JM, Jacobowitz DM. Suggestive evidence for a functional unit between mast cells and substance P fibers in the rat diaphragm and mesentery. *Histochemistry*. 1985;82:5–8.
376. Stead RH, Tomioka M, Quinonez G, Simon GT, Felten SY, Bienenstock J. Intestinal mucosal mast cells in normal and nematode-infected rat intestines are in intimate contact with peptidergic nerves. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84:2975–2979.
377. Dimitriadou V, Rouleau A, Trung Tuong MD, Newlands MD, Miller HR, Luffau G, Schwartz JC, Garbarg M. Functional relationships between sensory nerve fibers and mast cells of dura mater in normal and inflammatory conditions. *Neuroscience*. 1997;77:829–839.
378. Vergnolle N, Wallace JL, Bunnett NW, Hollenberg MD. Protease-activated receptors in inflammation, neuronal signaling and pain. *Trends Pharmacol Sci*. 2001;22:146–152.
379. Ansel JC, Brown JR, Payan DG, Brown MA. Substance P selectively activates TNF-alpha gene expression in murine mast cells. *J Immunol*. 1993;150:4478–4485.

380. Theoharides TC, Zhang B, Kempuraj D, Tagen M, Vasiadi M, Angelidou A, Alysandratos KD, Kalogeromitros D, Asadi S, Stavrianeas N, Peterson E, Leeman S, Conti P. IL-33 augments substance P-induced VEGF secretion from human mast cells and is increased in psoriatic skin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:4448–4453.
381. Ghazizadeh M. Essential role of IL-6 signaling pathway in keloid pathogenesis. *J Nippon Med Sch* 2007;74(1):11–22.
382. McCauley RL, Chopra V, Li YY, Herndon DN, Robson MC. Altered cytokine production in black patients with keloids. *J Clin Immunol* 1992;12(4)
383. Park YM, Kim CW. The effects of substance P and vasoactive intestinal peptide on interleukin-6 synthesis in cultured human keratinocytes. *Journal of dermatological science*. 1999; 22(1):17–23.
384. Song IS, Bunnett NW, Olerud JE, Harten B, Steinhoff M, Brown JR, Sung KJ, Armstrong CA, Ansel JC. Substance P induction of murine keratinocyte PAM 212 interleukin 1 production is mediated by the neurokinin 2 receptor (NK-2R). *Experimental dermatology*. 2000; 9(1):42–52.
385. Burbach GJ, Kim KH, Zivony AS, Kim A, Aranda J, Wright S, Naik SM, Caughman SW, Ansel JC, Armstrong CA. The Neurosensory Tachykinins Substance P and Neurokinin A Directly Induce Keratinocyte Nerve Growth Factor. *Journal of Investigative Dermatology*. 2001; 117(5):1075–1082.
386. Dallos A, Kiss M, Polyánka H, Dobozy A, Kemény L, Husz S. Effects of the neuropeptides substance P, calcitonin gene-related peptide, vasoactive intestinal polypeptide and galanin on the production of nerve growth factor and inflammatory cytokines in cultured human keratinocytes. *Neuropeptides*. 2006; 40(4):251–263.
387. Nakano Y. Stress-induced modulation of skin immune function: two types of antigen-presenting cells in the epidermis are differentially regulated by chronic stress. *The British journal of dermatology*. 2004; 151(1):50–64.
388. Beresford L, Orange O, Bell EB, Miyazaki JA. Nerve fibres are required to evoke a contact sensitivity response in mice. *Immunology*. 2004; 111(1):118–125.

389. Joachim RA, Handjiski B, Blois SM, Hagen E, Paus R, Arck PC. Stress-Induced Neurogenic Inflammation in Murine Skin Skews Dendritic Cells Towards Maturation and Migration. *The American journal of pathology*. 2008; 173(5):1379–1388.
390. Bae SJ, Matsunaga Y, Takenaka M, Tanaka Y, Hamazaki Y, Shimizu K, Katayama I. Substance P induced preprotachykinin-a mRNA, neutral endopeptidase mRNA and substance P in cultured normal fibroblasts. *International archives of allergy and immunology*. 2002; 127(4):316–321. 57749.
391. Peters EM. The neuroendocrine-immune connection regulates chronic inflammatory disease in allergy. *Chemical immunology and allergy*. 2012; 98:240–252.
392. Brain SD, Williams TJ. Interactions between the tachykinins and calcitonin gene-related peptide lead to the modulation of oedema formation and blood flow in rat skin. *British journal of pharmacology*. 1989; 97(1):77–82.
393. Saria A. Substance P in sensory nerve fibres contributes to the development of oedema in the rat hind paw after thermal injury. *British journal of pharmacology*. 1984; 82(1):217–222.
394. Lindsey KQ, Caughman SW, Olerud JE, Bunnett NW, Armstrong CA, Ansel JC. Neural regulation of endothelial cell-mediated inflammation. *The journal of investigative dermatology Symposium proceedings*. 2000; 5(1):74–78.
395. Castellani ML, Galzio RJ, Felaco P, Tripodi D, Toniato E, De Lutiis MA, Conti F, Fulcheri M, Conti C, Theoharides TC, Caraffa A, Antinolfi P, Felaco M, Tete S, Pandolfi F, Shaik-Dasthagirisahab YB. VEGF, substance P and stress, new aspects: a revisited study. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*. 2010; 24(3):229–237.
396. Kohara H, Tajima S, Yamamoto M, Tabata Y. Angiogenesis induced by controlled release of neuropeptide substance P. *Biomaterials*. 2010; 31(33):8617–8625.
397. Weglicki WB, Chmielinska JJ, Tejero-Taldo I, Kramer JH, Spurney CF, Viswalingham K, Lu B, Mak IT. Neutral endopeptidase inhibition enhances

- substance P mediated inflammation due to hypomagnesemia. *Magnes Res.* 2009;22(3):167S–173S.
398. Scott JR, Muangman PR, Tamura RN, Zhu KQ, Liang Z, Anthony J, Engrav LH, Gibran NS. Substance p levels and neutral endopeptidase activity in acute burn wounds and hypertrophic scar. *Plast Reconstr surg.* 2005 apr;115(4):1095-102.
399. Maggi CA. Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as co-transmitters released from peripheral endings of sensory nerves. *Prog Neurobiol* 1995;45: 1–98
400. Rosenfeld MG, Mermod JJ, Amara SG, Swanson LW, Sawchenko PE, Rivier J, Vale WW, Evans RM. Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature* 1983;304: 129–135
401. Steenbergh PH, Hoppener JW, Zandberg J, Visser A, Lips CJ, Jansz HS. Structure and expression of the human calcitonin/CGRP genes. *FEBS Lett* 1986;209: 97–103
402. Amara SG, Arriza JL, Leff SE, Swanson LW, Evans RM, Rosenfeld MG. Expression in brain of a messenger RNA encoding a novel neuropeptide homologous to calcitonin gene-related peptide. *Science* 1985;229: 1094–1097
403. Morris HR, Panico M, Etienne T, Tippins J, Girgis SI, MacIntyre I. Isolation and characterization of human calcitonin gene-related peptide. *Nature* 1984;308: 746–748
404. Brain SD, Grant AD. Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. *Physiol Rev* 2004;84: 903–934
405. Mulderry PK, Ghatei MA, Bishop AE, Allen YS, Polak JM, Bloom SR. Distribution and chromatographic characterisation of CGRP-like immunoreactivity in the brain and gut of the rat. *Regul Pept* 1985;12: 133–143
406. Donnerer J, Schuligoi R, Stein C. Increased content and transport of substance P and calcitonin gene-related peptide in sensory nerves

- innervating inflamed tissue: evidence for a regulatory function of nerve growth factor in vivo. *Neuroscience* 1992;49: 693–698
407. Matteoli M, Haimann C, Torri-Tarelli F, Polak JM, Ceccarelli B, De Camilli P. Differential effect of alpha-latrotoxin on exocytosis from small synaptic vesicles and from large dense-core vesicles containing calcitonin gene-related peptide at the frog neuromuscular junction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85: 7366–7370
408. Meng J, Wang J, Lawrence G, Dolly JO. Synaptobrevin I mediates exocytosis of CGRP from sensory neurons and inhibition by botulinum toxins reflects their anti-nociceptive potential. *J Cell Sci* 2007;120: 2864–2874
409. Brain SD, Williams TJ. Substance P regulates the vasodilator activity of calcitonin gene-related peptide. *Nature* 1988;335: 73–75
410. Mishima T, Ito Y, Hosono K, Tamura Y, Uchida Y, Hirata M, Suzsuki T, Amano H, Kato S, Kurihara Y, Kurihara H, Hayashi I, Watanabe M, Majima M. Calcitonin gene-related peptide facilitates revascularization during hindlimb ischemia in mice. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2011; 300(2):H431–439.
411. Zhou Z, Hu CP, Wang CJ, Li TT, Peng J, Li YJ. Calcitonin gene-related peptide inhibits angiotensin II-induced endothelial progenitor cells senescence through up-regulation of klotho expression. *Atherosclerosis*. 2010; 213(1):92–101
412. Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR, MacIntyre I. Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature* 1985;313: 54–56
413. Gray DW, Marshall I. Human alpha-calcitonin gene-related peptide stimulates adenylate cyclase and guanylate cyclase and relaxes rat thoracic aorta by releasing nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1992;107: 691–696
414. Deng PY, Li YJ. Calcitonin gene-related peptide and hypertension. *Peptides* 2005;26: 1676–1685
415. Smillie SJ, Brain SD. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and its role in hypertension. *Neuropeptides* 2011;45: 93–104

416. Ding W, Stohl LL, Wagner JA, Granstein RD. Calcitonin gene-related peptide biases Langerhans cells toward Th2-type immunity. *Journal of immunology (Baltimore, Md: 1950)*. 2008; 181(9):6020–6026
417. Arden WA, Fiscus RR, Wang X, Yang L, Maley R, Nielsen M, Lanzo S, Gross DR. Elevations in circulating calcitonin gene-related peptide correlate with hemodynamic deterioration during endotoxic shock in pigs. *Circ Shock* 1994;42: 147–153
418. Huttemeier PC, Ritter EF, Benveniste H. Calcitonin gene-related peptide mediates hypotension and tachycardia in endotoxic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1993;265: H767–H769
419. Ichinose M, Sawada M. Enhancement of phagocytosis by calcitonin gene-related peptide (CGRP) in cultured mouse peritoneal macrophages. *Peptides* 1996;17: 1405–1414
420. Ding W, Manni M, Stohl LL, Zhou XK, Wagner JA, Granstein RD. Pituitary adenylate cyclase-activating peptide and vasoactive intestinal polypeptide bias Langerhans cell Ag presentation toward Th17 cells. *European journal of immunology*. 2012; 42(4):901–911
421. Antunez C, Torres MJ, Lopez S, Rodriguez-Pena R, Blanca M, Mayorga C, Santamaria-Babi LF. Calcitonin gene-related peptide modulates interleukin-13 in circulating cutaneous lymphocyte-associated antigen-positive T cells in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2009;161: 547–553
422. Massaad CA, Safieh-Garabedian B, Poole S, Atweh SF, Jabbur SJ, Saade NE. Involvement of substance P, CGRP and histamine in the hyperalgesia and cytokine upregulation induced by intraplantar injection of capsaicin in rats. *J Neuroimmunol* 2004;153: 171–182
423. Karanth SS, Dhital S, Springall DR, Polak JM. Reinnervation and neuropeptides in mouse skin flaps. *J Auton Nerv Syst* 1990;31: 127–134
424. Kjartansson J, Dalsgaard CJ. Calcitonin gene-related peptide increases survival of a musculocutaneous critical flap in the rat. *Eur J Pharmacol* 1987;142: 355–358
425. Roggenkamp D, Kopnick S, Stab F, Wenck H, Schmelz M, Neufang G. Epidermal nerve fibers modulate keratinocyte growth via neuropeptide

- signaling in an innervated skin model. *J Invest Dermatol* 2013;133: 1620–1628
426. Kim J, Padanilam BJ. Renal nerves drive interstitial fibrogenesis in obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2013;24: 229–242
427. Siney L, Brain SD. Involvement of sensory neuropeptides in the development of plasma extravasation in rat dorsal skin following thermal injury. *Br J Pharmacol* 1996;117: 1065–1070
428. Sandoz A, Kusnir D, Koenig T, Tausk F. Psychocutaneousmedicine. In: Fitzpatrick's dermatology in general medicine. New York: Mc Graw-Hill, 2007.
429. Bush G, Luu P, Posner MI. Cognitive and emotional influences in anterior cingulate cortex. *Trends Cogn Sci* 2000;4:215-22.
430. Bremner JD. Traumatic stress: effects on the brain. *Dialogues Clin Neurosci.* 2006;8(4):445–461.
431. Zhao Z, Yang Y, Walker DL, Davis M. Effects of substance P in the amygdala, ventromedial hypothalamus, and periaqueductal gray on fear-potentiated startle. *Neuropsychopharmacology.* 2009Jan;34(2):331-40.
432. Mathew SJ, Vythilingam M, Murrough JW, Zarate CA Jr, Feder A, Luckenbaugh DA. A selective neurokinin-1 receptor antagonist in chronic PTSD: A randomized, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept trial. *Eur Neuropsychopharmacol* 2011;21:221–229.
433. Sergeev V, Hökfelt T, Hurd Y. Serotonin and substance P co-exist in dorsal raphe neurons of the human brain. *Neuroreport* 1999;10: 3967–3970.
434. Hafizi S, Serres F, Pei Q, Totterdell S, Sharp T. Evidence for the differential co-localization of neurokinin-1 receptors with 5-HT receptor subtypes in rat forebrain. *J Psychopharmacol* 2012;26: 505–515.
435. Shirayama Y, Mitsushio H, Takashima M, Ichikawa H, Takahashi K. Reduction of substance P after chronic antidepressants treatment in the striatum, substantia nigra and amygdala of the rat. *Brain Res* 1996;739:70–78.

436. Tuominen L, Nummenmaa L, Keltikangas-Järvinen L, Raitakari O, Hietala J. Mapping neurotransmitter networks with PET: An example on serotonin and opioid systems. *Hum Brain Mapp* 2014;35: 1875–1884.
437. McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med* 1998;338:171-9.
438. Ader R. *Psychoneuroimmunology IV*. San Diego: Academic Press; 2007. p. 1583.
439. Dhabhar FS, Miller AH, McEwen BS, Spencer RL. Effects of stress on immune cell distribution. Dynamics and hormonal mechanisms. *J Immunol* 1995;154:5511-27.
440. Dhabhar FS, McEwen BS. Bidirectional effects of stress & glucocorticoid hormones on immune function: possible explanations for paradoxical observations. In: Ader R, Felten DL, Cohen N, editors. *Psychoneuroimmunology*. 3rd ed. San Diego: Academic Press; 2001.p. 301-38.
441. Dhabhar FS. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulation* 2009;16:300-17
442. Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med* 1995;332: 1351–1362
443. Samuels ER, Szabadi E. Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic function part I: principles of functional organisation. *Curr Neuropharmacol*. 2008 Sep;6(3):235-53.
444. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve – an integrative interface between two super-systems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev* 2000;52: 595–638.
445. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress Hormones, Th1/Th2 patterns, pro/anti-inflammatory cytokines and susceptibility to disease. *Trends Endocrinol Metab* 1999;10:359–368.
446. Elenkov IJ, Papanicolaou DA, Wilder RL, Chrousos GP. Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamines on human interleukin-12 and

- interleukin-10 production: clinical implications. *Proc Assoc Am Physicians* 1996;108: 374–381.
447. Blotta MH, DeKruyff RH, Umetsu DT. Corticosteroids inhibit IL-12 production in human monocytes and enhance their capacity to induce IL-4 synthesis in CD4+ lymphocytes. *J Immunol* 1997;158: 5589–5595.
448. Hasko G, Szabo C, Nemeth ZH, Salzman AL, Vizi ES. Stimulation of beta-adrenoceptors inhibits endotoxin-induced IL-12 production in normal and IL-10 deficient mice. *J Neuroimmunol* 1998;88: 57–61.
449. Panina-Bordignon P, Mazzeo D, Lucia PD, et al. Beta2-agonists prevent Th1 development by selective inhibition of interleukin 12. *J Clin Invest* 1997;100: 1513–1519
450. Ramirez F, Fowell DJ, Puklavec M, Simmonds S, Mason D. Glucocorticoids promote a TH2 cytokine response by CD4+ T cells in vitro. *J Immunol* 1996;156:2406–2412
451. Sanders VM, Baker RA, Ramer-Quinn DS, Kasprovicz DJ, Fuchs BA, Street NE. Differential expression of the beta2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help. *J Immunol* 1997;158: 4200–4210.
452. Viswanathan K, Daugherty C, Dhabhar FS. Stress as an endogenous adjuvant: augmentation of the immunization phase of cell-mediated immunity. *Int Immunol* 2005;17:1059-69.
453. Dhabhar FS, Viswanathan K. Short-term stress experienced at the time of immunization induces a long-lasting increase in immunological memory. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;289:R738-44
454. 5th ed. Arlington: American Psychiatric Association; 2013. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.
455. Kessler RC, Petukhova M, Sampson NA, Zaslavsky AM, Wittchen H-U. Twelve-month and lifetime prevalence and lifetime morbid risk of anxiety and mood disorders in the United States. *Int J Methods Psychiatr Res* 2012;21:169–184.

456. Perkonig A, Pfister H, Stein MB, Höfler M, Lieb R, Maercker A. Longitudinal course of posttraumatic stress disorder and posttraumatic stress disorder symptoms in a community sample of adolescents and young Adults. *AJP* 2005;162:1320–1327.
457. Pietrzak RH, Goldstein RB, Southwick SM, Grant BF. Psychiatric comorbidity of full and partial posttraumatic stress disorder among older adults in the United States: results from wave 2 of the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions. *Am J Geriatr Psychiatry* 2012;20:380–390
458. Euler US, Gaddum JH, Von Euler US, Goddum JH. An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J. Physiol.* 1931;72, 74–87
459. Ohkubo H, Nakanishi S. Molecular characterization of the three tachykinin receptors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1991; 632, 53–62
460. Ebner K, Singewald N. The role of substance P in stress and anxiety responses. *Amino Acids* 2006;31, 251–272
461. Ribeiro-da-Silva A, Hökfelt T. Neuroanatomical localisation of Substance P in the CNS and sensory neurons. *Neuropeptides* 2000;34, 256–271
462. Bilkei-Gorzo A, Zimmer A. Mutagenesis and knockout models: NK1 and substance p. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2005;169, 143–162
463. Mathew SJ, Price RB, Charney DS. Recent advances in the neurobiology of anxiety disorders: implications for novel therapeutics. *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.* 2008;148C, 89–98
464. Herpfer I, Lieb K. Substance P receptor antagonists in psychiatry: rationale for development and therapeutic potential. *CNS Drugs* 2005;19, 275–293
465. Ebner K, Sartori SB, Singewald N. Tachykinin receptors as therapeutic targets in stress-related disorders. *Curr. Pharm. Des.* 2009;15, 1647–1674
466. Hoppe JM, Frick A, Åhs F, Linnman C, Appel L, Jonasson M, Lubberink M, Långström B, Frans Ö, von Knorring L, Fredrikson M, Furmark T. Association between amygdala neurokinin-1 receptor availability and anxiety-related personality traits. *Transl Psychiatry.* 2018 Aug 28;8(1):168
467. Frick A, Åhs F, Palmquist ÅM, Pissioti A, Wallenquist U, Fernandez M, Jonasson M, Appel L, Frans Ö, Lubberink M, Furmark T, von Knorring L,

- Fredrikson M. Overlapping expression of serotonin transporters and neurokinin-1 receptors in posttraumatic stress disorder: a multi-tracer PET study. *Mol Psychiatry*. 2016 Oct;21(10):1400-7
468. Geraciotti TD Jr, Carpenter LL, Owens MJ, Baker DG, Ekhtator NN, Horn PS, Strawn JR, Sanacora G, Kinkead B, Price LH, Nemeroff CB. Elevated cerebrospinal fluid substance p concentrations in posttraumatic stress disorder and major depression. *Am J Psychiatry*. 2006Apr;163(4):637-43.
469. Bremner JD, Randall P, Scott TM. MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 1995; 152:973.
470. Karl A, Schaefer M, Malta LS. A meta-analysis of structural brain abnormalities in PTSD. *Neurosci Biobehav Rev* 2006; 30:1004.
471. Sartory G, Cwik J, Knuppertz H, Schürholt B, Lebens M, Seitz RJ. In search of the trauma memory: a meta-analysis of functional neuroimaging studies of symptom provocation in posttraumatic stress disorder (PTSD). *PLoS One* 2013;8:e58150.
472. Sehlmeier C, Schöning S, Zwitserlood P, Pfleiderer B, Kircher T, Arolt V. Human fear conditioning and extinction in neuroimaging: a systematic review. *PLoS One* 2009;4: e5865.
473. Rhodes RA, Murthy NV, Dresner MA, Selvaraj S, Stavrakakis N, Babar S. Human 5-HT transporter availability predicts amygdala reactivity in vivo. *J Neurosci* 2007;27: 9233–9237.
474. Fisher PM, Meltzer CC, Ziolko SK, Price JC, Hariri AR. Capacity for 5-HT_{1A}-mediated autoregulation predicts amygdala reactivity. *Nat Neurosci* 2006;9:1362–1363.
475. Åhs F, Frick A, Furmark T, Fredrikson M. Human serotonin transporter availability predicts fear conditioning. *Int J Psychophysiol* 2015; 10:1016
476. Murrough JW, Huang Y, Hu J, Henry S, Williams W, Gallezot J-D. Reduced amygdala serotonin transporter binding in posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 2011;70: 1033–1038.
477. Davidson JRT. Pharmacologic treatment of acute and chronic stress following trauma. *J Clin Psychiatry* 2006;67:34–39

478. Friedman MJ, Davidson JR. Handbook of PTSD: Science and Practice. The Guilford Press; New York, NY, USA: 2007. Pharmacotherapy for PTSD; pp. 376–405
479. Brady K, Pearlstein T, Asnis GM, Baker D, Rothbaum B, Sikes CR, Farfel GM. Efficacy and safety of sertraline treatment of posttraumatic stress disorder: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2000;283:1837–1844.
480. Davidson J, Pearlstein T, Lonnberg P, Brady KT, Rothbaum B, Bell J, Maddock R, Hegel MT, Farfel G. Efficacy of sertraline in preventing relapse of posttraumatic stress disorder: Results of a 28-week double-blind, placebo-controlled study. *Am. J. Psychiatry*. 2001;158:1974–1981.
481. Marshall RD, Beebe KL, Oldham M, Zaninelli R. Efficacy and safety of paroxetine treatment for chronic PTSD: A fixed-dose, placebo-controlled study. *Am. J. Psychiatry*. 2001;158:1982–1988.
482. Tucker P, Zaninelli R, Yehuda R, Ruggiero L, Pitts CD. Paroxetine in the treatment of chronic posttraumatic stress disorder: Results of a placebo-controlled, flexible-dosage trial. *J. Clin. Psychiatry*. 2001;62:860–868
483. Escalona R, Canive JM, Calais LA, Davidson JR. Fluvoxamine treatment in veterans with combat-related post-traumatic stress disorder. *Depression Anxiety*. 2002;15:29–33. 87.
484. Seedat S, Lockhat R, Kaminer D, Zungu-Dirwayi N, Stein D. An open trial of citalopram in adolescents with post-traumatic stress disorder. *Int. Clin. Psychopharmacol*. 2001;16:21–25
485. Fouad YSF, Bakry OA. Immunohistochemical Evaluation of Role of Serotonin in Pathogenesis of Psoriasis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016;10(10):5–9
486. Moynihan J, Reider E, Tausk F. Psychoneuroimmunology: the example of psoriasis. *G Ital Dermatol Venereol*. 2010;145(2):221–228.
487. Ronpirin C, Tencomnao T. Psoriasis: A review of the role of serotonergic system. *African Journal of Biotechnology*. 2010;9(11):1528–1534.
488. Passos IC, Vasconcelos-Moreno MP, Costa LG, Kunz M, Brietzke E, Quevedo J, Salum G, Magalhães PV, Kapczinski F, Kauer-Sant'Anna M. Inflammatory markers in post-traumatic stress disorder: a systematic

- review, meta-analysis, and meta-regression. *Lancet Psychiatry*. 2015 Nov;2(11):1002-12.
489. Costello H, Gould RL, Abrol E, Howard R. Systematic review and meta-analysis of the association between peripheral inflammatory cytokines and generalised anxiety disorder. *BMJ Open*. 2019 Jul 19;9(7):e027925.
490. Gupta MA, Gupta AK. Chronic idiopathic urticaria and posttraumatic stress disorder (PTSD): An under-recognized comorbidity *Clin Dermatol*, 2012;30:351-354
491. Bayramgurler D, Bilen N, Namli S. The effects of 17 August Marmara earthquake on patient admittances to our dermatology department. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2002;16:249-252
492. Koo JYM, Lee CS. General approach to evaluating psychodermatological disorders. In: Koo JYM, Lee CS, eds. *Psychocutaneous Medicine*. New York, NY: Marcel Dekker, Inc; 2003:1–29
493. Altemus M, Rao B, Dhabhar FS, Ding W, Granstein RD. Stress-induced changes in skin barrier function in healthy women. *J Invest Dermatol*. 2001 Aug;117(2):309-17.
494. Wardhana M, Windari M, Puspasari N, Suryawati N. Role of Serotonin and Dopamine in Psoriasis: A Case-Control Study. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(7):1138–1142
495. Naldi L, Peli L, Parazzini F, Carrel CF. Family history of psoriasis, stressful life events, and recent infectious disease are risk factors for a first episode of acute guttate psoriasis: results of a case-control study. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44: 433–438.
496. Fortune DG, Richards HL, Griffiths CEM, Main CJ. Psychological stress, distress and disability in patients with psoriasis: consensus and variation in the contribution of illness perceptions, coping and alexithymia. *Br J Dermatol* 2002; 41: 157–174.
497. Fortune DG, Richards HL, Griffiths CEM, Main CJ. Psychologic factors in psoriasis: consequences, mechanisms, and interventions. *Dermatol Clin* 2005;4: 681–694.

498. Al'Abadie MS, Kent CG, Gawkrödger DJ. The relationship between stress and the onset and exacerbation of psoriasis and other skin conditions. *Br J Dermatol* 1994;130:199–203
499. Griffiths CE, Richards HL. Psychological influence in psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 2001;26:338–342
500. Farber EM, Nall L. Psoriasis: a stress-related disease. *Cutis* 1993;51: 322–326.
501. Lakshmy S, Balasundaram S, Sarkar S, Audhya M, Subramaniam E. A Cross-sectional Study of Prevalence and Implications of Depression and Anxiety in Psoriasis. *Indian J Psychol Med.* 2015;37(4):434–40.
502. Osborne SF, Stafford L, Orr KG. Paroxetine-associated psoriasis. *Am J Psychiatry.* 2002;159(12):211
503. Gupta MA, Gupta AK, Watteel GN. Early onset (< 40 years age) psoriasis is comorbid with greater psychopathology than late onset psoriasis: a study of 137 patients. *Acta Derm Venereol* 1996;76:464–466
504. Harvima RJ, Viinamäki H, Harvima IT, et al. Association of psychic stress with clinical severity and symptoms of psoriatic patients. *Acta Derm Venereol* 1996;76:467–471
505. Park BS, Youn JI. Factors influencing psoriasis: an analysis based upon the extent of involvement and clinical type. *J Dermatol* 1998;25:97–102
506. Raychaudhuri SP, Farber FE, Raychaudhuri SK. Role of nerve growth factor in RANTES expression by keratinocytes. *Acta Derm Venereol* 2000;80: 247–250.
507. Nickoloff BJ, Schröder JM, von den Driesch P, Raychaudhuri SP, Farber EM, Boehncke WH, Morhenn VB, Rosenberg EW, Schön MP, Holick MF. Is Psoriasis a T-cell disease? *Exp Dermatol* 2000;9: 357–375
508. Farber EM, Nickoloff BJ, Recht B, Fraki JE. Stress, symmetry, and psoriasis: possible role of neuropeptides. *J Am Acad Dermatol* 1986;14: 305–311
509. Aloe L, Alleva E, Fiore M. Stress and nerve growth factor: findings in animal models and humans. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;73: 159–166.

510. Raychaudhuri SP, Jiang WY, Farber EM. Psoriatic keratinocytes express high levels of nerve growth factor. *ActaDerm Venereol* 1998;78: 84–86.
511. Raychaudhuri SP, Jiang WY, Smoller BR, Farber EM. Nerve growth factor and its receptor system in psoriasis. *Br J Dermatol* 2000;143: 198 –200.
512. Steptoe A., Hamer M., Chida Y. The effects of acute psychological stress on circulating inflammatory factors in humans: a review and meta-analysis. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2007;21(7):901–912.
513. Maes M, Song C, Lin A De Jongh R, Van Gastel A, Kenis G, Bosmans E, De Meester I, Benoy I, Neels H, Demedts P, Janca A, Scharpé S, Smith RS. The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and Th1-like response in stress-induced anxiety. *Cytokine*. 1998;10(4):313–318.
514. Thorslund K, Svensson T, Nordlind K, Ekbom A, Fored CM. Use of serotonin reuptake inhibitors in patients with psoriasis is associated with a decreased need for systemic psoriasis treatment: a population-based cohort study. *J Intern Med*. 2013;274(3):281–87.
515. King RM, Wilson GV. Use of a diary technique to investigate psychosomatic relations in atopic dermatitis. *J Psychosom Res* 1991;35: 697–706.
516. Langan SM, Bourke JF, Silcocks P, Williams HC. An exploratory prospective observational study of environmental factors exacerbating atopic eczema in children. *Br J Dermatol* 2006;154: 979–980.
517. Faulstich ME, Williamson DA, Duchmann EG, Conerly SL, Brantley PJ. Psychophysiological analysis of atopic dermatitis. *J Psychosom Res* 1985;29: 415–417.
518. Ohmura T, Hayashi T, Satoh Y, Konomi A, Jung B, Satoh H. *Eur J Pharmacol*. Involvement of substance P in scratching behaviour in an atopic dermatitis model. 2004 May 3;491(2-3):191-4.
519. Lönndahl L, Rasul A, Lonne-Rahm S, Holst M, Johansson B, El-Nour H, Djurfeldt D, Nordlind K. Tachykinin upregulation in atopic dermatitis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2019;41(1):1-6.

520. Dark K, Peeke HV, Ellman G. Behaviorally conditioned histamine release. Prior stress and conditionability and extinction of the response. *Ann N Y Acad Sci* 1987;496:578-82
521. Fjellner B, Arnetz BB. Psychological predictors of pruritus during mental stress. *Acta Derm Venereol* 1985;65:504-8.
522. Papoiu AD, Wang H, Coghill RC, Chan YH, Yosipovitch G. Contagious itch in humans. A study of visual 'transmission' of itch in atopic dermatitis and healthy subjects. *Br J Dermatol* 2011;164:1299-303
523. Arnold LM, Auchenbach MB, McElroy SL. Psychogenic excoriation. Clinical features, proposed diagnostic criteria, epidemiology and approaches to treatment. *CNS Drugs* 2001;15:351-9.
524. Krishnan A, Koo J. Psyche, opioids, and itch: therapeutic consequences. *Dermatol Ther* 2005;18:314-22.
525. Ishiuchi Y, Coghill RC, Patel TS, Oshiro Y, Kraft RA, Yosipovitch G. Distinct patterns of brain activity evoked by histamine-induced itch reveal an association with itch intensity and disease severity in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2009;161:1072-80.
526. Yosipovitch G, Ishiuchi Y, Patel TS. The brain processing of scratching. *J Invest Dermatol* 2008;128:1806-11.
527. Holbrook TL, Hoyt DB, Stein MB, Sieber WJ. Perceived threat to life predicts posttraumatic stress disorder after major trauma: risk factors and functional outcome. *J Trauma* 2001; 51:287.
528. Zatzick DF, Russo J, Pitman RK, Rivara F, Jurkovich G, Roy-Byrne P. Reevaluating the association between emergency department heart rate and the development of posttraumatic stress disorder: A public health approach. *Biol Psychiatry*. 2005;57:91-95.
529. Norman SB, Stein MB, Dimsdale JE, Hoyt DB. Pain in the aftermath of trauma is a risk factor for post-traumatic stress disorder. *Psychol Med* 2008; 38:533.
530. Asmundson GJ, Coons MJ, Taylor S, Katz J. PTSD and the experience of pain: research and clinical implications of shared vulnerability and mutual maintenance models. *Can J Psychiatry* 2002; 47:930.

531. Singh LK, Pang X, Alexacos N, Letourneau R, Theoharides TC. Acute immobilization stress triggers skin mast cell degranulation via corticotropin releasing hormone, neurotensin, and substance P: A link to neurogenic skin disorders. *Brain Behav Immun.* 1999 Sep;13(3):225-39
532. Wang W, Liu Y, Zheng H, Wang HN, Jin X, Chen YC, Zheng LN, Luo XX, Tan QR. A modified single-prolonged stress model for post-traumatic stress disorder. *Neurosci Lett.* 2008 Aug 22;441(2):237-41
533. Khan S, Liberzon I. Topiramate attenuates exaggerated acoustic startle in an animal model of PTSD. *Psychopharmacology (Berl).* 2004 Mar;172(2):225-9.
534. Yamamoto N, Kiyosawa T. Histological effects of occlusive dressing on healing of incisional skin wounds. *Int Wound J* 2014; 11:616–621
535. Iwamoto Y, Morinobu S, Takahashi T, Yamawaki S. Single prolonged stress increases contextual freezing and the expression of glycine transporter 1 and vesicle-associated membrane protein 2mRNA in the hippocampus of rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007 Apr 13;31(3):642-51.
536. Siegmund A, Wotjak CT. A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear. *J Psychiatr Res.* 2007 Nov;41(10):848-60
537. Cui H, Sakamoto H, Higashi S, Kawata M. Effects of single-prolonged stress on neurons and their afferent inputs in the amygdala. *Neuroscience.* 2008 Mar 27;152(3):703-12.
538. Perrine SA, Eagle AL, George SA, Mulo K, Kohler RJ, Gerard J, Harutyunyan A, Hool SM, Susick LL, Schneider BL, Ghoddoussi F, Galloway MP, Liberzon I, Conti AC. Severe, multimodal stress exposure induces PTSD-like characteristics in a mouse model of single prolonged stress. *Behav Brain Res.* 2016 Apr 15;303:228-37
539. Giroux MC, Santamaria R, Hélie P, Burns P, Beaudry F, Vachon P. Physiological, pharmacokinetic and liver metabolism comparisons between 3-, 6-, 12- and 18-month-old male Sprague Dawley rats under ketamine-xylazine anesthesia. *Exp Anim.* 2016;65(1):63-75

540. Takahashi T, Morinobu S, Iwamoto Y, Yamawaki S. Effect of paroxetine on enhanced contextual fear induced by single prolonged stress in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006 Dec;189(2):165-73.
541. Reinagel P. Training Rats Using Water Rewards Without Water Restriction. *Front Behav Neurosci*. 2018;12:84.
542. Senturk LM, Seli E, Gutierrez LS, Mor G, Zeyneloglu HB, Arici A. Monocyte chemotactic protein-1 expression in human corpus luteum. *Mol. Hum. Reprod*. 1999;5 (8): 697-702.
543. Taskin EI, Kapucu A, Akgün-Dar K, Yagcı A, Caner M, Fırat UB, Fırat I, Dogruman H. Effects of an oral treatment with concentrated grape juice (ENT) on cell NOS (eNOS and iNOS) expression and proliferation in experimentally induced carcinoma in mice. *Revue Méd. Vét*. 2008, 159 (3): 123-129.
544. Liberzon I, López JF, Flagel SB, Vázquez DM, Young EA. Differential regulation of hippocampal glucocorticoid receptors mRNA and fast feedback: relevance to post-traumatic stress disorder. *J Neuroendocrinol*. 1999 Jan;11(1):11-7.
545. Liberzon I, Krstov M, Young EA. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology*. 1997 Aug;22(6):443-53
546. Ohl F, Roedel A, Binder E, Holsboer F. Impact of high and low anxiety on cognitive performance in a modified hole board test in C57BL/6 and DBA/2 mice. *European Journal of Neuroscience* 2003;17:128–36.
547. Yehuda R, Southwick SM, Krystal JH, Bremner D, Charney DS, Mason JW. Enhanced suppression of cortisol following dexamethasone administration in posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 1993;150:83–6.
548. Imanaka A, Morinobu S, Toki S, Yamawaki S. Importance of early environment in the development of posttraumatic stress disorder-like behaviors. *Behav Brain Res* 2006;173:129–37.
549. Gamelli RL, He LK. Incisional Wound Healing. In: DiPietro LA, Burns AL. (eds) *Wound Healing. Methods in Molecular Medicine™*. 2003; vol 78. Humana Press, Totowa, NJ

550. Eyarefe DO, Kuforiji DI, Jarikre TA, Emikpe BO. Enhanced electrosurgical incisional wound healing potential of honey in wistar rats. *Int J Vet Sci Med.* 2017;5(2):128–134. Published 2017 Nov 13.
551. Yaman I, Dericci H, Kara C, Kamer E, Diniz G, Ortac R, Sayin O. Effects of resveratrol on incisional wound healing in rats. *Surg Today.* 2013 Dec;43(12):1433-8
552. Ziv-Polat O, Topaz M, Brosh T, Margel S. Enhancement of incisional wound healing by thrombin conjugated iron oxide nanoparticles. *Biomaterials.* 2010 Feb;31(4):741-7.
553. Rasband WS, ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2018.
554. Pavlovic S, Daniltchenko M, Tobin DJ, Hagen E, Hunt SP, Klapp BF, Arck PC, Peters EM. Further exploring the brain-skin connection: stress worsens dermatitis via substance P-dependent neurogenic inflammation in mice. *J Invest Dermatol.* 2008 Feb;128(2):434-46.
555. Keck ME, Welt T, Muller MB, Uhr M, Ohl F, Wigger A, Toschi N, Holsboer F, Landgraf R. Reduction of hypothalamic vasopressinergic hyperdrive contributes to clinically relevant behavioral and neuroendocrine effects of chronic paroxetine treatment in a psycho-pathological rat model. *Neuropsychopharmacology.* 2003 28: 235–243
556. Zatzick DF, Russo JE, Katon W. Somatic, posttraumatic stress, and depressive symptoms among injured patients treated in trauma surgery. *Psychosomatics.* 2003 Nov-Dec;44(6):479-84.
557. Cremeans-Smith JK, Krupko TA, Greene K, Delahanty DL. Predicting symptoms of post-traumatic stress among patients undergoing orthopedic surgery on the basis of routinely collected cardiovascular data. *J Health Psychol.* 2013 Jan;18(1):55-64
558. Dao TK, Chu D, Springer J, Gopaldas RR, Menefee DS, Anderson T, Hiatt E, Nguyen Q. Clinical depression, posttraumatic stress disorder, and comorbid depression and posttraumatic stress disorder as risk factors for in-hospital mortality after coronary artery bypass grafting surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010 Sep;140(3):606-10

559. Brem H, Maggi J, Nierman D, et al. High cost of stage IV pressure ulcers. *Am J Surg*. 2010;200(4):473–477.
560. Schofield JN, Day I, Thompson RJ, Edwards YH. PGP9.5, a ubiquitin C-terminal hydrolase; pattern of mRNA and protein expression during neural development in the mouse. *Developmental Brain Research*. 1995;85(2):229-238
561. Rendon A, Schäkel K. Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2019;20(6):1475. Published 2019 Mar 23
562. Thorslund K, Svensson T, Nordlind K, Ekbom A, Fored CM. Use of serotonin reuptake inhibitors in patients with psoriasis is associated with a decreased need for systemic psoriasis treatment: a population-based cohort study. *J Intern Med*. 2013;274(3):281–287.
563. Jiang J, Kuhara T, Ueki R, Zheng Y, Suto H, Ikeda S, Ogawa H. Inhibitory effects of paroxetine on the development of atopic dermatitis-like lesions in NC/Nga mice. *J Dermatol Sci*. 2007 Sep; 47(3):244-7.
564. Zylicz Z, Krajnik M, Sorge AA, Costantini M. Paroxetine in the treatment of severe non-dermatological pruritus: a randomized, controlled trial. *J Pain Symptom Manage*. 2003 Dec; 26(6):1105-12.
565. Ständer S, Böckenholt B, Schürmeyer-Horst F, Weishaupt C, Heuft G, Luger TA, Schneider G. Treatment of chronic pruritus with the selective serotonin re-uptake inhibitors paroxetine and fluvoxamine: results of an open-labelled, two-arm proof-of-concept study. *Acta Derm Venereol*. 2009; 89(1):45-51.
566. Ferguson JM. SSRI Antidepressant Medications: Adverse Effects and Tolerability. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2001;3(1):22–27.
567. Schumacher SM, Gao E, Zhu W, et al. Paroxetine-mediated GRK2 inhibition reverses cardiac dysfunction and remodeling after myocardial infarction. *Sci Transl Med*. 2015;7(277):277ra31.
568. Ghoneim MM, O'Hara MW. Depression and postoperative complications: an overview. *BMC Surg*. 2016;16:5. Published 2016 Feb 2.
569. Mustonen A, Mattila K, Leino M, Koulu L, Tuominen R. The costs of psoriasis medications. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2013;3(2):169–177.

570. Huu ND, Huu SN, Thi XL, et al. Successful Treatment of Intralesional Triamcilonon Acetonide Injection in Keloid Patients. *Open Access Maced J Med Sci.* 2019;7(2):275–278. Published 2019 Jan 28.
571. Kartha A, Brower V, Saitz R, Samet JH, Keane TM, Liebschutz J. The impact of trauma exposure and post-traumatic stress disorder on healthcare utilization among primary care patients. *Med Care.* 2008;46(4):388–393.
572. Gouin JP, Kiecolt-Glaser JK. The impact of psychological stress on wound healing: methods and mechanisms. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2011;31(1):81–93.



8-EKLER

POST TRAVMATİK STRES BOZUKLUĞUNUN YARA İYİLEŞMESİ VE DERMAL SKARLAŞMA ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

5	3	3	3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- 1** open.library.ubc.ca
İnternet Kaynağı <% 1
- 2** DEVECİ, Figen, TUĞ, Tuncer, TURGUT, Teyfik, ÖGETÜRK, Murat, KIRKIL, Gamze, KAÇAR, Canan and MUZ, M. Hamdi. "KOAHA olgularında beslenme durumu, solunum fonksiyonları ve egzersiz performansı", Türk Tüberküloz ve Toraks Derneği, 2005.
Yayın <% 1
- 3** istanbulsaglik.gov.tr
İnternet Kaynağı <% 1
- 4** link.springer.com
İnternet Kaynağı <% 1
- 5** YALÇIN, Arzu Didem. "Letters to the editor", Erciyes Üniversitesi, 2007.
Yayın <% 1
- 6** www.tfd.org.tr

Doç. Dr. Tahir SİDİK
Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.Ş.
0312 444 4444


Dr. Enes Agah KODALAK
ÖZMÜTF Plastik Rekonstrüktif
ve Estetik Cerrahi
Dip No: 060136
Dip Tes No 172882