



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN SIRT DERİSİNDE DENERVASYONUN VE MEKANİK
GERMENİN DERMAL SKARLAŞMA ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Kâmil YILDIRIM

**Samsun
Ekim 2016**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN SIRT DERİSİNDE DENERVASYONUN VE MEKANİK
GERMENİN DERMAL SKARLAŞMA ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Kâmil YILDIRIM

Danışman

Doç. Dr. Tekin ŞİMŞEK

Samsun

Eylül 2016

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Kâmil YILDIRIM tarafından Doç. Dr. Tekin ŞİMŞEK danışmanlığında hazırlanan “sıçan sırt derisinde denervasyonun ve mekanik germenin dermal skarlaşma üzerine etkisinin araştırılması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 21 /10 /2016 tarihinde yapılan sınav ile Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı’nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ahmet DEMİR Ondokuz Mayıs Üniversitesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Tekin ŞİMŞEK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Üye: Op. Dr. Murat GÜMÜŞ Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği

ONAY:

Bu tez, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurulu’nca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

..... / /

Prof. Dr. Ayhan DAĞDEMİR
Dekan

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında tam desteğini ve yapıcı eleştirilerini esirgemeyen tez danışmanı hocam Sayın Doç. Dr. Tekin ŞİMŞEK'e, araştırma görevliliğim boyunca bana anlayış ve sabırla yaklaşan değerli hocam anabilim dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet DEMİR'e ve Sayın hocam Prof. Dr. Lütfi EROĞLU'na, tezimin her aşamasında destek olan ve konuyla ilgili birikimini benimle paylaşan Sayın Yrd. Doç. Dr. Çağlayan YAĞMUR'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat Sinan ENGİN'e ve Sayın Yrd. Doç. Dr. İsmail KÜÇÜKER'e teşekkürü borç bilirim.

Araştırma görevliliğim süresince mesleki gelişimimde desteklerini benden esirgemeyen Sayın Op. Dr. Murat GÜMÜŞ'e, Sayın Op. Dr. Cem Naci KESKİN'e, Sayın Doç. Dr. Umut TUNCEL'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın laboratuvar sürecinde yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Berrin Zühal ALTUNKAYNAK ve Sayın Işınsu AYDIN Hanım'a, Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nin ve Histoloji Laboratuvarının değerli teknisyenlerine teşekkür ederim.

Araştırma görevliliğim boyunca benden desteğini esirgemeyen sevgili eşime ve beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışmanın finansmanı TÜBİTAK tarafından 1002 numaralı Hızlı Destek Programı kapsamında "B. 14. 2.TBT.0.06.03.02-161-195358" karar sayılı izin ile (proje no: 215S109) sağlanmıştır. Çalışmacının ve proje yürütücüsünün bu çalışma ve tez ile ilgili finansal kazancı yoktur.

ÖZET

SIÇAN SIRT DERİSİNDE DENERVASYONUN VE MEKANİK GERMENİN DERMAL SKARLAŞMA ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Aşırı skarlaşma hastalarda hem fonksiyonel hem de estetik yakınma oluşturur. Bu durumların patogenezi hakkındaki bilgilerimiz halen yetersiz olduğundan güncel tedavi yöntemlerinin etkinlikleri kısıtlıdır. Mekanik gerimin skar arttırıcı etkisi bilinmekle birlikte bunu hangi yollar üzerinden sağladığı tam olarak anlaşılamamıştır. Çalışmamızda sıçan sırtında insizyonel skar oluşturacağımız cilt bölgesinin denerve edilerek ve edilmeden, bu bölge cildine uygulanacak mekanik germin dermal skarlaşma üzerine etkisini karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 8-10 haftalık, 250-300 gr ağırlıklarında toplam 40 adet dişi Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 eşit gruba bölündü. Grup 1; sadece insizyonel skar modelinin oluşturulduğu kontrol grubu, grup 2; denervasyon yapıp insizyonel skar oluşturulan sıçan grubunu, grup 3; insizyonel skara mekanik gerim uygulanan grup ve grup 4 ise; denervasyon yapıp oluşturulan insizyonel skar modeline mekanik gerim uygulanan gruptur. 28. gün sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek skar dokuları, çevresinde en az 3 mm intakt cilt bölgesi içerecek şekilde toplandı. Toplanan örnekler histoloji laboratuvarında enflamatuar hücre sayısı, stereolojik skar hacmi hesabı, sinir liflerinin sayısı ve n-GF ekspresyonu açısından incelendi.

Bulgular: Çalışmamızın sonucunda; 2. gruptaki hayvanlarda diğer gruplara göre anlamlı skar hacmi küçüklüğü saptandı. 4. gruptaki hayvanlarda diğer gruplara göre birim alana düşen enflamatuar hücre yoğunluğu anlamlı olarak fazla olarak bulundu. S-100 ve n-GF ekspresyonu açısından değerlendirildiğinde ise; epidermisteki sinir sonlanmaları açısından 3. ve 4. gruplardaki yoğunluğun diğer gruplardan fazla olduğu saptandı.

Sonuç: Çalışmamızda literatürde ilk defa hem mekanik gerimin hem denervasyonun ayrı ayrı skar oluşum etkilerini hemde bunların skar son şekli açısından birbirleriyle olan etkileşimini inceledik.

Anahtar Kelimeler: Denervasyon; Hipertrofik skar; Keloid; Mekanik gerim

ABSTRACT

RESEARCH THE EFFECT ON DERMAL SCARRING TO APPLYING MECHANICAL STRETCH AND DENERVATION ON RAT BACK SKIN INCISIONAL SCAR

Aim: Excessive scarring causes both functional and aesthetic symptoms in patients. Current therapies for excessive scarring are ineffective because of limited understanding into the pathogenesis of the underlying this process. Although it is known mechanical stretching promoted excessive scarring but it is not completely understood that which pathways provides this effects. It is unknown that effect of excessive scarring create sensorial denervation on mechanical loading skin area. In this study, we aimed to evaluate comparison of effect on dermal scarring to applying mechanical stretch on denerve or not denervating incisional scar on rat back skin.

Material and Method: 8-10 weeks old, 250-300 g weighted, 40 wistar albino female rats were separated to four groups (n=10). This Groups; group 1; so that the control group (only create skin incision), group 2; that apply only denervation, group 3; that apply only mechanical loading and group 4; that apply to denervation and mechanical loading. At last after day 28 we were sacrificed all rats and harvested scar samples with 3 mm intact skin around the scar tissue. Scar samples compared to inflammatory cell density, stereological scar volume measurement, number of nerve fibers and density (immunohistochemistry), n-GF expression.

Results: We determined that significantly smaller scar volume in the 2nd group than the other groups in the present study. The inflammatory cell density was increased in group 3 significantly compared to other groups. Immunoreactive n-GF positive nerve fibers density were increased in groups 3 and 4 in epidermis.

Conclusion: In our study, we demonstrated that make mechanical loading and denervation individually and combined effects of scarring for the first time in the literature.

Keywords: Denervation; Hypertrophic scar; Keloid; Mechanical Stretch

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-FU 5-Fluorouracil

α -SMA alfa smooth muscle actin

ACTH adrenokortikotropik hormon

β -E β -endorfin

C3a kompleman 3 a

C5a kompleman 5 a

CCL2 kemokin ligand-2

CCL3 kemokin ligand-3

CCL5 kemokin ligand-5

CGRP calcitonin gene-related peptide

CTGF bağ dokusu büyüme faktörü

ECM ekstrasellüler matriks

ECF ekstraselüler sıvı

EGF epidermal büyüme faktörü

FGF fibroblast büyüme faktörü

GAG glikozaminoglikan

GAL galanin

G-CSF granülosit-koloni stimülan faktör

GM-CSF granülosit makrofaj-koloni stimülan faktör

GRP gastrin-releasing peptid

HA hyalüronik asit

HLA human lökosit antijeni
HTS hipertofik skar
ICAM-1 interselüler adezyon molekülü-1
IFN γ interferon gamma
Ig E immunoglobulin E
IGF-1 insülin benzeri büyüme faktörü-1
IL interlökin
KGF-1,2 keratinosit büyüme faktörü 1 ve 2
KS kortikosteroid
LH langerhans hücreleri
MCP-1 monosit kemoatraktan protein-1
MIP-1 α makrofaj enflamatuar protein-1 α
MMP matriks metalloproteinazları
MSS merkezi sinir sistemi
n-GF nerve growth faktör
NAP-2 nötrofil aktive edici peptid 2
NEICS nöroendokrinoimmünokütanöz sistem
NEP nötral endopeptidaz
NKA Nörokinin-A
NO nitrik oksit
NPY Nöropeptid-Y
NTS Nörotropinler
OSS otonom sinir sistemi

PACAP pituiter adenilat siklaz-aktivasyon peptid
PDGF trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PDL pulsed-dye lazer
PG proteoglikanlar
PGE2 prostaglandin E2
PGP 9.5 Protein gene product- 9.5
PMH/PMI peptid histidin metionin/peptid histidin izolökin
POMC Pro-opiomelanokortin
PSS periferik sinir sistemi
SEİ skar elevasyon indeksi
SP Substans P
SS serbest sinir sonlanması
SST somatostatin
TAC triamcinolone acetonid
TGF- α Transforming growth faktör alfa
TGF- β Transforming growth faktör beta
Th1 T helper-1
Th2 T helper-2
TIMP doku metalloproteinaz inhibitörü
TNF α tümör nekroz faktör alfa
tPA doku-tipi plazminojen aktivatörü
VEGF vasküler endotelyal büyüme faktörü
VIP Vazoaktif intestinal peptid

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|----|
| ÖZET | iv |
| ABSTRACT | v |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | vi |
| İÇİNDEKİLER | ix |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Deri Anatomisi ve Histolojisi..... | 3 |
| 2.2. Yara İyileşmesi..... | 4 |
| 2.2.1. Enflamasyon Fazı..... | 5 |
| 2.2.2. Proliferasyon Fazı..... | 12 |
| 2.2.3. Maturasyon (Remodeling) Fazı..... | 17 |
| 2.3. Fetal Yara İyileşmesi..... | 18 |
| 2.4. Aşırı Dermal Skarlaşma..... | 20 |
| 2.5. Aşırı Dermal Skarlaşmada Kullanılan Tedavi Yöntemleri..... | 23 |
| 2.5.1. Aşırı Dermal Skar Oluşumunun Önlenmesi..... | 24 |
| 2.5.2. Basınç Giysileri..... | 25 |
| 2.5.3. Silikon Tabakalar ve Silikon Jel Tedavisi..... | 25 |
| 2.5.4. İntralezyonel Steroid Uygulanması..... | 26 |
| 2.5.5. Diğer Tedavi Yöntemleri..... | 26 |
| 2.6. Mekanik Gerim ve Aşırı Dermal Skarlaşma..... | 28 |
| 2.7. Denervasyonun Yara İyileşmesine ve Skar Oluşumuna Etkisi..... | 32 |
| 2.8. Nöromediyatörler ve Büyüme Faktörleri..... | 33 |
| 2.8.1. Nöropeptidler..... | 34 |
| 2.8.2. Nörotropinler (NTS)..... | 36 |

| | |
|---|-----------|
| 2.9. Aşırı skarlaşma deney modelleri..... | 39 |
| 2.9.1. Hayvan modelleri..... | 40 |
| 2.9.2. Doku ve Hücre kültürleri..... | 41 |
| 3. MATERYAL VE METOT..... | 42 |
| 3.1. Anestezi ve Cerrahi Öncesi Bakım..... | 42 |
| 3.2. Kullanılan Hayvanın Özellikleri ve Deney Grupları..... | 42 |
| 3.3. Cerrahi Teknik..... | 43 |
| 3.3.1 Denervasyon Uygulanması..... | 43 |
| 3.3.2.Mekanik Gerim Cihazının Yerleştirilmesi ve İnsizyonel Yara Modelinin Oluşturulması..... | 45 |
| 3.4. Hayvanların Sakrifiye Edilmesi ve Skar Materyallerinin Toplanması | 47 |
| 3.5. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme..... | 47 |
| 3.5.1 Stereolojik Yöntemler ile Skar Hacminin Ölçülmesi..... | 48 |
| 3.5.2 Skar Kesitlerinde İnflamatuvar Hücre Yoğunluğunun Ölçümü..... | 48 |
| 3.5.3 İmmünohistokimyasal Boyama ve Biyokimyasal Analiz..... | 48 |
| 4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME..... | 49 |
| 5. BULGULAR..... | 50 |
| 5.1 Genel bulgular (morfolojik, makroskopik, gözlemsel) | 50 |
| 5.2 Stereolojik bulgular..... | 51 |
| 5.2.1. Dermis hacmi..... | 51 |
| 5.2.2. Epidermis hacmi..... | 52 |
| 5.2.3. Toplam skar hacmi..... | 53 |
| 5.3 Enflamatuvar hücre yoğunluğu..... | 54 |
| 5.4. Histopatolojik bulgular..... | 56 |

| | |
|--|-----------|
| 5.5. İmmünohistokimya (sinir liflerinin sayısı ve n-gf ekspresyonu)..... | 57 |
| 5.5.1 S100 Antikoru ile elde edilen bulgular..... | 57 |
| 5.5.2. NGF Antikoru ile elde edilen bulgular..... | 59 |
| 6. TARTIŞMA..... | 61 |
| 7. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 66 |
| KAYNAKLAR..... | 67 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 94 |



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Deri vücudumuzun en büyük organı olup tüm dış yüzey örtüsünü sağlar. Böylece dış etkenlerden koruyucu fizyolojik bariyer oluşturma, su ve ısı kaybının önlenmesi, bağışıklık yanıtı ve dokunma duyusunun sağlanması gibi daha pek çok farklı görevi yerine getirir. Deri bütünlüğünün çeşitli nedenlerle bozulması fizyolojik dengeyi etkiler ve hastalarda enfeksiyon, su kaybı ve elektrolit dengesi bozukluğuna neden olabilir (Gurtner ve ark., 2008). Bu nedenle cilt yaralanmalarının tam ve etkili bir şekilde iyileşmesi kritik öneme sahiptir.

Deri yaralarının normal iyileşme süreci (genel anlamda yara iyileşmesi) birçok hücre çeşidinin rol aldığı, hücreler arasında ve hücreler ile matriks arasında kesintisiz bir etkileşimin olduğu karmaşık bir süreçtir (Robson, 1991). Bu süreç bir dizi ardışık ve iç içe geçmiş fazlara ayrılarak incelenir. Bu fazlar hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve maturasyon şeklinde sıralanır (Singer ve Clark, 1999). Hemostaz fazı ilk yaralanma anından pıhtılaşmanın oluşumu ve kanamanın durdurulmasına kadarki olayları içerir, enflamasyon fazının bir parçası olarak da değerlendirilebilmektedir (Broughton ve ark., 2006). Enflamasyon fazı metabolik olarak en aktif faz olup yaralanma bölgesine çeşitli hücrelerin toplanmasını içerir. Proliferasyon fazında temel olaylar anjiogenez, re-epitelizasyon, granülasyon dokusu oluşumu ve kollajen depolanmasıdır. Maturasyon fazında ise iyileşen yaraya ait skar dokusu şekillendirilir (remodeling) ve yara kontraksiyonu oluşur. Ancak bu süreç her zaman “kendini sınırlamış bir skar dokusu” oluşumuyla sonuçlanmaz.

Fizyolojik yara iyileşmesinin abartılı olmasına neden olan derin dermis hasarı sonucu aşırı skar oluşumu meydana gelir (Gauglitz ve ark., 2011). Aşırı skar oluşumundan ilk kez M.Ö 1700 yıllarında Smith papirüslerinde bahsedilmiştir (Berman ve Bielely, 1995). Bu tarihten uzun yıllar sonra Mancini (1962) ve Peacock (1970) aşırı skarlaşmayı hipertofik skar ve keloid olarak ikiye ayırmıştır. Aşırı skarlaşma, sadece insanda görülen fibroproliferatif bir hastalıktır (Niessen ve ark., 1999). Aşırı skarlaşma sonucu oluşan kabarık, eritemli ve sert yapılı skar dokusu, kaşıntı ve ağrının yanı sıra özellikle eklem bölgelerinde ciddi fonksiyonel problemlere yol açabilir. Kötü estetik sonucun oluşumuyla birlikte hastaların hem fiziksel hem de psikolojik yönden yaşam kalitesini de olumsuz etkilemektedir (Zhu ve ark., 2013). Bu fibroproliferatif hastalıkların oluşum mekanizmalarının tam olarak aydınlatılamamasından dolayı güncel tedavi yaklaşımlarındaki yüksek başarısızlık oranlarının önüne geçilememektedir (Deitch ve ark., 1983).

Yaranın iyileşme sürecinde gerime maruz kalmasının aşırı skarlaşmayla sonuçlandığı uzun süredir cerrahlar tarafından bilinmektedir (Singer ve ark., 1997). Benzer şekilde hipertrofik skar tedavisinde kullanılan cerrahi (z-plasti v.b) ve cerrahi dışı pek çok yöntem yara üzerindeki mekanik gerimi azaltmayı hedeflemektedir (Mustoe ve ark., 2002, Longacre ve ark., 1976, Robson ve ark., 1992, Costa ve ark., 1999). Mekanik gerim oluşturan kuvvetler hücresel düzeyde mekanoreseptörler ve /veya mekanosensitif nosiseptörler tarafından algılanarak buna cevaben sinir sonlanmalarından nöropeptid salınımına neden olurlar. Bu salgılanan nöropeptidlerin direk etkisiyle ve/veya çeşitli büyüme faktörleri üzerinden enflamasyona neden olurlar ve bu durum aşırı yara iyileşmesiyle sonuçlanır (Ogawa, 2010).

Öte yandan klinik pratiğimizde özellikle plejik hastalardaki bası yaralarında ve diyabetik yaralar gibi periferik nöropatilerde yara iyileşmesinin azaldığını gözlemlemekteyiz. Yapılan bir kısım deneysel çalışmada denervasyon uygulanan ciltte yara iyileşmesinin geciktiği ortaya konulmuştur (Canimdat ve ark., 1995, Fukai ve ark., 2005). Tavşan kulağında cerrahi denervasyon ile oluşturulan yara modelinde denervasyonun aşırı skarlaşmayı azaltıcı etkisi gösterilmiştir (Yagmur ve ark., 2011).

Çalışmamızın amacı; kesinin olduğu cilt bölgesinin denerve edilerek ve edilmeden uygulanan mekanik stresin (germe) dermal skarlaşma üzerine etkisini karşılaştırmalı olarak araştırmaktır. Çalışmanın temeli mekanik gerim ve denervasyonun skar oluşumu üzerindeki etkilerinin kıyaslanmasına dayanmaktadır. Bu sayede elde edilen sonuçlar insan derisinde yara iyileşmesi süreci üzerine hali hazırda yapılmakta olan tedavi yöntemlerine ilave katkı sağlayacaktır. Böylece hem daha iyi görünen ve komplikasyonu az olan skar elde edilebilecek hemde plejik hastalar gibi bir grup hastada kronik yara iyileşme mekanizması üzerinde daha detaylı bilgi sahibi olunabilecektir.

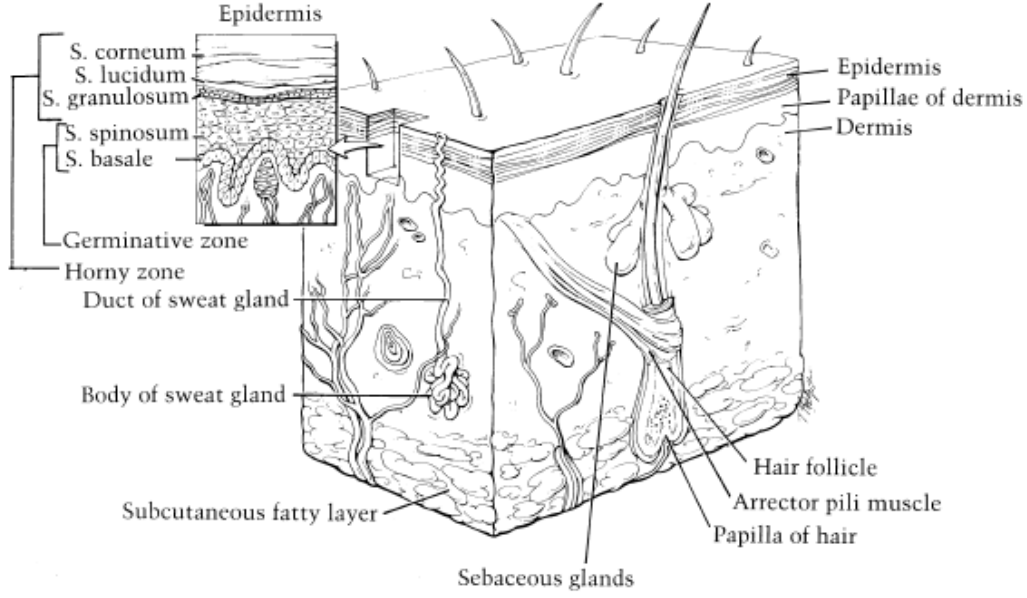
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri Anatomisi ve Histolojisi

İnsan vücudunun en büyük organı olan deri dış etkenlerden koruyucu fizyolojik bariyer oluşturma, su ve ısı kaybının önlenmesi, bağışıklık yanıtı ve dokunma duyusu sağlanması gibi pek çok fonksiyonları yerine getirir. Deri histolojik olarak epidermis, dermis ve hipodermis (subkutis) olmak üzere üç tabakadan oluşmuştur. Epidermis dört kattan oluşur: stratum korneum, stratum granulozum, stratum spinozum ve stratum bazale. Kılısız deride (el ayası ve ayak tabanında) stratum korneum ve stratum granulozum arasında stratum lusidum denen bir kat daha yer alır. Dermis ise yüzeyde yer alan papiller dermis ve bunun derininde retiküler dermis olmak üzere iki tabakaya ayrılabilir (**Şekil 1**).

Dermisin kuru ağırlığının %80' i kollajenden oluşur, geri kalan kısmını elastin, proteoglikanlar (PG), hyalüronik asit (HA), lipid ve yapısal glikoproteinler oluşturur (Pearce ve Grimmer 1972). Toplam kollajenin %80'i Tip I kollajendir ve dermisin gerime dayanıklılığını sağlar (O'Toole, 2001). Normal yara iyileşmesinin ilk dönemlerinde yüksek olan Tip 3 kollajen miktarı ise olgunlaşmasını tamamlayan yarada yerini Tip I kollajene bırakmıştır. Hipertrofik skar durumunda ise bu yüksek olan Tip 3 kollajen miktarı sabit kalır (Bailey ve ark., 1975; Weber ve ark., 1978; Friedman ve ark., 1993). Subkutis tabakası ise deri yüzeyine dik seyreden septalar ve bunların oluşturduğu yağ lobüllerinden oluşan damar ve sinir yönünden zengin bir tabakadır.

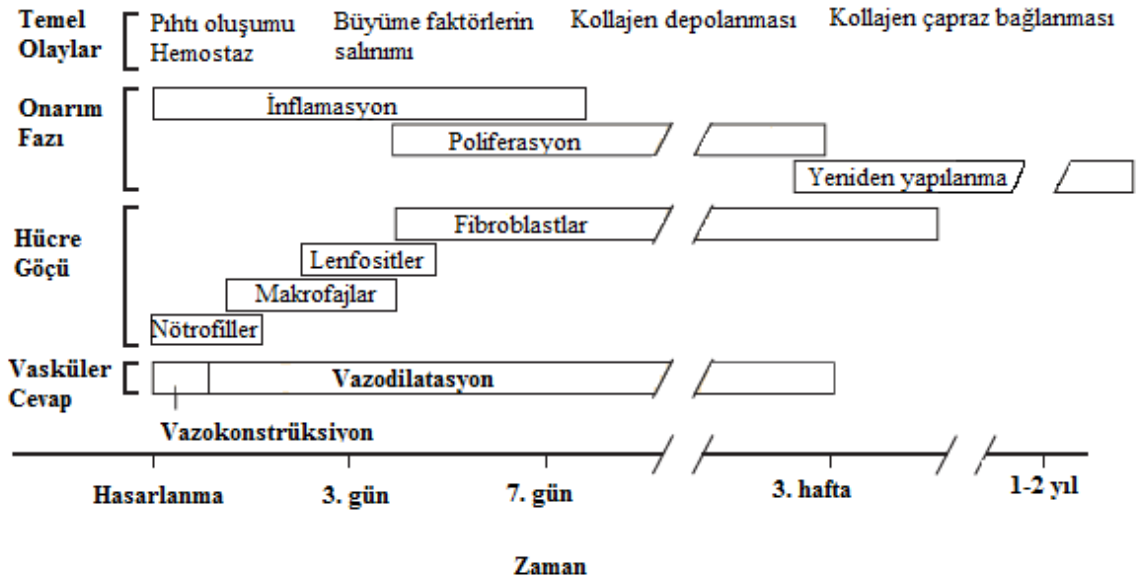
Deri periferik sinir sistemi (PSS), otonom sinir sistemi (OSS) ve merkezi sinir sistemi (MSS) ile ilişkili olan bir organdır. Ayrıca sinir sistemiyle, endokrin sistemle ve immün sistemle olan bağlantısından dolayı deriyi nöroimmünoendokrin organ olarak değerlendirmek mümkündür (Brazzini ve ark.,2003; Roosterman ve ark., 2006).



Şekil 1. Deri kesitinin görünüşü (Grabb ve Smith Plastic surgery 7nd edition'dan alınmıştır, 2014)

2.2. Yara İyileşmesi

Herhangi bir nedenle doku bütünlüğünün bozulması durumu yara olarak tanımlanmaktadır. Yara iyileşmesi ise doku bütünlüğünün yeniden oluşturulmasını sağlamak amacıyla vücudun başlattığı fizyolojik bir süreçtir (Velnar ve ark., 2009). Normal iyileşme süreci (genel anlamda yara iyileşmesi) birçok hücre çeşidinin rol aldığı, hücreler arasında ve hücreler ile matriks arasında kesintisiz bir etkileşimin olduğu karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Bu süreç bir dizi ardışık ve iç içe geçmiş fazlara ayrılarak incelenir. Bu fazlar: enflamasyon (hemostaz ve hücre infiltrasyonu), proliferasyon (anjiogenez, re-epitelizasyon, granülasyon dokusu oluşumu ve kollajen depolanması) ve maturasyon (doku yeniden şekillenmesi ve yara kontraksiyonu) şeklinde sıralanır. Bu süreçlerde meydana gelen aksaklıklar iyileşmeyen yara, aşırı skarlaşma vb. şekilde sonuçlanmaktadır.



Şekil 2. Yara iyileşme fazları ve bu süreçteki temel olayların zamanla ilişkisinin gösterilmesi

2.2.1. Enflamasyon Fazı

Hemostaz

Damar hasarına bağlı kan bileşenlerinin subendotelial katmanla teması hemostaz olarak adlandırılan fizyolojik, koruyucu bir sürecin başlamasına neden olur. Bazı yazarlar hemostaz sürecini enflamasyon fazından ayrı bir faz olarak değerlendirip yara iyileşmesini 4 faza ayırır (Velnar ve ark., 2009). Burada esas amaç kan kaybını önlemektir. Hemostazın en önemli mediatörleri kan damarları, trombositler ve fibrindir (Baum ve Arpey, 2005). Kan kaybının başarılı bir şekilde önlenmesi saniyeler içinde oluşan vazokonstrüktör yanıtı ve kan pıhtısının trombositler ve fibrin ile uygun şekilde oluşturulmasına bağlıdır. Hemostaz sürecinin oluşumu hem trombositlere hem de intrinsek ve ekstrinsek yollar aracılığıyla oluşan kan pıhtılaşma sistemine ihtiyaç duyar. Subendotelin kan ile teması sonucu açığa çıkan tromboplastik doku ürünleri (kollajen gibi) trombosit agregasyonu, degranülasyonu ve pıhtı oluşumu için ekstrinsek ve intrinsek koagülasyon yollarını aktive eder (Broughton ve ark., 2006). Trombosit degranülasyonu, hemostazı ve enflamasyonu aynı anda uyarır ve böylece ilk enflamasyon sinyali oluşturulmuş olur (Singer ve Clark 1999).

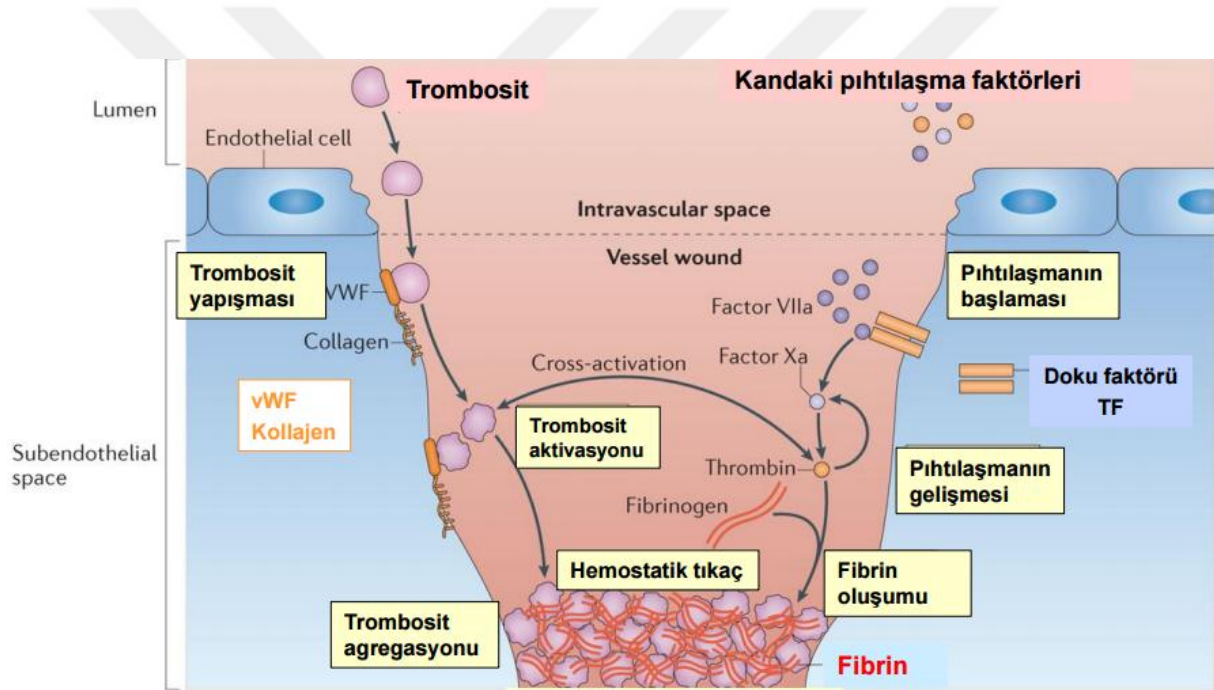
Trombositlerin α granüllerinden salınan tromboksan A2 ve prostoglandin 2- α hasarlanmış damarda saniyeler içinde başlayan ve 2-10 dakika süren vazokonstriksiyon oluşumuna neden olur (Henry ve Garner 2003). Doku faktörünün etkisiyle koagülasyon yolaklarının aktive olmasıyla protrombin trombine dönüşerek fibrinojeni fibrine çevirir. Sonuçta pıhtı oluşturulur. Pıhtı oluşumu yarada fiziksel bir bariyer oluşturarak kanamayı önler. Son halini alan pıhtıda, fibrin, kollajen, fibronektin, vitronektin ve trombospondinden oluşan bir matriks içinde trombositler ve diğer kan hücreleri gömülü haldedir (Iocono ve ark., 1998). Bu oluşturulan geçici matriks sayesinde kanama durdurulup yara hücrelerine içinde hareket edebilecekleri bir ortam sağlanırken bir yandan da mikrobiyal invazyonu önlemek için ilk bariyer oluşturulmuş olur. Oluşan bu geçici matriks daha sonraki aşamalarda yara bölgesine göçecek hücrelerin düzenlenmesinde rol alan büyüme faktörleri ve sitokinler açısından zengindir (Midwood ve ark., 2004). Bu geçici fibrin pıhtıda fibrin molekülleri çapraz bağlar yaparlar, yakaladıkları trombositlerle beraber subendotel tabakaya integrinler aracılığıyla yapışır. Fibrin pıhtı anjiogenezi ve kök hücre proliferasyonunu uyararak enflamatuvar fazın gelişimini destekler.

Yara bölgesindeki trombositlerden salınan trombin pıhtı oluşumunun erken mediatörüdür. Trombin hemostaz süreciyle daha sonraki oluşan enflamasyon fazı olayları arasında bağlantıyı oluşturur. Trombin bir yandan vazodilatasyonu uyararak kapiller geçirgenlik artışına ve böylece ödeme neden olurken, aynı zamanda endotelial hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırarak enflamatuvar hücrelerin yara bölgesine toplanmasına aracılık eder (Delavary ve ark., 2011).

Geçici pıhtının yapısında yer alan bir başka önemli madde ise fibronektindir. Fibronektin enflamatuvar hücre göçünde yol gösterici olarak görev yapar ve başlangıçta trombositlerden daha sonra diğer hücreler tarafından üretilir (Mehendale ve Martin 2001). Aşırı skarlaşma görülen dokularda; normalde yara kapandıktan birkaç gün sonra azalan fibronektin miktarının aylar boyunca arttığı saptanmıştır (Kischer ve ark., 1989).

Trombositler hücre toplanmasına yol açan sitokinlerin salgılandığı en erken hücrel kaynaklıdır. Bu sitokinler aracılığıyla yara alanına makrofajlar birikir. Yara alanına makrofaj birikimini sağlayan en güçlü kemoatraktan CCL5 (kemokin ligand-5) olmakla birlikte bu aşamada monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), CCL2 (kemokin ligand-2), MIP-1 α (makrofaj enflamatuvar protein-1 α), CCL3 (kemokin ligand-3), TGF- α (Transforming growth faktör alfa), fibronektin, elastin, C5a (kompleman 5a), C3a (kompleman 3a) ve n-GF (nerve growth faktör) gibi matriks bileşenleri görev yapar (Frank ve ark., 2000).

Pıhtı oluşumuna neden olan uyarı ortadan kalkınca trombosit kümelenmesi ve koagülasyon durur. Endotel hücreleri tPA (doku-tipi plazminojen aktivatörü) üreterek fibrin pıhtının parçalanmasına aracılık eder. Plazminojen aktivatörü plazmine çevirir (Cesarman-Maus ve Hajjar, 2005). Fibrinin bu şekilde yıkımı aynı zamanda nötrofil ve monositlerin yara bölgesine toplanmaları için kemotaktik sinyal oluşturur. Temizlenen pıhtının yerini, fibronektin ve hyalüronik asitten zengin ikinci yara matrisi alır (Clark, 1993). Fibrinin yetersiz yıkımı yara bölgesinde fibrozis gelişimine neden olabilir nitekim keloid ve pulmoner fibrozis durumlarında fibrin birikimi ve baskılanmış fibrinoliz saptanmıştır (Tuan ve ark., 2003).



Şekil 3. Yaralanmayı takiben hemostaz sürecinin gerçekleşmesi

Hücre İnfiltrasyonu

Hemostaz sürecinin tamamlanmasıyla yaralanma alanındaki damarlar koagülasyon ve kompleman kaskadının aktivasyonunun etkisiyle dilate olurlar. Koagülasyon kaskadında Hageman faktörün aktivasyonu ile meydana getirilen Bradikinin güçlü bir vazodilatör ve vasküler geçirgenlik faktörüdür (Roberts ve Tabares, 1995). Kompleman kaskadında oluşturulan C3a ve C5a anafilatoksinleri direk etkiyle damar geçirgenliğini artırır ve nötrofil

ve monositleri yara alanına çeker. Bu kompleman ürünleri aynı zamanda mast hücrelerinden histamin ve lökotrien C4 ve D4 salınımını uyarır. Lokal endotel hücreler arasındaki hücre-hücre kontağının bozulması ve geçirgenlik artışı enflamatuar hücrelerin yara alanına toplanmasını sağlar (Roberts ve Tabares, 1995). Yara yerine ilk gelen ve yaralanmadan sonra 24-48 saat içinde yara kavitesini doldurarak baskın hücre grubunu oluşturan enflamatuar hücreler nötrofillerdir. Bu hücrelerin esas görevleri fagositoz ile ölü dokuları, yabancı maddeleri uzaklaştırmak, oksijene bağımlı olan ve olmayan öldürme mekanizmalarıyla enfeksiyonu önlemektir. Aynı zamanda çeşitli proteazları salgılayarak ECM (ekstrasellüler matriks) kalıntılarını yıkar ve yarayı iyileşmeye hazırlar. Pıhtıdaki trombositler ve nötrofiller tarafından IL-8 (interlökin 8) ve NAP-2 (nötrofil aktive edici peptid 2) salınımı, nötrofil kemotaksisini başlatan ilk sinyallerdendir (Luster, 1998). Ayrıca nötrofil ve monosit kemotaksisinde endotel hücreleri ve keratinositlerden salgılanan MCP- 1 (monosit kemotaktik protein 1), TNF α (tümör nekroz faktör alfa) ve IL-1 (interlökin1) maddeleri etkilidir (Gillitzer ve Goebeler, 2001). Nötrofil kemotaksisinde, FGF (fibroblast büyüme faktörü) ve PDGF (trombosit kaynaklı büyüme faktörü) gibi bağ dokusu büyüme faktörlerinin de etkisi vardır (Fine ve Mustoe, 1997).

Nötrofiller VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü), TNF α ve IL-1 gibi yeni damar oluşumunu uyarıcı faktörler de salgırlar (Singer ve Clark, 1999). Nötrofiller yara yerinde enfeksiyonun önlenmesinde önemli olmakla birlikte yokluklarında yara iyileşmesinin bütünsel ilerlemesi durmaz (Simpson ve Ross, 1972). Bununla birlikte yara yerinde uzun süre kalmalarının akut yaraların iyileşmeyen kronik yaralara dönüşmesinde esas neden olduğu iddia edilmiştir (Yager ve Nwomeh, 1999). Lokal yara enfeksiyonu ve/veya yabancı cisim varlığı enflamasyonun uzamasına neden olur. Bu durumun, fibrojenik sitokinlerin aktivitesini arttırarak artmış fibrozise neden olabileceği ileri sürülmektedir (Lingen, 2001).

Yaralanmadan sonraki 48-72 saat içerisinde yaraya monosit birikimi başlar ve yaralanma sonrası 3. günde makrofajlar yarada baskın hücre haline gelirler (Martin ve Leibovich, 2005). Fibronektin, elastin, C3a C5a trombin gibi kemoatraktan maddeler ve PDGF, TGF- α , VEGF, IGF-1 (insülin like growth faktör-1), NGF, TGF- β , MCP-1, MIP-1 α gibi büyüme faktörleri, dolaşan monositleri yaraya çeker (Werner ve Grose, 2003). Monositler; IL-2, TNF α , IFN γ (İnterferon gamma-T hücrelerinden salınır) ve PDGF yardımıyla aktiflenmiş makrofajlara dönüşürler (Lingen, 2001). Yara alanında bulunan nötrofiller ise henüz bilinmeyen bir uyarı sonrasında apoptoza uğrar ve makrofajlar tarafından fagosite edilir (Broughton ve ark., 2006). Makrofajlar, debris ve bakterilerin fagositozuna devam ederler ancak fibroblastların ECM üretimi için ihtiyaç duydukları

büyüme faktörlerinin topluca üretilmesinde ve iyileşen yara içinde yeni kan damarı yapımında özellikle kritik rol oynarlar. Bu büyüme faktörleri lokal endotelial hücreler, fibroblastlar ve keratinositleri yara alanına çeker ve aktive eder. Makrofajlar tarafından salınan TNF α ve IL-1; adezyon molekülü üretimini artırır, nötrofil aktivasyonunu sağlar ve makrofajların otokrin aktivasyonuna neden olur (Burbach ve ark., 2000). Otokrin aktivasyonla makrofajlar; IL-6, IL-8, GM-CSF (granüosit makrofaj-koloni stimülan faktör), G-CSF (granüosit-koloni stimülan faktör), MCP-1 ve IL-1 salınımı yaparlar. Aktive makrofajlar IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üreterek inflamasyonun devam etmesini sağlar. PDGF ve TGF- β üreterek fibroblastları kollajen yapımı için uyarırlar, fibroblastların kemotaksisini sağlarlar (Cohen ve ark., 1992). Yine ürettikleri TGF- β etkisiyle fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü sağlar. FGF-2 (fibroblast growth faktör-2), VEGF-A (vasküler endotelial growth faktör) ve TGF- β üreterek anjiyogenezi başlatır. TGF- α , FGF-2 ve IGF-1 üreterek epitelizasyonu hızlandırır. Aynı zamanda makrofajlar nitrik oksit sentezi de yaparlar (Witte ve Barbul, 2002). Hipertrofik skar dokularında makrofaj sayısının arttığı bulunmuştur (Werb ve ark., 1980). Artan makrofaj sayısının fibroblastları daha fazla uyararak (özellikle TGF- β 1-2 aracılığıyla) aşırı skarlaşmaya neden olduğu düşünülmektedir (Niessen ve ark., 1999, Wang ve ark., 2000).

Lenfositler, yaralanma bölgesine en son giren enflamatuar hücre grubu olup yaralanmadan 5 ile 7 gün sonra girerler. Enflamasyonu arttırıcı IL-1 ve IFN γ üretimi yaparlar (Castagnoli ve ark., 1997). Ayrıca EGF (epidermal büyüme faktörü), FGF ve matriks metalloproteinazları (MMP) salgırlar (Blotnik ve ark., 1994). Özellikle T-lenfositlerin T helper-2 (Th2-CD4+) alt grubunun fibrojenezi arttırıcı T helper-1(Th1) alt grubunun ise azaltıcı etkisi bulunmuştur (Wynn, 2004).

Benzer şekilde mast hücreleri de enflamasyon fazının geç dönemlerinde ortaya çıkarlar IL-4 salgılayarak fibroblast proliferasyonunu arttırırlar (Cracco ve ark., 1992). Serum immunoglobulin E (Ig E) seviyesinin artması aşırı skarlaşmayla ilişkili olup mast hücrelerinin aşırı skarlaşma ile olan muhtemel ilişkisini akla getirir (Smith ve ark., 1987, Gruber, 2003). Mast hücrelerinden salgılanan histaminin fibroblastlardan kollajen üretimini arttırdığı, hipertrofik skarlı hastaların normal kişilere oranla plazma histamin seviyelerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Kupietzky ve Levi-Schaffer 1996, Tredget ve ark. 1997, Gailit J ve ark., 2001). Keloidli hastalarda alerjik belirti sıklığı, hipertrofik skarlı hastalara göre daha yüksektir (Placik ve Lewis, 1992). Yara iyileşmesinde etkili büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer biyoaktif maddeler **Tablo.1** de özet olarak gösterilmiştir.

Tablo.1. Yara iyileşmesinde etkili büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer biyoaktif maddeler (Grabb ve Smith Plastic surgery 7nd edition'dan uyarlanmıştır, 2014)

| AD | KAYNAK | TANIM |
|---|---|--|
| Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) | Endotelial hücreler | Anjiogenezi artırır. |
| Fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) | Makrofajlar, mast hücreleri, endotelial hücreler, T lenfositler | Anjiogenezi artırır. Endotelial göç ve büyümesini stimüle eder. Keratinosit ve fibroblast göç ve çoğalmasını artırarak epitelizasyonu artırır. |
| Platelet-kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) | Trombositler, makrofajlar, endotelial hücreler | Proteoglikan ve kollajen sentezini artırır. Makrofaj ve fibroblastları toplar. |
| Keratinosit büyüme faktörü (KGF) | Fibroblastlar | Keratinositlerin büyüme ve olgunlaşmalarını kontrol eder. Epitelden diğer büyüme faktörlerinin salgılanmasını artırır. |
| Epidermal büyüme faktörü (EGF) | Trombositler, makrofajlar | Matriksi yeniden şekillendirmek için fibroblastlardan kollajenez salgılanmasını uyarır. |
| Transforme edici büyüme faktörü (TGF- β) | Trombositler, makrofajlar, T ve B hücreleri, hepatositler, timositler, plasenta | Anjiogenezi artırır. Lökosit ve fibroblast göçünü uyaran proinflamatuvar molekülleri artırır. Hücre dışı matriks sentezini artırır. |

Tablo.1 devamı. Yara iyileşmesinde etkili büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer biyoaktif maddeler (Grabb ve Smith Plastic surgery 7nd edition'dan uyarlanmıştır, 2014)

| | | |
|--|---|---|
| Granülosit koloni-uyarıcı faktör (G-CSF) | Stromal hücreler, fibroblastlar, endotelial hücreler, lenfositler | Granülosit çoğalma, yaşama, olgunlaşma ve aktivasyonunu stimule eder. Granülopoezi indükler. |
| Granülosit-makrofaj koloni-stimüle edici faktör (GM-CSF) | Makrofajlar, stromal hücreler, fibroblastlar, endotelial hücreler, lenfositler | Granülosit ve makrofaj çoğalma, yaşama olgunlaşma ve aktivasyonunu stimule eder. Granülopoezi indükler. |
| İnterferon alfa (IFN- α) | Makrofajlar, T ve B hücreleri, fibroblastlar, epitelyal hücreler | Makrofajları aktive eder. Fibroblast çoğalmasını inhibe eder. |
| İnterlökin 1 (IL-1) | Makrofajlar, keratinositler, endotelial hücreler, lenfositler, fibroblastlar, osteoblastlar | Proinflamatuvar peptittir. PMNlerin kemotaksisini, fibroblastları ve keratinositleri indükler. PMNleri aktive eder. |
| İnterlökin 4 (IL-4) | T hücreleri, bazofiller, mast hücreleri, kemik iliği stroma hücreleri | Fibroblast çoğalmasını aktive eder. Kollajen ve proteoglikan sentezini indükler. |
| İnterlökin 8 (IL-8) | Monositler, nötrofiller, fibroblastlar, endotelial hücreler, keratinositler, T hücreleri | PMNleri ve makrofajları kemotaksisi başlatmak üzere indükler. Keratinositlerin marjinyasyon ve olgunlaşmasını indükler. |
| Endotelial nitrik oksit sentez (eNOS) | Endotelial hücreler, nöronlar | Endotelial hücrelerde sentezini sağlar. |
| İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) | Nötrofiller, endotelial hücreler | Sentez sonrası çok sayıda etkileri olan NO'in makrofajlar ve bazal keratinositlerde sentezini sağlar. |

2.2.2. Proliferasyon Fazı

Bu fazın genellikle yaralanmayı izleyen 4 ile 21. günlerde olduğu kabul edilmekle birlikte fazlar arası keskin bir geçiş yoktur ve örneğin reepitelizasyon gibi aşamaları yaralanmadan hemen sonra başlar. Fibroblastlar, endotel hücreleri, keratinositler ve makrofajlar bu fazdaki önemli hücrelerdir. Bu fazdaki temel olaylar; ECM sentezi ve böylece granülasyon dokusunun oluşumu, anjiogenez, epitelizasyon ve yara kontraksiyonudur.

Ekstraselüler Matriks Sentezi ve Granülasyon

Bu aşamada daha evvel oluşan fibrin matriks içinde yer alan trombositler ve makrofajlar PDGF, TGF- β ve EGF benzeri büyüme faktörleri salgılayarak fibroblastların toplanmasını ve aktivasyonunu sağlarlar. Fibroblastlar enfekte olmayan yarada 3-5. günlerde baskın hücre olur. Başlangıçta oluşan fibrin matriks yıkılarak yerini; fibroblastlarca üretilen kollajen, fibronektin ve hyaluronik asit den zengin yeni ECM alır. Fibrin matriksin yıkımında, fibroblast kaynaklı MMP ve makrofaj aktivitesi etkilidir.

İntegrinler, fibroblast yüzeyinde bulunan transmembran reseptör kompleksleridir. Yara iyileşmesi esnasında hücre fonksiyonunu düzenlerler. Fibronektin, glikozaminoglikan (GAG) ve hyaluronik asit başlangıç matriksi oluşturur. Hyaluronik asit yüksek su hidrasyon kapasitesi nedeniyle matrikse hücre göçünü sağlar. Fibronektin, laminin ve tenaskin gibi adezyon glikoproteinleri erken matrikste yer alır ve hücre tutunmasını ve göçünü sağlar (Sato ve ark., 1999). İntegrin reseptörleri ayrıca, büyüme faktörleri, kollajen, elastin gibi moleküllerin yanı sıra diğer hücre yüzeyleri ile de etkileşime geçer ve fibroblast fonksiyonunu etkiler (Cross ve Mustoe, 2003).

Yara yerine gelen ve çoğalan fibroblastlar bir yandan salgıladığı hyaluronidaz ile geçici olarak oluşturulan ve hyaluronik asitten zengin matriksi sindirir ve depolanan glikozaminoglikanları sülfatlar. Eş zamanlı olarak özellikle PDGF ye yanıt olarak yeni kollajen (bu aşamada başlıca Tip 3) sentezleyerek fibronektin ve glikozaminoglikandan oluşan iskelet üzerine dezorganize şekilde yerleştirir (Regan ve ark., 1991). Aynı zamanda makrofajlardan salgılanan TGF- β nın etkisiyle fibroblastlar miyofibroblastlara dönüşürler (Desmouliere ve ark., 1993).

Granülasyon dokusu yaklaşık 4. günde ortaya çıkar. Granülasyon dokusunun ve dermisen ana proteini kollajendir. Fibroblastlar kollajeni kompleks bir intrasellüler ve ekstrasellüler işlem ile sentezlemekte ve salgılamaktadır (Mathes, second edition). Fibroblastlar bir yandan kollajen sentezi yaparken aynı zamanda bunların paketlenmesini de sağlarlar (Van der Rest ve Garrone, 1991). Birleşen kollajen molekülleri fibrilleri, fibriller ise paketlenerek lif demetlerini oluşturur. Bu paket halindeki lif demetleri kalın kollajen liflerine kompartman dışında eklenir. Yara iyileşmesi sırasında hem fibroblast sayısı arttığından hem de her bir fibroblast başına üretilen kollajen miktarı arttığından toplam kollajen sentezi artmıştır (Diegelmann, 2003). Kollajenin tanımlanmış en az 19 tipi vardır (Van der Rest ve Garrone, 1991). Sağlam yapılı, üçlü sarmal oluşturan 3 polipeptid zincirinden oluşan bir moleküldür. Uzunluğu 300 Å genişliği 15 Å dır. Doğal kollajen vücut ısısında jel kıvamındadır. Kollajen molekülünün yapısındaki aminoasit dizilimi oldukça önemli olup %33 glisin ve %20 si prolindir. Bu iki aminoasit üçlü sarmal yapının oluşumundaki bağlarda rol alırlar. Kollajenin sentez sonrası hücre dışına sekresyonu için prolin ve bazı lizin rezidülerinin posttranslasyonel hidroksilasyonu gerekir. Oksijen molekülü, ferröz demir, α ketoglutarat ve askorbat hidroksilasyon işlemi için gereklidir. Bu faktörlerin eksikliği kollajen sentezinin aksamasına ve yara iyileşmesinin bozulmasına neden olur.

Normal dermiste toplam kollajenin yaklaşık %80 i Tip 1 kollajen olup dermise tensil gücünü verir (O'Toole, 2001). Normal dermiste kollajen liflerinin %20 sini Tip 3 kollajen oluştururken granülasyon dokusunda bu oran %30 a çıkmıştır (Madden ve Smith, 1970). Yaralanma sonrası erken dönemde sentezi artmış olan Tip 3 kollajen 4. haftadan itibaren fagositoza uğrar ve yerini Tip 1 kollajen sentezi ve deposu alır. Cildin önemli bileşenlerinden biri olan elastin skar dokusunda üretilmez, bu nedenle normal ciltte bulunan elastiklik skarda bulunmaz (Baum ve Arpey, 2005).

Anjiogenez

Yara yatağındaki hasarlanan damarlarda bulunan endotel hücreleri VEGF, FGF, anjiopoetin ve TGF-β etkisiyle integrinleri ve matriks metalloproteinazları sentezler ve yeni kapiller oluşumunu sağlar. Yara alanında kılcal damar proliferasyonu yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir. Yara yatağındaki hipoksik ortam endotel hücrelerinden NO (nitrik oksit) salınımını uyarır. NO miktarı artarak VEGF salınımını sağlar ve dokuyu iskemik reperfüzyon hasarına karşı korur (Garg ve ark., 1991).

Epitelizasyon

Epitelin yeniden oluşturulması enfeksiyon bariyerinin sağlanması ve su kaybının önlenmesi için yaralanma sonrası en kısa sürede başlar. Epitelizasyonun uygun şekilde sağlanması ve tamamlanması önemli olup 3 haftayı geçen sürelerde aşırı skarlaşma ihtimali artar (Deitch ve ark., 1983). Yaralanma sonrasında epidermal tabaka kalınlaşıp yara kenarındaki bazal hücreler defekte doğru göç eder. Göç etmeye başlayan keratinositler epidermal devamlılık sağlanana kadar bölünmezler. Yaranın kapatılması için kullanılan epitelial hücreler yara kenarında sabit olan bazal hücrelerden sağlanır. Göç sırasında ECM köprü görevi görürken tenaskin ve fibronektin gibi adezyon glikoproteinleri yol gösterici etki yaparlar. Epitel tabakası oluşturulduğunda fibroblastlar ve keratinositler, laminin ve Tip 4 kollajen üreterek bazal membranı oluştururlar. Sonrasında keratinositler kolumnar hale gelir ve epitelium tabakasını yapmak üzere bölünürler.

Epitelizasyonda IL-1 ve TNF α gibi enflamatuar sitokinler ilk uyarıyı oluşturarak, fibroblastların keratinosit büyüme faktörü 1 ve 2 (KGF-1,2) ile IL-6 üretimini sağlarlar. Böylece keratinositler proliferer olur ve yara yatağına geçerek stratifiye epidermisi oluştururlar (Smola ve ark., 1993, Robson ve ark., 2001). KGF-2 insanlardaki en önemli keratinosit büyüme faktörüdür (Xia ve ark., 1999). Fibroblast uyarımı olmadan keratinositler fonksiyonel bir epidermis oluşturamazlar (El-Ghalbzouri ve ark., 2002). Epitelizasyon tamamlandıktan sonra ise yine fibroblastlar tarafından TGF- β aracılığıyla keratinositler inaktif hale getirilirler (Freedberg ve ark., 2001). Ayrıca makrofajlar ve trombositler tarafından salgılanan EGF (epidermal büyüme faktörü) ve TGF α epitel proliferasyonunu ve kemotaksisini sağlamakta etkilidir (Lawrence ve Diegelmann, 1994).

Kontraksiyon

Kontraksiyon yaralanmadan sonraki birkaç gün içinde başlar ve çevredeki cilt dokusunun dairesel olarak yara doğru çekilmesidir. Yara kontraksiyonu yeni doku oluşmadan yara boyutunu dramatik olarak azaltmaktadır. Çevredeki cildin merkeze hareketi granülasyon dokusundaki hücrelerin oluşturduğu gerim kuvveti ile sağlanır. Kontraksiyon oluşumunda, kollajen liflerinin yeniden düzenlenmesi (ince fibrillerin kalın ve uzun liflere dönmesi) ve doku fibroblastlarının miyofibroblastlara dönüşmesi önemlidir (Ehrlich ve Krummel, 1996).

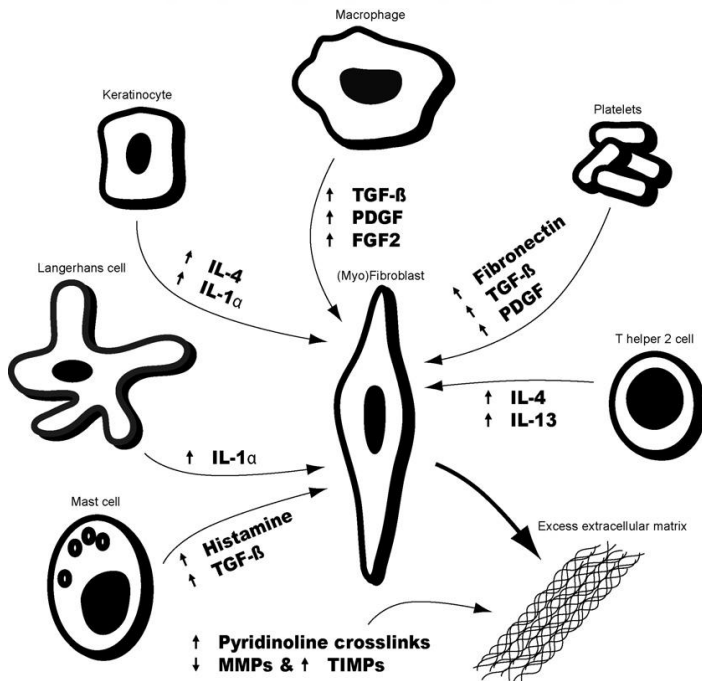
Yaralanma sonrası 9. gün civarı miyofibroblastlar görünür, yapılarındaki α -SMA (alfa smooth muscle actin) düz kaslarda bulunan ve kontrakte olabilen bir proteindir ve gerim kuvvetini bu protein oluşturur (Darby ve ark., 1990, Hinz ve ark., 2001). Ayrıca miyofibroblastlarda bulunan SM-miyozin ağır zincir ve desmin gibi proteinler de kontraksiyonda görev alır (Hinz ve ark., 2001). Miyofibroblastlar düz kas hücrelerinden farklı olarak geri dönüşümsüz izometrik gerim oluştururlar (Tomasek ve ark., 2002).

Aşırı dermal skarlaşma olgularında yukarıda bahsedilen proliferasyon fazı olaylarında bazı farklılıklar mevcuttur. Öncelikle fibroblastların aktivitesi normalden yüksektir. Aşırı dermal skarlaşma durumlarında matriks yıkımı ve fibrinolizde azalma tesbit edilmiştir (Pierce ve ark., 1991, Lingen ve ark., 2001). Keloidlerden elde edilen fibroblastlarda fibronektin üretimi normal cilde ve normal skarlara göre artmıştır (Kischer ve ark., 1989). Normal yara iyileşmesinde fibronektin üretimi yara kapanmasını takiben dururken aşırı dermal skarlaşmada fibronektin aktivitesi aylarca hatta yıllarca yüksek kalır (Peled ve ark., 2000). Hipertrofik skar (HTS) dokularından elde edilen fibroblastlarda CTGF (connective tissue growth factor) ekspresyonunun arttığı saptanmış olup, bunun TGF- β etkisiyle olduğu düşünülmektedir (Colwell ve ark., 2005). CTGF fibroblast ve endotel hücrelerinin proliferasyonu arttırmakla birlikte ECM yapısını (Tip 1 kollajen ve Fibronektin üretimini) ve angiogenezi uyarır (Frazier ve ark., 1996, Duncan ve ark., 1999).

Aşırı skarlaşmada diğer bir artış ise kollajen metabolizmasında görülür. Kollajen mRNA ekspresyonu artar (Grinnell ve ark., 1980). Burada hipertrofik skar ile keloid arasında da farklılık mevcut olup keloidlerde kollajen sentezi daha uzun süre devam eder (Craig, 1975). Hipertrofik skarlarda sentezlenen kollajen fibrilleri keloidlere göre daha küçük ve daha düzenlidir (Ehrlich ve ark., 1994). Bu görece düzenli kollajen yapısı nedeniyle hipertrofik skarlar skar kontraktürüne neden olabilir. Hipertrofik skarda kollajen halka şeklinde düzenlenmiş, nodüler, hyalinize demetler şeklindedir. Keloidlerde bu demetler seyrek (Kischer, 1984). Aşırı skarlaşmada artmış kollajen sentezine ek olarak azalmış kollajen yıkımı da görülür. Keloidlerde; α -1-antitripsin ve α -2-makroglobulin gibi kollajenaz enzim inhibitörlerinin arttığı tesbit edilmiştir (Ghahary ve ark., 1996). Bu artmış kollajen miktarına rağmen kollajen yoğunluğu normal ciltten farklı değildir (Ala Kokko ve ark., 1987). Aşırı skarlaşmada oluşan skar sertliğinin diğer bir nedeni ise su miktarının artışıdır (Bazin ve ark., 1970).

Aşırı skarlaşmada lezyonlar çok sayıda dilate damar içermesine rağmen mikrovasküler tıkanıklıklar meydana geldiğinden hipoksiktir ve hipoksi TGF- β sentezini uyararak fibroplaziyi artırır (Robson, 2003, Goldman, 2004). Öte yandan uzamış epitelizasyon süresi hipertrofik skar oluşma ihtimalini artırır (Odland ve Ross,1968). HTS lerde hem epidermis hem de dermis kalınlığı artmıştır. HTS lerde normal cilt epidermisinde bulunan rete yarıkları bulunmaz (Deitch ve ark., 1983). Hipertrofik skar dokularından elde edilen keratinositlerde normal skardan elde edilen keratinositlere kıyasla proliferasyon artışı ve diferansiyasyon artışı tesbit edilmiştir (Machesney ve ark., 1998). HTS lerden elde edilen keratinositlerde IL-1 seviyesinin azaldığı (ECM yıkımında rol alır) ve PDGF ekspresyonunun arttığı (doku fibrozuyla ilişkili) bulunmuştur (Deitch ve ark., 1983).

Ayrıca HTS lerde miyofibroblast sayısının arttığı tesbit edilmiş olup bunun bir nedeni apoptoz inhibisyonu olabilir (Desmouliere ve ark., 1995). Artmış TGF- β 1 fibroblastlarda α -SMA üretimini uyarırken aynı zamanda otokrin etkiyle PDGF üretimine neden olur. PDGF ise fibroblastları aktive eden ve kontraktsiyona neden olan bir faktördür (Moulin ve ark., 2004). Aşırı dermal skarlaşmada miyofibroblastların diğer hücrelerle etkileşimi aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Aşırı dermal skarlaşmada miyofibroblastların çeşitli hücrelerce uyarılarak ECM sentezini arttırdığını gösterilmesi

2.2.3. Maturasyon (Remodeling) Fazı

Bu fazın özelliği proliferasyon fazında üretilen granülasyon dokusunu oluşturan ECM yapısındaki kollajenin düzenli ve uygun biçimde depolanmasının sağlanmasıdır. Bu fazda kollajen sentezi sürerken daha önceki geçici matrikste bulunan fibronektin gibi moleküller yıkıma uğrar (Harrop ve ark., 1995). Lizil oksidaz major intermoleküler kollajen çapraz bağ enzimidir. Kollajenin çapraz bağlanması yıkımını azaltmaktadır ve yaranın gerim kuvvetini artırır. Bu fazda skarda kalınlık azalmasına karşın tensil güçte artma gözlenir. Olgunlaşma fazında yapım ve yıkım arasındaki denge önemlidir. ECM dinamik bir yapıda olup sentez, depolama ve yıkım olayı birlikte ve sıkı bir kontrol mekanizması altında gerçekleşir. Bu kontrol mekanizmasında ECM yi yıkan proteazların (MMP) sentezi ve bu enzimlerin inhibisyonunu sağlayan metalloproteinaz doku inhibitörlerinin (TIMP) üretimi rol oynar. Olgunlaşma fazı ilerledikçe başlangıçta zayıf yapılı olan ECM yoğunlaşır sertleşmeye başlar. Olgunlaşma fazında önemli yeri olan matriks proteinazları: MMP-1 (kollajenaz), MMP-2 (jelatinaz A), MMP-3 (stromelizin-1), MMP-9, hyaluronidaz ve ürokinazdır. MMP'ler üzerinde etkisi olan başlıca sitokinler; TGF β , PDGF, IL-1 ve EGF dir (Werb ve ark., 1980, Circolo ve ark., 1991).

Matriks sertleşip yoğunlaştıkça izometrik gerim oluşturur ve fibroblastlar bu ortama tutunarak kontraksiyonu sağlar. TGF β sadece gerim kuvvetinin olduğu durumda fibroblastlara etki ederek miyofibroblastlara dönüşümlerini sağlayabilir. Bu nedenle gerim kuvvetinin olup olmaması miyofibroblastların proliferere veya regrese olmalarını belirler. Mekanik gerimin ortadan kaldırılması apoptoza ve kollajen sentezinin azalmasına neden olurken kalıcı gerim kuvveti hipertrofik skar oluşumuyla sonlanır (Aarabi ve ark., 2007, Ogawa., 2011).

Yara olgunlaşma fazının erken safhasında yapısındaki bol miktardaki damar nedeniyle kırmızı renkteki skar, iyileşme tamamlandıca kapiller damarların sayısının azalmasına bağlı olarak hipopigmente hale gelir. Olgunlaşma süresinden bağımsız olarak skar yapısındaki kollajen hiçbir zaman sağlam ciltte bulunan kollajen gibi düzenli olmaz. Yaranın tensil gücü 3. ay sonrasında %80 seviyesine çıkmakla birlikte süre geçtikçe daha fazla artmaz hiçbir zaman %100 geri gelmez (Aarabi ve ark., 2007).

2.3. Fetal Yara İyileşmesi

Skarsız iyileşme, iyileşme sonrasında nedbe dokusunun oluşmaması ve deri eklerinin yeniden oluşmasıyla karakterizedir. Erken gestasyonel dönemdeki fetal cilt yaraları rejeneratif tipte ve skarsız olarak iyileşme gösterir (Buchanan ve ark., 2009). Skarsız fetal yara iyileşmesinde hem dermis hem de epidermis normal yapılarına uygun şekilde restore edilmiştir. Fetüste görülen bu skarsız yara iyileşmesi fetüsün intaruterin çevresine ve amniyotik sıvıya bağlı bir olay değildir. Öyle ki memeli fetüslerinden oluşturulan yara dokuları ve deri greftleri doğum sonrası döneme aktarıldığında yine skarsız iyileştikleri görülür (Armstrong ve Ferguson, 1995). Fetal skarsız iyileşme fetüsün cilt dokusuna özgü bir hadise olup aynı yaş grubu fetüslerde intestinal yaraların skarla iyileştiği saptanmıştır (Meuli ve ark., 1995).

Fetüste cilt yaralarının skarsız iyileşip iyileşmeyeceğini gestasyonel yaş ve yara büyüklüğü belirler (Cass ve ark., 1997). Gestasyonel dönemde skarsız iyileşme dönemiyle skarlı iyileşme dönemi arasında bir geçiş dönemi söz konusu olup hayvan modellerinde bu dönem insizyonel yaralada üçüncü trimestrin erken dönemi olarak bulunmuştur. Eğer oluşturulan bir açık yara modeliye skarsız iyileşmesi için daha erken dönemlerde oluşturulması gerekir.

Fetal yara iyileşmesi ile erişkin yara iyileşmesi arasında temel bazı farklılıklar **Tablo 2'** de gösterilmiştir. Fetal skarsız yara iyileşmesinin tam olarak anlaşılması cerrahların yeni skar tedavi stratejileri geliştirmesini sağlaması açısından önemlidir.

Tablo 2. Fetal yara iyileşmesinin erişkin yara iyileşmesinden farkları

| Farklılığı oluşturan nedenler | Açıklama |
|---|--|
| 1) Hücresel farklar | <ul style="list-style-type: none">➤ Fetal fibroblastlardan daha fazla miktarda Tip3 ve Tip 4 kollajen sentezlenir➤ Fetal fibroblastlarda azalmış TGF-β yanıtı➤ Fetal fibroblastların hızlanmış migrasyonu➤ Miyofibroblastlar daha erken dönemde ortaya çıkıp kısa sürede ortadan kaybolurlar➤ Bazal membranda Dot kök hücrelerinin varlığı ve bunların hızlıca epitelizasyonu sağlaması |
| 2) Yara iyileşmesi fazlarındaki farklar | <ul style="list-style-type: none">➤ Artmış kollajen sentezi➤ Epitelizasyonun daha hızlı olması➤ Azalmış enflamatuvar hücre infiltrasyonu➤ Azalmış trombosit degranülasyonu➤ PDGF ve TGF-β üretiminin azalması➤ İmmünolojik hücre aktivitesinin zayıflığı |
| 3) Büyüme faktörleri | <ul style="list-style-type: none">➤ Büyüme faktörlerinin ekspresyonu ve yanıtı hızlanmıştır➤ TGF-β3, Tip 2 reseptörü ve Fibromodulin ekspresyonu artar➤ TGF-β1, Tip 1 reseptörü ve Dekorin ekspresyonu düşüktür |
| 4) Gen ekspresyonu farkları | <ul style="list-style-type: none">➤ Artmış PRX 2 gen ekspresyonu➤ Azalmış Wnt sinyali |
| 5) Matriks metalloproteazları | <ul style="list-style-type: none">➤ Artmış MMP-1,2, 3, 9 ve 14➤ TIMP aktivitesi düşer |
| 6) ECM yapısındaki farklar | <ul style="list-style-type: none">➤ Hyalüronik asit miktarı artmıştır➤ Elastin bulunmaz➤ Bazal membran proteinlerinde ve damar yapısında fark yoktur |

2.4. Aşırı Dermal Skarlaşma

Aşırı dermal skarlaşmayı enfeksiyon, iyileşememe ve kontraktür gibi bir yara komplikasyonu olarak değerlendirmek mümkündür (Goldman, 2004). Aşırı yara iyileşmesi cilt dışı dokularda da oluşabilir. Dupuytren hastalığı, karaciğer sirozu, Peyronie hastalığı, desmoid tümörler, fibrosarkom, glomerulonefrit ve skleroderma gibi pek çok patolojik durumda artmış bir fibroplazi ve proliferatif iyileşme söz konusudur (Sabiston, Textbook of Surgery 1997, Tuan ve Nichter, 1998).

Keloid ve hipertrofik skar insan türüne özgü normalde diğer canlılarda oluşmayan aşırı dermal skarlaşmanın farklı biçimleridir. Aşırı skarlaşma ilk olarak M.Ö. 1700 yıllarında Edwin-Smith papirüslerinde tanımlanmış olup uzun yıllar sonra Mancini (1962) ve Peacock (1970) tarafından birbirlerinden bağımsız olarak hipertrofik skar ve keloid tanımları yapılmıştır (Berman ve Bielely, 1995). Güncel yapılan sınıflandırmalarda skarlaşma normalden aşırıya doğru; matür skar, immatür skar, linear hipertrofik skar, yaygın hipertrofik skar, minör keloid ve major keloid olarak sıralanmıştır (Atiyeh Bishara ve ark., 2005).

HTS ve keloidlerde, dermis ve subkutan dokularda aşırı miktarda ECM depolanması vardır. Tedavileri farklılık gösterdiğinden HTS ile keloidi ayırmak önemlidir. Klinik olarak HTS ler; deriden kabarık, kırmızı ya da pembe renkli, kaşıntılı, bazen ağrılı olabilen ancak yara sınırlarını aşmayan lezyonlardır. Keloidler ise; yine kaşıntılı, ağrılı, yüzeyi yuvarlak, parlak ve düzgün, çevre dokuyu infiltre eden ve asıl yara sınırını aşan lezyonlardır. HTS'ler yaralanmadan 4-8 hafta sonra oluşmaya başlayıp 6 ay boyunca hızla büyüyüp sonrasında birkaç yıl içinde genelde gerilerken, keloidler ise görece küçük (hatta bazen spontan olarak) bir yaralanmayı takip eden yıllar içinde ortaya çıkıp gerilemeksizin büyüyebilir (Murray, 1994, Wheeland, 1996). HTS genelde tedaviye yanıt verir ancak keloidler genelde tedaviye dirençlidir ve yüksek nüks oranlarına sahiptirler. HTS genelde derin dermisin hasarlandığı yaralanmalarda ortaya çıkar (Tredget ve ark., 1997).

Her iki aşırı dermal skarlaşma şeklinin de sıklıkla görüldüğü belirli anatomik bölgeler mevcuttur. HTS daha çok gerimin fazla olduğu omuzlar, boyun, göğüs ön duvarı ile diz ve ayak bileği gibi eklem komşularında görülürken, keloidler de yine omuzlar, göğüs ön duvarı, kulak lobülü, üst ekstremitte ve yanakta sık olarak görülür.

Göz kapakları, kornea, avuç içi, ayak tabanı, mukozalar ve genital bölgede daha az ortaya çıkarlar (Niessen ve ark., 1999). Lezyonu etkileyen bir diğer faktör ise başlangıçtaki hasarın büyüklüğüdür. Hasar ne kadar büyükse lezyonda o kadar büyük olacaktır. HTS ler nadiren 4mm den fazla kabartı yaparlar ancak keloidler çok kabarık nodüller oluşturabilirler (Atiyeh Bishara ve ark., 2005).

Epidemiyolojik olarak HTS ve keloid her iki cinsi eşit biçimde etkiler ve hayatın 2.ve 3. onyıllarında görülme sıklıkları artar (Alster ve Tanzi, 2003). HTS insidansı yara derinliğine bağlı olarak cerrahi sonrası %40-%70 oranında ve yanık sonrası %91 lere varan oranda bildirilmiştir (Deitch ve ark., 1983, Lewis ve Sun, 1990). Kadınlarda HTS ve keloidlerin semptomları menapozdan sonra ortadan kalkar. Gebelikte önceden var olan keloidlerin büyümesinin hızlandığı rapor edilmiştir (Nemeth 1993, Shaffer ve Taylor, 2002). Afrika popülasyonunda keloid görülme sıklığı %6-%16 olarak bulunmuştur (Murray ve Pinnel, 1992). Yaşlılıkta keloid görülme sıklığı azalır. Keloid olanlarda pozitif aile hikayesi sıktır. Keloid olan hastalarda alerjik semptom sıklığı HTS olanlara göre daha fazla olup, serum Ig E seviyesiyle keloid sıklığı arasında korelasyon bulunmuştur (Smith ve ark., 1987, Placik ve Lewis, 1992). Ayrıca A kan grubuna sahip bireylerde keloid insidansının arttığı bildiren yayınlar da mevcuttur (Ramakrishnan ve ark., 1974).

Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde aşırı dermal skarlaşmada normal ciltle ve normal skarlarla karşılaştırıldığında; yoğun damarlanma, yüksek mezenşimal hücre yoğunluğu, enflamatuar hücre infiltrasyonu ve kalınlaşmış epidermis tabakası mevcuttur (Datubo-Brown, 1990). Her iki aşırı skarlaşma şeklinde de sebace bezler ve rete yarıkları yoktur, deri ekleri kaybolmuştur, endotel hücreleri yuvarlak şekilde olup damar lümenine doğru çıkıntı yapmıştır. HTS lerde dermiste belirgin nodüllerin varlığı keloidden ayırt edicidir. Bu nodüller içinde miyofibroblastlar bulunur ve bunlar α -SMA içerirler. HTS de kollajen demetleri daha dağınık yerleşimli, sınırları daha az belirgin, parçalı ve kısalmış haldedir (Atiyeh Bishara ve ark., 2005). Keloidlerde ise kalın hyalinize kollajen demetleri ve ince kollajen lifleri bir arada paketlenmiş halde bulunur (keloidal kollajen). Keloid dokularında HTS lerden farklı olarak; epidermal yassılaşma görülmez, papiller dermiste skar yoktur, sıklıkla keloidal kollajen bulunur ve vertikal kan damarlanması daha az görülür (Lee ve ark., 2004).

HTS'lerde langerhans hücreleri (LH) artmış haldedir ancak bu hücrelerce sentezlenen IL-1 miktarı azalmıştır. Keratinositler, T lenfositler ve epidermal LH birleşerek deride bir bağışıklık sistemi oluştururlar. Bu sistem hem fibroblastların hem de epidermin fonksiyonunu etkileyerek aşırı skarlaşmada rol oynayabilir. HTS dokularındaki (epidermis ve subpapiller dermisteki) lenfosit miktarları keratinosit yüzeylerindeki ICAM-1 (interleüken adezyon molekülü-1) ve HLA (human lökosit antijeni) Sınıf II ekspresyonuyla doğru orantılıdır. ICAM-1 ve HLA II enflamasyon hücrelerinin göçü ve fonksiyonları için önemlidir (Castagnoli ve ark., 2004). Bu bilgiler, deride etkili olan immunolojik değişikliklerin aşırı skarlaşmada etkili olduğunu düşündürmektedir.

Aşırı skarlaşmada normal ciltlere göre yüzeysel dermisteki elastin ve fibrillin miktarları azalmıştır (Amadeu ve ark., 2004). Bu durum skarın normal cilde göre daha sert yapısını açıklar. Keloidlerin derin dermisinde HTS a göre daha fazla miktarda elastin bulunur.

Aşırı dermal skarlaşma durumlarında apoptozu düzenleyen genlerde değişim olduğu şeklinde bulgular rapor edilmiştir (Hunt ve Hopf 1997, Satish ve ark., 2004). Keloid dokularından elde edilen fibroblastlarda düşük apoptoz oranı saptanmıştır (Teofoli ve ark., 1999). Böylece ölümleri geciken fibroblastlar fazla miktarda kollajen yaparlar. Keloid dokularındaki bu apoptoz azalmasının IGF-1 ve IGF-2 aracılığıyla olduğu saptanmıştır (Phan ve ark., 2003). Yapılan bir başka çalışmada ise skar oluşumu ve skar proliferasyonunda p53 ve p73 genlerinin etkili olduğu bulunmuştur (Tanaka ve ark., 2004).

Keloid ile HTS nin bir diğer farkı ise kollajen üretimi ve fibroblast yanıtlarındaki farklılıktır. HTS deki fibroblastlarda bazal kollajen üretimi artmış olmasına rağmen büyüme faktörleri ve sitokinlere yanıt verebilme özellikleri değişmemiştir (Lee ve ark., 2004). Keloidlerde ise fibroblastlar normal skar fibroblastlarından yaklaşık 4 kat fazladır ve 20 kat fazla kollajen üretimi yaparlar. HTS'lerden de 3 kat fazla kollajen üretimi yaparlar (Lee ve ark., 2004).

Aşırı dermal skarlaşmada en önemli sitokinlerden olan TGF- β birçok enflamatuar olayda seçici etkilerde bulunur. TGF- β 1 ve TGF- β 2 izoformları proliferasyonu artırarak fibrozis ve skar oluşumunda etki ederken, TGF- β 3 tam tersine fizyolojik iyileşmeyi sağlar (Prathiba ve ark., 2001).

TGF- β 1 bir yandan kollajen üretimini arttırırken aynı zamanda kollajen yıkımını da azaltır. Fibroblast kemotaksisini arttırırlar. Aşırı dermal skarlaşma durumlarında normalde iyileşme tamamlanınca etkinliği son bulan TGF- β nın ekspresyonu sürer. Aynı ekip tarafından yapılan iki ayrı çalışmada rat yara iyileşmesinde TGF- β 1 ve TGF- β 2 antikörlerinin uygulanmasından sonra skarsız iyileşme elde etmişler (Shah ve ark., 1992,1995). Küçük bir proteoglikan yapılı madde olan decorin ise TGF- β nın etkilerini nötralize etmekte olup HTS olgularının %75 inde azalmış olarak bulunur (Scott ve ark., 1996, Armour ve ark., 2007).

2.5. Aşırı Dermal Skarlaşmada Kullanılan Tedavi Yöntemleri

Aşırı dermal skarlaşma durumlarında hastalarda fiziksel, estetik, fizyolojik ve sosyal istenmeyen sonuçlar meydana gelir. Fiziksel yakınmalar; kaşıntı, hassasiyet, sertlik, ağrı ve kontraktür gelişimi şeklinde ortaya çıkar. Bu durumun psikososyal etkileri ise özgüvende azalma, damgalanma durumu, günlük aktivitelerin kısıtlanması, kaygı hali ve depresyondur (Robert ve ark., 1999, Bakker ve ark., 2013). Hastaların hayatını bu şekilde etkileyebilen aşırı dermal skarlaşma tedavisi ile ilgili pek çok yöntem tanımlanmasına rağmen günümüzde henüz optimal bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. İlgili tedavi yöntemlerinin bir kısmı kabul görmüş ve etkinlikleri kanıtlanmış haldeyken pek çoğu henüz araştırılma düzeyinde olan daha az kanıtlanmış yöntemlerdir. Bu yöntemler özet olarak **Tablo-3** de gösterilmiştir.

Tablo 3. Aşırı dermal skarlaşmada kullanılan tedavi yöntemeleri

| Non- İnvaziv Yöntemler | İnvaziv Yöntemler |
|---|---|
| Kabul görmüş ve etkinlikleri kanıtlanmış önerilen yöntemler | |
| <ul style="list-style-type: none">➤ Basınç ve kompresyon tedavisi➤ Silikon tabakalar ve silikon jel tedavisi | <ul style="list-style-type: none">➤ İntralezyonel kortikosteroid enjeksiyonu➤ Cerrahi skar düzeltilmesi |
| Araştırılma aşamasında olan daha az kanıtlanmış yöntemler | |
| <ul style="list-style-type: none">➤ Yağlar, losyonlar ve kremler➤ Masaj tedavisi➤ Statik ve dinamik splint uygulanması➤ Psikolojik danışmanlık | <ul style="list-style-type: none">➤ Lazerler➤ Radyoterapi➤ Kriyocerrahi➤ Antihistaminikler➤ Diğer intralezyonel enjeksiyon ürünleri (5-FU, Bleomisin, verapamil, INF, TNFα v.b) |

2.5.1. Aşırı Dermal Skar Oluşumunun Önlenmesi

Cerrahi işlem veya travma sonrasında öncelikle aşırı skarlaşmayı önleyici teknikler kullanmak gerekmektedir. Yara üzerindeki gerimin azaltılması ve eğer mümkünse skarın ciltteki relaksasyon çizgileri üzerine yerleştirilmesi önemlidir. Enflamasyonun azaltılması adına cerrahi sterilizasyona uyulması, uygun suture malzemesinin seçimi, yabancı cisimlerin uzaklaştırılması, iyi bir yara bakımı ve enfeksiyon kontrolü yapılmalıdır (Slomp ve ark., 2006). Aşırı dermal skar gelişimini önlemede üç temel bileşen mevcuttur; gerim önleyici teknikler, hidrasyon/oklüzyon /bandlama yöntemleri, basınç giysileri.

2.5.2. Basınç Giysileri

HTS hastalarında basınç giysileri ile mekanik bası kuvveti uygulanması fikri ilk olarak 1860 yılında tanımlanmıştır (Linares ve ark., 1993). Yöntem ancak 1960 larda yanık merkezlerinde yaygın kullanım alanı bulabilmiştir. Yanık hastalarında spontan yara kapanmasının 14 günü geçtiği durumlarda ve greft ile kapama gereken durumlarda profilaktik basınç giysisi uygulanması önerilmektedir (Atiyeh, 2007). Basınç tedavisinin etki mekanizmaları tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte, kan akımının azaltılarak kollajen sentezinin, skar oksijenizasyonunun ve beslenmesinin azalması ve apoptozun artışı ortaya konulmuştur (Reno ve ark., 2003, Macintyre ve ark., 2006). Aynı zamanda yara olgunlaşma fazının modülasyonu ve MMP-28(matrix metalloproteinase 28) aktivasyonun artırılması ile keratinositlerde protein varlığının azaltılmasını sağladığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Reno ve ark., 2005). Bu konu hala tartışmalı olmakla birlikte önerilen tedavi şekli 15-40 mmHg sürekli basıncın en az 6 ay boyunca kullanımı şeklindedir (Macintyre ve ark., 2006).

2.5.3. Silikon Tabakalar ve Silikon Jel Tedavisi

Silikon jel tabakaları 1980 lerin başından bu yana skar tedavisinde yaygın kullanım alanı bulmuştur. Gerçekten etkisi kanıtlanmış ve plastik cerrahi pratiğinde standart haline gelmiş bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda silikon jel tabakalar ile silikon jel uygulamalarının skar tedavisi etkinliği açısından farklarının olmadığı bulunmuştur (Karagoz ve ark., 2009). Bu tedavilerin hidrasyon ve oklüzyon mekanizmaları üzerinden etki ettiği düşünülmektedir (Niessen ve ark., 1998). Ayrıca elektostatik dengeyi değiştirerek de skar oluşumunu azaltıcı etkileri ortaya çıkar (Har-Shai ve ark., 1999). Silikon jelin günde iki defa uygulanması ve silikon tabakanın ise günlük 12-24 saat boyunca en az 6 ay uygulanması önerilmektedir (Bloemen ve ark., 2009).

2.5.4. İntralezyonel Steroid Uygulanması

İntralezyonel kortikosteroid (KS) uygulaması 1960 ların ortalarından beri aşırı skarlaşmada kullanılmakta olup halen HTS ve keloid tedavisinde önemli bir yere sahiptir (Chen ve Davidson, 2005). İnvaziv enjektabl tedavi yöntemleri arasında yaygın kabul görmüş ve etkinliği tam olarak kanıtlanmış tek yöntemdir (Mustoe ve ark., 2002).

Steroid enjeksiyonu enflamasyon sürecini baskılayarak kollajen ve GAG sentezini azaltır, fibroblast proliferasyonunu inhibe eder ve hipoksi artışı yapar (Niessen ve ark., 1999). Bu amaçla en çok kullanılan steroid preparatı; triamcinolone acetonid (TAC) 10-40 mg/ml dir. Ayda bir veya iki kez genelde 3 ay şeklinde kullanılır, ihtiyaç olursa süre uzatılabilir (Manuskiatti ve Fitzpatrick, 2002). TAC' in keloid tedavisinde ilk seçenek, HTS tedavisinde ise non- invaziv yöntemlerden fayda görmeyen hastalarda ikinci seçenek olduğu yönünde geniş bir fikir birliği mevcuttur. Ayrıca cerrahi eksizyon sonrası keloid rekürrens oranını azaltır (Chowdri ve ark., 1999, Park ve ark., 2012). TAC'in TGF- β 1 ekspresyonunu azaltarak fibroblast apoptozunu arttırdığı bulunmuştur (Xu ve ark., 2009).

2.5.5. Diğer Tedavi Yöntemleri

Kriyoterapi ilk kez 1993 yılında Weshahy tarafından intralezyonel olarak kullanılmıştır (Weshahy, 1993). Miyofibroblast ve mast hücreleri azaltıcı ve kollajen yapısını ve depolanmasını düzeltici olarak etki ederek işe yaradığı düşünülmektedir (Har-Shai ve ark., 2011). Skar hacminin azaltılmasında %20- %75 arasında etkinliği olduğu bulunmuştur (Har-Shai ve ark., 2003, Zouboulis ve ark., 2004). Tekniğin ağrı, epidermoliz, ödem ve hipopigmentasyon gibi yan etkileri akılda tutulmalıdır.

Lazer uygulamaları keloid tedavisinde 1980 lerin ortalarından başlanarak günümüze kadar pek çok lazer türünün farklı dalga boylarında kullanımı denenmek suretiyle yapılagelmiştir. Günümüzde özellikle HTS lı genç bireyler ve primer keloid vakalarında olmak üzere en umut verici sonuçlar 585-nm pulsed-dye laser (PDL) ile elde edilmektedir (Alster ve Handrick, 2000). Skar rezolüsyonunun sağlanması için genelde 2-6 kür tedavi gerekmektedir. PDL nin skar tedavisinde etkinliği özellikle oklüzyon/basınç ve intralezyonel KS uygulanması yöntemleriyle kombine edildiği zaman artmaktadır (Goppold ve ark., 2011).

Soğan ekstresi ve heparinli jel kullanımı enflamasyonu inhibe ederek, fibroblast proliferasyonunu ve sentez kapasitesini azaltarak etki eder (Ho ve ark., 2006). Soğan ekstresinin MMP-1 ekspresyonunu azaltıcı etkisi de bulunmakatadır (Cho ve ark., 2010).

Imiquimod %5 lik krem INF yapımını uyararak kollajen yıkımını arttırırken bir yandan da apoptoz ile ilişkili gen ekspresyonunu uyarır (Zurada ve ark., 2006). Kullanımı özellikle keloid eksizyonu sonrası rekürrens azaltılmasına yöneliktir (Berman ve Kaufman, 2002).

Cerrahi yöntemlerin özellikle keloid eksizyonu sonrası rekürrens oranı %45-%100 arasında bulunmasından dolayı tek başına uygulanması tercih edilmez (Mustoe ve ark., 2002). Skar olgunlaşması döneminde (ilk 1 yıl) skarda düzleşme, yumuşama ve repigmentasyon görülebildiği için bu dönemde cerrahi müdahale etmek yerine diğer tedaviler uygulanarak beklenebilir (Reish ve Eriksson, 2008). Eklem kontraktürüne ve fonksiyonel kayba yol açan HTS hastalarında cerrahi yöntem tercih edilebilir.

Radyoterapi özellikle keloid eksizyonu sonrası adjuvan olarak yüzeysel X-ray tedavisi brakiterapi veya elektron ışını şeklinde uygulanır (Guix ve ark., 2001).

Bleomisin skar tedavisinde ilk kez 1996 yılında Bodokh ve Brun tarafından kullanılan ve lezyonlarda %80 gerileme saptanan kemoterapötik, antiviral ve antibakteriyel bir ilaçtır. DNA sentez inhibisyonu yaparak etki eder. Skar tedavisinde intralezyonel bleomisin kullanımı ile umut verici sonuçlar elde edilmiştir (España ve ark., 2001). Skar tedavisindeki etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. İntralezyonel uygulanan doz miktarlarında sistemik yan etki beklenmez (Crooke ve Bradner, 1976). Bleomisin uygulanması hem skar görünümünde düzleşme sağlarken hem de ağrı ve kaşıntı gibi yakınmaları da düzeltir.

Verapamil bir kalsiyum kanal blokörü olup intralezyonel kullanımının kollajen sentezini azaltıcı ve kollajen yıkımını arttırıcı etkisi vardır.

İnterferon (IFN) enjeksiyonu Tip1 ve Tip 3 kollajen sentezini azalattıcı etki eder (Jimenez ve ark., 1984). Özellikle IFN- α 2b hem direk fibroblastlara etki ederek hem de TGF- β ve histamin üretimini baskılayarak antiproliferatif etki gösterir (Berman ve Duncan, 1989). Geniş yanıklara bağlı skarları olan hastalara IFN- α 2b sistemik uygulanması sonucu skarlarında düzleşme gösterilmiştir (Tredget ve ark., 1998). İntralezyonel uygulamada 9 gün içinde keloid hacminde %50 azalma tesbit edilmiş olup bu KS enjeksiyonundan bile daha etkili bir sonuçtur (Berman ve Duncan, 1989).

5-Fluorouracil(5-FU) kemoterapide kullanılan bir pirimidin analogu antimetabolittir. DNA sentezini inhibe ederek fibroblast apoptozunu arttırdığı düşünülmektedir (Apikian ve Goodman, 2004). İlk defa 1999 yılında Fitzpatrick 5-FU enjeksiyonunun etkili bir şekilde skar küçülmesi sağladığını bildirmiştir. İntralezyonel 5-FU tek başına veya kombinasyon tedavisi olarak keloid tedavisinde etkilidir (Nanda ve Reddy, 2004).

Botox-A, hiperbarik oksijen, dermal radyofrekans, rekombinant TGF- β 3 ve mannoz-6- fosfat tedavilerinin skar üzerine faydalı etkileri gösterilmiştir. Bu yöntemler umut vadeden yöntemler olmakla birlikte bu yöntemlerin yaygın klinik kullanımı için ileri araştırmalar gerekmektedir. Ayrıca psikolojik stres de fibroprolifertif skarlaşma ile ilgili görünmektedir (Rabello ve ark., 2014). Son olarak skar tedavisinde kombine tedavilerin tekli tedavilere karşı etkinlikleri bir yana, multimodal uygulamanın dual tedaviden daha etkili olduğu belirtilmektedir.

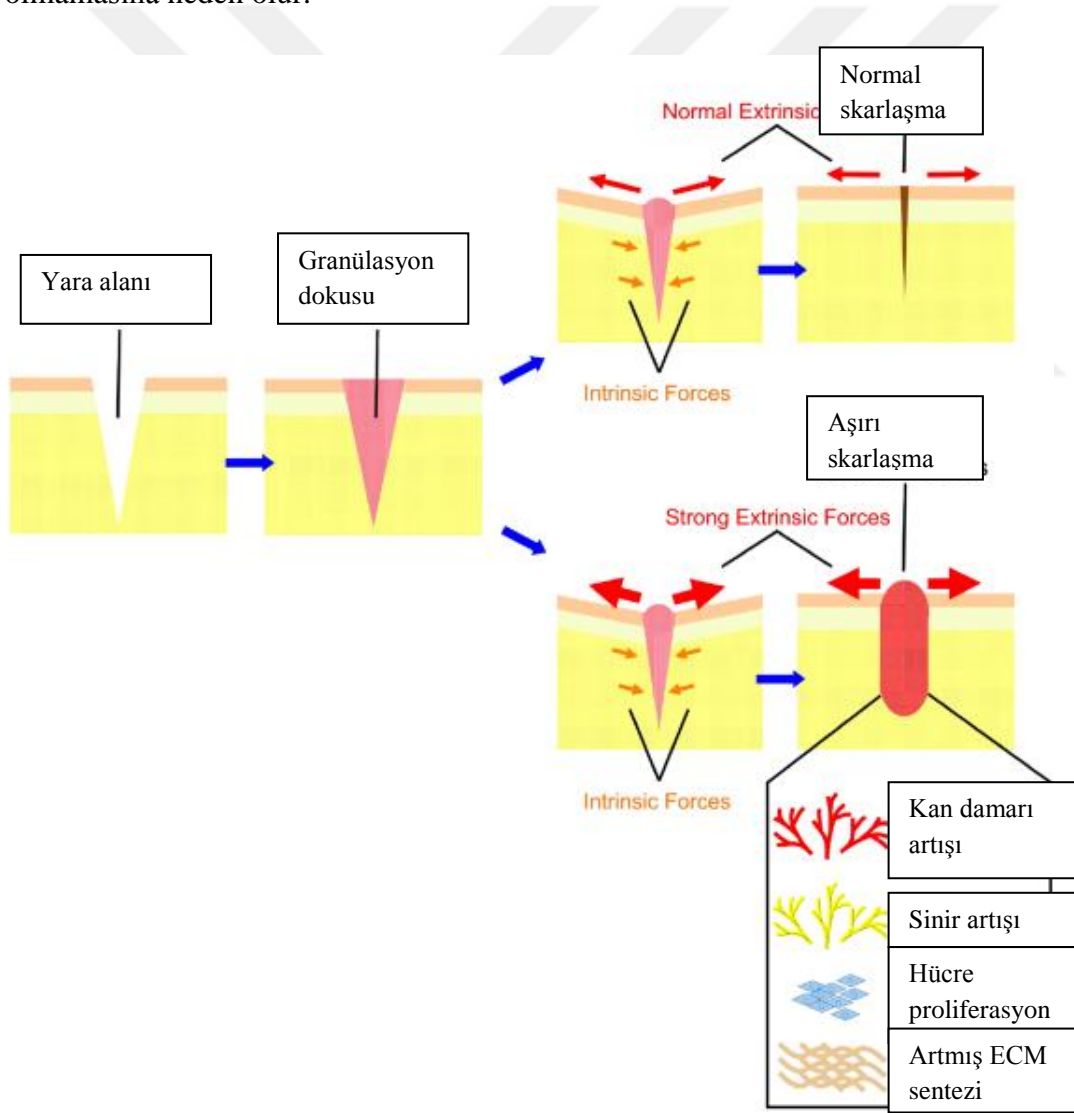
2.6. Mekanik Gerim ve Aşırı Dermal Skarlaşma

Cerrahlar yüzyıllardan beri gerim altında iyileşen yaralarda aşırı skarlaşma oluştuğunu bilmektedirler (Singer ve ark., 1997). İnsan vücudunda aşırı skarlaşma sıklıkla göğüs ön duvarı, omuzlar, skapular alan ve alt abdomen gibi mekanik gerim etkilerinin fazla olduğu bölgelerde gözlenmektedir (Ogawa ve ark., 2003). Benzer şekilde skar tedavisinde kullanılan pek çok teknik minimal mekanik gerim oluşturacak şekilde skarın reoryante edilmesine dayanmaktadır (Longacre ve ark., 1976, Robson ve ark., 1992, Mustoe ve ark., 2002). Esas olarak mekanik gerim yara iyileşmesinin tüm fazlarını etkiler. Ayrıca mekanik gerimin klinik olarak yaraya uygulanması yara iyileşmesini arttırıcı etki yapar (Agha ve ark., 2011). İlizarov' un kemik iyileşmesinde gösterdiği gibi traksiyon uygulaması kemikle birlikte diğer vücut dokularında da mekanik kuvvetler vasıtasıyla doku iyileşmesi oluşturur.

Hücresel düzeyde malign olmayan hücrelerin bölünme ve proliferasyon için gerim kuvvetlerine ihtiyacı olduğu gösterilmiştir (Huang ve ark., 1998, Huang ve Ingber, 2000). Cilt yara iyileşmesi açısından ise; granülasyon dokusunda bulunan fibroblast, miyofibroblast, endotel hücreleri ve epitel hücreleri iç(intrensek) ve dış (ekstrensek) mekanik kuvvetlerle uyarılırlar (Hinz ve ark., 2001).

Ekstraselüler matriks ve ekstraselüler sıvı (ECF); gerim, kompresyon, osmotik basınç, akım ve yer çekimi mekanizmalarıyla intrensek mekanik gerim etkisini oluşturur ve bu mekanik uyarılar hücrelerde elektriksel ve kimyasal uyarılara çevrilir (Lund ve ark., 1992, Denda ve ark., 2007, Gilbert ve ark., 2007, Stolberg ve McCloskey, 2009). Yara iyileşmesinde belirli bir intrensek gerim gerekli iken esas iyileşme sonrası skar oluşumunu belirleyen ekstrensek gerimlerdir (Gurtner ve ark., 2008). **Şekil 5**'de mekanik gerimin skar oluşumuyla ilişkisi gösterilmiştir.

Mekanik gerimin fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünde gerekli olduğu *invivo* ve *invitro* olarak gösterilmiştir (Wipff ve ark., 2007). Hücre içi ve hücre dışı gerim kuvvetlerinin azalması α -SMA'nın hızlı bir şekilde ortadan kalkmasına ve kontraksiyonun tam olmamasına neden olur.



Şekil 5. Mekanik gerim kuvvetleri ile skar ilişkisi (Ogawa, 2010'dan uyarlanmıştır)

Yapılan hayvan çalışmalarında siklik gerim uygulanan sıçanlarda epidermal hücre proliferasyonunun ve dermal vaskülaritenin arttığı saptanmıştır (Pietramaggiore ve ark., 2007).

Ayrıca yine siklik gerim uygulanan bir başka çalışmada fare cildinde nöropeptid ve growth faktör ekspresyonlarında artış bulunmuştur (Chin ve ark., 2009). Bir diğer önemli çalışmada ise fare sırtına uygulanan mekanik gerimin hipertofik skara benzer bir skar oluşturduğu saptanmış olup bu çalışma mekanik gerimin aşırı skarlaşmada etkisini göstermiştir (Aarabi ve ark., 2007).

Mekanik gerim oluşturan kuvvetler hücresel düzeyde mekanoreseptörler (mekanosensör) ve /veya mekanosensitif nosiseptörler tarafından algılanarak buna cevaben sinir sonlanmalarından nöropeptid salınımına neden olurlar. Bu nöropeptidlerin direk etkisiyle ve/veya çeşitli büyüme faktörleri üzerinden ilgili hücreleri uyarıp enflamasyon oluşumuna neden olurlar ve bu durum aşırı yara iyileşmesiyle sonuçlanır (Ogawa, 2010). Mekanosensitif kanallar (Ca^{++} , K^+ , Na^{++} ve Mg^{++}), özellikle aktin filamanları tarafından oluşturulan hücre iskeleti ve hücre zarında yerleşimli desmozom gibi adezyon yapıları (cell adhesion molecules –CAMs) hücresel mekanoreseptör görevi görürler (Furuichi ve ark., Hayakawa ve ark., Yoshimura K ve ark., 2008).

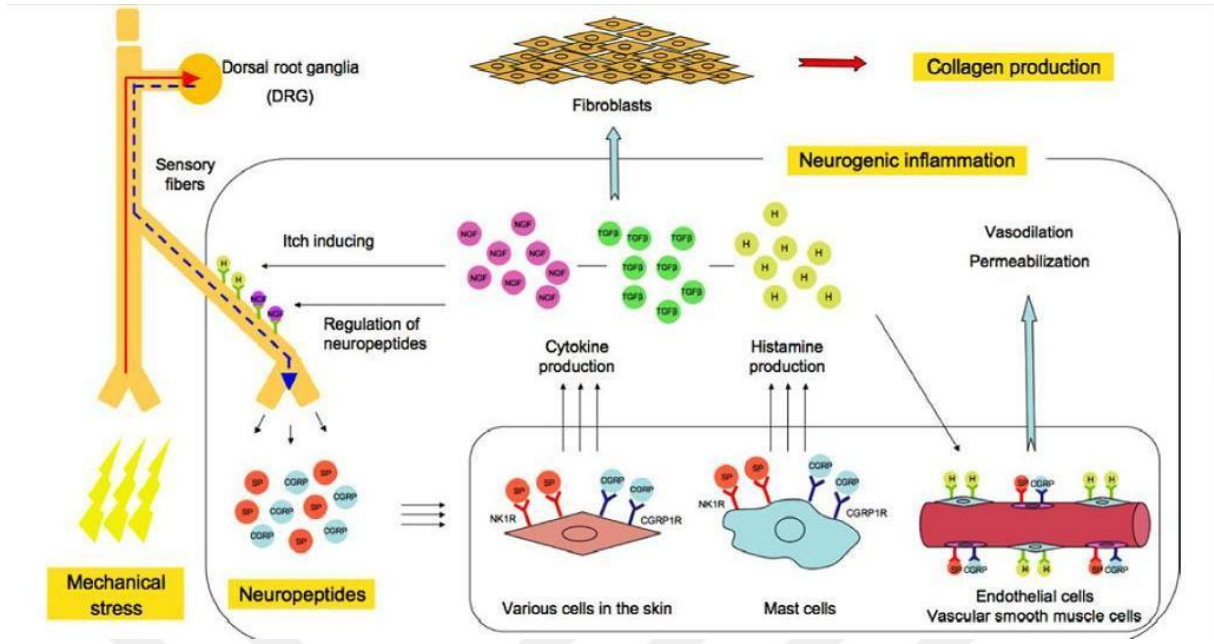
Sinir liflerindeki mekanosensitif nosiseptörlerin hiperaktivitesi veya düzensiz çalışması keloid/HTS gelişimine neden olabilir (Akaishi ve ark., 2008). Doku düzeyinde duyu lifleri cildin mekanik uyarı reseptörü gibi davranır. Duyu lifleri ‘nörojenik enflamasyonun’ kaynağı olarak düşünülmektedir ve duyu liflerinden salınan nöropeptidler çeşitli hücrelerden sitokin yapımına neden olur. Nörojenik enflamasyon mekanik gerimin indüklediği bir enflamasyon tipi olup antidromik vazodilatasyona ve plazma ektravazasyonuna neden olur. Bunun sonucunda eritem, ödem, hiperemi ve kaşıntı yakınmaları oluşur (Zegarska ve ark., 2006).

İnsan vücudundaki duyu lifleri; Tip Ia, Tip Ib, $A\beta$ lifleri (A beta, Tip II), $A\delta$ lifleri (A delta, Tip III) ve C lifleri (Tip IV) olmak üzere 5 çeşittir. Tip Ia ($A\alpha$) kas iğine, Tip IIa golgi tendon organına bağlantılıdır. Tip II($A\beta$) lifler, derinin mekanoreseptör aktivitesi gösteren; Ruffini organı, Pacinian/Meissner korpuskülleri ve kıl folikülleri ile ilişkidir. Tip II($A\beta$) lifler ayrıca kasta gerim reseptörleri ile bağlantılıdır. Ciltte nosisepsiyon (hasar verme

potansiyeli olan uyarının santral Sinir Sistemi'ne aktarılması), “serbest sinir (SS) sonlanmaları” ile yapılır. A δ (Tip III) ve C (Tip IV) liflerinin büyük çoğunluğu ciltte SS sonlanmaları şeklindedir. A δ lifleri, soğuk ve basıncın algılanması ile noziseptör (hasar verebilecek uyarıları MSS ye ileten duyu reseptörü) görevini yürütürler. A δ lifleri, myelinli yapıları sayesinde ağrının hızlı ileticisidirler ve spinal refleks arkının afferent kolunda görev yaparlar. C liflerinin ise iletim hızları düşüktür, yavaş, yanıcı ve künt tarzda ağrının iletilmesinde rol alırlar. C lifleri polimodal olarak termal, mekanik ve kimyasal uyarılara cevap verebilirler.

Cilde ağrı, propriyosepsiyon ve ısı uyarısı uygulandığında birinci yol olarak dorsal kök ganglion hücreleri tarafından retrograd yolla MSS (merkezi sinir sistemi)'ne iletilir. İkinci bir iletim yolu ise ‘akson refleksi’ mekanizmasıdır. Burada sinire ait distal bir dalın uyarılması sonrası uyarı proksimale ilerler sinirin dallanma seviyesinden diğer dallara aktarılır ve böylece bir dala ait retrograd uyarı başka bir dalda anterograd (antidromik) etki gösterir (Mevlut, 2002). Nörojenik enflamasyon, antidromik uyarı ve akson refleksi mekanizmalarıyla SS sonlanmalarından “nöropeptid” salınımı sonucu oluşur. Burada aksonal refleks ve duyu sinirlerinin antidromik uyarımı Substans P(SP) ve CGRP (calcitonin gene-related peptide) gibi vazodilatasyon yapıcı nöropeptidlerin salınımına yol açar (Zegarska ve ark., 2006). Bu nöropeptidler aynı zamanda fibroblastlar gibi çeşitli dermal hücrelerden TGF- β ve n-GF gibi büyüme faktörlerinin gen ekspresyonlarının artırılmasına neden olur (Lai ve ark., 2003, Wang ve ark., 2006).

Hücre zarında bulunan G proteinleri mekanik uyarının hücreye geçişini düzenler. Mekanik gerim uyarısı G proteinlerinin konfirmasyonunu değiştirerek ikincil uyarı kaskadını ve hücre büyümesini başlatır, büyüme faktörlerine benzer etkilere yol açar (Silver ve ark., 2003). Mekanosensitif Ca kanalları fosfolipaz C aktivasyonuna sahip olup protein kinaz C yi aktif hale getirir ve eşzamanlı olarak EGF artışını sağlar (Silver ve ark., 2003).



Şekil 6. Serbest sinir sonlanmalarının uyarılmasıyla oluşan nörojenik enflamasyonun aşırı skarlaşma ile ilişkisi (Akaishi ve ark., 2008'den alınmıştır)

2.7. Denervasyonun Yara İyileşmesine ve Skar Oluşumuna Etkisi

Günlük klinik uygulamamızda dekübit ülseri, diabetik gangren gibi kronik cilt ülserlerine sıklıkla rastlarız. Bu şekilde iyileşmesi yavaşlamış yaralar granülasyon dokusu oluşumunun ve reepitelizasyonun gecikmesiyle birlikte olup pek çoğunda duyu bozukluğu görülür. Cilt innervasyonunun yara iyileşmesi sürecinde önemli bir faktör olduğuna dair daha önceden yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur (Basson ve Burney 1982, Canimdat ve ark. 1995, Kim ve ark. 1998, Smith ve Liu, 2002). Yapılan bir kısım çalışmada ise yara iyileşmesi üzerine etkisinin olmadığı bulunmuştur (Wallengren ve ark. 1999, Ranne ve ark. 2000).

Denerve cilt yaralarında iyileşmenin bozulmasının nedenleri; yara kontraksiyonunun azalması ve epitelizasyonunun azalması olarak bulunmuştur (Canimdat ve ark., 1995, Fukai ve ark., 2005). Bunun yanı sıra denerve yaralarda enflamatuar hücreler özellikle de makrofajlar normal yaralara göre daha az olarak bulunmuştur (Richards ve ark., 1999). Yara dokusu içerisine sinir büyümesinde rol oynayan n-GF seviyesi denervasyon uygulanan yaralarda düşüktür (Reynolds ve ark., 1997). N-GF yara kontraksiyonunu ve lökosit kemotaksisini artırır (Richards ve ark., 1999). NGF sinir liflerinden SP ve CGRP ekspresyonu düzenler (Anand ve ark., 1996).

Denervasyonun diğerk bir etkisi enflamatuar faza olup hücre migrasyonunun ve protein ekstrasvazyonunun azalmasına neden olur (Helme ve Andrews, 1985). Sıçanlarda oluşturulan denerve cilt fleplerinde monosit, makrofaj ve T-lenfosit miktarlarında azalma saptanmıştır (Richards ve ark., 1997). Denervasyon apopitozda azalma yaptığından artmış granülyasyon dokusunun yıkımı azalır ve bu durum genişlemiş bir yara iyileşme dokusuyla sonuçlanabilir (Smith ve Liu, 2002).

Ayrıca denervasyon yapılmış dokularda damar düz kaslarının desensitizasyonu nedeniyle azalmış mikrovasküler yanıt oluşur ve bu durum da yara iyileşmesinin gecikmesine katkıda bulunur (Barker ve ark., 2006). Skar açısından bakıldığında ise; denerve edilen yaralarda skar elevasyon indeksinin (SEİ) normal yaralarla kıyaslandığında daha düşük olduğu bulunmuştur (Yagmur C ve ark., 2011).

Denervasyon işlemi cerrahi olarak yapılabileceği gibi (nörotomi) kimyasal olarak da yapılabilir (kapsaisin uygulanması). Kapsaisin (8-methyl N-vanillyl 6-nonamide), duyu sinirlerini doğrudan stimule eder. Acı bibere yakıcı özelliğini veren bu moleküldür. C lifleri kapsaisine oldukça duyarlıdır (Otsuka ve Yoshioka, 1993). Kapsaisin, hızlı başlayan güçlü etkisi nedeniyle duyu sinirlerinde nöropeptid depolarının tükenmesine neden olur. Bu olaya “kapsaisin desensitizasyonu” adı verilir (Janoso ve ark., 1967, Szolcsanyi, 1996). Kapsaisin desensitizasyonunda uzun süren analjezi ve ciltte termoregulasyon bozukluğu görülür. Kapsaisin ile yapılan denervasyon sonrası yara bölgesinde sinir liflerinin yoğunluğunda %30-40 azalma saptanmıştır (Smith ve Liu, 2002). Kapsaisin ile yapılan denervasyon tüm yara iyileşmesi fazlarını etkiler (Smith ve Liu, 2002).

2.8. Nöromediyatörler ve Büyüme Faktörleri

Cilt dokusu sinir sistemi, immün sistem ve endokrin sistemle sıkı bir ilişki içerisinde olup bu yapı ‘nöroendokrinoimmünokütanöz sistem’ (NEICS) olarak adlandırılmaktadır (Brazzini ve ark., 2003). Cilt dokusu hem otonom hem de duysal sinirlerle yoğun şekilde uyarılır. Otonom sinir sistemi (OSS) esas olarak sempatik sinirlerden oluşur ve bu sinirler dermiste yerleşimlidir. OSS terlemenin düzenlenmesi, piloereksiyon vazomotor aktivite, kan akımının ve vücut ısısının düzenlenmesi görevlerinde rol alır.

Duyu sinirleri ise miyelinsiz (C-fiber) ve miyelinli (A β ve A δ) serbest sinir sonlanmaları ve taktik korpusküller (Meissner, Pacini, Ruffini) den oluşmuştur. Daha evvelki yapılan çalışmalarda; serbest sinir sonlanmalarıyla pek çok kutanöz (Langerhans hücreleri, Merkel hücreleri, keratinosit ve melanosit) ve dermal (dentritik hücreler, fibroblast ve mast hücreleri) hücrelerle olan anatomik ilişkisi ortaya konulmuştur (Wiesner-Menzel ve ark. 1981, Sueki ve ark. 1995, Gaudillere ve ark. 1996, Chateau ve Misery, 2004).

NEICS i oluşturan farklı hücre grupları arasında iletişim nöropeptid, nörohormon ve nörotropin diye adlandırılan üç grup özel moleküller ile sağlamaktadır. Bu moleküllerin reseptörleri cilt dokusunda ve nöral dokuda sentezlenir. Bu üç grup molekülün cilt yara iyileşmesi üzerindeki etki mekanizmaları halen tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte sinir hasarı oluşan hastalarda yara iyileşme bozukluklarının görülmesi sinir sonlanmalarının önemini göstermektedir (Falanga, 2005).

2.8.1. Nöropeptidler

Substans P (SP)

Nöropeptid K -1 R reseptörlerine yüksek affinitesi olan keratinosit, endotel hücreleri ve fibroblastlarda saptanan 11 aminoasitli peptiddir (Liu ve ark., 2006). SP nin etkileri arasında sinir gelişimini uyarması (Altun ve ark., 2001), vasküler geçirgenliği arttırarak ekstrasvazyona sebep olması, anjiyogenezi uyarması ve lokal vazodilatasyon etkisi sayılabilir (Holzer, 1998). Aynı zamanda endotelial hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyarır ve keratinosit proliferasyonunu direk etkiyle ve n-GF salınımını sağlayarak arttırır (Tanaka ve ark., 1988, Wiedermann ve ark., 1996).

Ayrıca SP fibroblastların migrasyonunu ve proliferasyonunu uyararak granülasyon dokusu olgunlaşmasında önemli bir rol oynar (Parenti ve ark., 1996). EGF ve reseptörünün ekspresyonunu arttırır (Ziche ve ark., 1990). Keratinositlerden IL-1, IL-6 ve TGF- α sentez ve salınımının artışına neden olur (Wei ve ark., 2012). Mast hücrelerinin degranülasyonunu uyararak TNF- α salınımını ve endotelial hücrelerden IL-8 salınımını arttırır (Ansel ve ark. 1997). SP makrofajları uyararak PGE2 (prostaglandin E2), tromboksan B2 ve süperoksit iyonu salınımını arttırır (Campos ve Calixto, 2000).

Yara iyileşme problemi olan diyabetli memelilerde sinir sayısının azaldığı ve SP'yi yıkan bir enzim olan nötral endopeptidaz (NEP) aktivitesinin arttığı bulunmuştur (Pradhan ve ark., 2011).

Nörokinin-A (NKA)

10 aminoasitli bir peptid olup kültüre insan keratinositleri ve fibroblastlarında DNA sentezini artırır (Ziche ve ark., 1990). Yapılan bir fare çalışmasında epidermisten n-GF salınımını arttırdığı gösterilmiştir (Burbach ve ark., 2001).

Nöropeptid-Y (NPY)

NPY ve bununla ilişkili sinir liflerinin yanık yaralarının iyileşmesinde düzenleyici rol oynadıkları düşünülmektedir. Sinir liflerindeki NPY yoğunluğu HTS olgularında yüksek olarak bulunmuştur (Crowe ve ark., 1994). NPY endotelyal hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu direk olarak uyarır, tüp şekillenmesini aktive ederek anjiogenik faktör olarak davranır (Movafagh ve ark., 2006).

Calcitonin gene-related peptid (CGRP)

Ciltte en çok bulunan nöropeptid olup 37 aminoasitten oluşur. Sıklıkla epidermal ve subepidermal yerleşimli duyu liflerinde SP ve SST (somatostatin) ile birlikte yerleşmiş olarak bulunur (Gibbins ve ark., 1987). Keratinosit proliferasyonunu ve yara kontraksiyonunu uyararak yara iyileşmesini artırır. NGF ün hem olgun hem immatür formlarının (pro-nGF) ekspresyonunu ve sekresyonunu artırır. Yara iyileşmesi sürecinde hücre apoptozu ile sağkalımı arasındaki dengeyi ayarlar (Dallos ve ark., 2006). CGRP genellikle antienflamatuar ve nörotrofik etkileri düzenler (Wimalawansa, 1996).

CGRP insan vücudundaki en güçlü vazodilatatör olup uzamış vazodilatasyon sağlarken bir yandan da anjiogenezi uyarır (Brain ve Grant, 2004). Ayrıca fibroblast proliferasyonunu artırır. CGRP immün sistem üzerine mast hücrelerini uyarıp TNF- α salınımına neden olarak ve keratinositlerden IL-1 α üretimini sağlayarak etki eder (Scholzen ve ark., 1998).

Vazoaktif intestinal peptid (VIP)

Keratinosit migrasyonunu ve proliferasyonunu sağlar, anjiogenezi uyarır, VEGF (vasküler epidermal growth faktör) yapımını artırır (Granoth ve ark. 2000, Collado ve ark. 2007, Kakurai ve ark., 2009). Keratinositlerden NGF, IL-1 α ve IL-8 salınımını artırır (Dallos ve ark., 2006).

Somatostatin (SST)

Somatostatin 92 aminoasitten oluşan bir prohormon olup posttranslasyonel işlem sonrası iki adet biyolojik aktif peptide dönüşür; siklik SST-14 (insan cildinde aktif olan form) ve NH₂-terminal SST-28 (Brazeau, 1986). SST sinir sonlanmalarından diğer nörotransmitterlerin salgılanmasını inhibe ederek antiinflamatuvar ve anti-nosiseptif etki gösterir (Markovics ve ark., 2012).

SST ve analogları keratinosit, fibroblast, endotelial hücreler ile T ve B lenfositlerin üzerinde antiproliferatif etki gösterirler (Payan ve ark., 1984, Vockel ve ark. 2011). Bu açılardan bakıldığında zaman SST yara iyileşmesinin negatif düzenleyicisidir.

Diğer Nöropeptidler

Yukarıda bahsedilen nöropeptidlerin dışında galanin (GAL), nörotensin, Bombesin-like peptid (gastrin-releasing peptid-GRP), PACAP (pituitary adenilat siklaz-aktivasyon peptid) ve PMH/PMI (peptid histidin metionin/peptid histidin izolökin) benzeri moleküller de yara iyileşmesine etki eder.

2.8.2. Nörotropinler (NTS)

Cilt hücreleri, immün sistem ve sinir sistemi arasında bağlantıyı sağlayan ve cilt homeostazisinde kritik rolü olan bir grup sinir büyüme faktörü burada yer alır. Bunlar n-GF, nörotropin 3(NT-3), nörotropin 4/5 (NT-4/5) ve beyin kökenli nörotropik faktör (BDNF) olarak 4 adettir. İki tip reseptör ailesiyle bağlantılıdır; düşük afiniteli p75NTR reseptörü tüm nörotropinlere bağlanırken, yüksek afiniteli tirozin kinaz reseptörleri (Trk) ise TrkA n-GF ye, TrkB BDNF ye ve NT-4/5e ve TrkC ise NT-3 e bağlanır (Dechant, 2001).

Nerve growth faktor-β (NGF-β)

NGF-β 26kD büyüklüğünde bir polipeptid olup 1990 lardan sonra cilt ile ilişkili önemli görevleri olduğu öğrenilmiştir (Welker ve ark., 1998, Raychaudhuri ve ark., 2001, Marconi ve ark., 2006). En sık keratinositlerden olmakla birlikte proliferere olan çeşitli hücrelerden eksprese edilir. NGF doku hasarına cevap olarak hızlıca salınarak doku iyileşmesinde önemli rol oynar (Kawamoto ve Matsuda, 2004).

NGF keratinosit proliferasyonunu uyarıp apoptozunu inhibe ederek reepitelizasyonun oluşumunda görev alır (Di Marco ve ark., 1993). Hayvan çalışmalarında topikal n-GF uygulamasının yara iyileşmesini arttırdığı bulunmuştur (Li ve ark., 1980, Shi ve ark., 2003).

NGF myofibroblastların proliferasyonunu arttırmaksızın fibroblastlardan myofibroblast dönüşümünü, migrasyonunu ve kontraktil aktivitesini uyarır (Palazzo ve ark. 2012). NGF dermal mikrovasküler endotel hücreleri uyarır, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır (Raychaudhuri ve ark., 2001).

Keratinosit kaynaklı n-GF cilt innervasyon yoğunluğunun major mediatörüdür (Lewin ve ark., 1993). Nöronların yenilenmesini uyarır, nöropeptid salınımını artırır. CGRP, SP, GAL ve VIP; keratinositlerden n-GF'ün aktif ve pro formunun sentez ve salınımını arttırıcı etki ederler (Dallos ve ark., 2006). NGF nosiseptif nöronların sağkalımında ve nosisepsiyon ile nörojenik enflamasyonun oluşumunda kritik role sahiptir. Enflamasyon esnasında bu bölgede sinirlerle ilişkili olarak n-GF ekspresyon artışı görülür (Donnerer ve ark., 1992). NGF direk etkiyle mast hücre degranülasyonunu uyarır, mast hücre sayısında artış yapar, myeloid hücre büyümesini sağlar, B lenfositlerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyarır ve bazofillerden histamin salgısını artırır.

Yukarda bahsedilen bu etkilerinden dolayı n-GF pek çok nöronal ve non-nöronal hücreyi etkileyerek hücre sağkalımını arttıran, sinir büyümesini uyarıcı ve ciltte hücre farklılaşmasını düzenleyen önemli bir tropik faktördür. Yapılan çalışmalarda tedavi amaçlı topikal n-GF uygulanmasının yara iyileşmesini arttırdığı ortaya konulmuştur (Matsuda ve ark. 1998, Bernabei ve ark. 1999). Reepitelizasyonu, granülasyon dokusu kalınlığını ve ECM yoğunluğunu arttırdığı bulunmuştur (Matsuda ve ark., 1998). TGF-β1 ve VEGF sentezini arttırdığı gösterilmiştir (Chen ve ark., 2014). Yapılan bir başka güncel çalışmada hayvan deney modelinde uygulanan mekanik gerimin n-GF ekspresyonunu arttırarak cilt sinir

rejenerasyonunu sağladığı ve bunun deneklerde oluşan aşırı dermal skarlaşmanın nedeni olabileceği gösterilmiştir (Xiao ve ark., 2013). Tüm bu çalışmalara rağmen n-GF nin yara iyileşmesi ve aşırı dermal skarlaşmaya olan etkisinin aydınlatılması için yeni çalışmalara ihtiyaç sürmektedir.

Diğer nörotopinlerden NT-3 önemli bir epitelyotropin vazifesi görerek cilt homeostazının sürdürülmesine ve yara iyileşme sürecine etki eder (Botchkarev ve ark., 1999). Ayrıca NT-3 cilt duyu sinirlerinin gelişiminde önemlidir. NT-4/5 ve BDNF keratinosit apoptozunu uyarır ve negatif bir keratinosit düzenleyicisi olarak görev yapar (Truzzi ve ark., 2011).

2.8.3. Nörohormonlar

Kortikotropin salgılatıcı hormon(CRH)

CRH ciltte VEGF salınımını düzenler ve enflamasyon sürecinde önemli rol oynar (Cao ve ark., 2006). Epidermal keratinositlerde bulunan enflamasyonun temel düzenleyicisi olan nükleer faktör kapp B (NFκB) yı uyarır, ikili bir düzenleme ile hem IL-6 ve TGF-β gibi proenflamatuar madde sentezini arttırırken öte yandan IL-11 sentezini arttırarak ve IL-1 β sentezini azaltarak anti-enflamatuar etki gösterir (Zbytek ve ark., 2002).

Pro-opiomelanokortin (POMC) kaynaklı peptidler

POMC 31-36 kDa büyüklüğünde bir protein olup posttranslasyonel modifikasyon sonrası aktif peptid formlarına dönüşür. Bunlar; α-MSH, β-MSH, γ MSH, ACTH (adrenokortikotropik hormon) ve β-endorfin (β-E) dir. POMC ve ürünleri esas olarak hipofiz bezinde üretilmekle birlikte ciltteki melanosit, keratinosit, langerhans hücreleri, mast hücresi ve endotel hücrelerinden de üretilip salgılanır (Wintzen ve Gilcrest, 1996).

A-MSH IL-10 sentezini arttırarak ve IL-1 ve IL-12 sentezlerini azaltarak enflamatuar sürecin negatif düzenleyicisi olarak görev yapar (Luger ve ark., 2000). Ayrıca fibroblastlardan IL-8 salgısını arttırarak anjiogenezin düzenlenmesine ve fibroblast migrasyonuna önemli katkı yapar (Böhm ve ark., 1999). ACTH ise α-MSH ile aynı reseptörlere bağlanarak benzer etkiler yapar. Öte yandan α-MSH kerkinosit proliferasyonunu

ve farklılaşmasını düzenlerken ACTH VEGF ekspresyonunu arttırarak anjiogenezi uyarır (Gaillard ve ark., 2000).

B-endorfin (β -E) 31 aminoasitli bir peptid olup epidermisin yüzeyel tabakalarında, dermis epidermis sınırındaki sinir sonlanmalarında ve dermal fibroblastlardan eksprese edilir (Farooqui ve ark., 1993).

B-E yara iyileşmesi sırasında hiperproliferatif hale gelen epidermisten sitokeratin 16 ekspresyonunu uyarır (Bigliardi ve ark., 2003). Ayrıca TGF- β 2 reseptör ekspresyonunu arttırır (Gold ve ark., 1997).

Diğer nörohormonlar

Yara iyileşmesini etkileyen diğer nörohormonlar arasında yara iyileşmesini inhibe edici özelliği bilinen kortizol ile birlikte prolaktin ve enkefalinler (Met-enkefalin, L α -enkefalin) yer alır.

2.9. Aşırı skarlaşma deney modelleri

Aşırı dermal skarlaşma olgularının insana özgü karakterinden dolayı bu hastalıkların patogenezinin aydınlatılmasını ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini sağlayacak çalışmalar için hayvan modellerinin oluşturulması sorun olmaya devam etmektedir. İdeal çalışma modeli süreç boyunca gelişen patofizyolojik, histolojik ve moleküler olayları incelemeye imkân vermeli, insanda kullanılacak koruyucu ve tedavi edici yöntemlerin test edilebilmesini sağlamalıdır. İnsanlarda yapılan skar çalışmaları etik problemler nedeniyle kısıtlı olanaklar sunarlar. Aşırı dermal skarlaşma mekanizmasını aydınlatmak ve geliştirilen tedavi yöntemlerini denemek için in vitro (doku kültürleri) ve in vivo (hayvan modelleri) çalışmalar kullanılmaktadır. Her modelin kendine has avantajları ve dezavantajları vardır.

2.9.1. Hayvan modelleri

Hayvan modellerinin oluşturulmasında iki yaklaşım söz konusu olup bunlar; hayvanda aşırı skarlaşma modeli oluşturmak ve insanda oluşmuş olan aşırı skarlaşma dokularını hayvana transplante etmektir.

Aşırı dermal skarlaşma için kullanılan hayvanlar; domuz, sıçan, rat, tavşan ve atır. Bu amaçla Silverstein tarafından kullanımı ilk tariflenen ‘kırmızı duroc domuzu’ olup oluşturulan derin dermal yaralar insan HTS benzeri lezyonlara yol açmıştır. Daha sonra Ehrlich tarafından ‘sıkı derili sıçan (Tsm)’ türü aşırı skar modeli oluşturmak için kullanılmıştır. BeyazYeni Zellanda tavşanının kulakları hem oluşum mekanizmasının ortaya konulmasında hem de tedavi denemelerinde yeni bir model sağlamıştır. Guinea domuzlarında kimyasal hasar yöntemiyle HTS oluşturulması tanımlanmıştır. Daha güncel bir yaklaşım olarak Aarabi tarafından yapılan çalışmada ratlarda uygun zaman ve uygun miktarda gerim uygulayarak hipertrofik skar elde edilmiştir. Bu model daha sonra başka çalışmacılar tarafından da kullanılmıştır (Xiao ve ark., 2013). Tüm kullanılan bu hayvan modellerinde esas olarak hipertrofik skar benzeri gelişim olur henüz keloid oluşumunu sağlayan bir model yoktur (Seo ve ark., 2013).

Aşırı dermal skarlaşma için kullanılan ikinci hayvan modeli yaklaşımı insanda oluşmuş olan aşırı skarlaşma dokularını hayvana heterolog implantasyonudur. Öncelikle atimik sıçan ve rat modellerinde bağışıklık sistemi güçsüzleştirilmiş hayvanlarda implantasyon uygulanmıştır. Daha sonra Hamster yanağının immün yanıtının zayıf olduğu bulunmuş ve hayvanın tamamen immündefisitli hale getirilmeden skar dokularının heterolog implantasyonu mümkün olmuştur (Hochman ve ark., 2005). Bu yöntemler bize insan dokularına benzer histolojik yapıda ve biyokimyasal özellikteki dokuların incelenmesi avantajını sunarken skar dokusu in vivo ortamından uzaklaştırılmaktadır ve bu skar dokusunun gelişiminin durmasına neden olur. Ayrıca bu yöntemlerde, hâlihazırda oluşmuş proliferatif skarlar başka bir organizmaya implante edildikleri için skar oluşum mekanizmalarının incelenmesinde kullanılamazlar.

2.9.2. Doku ve Hücre kültürleri

Hücre kültürleri insandaki aşırı skarlaşan dokulardan toplanan fibroblast, endotel hücresi ve keratinositlerin iki boyutlu olarak kültüre edilmesiyle oluşturulur (Koch ve ark. 1997). Bu çeşit kültürlerde hücre büyümesi tek planda oluşur ve yeterli hücre-hücre, hücre-ECM ilişkisi tam olarak incelenemeyebilir. Bu patofizyolojik mekanizmaları ve bağlantıları daha iyi çalışabilmek için üç boyutlu sentetik iskelet üzerine kurulan doku kültürleri kullanılabilir (Butler ve ark., 2008). Doku mühendisliği konusundaki gelişmelerle beraber invitro olarak üç boyutlu hazırlanan doku kültürlerinin hayvanlara implante edilerek in vivo değerlendirme yapılması konusunda çalışmalar yoğunlaşmıştır.

Çalışmamız için; mekanik gerim oluşumunun ve denervasyonunun gruplara göre oluşturulacağı aşırı dermal skarlaşma elde edilebilecek bir model gerekmektedir. Bu nedenle daha evvel Aarabi tarafından tanımlanan ve mekanik gerim uygulayarak sıçan cildinde hipertrofik skar elde edilen modeli uyguladık. Mekanik gerimle denervasyonun birlikte etkisini saptayabilmek için sıçanlarda denervasyon işlemini de daha önce yapılmış çalışmalara uygun olarak gerçekleştirdik (Canimdat ve ark., 1995, Fukai ve ark., 2005). Denervasyon yapılacak duyu sinirlerinin anatomik yerleşimi atıf yapılan çalışmalarda detaylı olarak belirtilmiş olup, denervasyon kesisini yara iyileşmesini komplike etmeyecek bir konumda uyguladık. Böylece amacımız olan; farklı gruplarda mekanik gerim ve denervasyonun ayrı ayrı ve birlikte etkilerinin ortaya konulmasına imkân veren dört çalışma grubu oluşturduk. Seçtiğimiz model daha önce çalışılmış, etkinliği kanıtlanmış, bakımı ve elde edilebilirliği kolay ve mekanik gerim etkisinin ölçülebilir olduğu bir modeldir.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamız, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulunun (HADYEK) “2015/16-24” karar sayılı izini ile planlandı. Çalışmanın finansmanı TÜBİTAK tarafından 1002 numaralı Hızlı Destek Programı kapsamında “B. 14. 2.TBT.0.06.03.02-161-195358” karar sayılı izin ile 215S109 proje numaralı proje olarak sağlanmıştır.

3.1. Anestezi ve Cerrahi Öncesi Bakım

Deney hayvanlarının bakımı ve cerrahi girişimlerin tümü Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde (DEHAM) gerçekleştirildi. Deney hayvanlarının tamamı standart fiziki şartların sağlandığı odalarda uygun kafeslerde tutuldu ve standart sıçan beslenme diyeti ile beslendi. Tüm hayvanlara anestezi amaçlı 12 saatlik açlığı takiben 50 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar: Darke, Dawis, Eczacıbaşı) ve 10 mg/kg Xylazine hydrochloride (Rompun: Bayer, Almanya) intramuskuler olarak verilerek anestezi uygulandı.

3.2. Kullanılan Hayvanın Özellikleri ve Deney Grupları

Çalışmamızda yaşları 8-10 haftalık, ağırlıkları 250-300 gr toplam 40 adet dişi Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 eşit gruba bölünerek (n=10) üç grup deney grupları olarak dördüncü grup ise kontrol grubu olarak planlandı. Sıçanların sırt derileri tıraş edilerek povidon iyot ile dezenfeksiyon uygulandı. Çalışma grupları şu şekilde oluşturulmuştur:

Grup 1 (Kontrol grubu, n=10); sırt derisinin ilgili kısmında sadece insizyonel skar modelinin oluşturulduğu sıçan grubu

Grup 2 (Denervasyon grubu, n=10); sırt derisinin ilgili dermatomuna giden duyu sinirlerinin denerve edilip insizyonel skar modelinin bu denerve alanda oluşturulduğu sıçan grubu

Grup 3 (Mekanik gerim grubu, n=10); sırt derisinin ilgili kısmında oluşturulan insizyonel skar modeline cihaz yardımıyla mekanik gerim uygulanan sıçan grubu

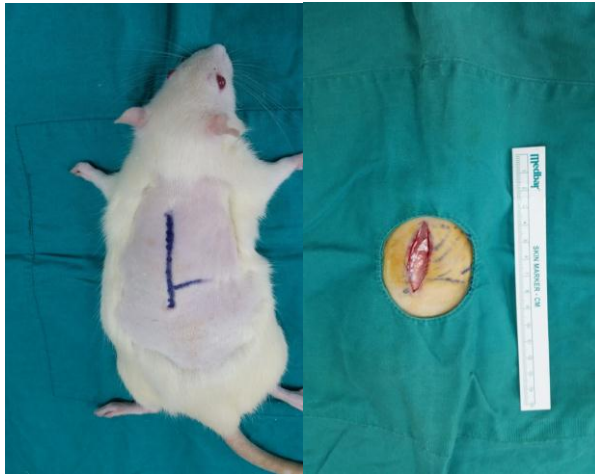
Grup 4 (Denervasyon ve Mekanik gerimin birlikte uygulandığı grup, n=10) ; sırt derisinin ilgili dermatomuna giden duyu sinirlerinin denerve edilip sonrasında oluşturulan insizyonel skar modeline cihaz yardımıyla mekanik gerim uygulanan sıçan grubu

3.3. Cerrahi Teknik

Çalışmamızda öncelikle Grup 2 ve Grup 4'deki hayvanlara denervasyon işlemi literatürde daha önce tariflendiği şekilde uygulandı (Canimdat E ve ark. 1995). Daha sonra tüm gruplardaki hayvanların sırt bölgesinde belirlenen cilt kısımlarına insizyonel yara modelleri oluşturuldu. Bu aşamada Grup 3 ve Grup 4'e mekanik gerim oluşturacak cihazlar yerleştirilip sütürlerle tutturuldu.

3.3.1 Denervasyon Uygulanması

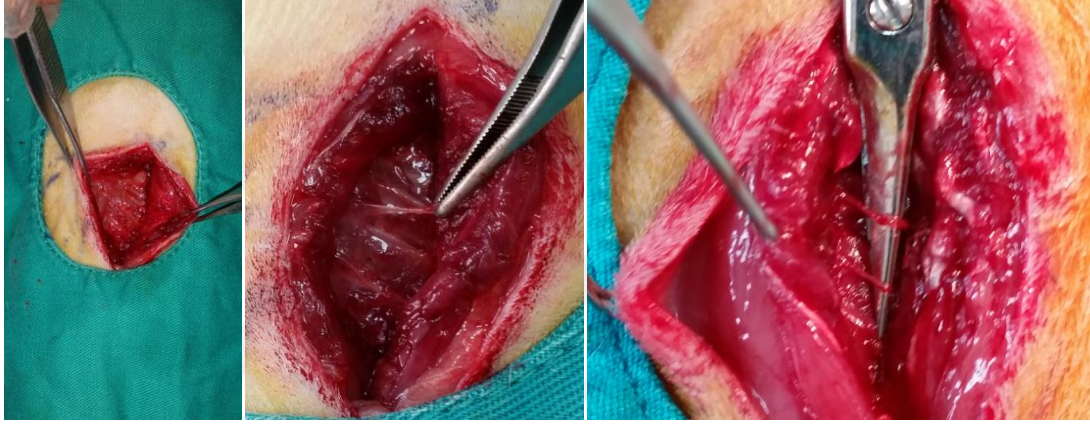
Çalışmamızda denervasyon uygulayacağımız iki gruptaki hayvanlara (Grup 2 ve Grup 4) yukarıda tarif ettiğimiz şekilde anestezi uygulandı. Hayvanların sırt bölgesi orta hat ve sağ tarafları traş edilerek yüzüstü pozisyonda ameliyat masasına tespitleri yapıldı. %10 povidon iyot (Batticon: Adeka, Türkiye) antiseptik solüsyon uygulanarak antisepsi sağlandı. Uygun örtümün ardından palpasyonla 13. kostavertebral açı bulunup (burası T10-L3 vertebralar için referans noktasıdır) vertebral orta hat boyunca 5 cm' lik insizyon hattı steril cerrahi kalem ile işaretlendi.



Şekil 7. Denervasyon işlemi için vertebral orta hat ve 13. kostavertebral açının çizilmesi. Vertebra orta hattı cilt insizyonunun uygulanması.

Bu aşamada 15 numaralı bistüri kullanılarak orta hat insizyonu uygulandı. Sırasıyla önce cilt sonra panniculus karnosus insize edilip yanlara rekrakte edildi. Ortaya çıkan kutanöz major kası insize edilip onun altında yer alan spinotrapezius kası eksplore edildi. Spinotrapezius kasının vertebral spinalara yaptığı beyaz tendinöz yapışmalar ayrılınca ilgili dermatomlara giden arka kökten çıkan spinal duyu sinirleri ortaya konuldu.

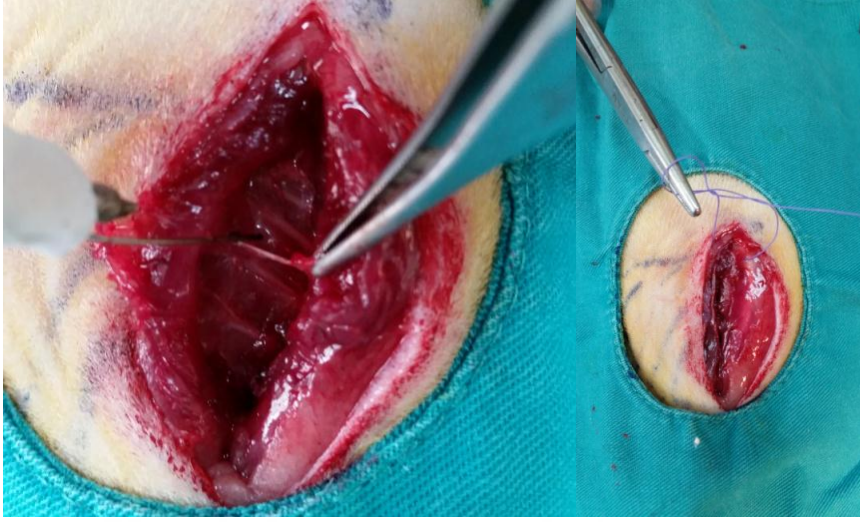
Bu duyu sinirlerinin hemen derininde kostalar ve onların da derininde ön kökten çıkan motor sinirler görülmekteydi. T10-T11-T12-T13 ve L1 spinal duyu sinirleri bu şekilde ortaya konuldu.



Şekil 8. Yapılan insizyondan sırasıyla cilt, panniculus karnosus, kutanöz major ve spinotrapezius kaslarının kesilerek arka kökten çıkan spinal duyu sinirleri ortaya konulması

Spinal duyu sinirleri ortaya konulduktan sonra 1' er cm sinir segmenti kesilip çıkarıldı ve sinir uçlarına ligasyon uygulandı. İşlem sonunda kanama kontrolü yapıldıktan sonra sırasıyla spinotrapezius ve kutanöz major kasları 5. 0 PDS suturelerle karşılıklı onarıldı. Cilt insizyonunun sutureasyonu 4. 0 prolene ile yapıldı. Günlük pansuman yapıldı. Bu aşamadan sonra hayvanlar, insizyonların iyileşmesi ve kalıcı denervasyon etkisinin gözlenmesi amacıyla 14 gün boyunca ek bir işlem yapılmaksızın standart koşullarda takip edildiler.

Duyu muayenesi 14 gün sonra hayvanın sırt derisinin sağ tarafındaki T10-L1 arası dermatom alanında hayvan anestezi altında değilken pinprick testi (iğne batırma testi) ve pinching testi (dişsiz forsepsle cildin sıkıştırılması) ile yapıldı. Bu testlerde ağırlı uyarana verilen hareket ve ses yanıtının yokluğu duyu kaybı olarak değerlendirildi.

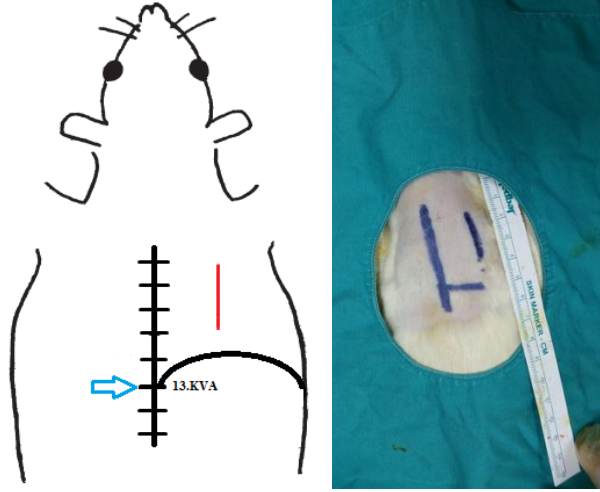


Şekil 9. İlgili cilt alanının duyusunu sağlayan sinirler bulunup 1'er cm lik segmenti çıkarılarak ligate edildi. Daha sonra kaslar karşılıklı onarılıp kapatıldı.

3.3.2 Mekanik Gerim Cihazının Yerleştirilmesi ve İnsizyonel Yara Modelinin Oluşturulması

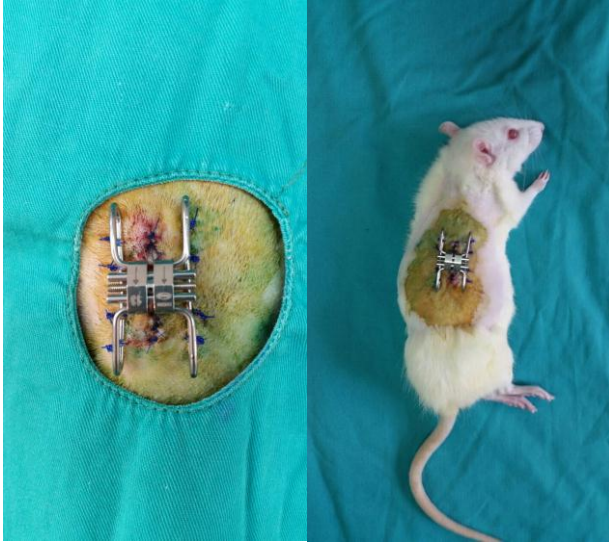
Çalışmamızın bu aşamasında tüm gruptaki hayvanların sırt bölgelerine insizyon yapıp suture ederek yara modelleri oluşturuldu ve mekanik gerim uygulamayı planladığımız Grup 3 ve Grup 4'deki hayvanlara bu insizyonun her iki yanından gerim uygulayacak cihazlar suture yardımıyla tespit edildi.

İnsizyonel yara modeli; 4 gruptaki toplam 40 hayvanın sırt bölgesinin sağ yanında daha evvel denervasyon yapılan hayvanlardaki dermatom alanlarına uyacak şekilde planlandı. Bu bölge tam olarak orta hattın 1.5 cm lateralinde vertikal uzanımlı 2 cm uzunluğunda ve 13. kostavertebral açı izdüşümünün 1 cm kaudalinde planlandı. (**Şekil 10**) İnsizyon 15 numaralı bistürü kullanılarak yapıldı. İnsizyonlar 4. 0 prolene suture ile primer olarak kapatıldı. Pansuman uygulandı.



Şekil 10. Sıçan sırtında oluşturduğumuz insizyonel skar modelinin yerleşimi görülmektedir. Bunun için orta hattın 1.5 cm lateralinde olacak şekilde vertikal uzanımlı 2 cm uzunluğunda kesi planlandı ve bu kesi 13. kostavertebral açı izdüşümünün 1 cm kaudalinde oluşturuldu. Sağda bu işaretlemelerin resimde gösterilmesi

Mekanik gerim cihazının yerleştirilmesi; insizyonel yara modelinin oluşturulmasını takiben aynı seansta Grup 3 ve Grup 4'deki sıçanlara sütür ile insizyonun her iki yanına aletin bacakları gelecek şekilde tespit edildi. Mekanik gerim cihazı 13 mm' lik palatal ekspander aletinden modifiye ederek tasarlandı. Bu cihaz hem hafif hem dengeli yapıda olup aynı zamanda milimetrik gerim uygulamasına olanak sağlamaktaydı. Mekanik gerimin uygulanması ise Aarabi ve ark. tariflediği şekilde gerçekleştirildi. İlk uygulamayı insizyon sonrası 4. günde ve 2 mm olacak şekilde yaptık. Bu sırada attığımız sütürleri de aldık. Sonrasında günaşırı 4'er mm gerim uygulaması yapıldı. Aletin 13 mm' lik maksimum uzanımı olduğundan ve ciltte stres gevşemesi geliştiğinden üç uygulamada bir kez anestezi altında alet sökülüp geri çevrilip tekrar uygun şekilde sütürlendi. Toplamda 14 gün boyunca gerim uygulaması yaptık.



Şekil 11. Mekanik gerim uygulayacak aletin insizyonel skar modelinin her iki tarafına sütürlerle tutturularak sıçanın sırtına yerleştirilmesi

3.4. Hayvanların Sakrifiye Edilmesi ve Skar Materyallerinin Toplanması

28. gün sonunda hayvanlar, intrakardiyak hava enjeksiyonu uygulanarak sakrifiye edildiler. Hemen ardından insizyonel yara modeline ait skar dokuları, çevresinde en az 3 mm intakt cilt bölgesi olacak şekilde eksize edildi. Skar kesitinin histolojik ve immünohistokimyasal incelemesi için her bir skar dokusu %10'luk formaline konularak histoloji laboratuvarına götürüldü.

3.5. Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Alınan skar dokuları %10'luk formaldehit solüsyonu içerisine konularak 1 hafta süreyle tespit edildi. Tespit işleminden sonra alkol, ksilen ve parafin serilerinden geçirilerek rutin ışık mikroskopik doku takibi yapıldı. Doku takibinin ardından dokular parafin blokların içerisinde gömüldüler.

Hazırlanan deri bloklarından mikrotom (Shandon Finesse ME Microtome, Thermo Scientific) aracılığıyla stereolojik ve immunohistokimyasal analizler için 5 µm, kesitler alındı ve stereolojik analiz için alınan deri kesitleri hemotoksilen-eozin boyası ile boyandı.

3.5.1 Stereolojik Yöntemler ile Skar Hacminin Ölçülmesi

Skara ait örnekler üzerinde Olympus BX43 sisteminde ½ örnekleme ile 10X 'lik objektif altında çekilen resimler yardımı ile 0,5 cm'lik grid kullanılarak Casper ultrabook bilgisayar ekranında Cavalieri metodu ile sayılmıştır. Cavalieri metodu nokta sayımı temelli olması sebebi her bir skar alanı üzerine düşen noktalar sayılarak aşağıdaki formül ile hesaplanmış ve hacimleri hakkında sayısal verilere ulaşılmıştır.

Hacim: $t \times a/p \times \Sigma P$

("t", kesit kalınlığı; "a/p", sayım gridi üzerinde bulunan her bir noktanın alanı; "ΣP", ilgili alana düşen noktaların toplamı)

3.5.2 Skar Kesitlerinde İnflamatuar Hücre Yoğunluğunun Ölçümü

Skar kesitlerinde enflamasyonun değerlendirilmesi için hayvan başına her bir kesitten ½ örnekleme ile 40X büyütmede çekilen resimlerde 9x9 cm lik birim alana düşen inflamatuvar hücreleri sayılarak grup ortalamaları hesaplandı.

3.5.3 İmmünohistokimyasal Boyama ve Biyokimyasal Analiz

İmmünohistokimyasal analizler için Anti-S100 (ABCAM ab14849) ve Anti-NGF (ABCAM ab6199) antikorları kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyama streptavidin-peroksidaz yöntemine uygun olarak gerçekleştirildi. Kesitler 10 dakika %3'lük H2O2 solüsyonunda bekletildikten sonra %5 'lik tuz çözeltisi içerisine alındı. Antikorlar için uygun hale getirilen kesitler 12 saat boyunca 4°C'lik ortam içerisinde antikorlar ile muamele edildi. İnkubasyon sonunda kesitler tuz çözeltisi ile yıkandıktan sonra sekonder antikor muamelesine maruz bırakıldı ve zıt boyama yapılması amacı ile mayer hemotoksilen ile boyandı. Boyanan örnekler Olympos BX43 sisteminde 40X'lik objektif altında görüntülenerek sinir lifleri sayısının ve dansite artışının ölçümü ile n-GF ekspresyonu incelendi.

4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 15,0 for Mac programı ile yapılmıştır ve grupların birbirleri ile karşılaştırmalarında One Way ANOVA, Bonferroni PostHoc test kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık açısından $p < 0,01$ değeri ileri derecede anlamlı, $p < 0,05$ olan değerler ise anlamlı olarak kabul edilmiştir.



5.BULGULAR

5.1 Genel bulgular (morfolojik, makroskopik, gözlemsel)

Çalışmamızda Grup 4'den bir hayvan anestezi esnasında ex oldu, diğer gruplardaki bütün hayvanlar sakrifiye edilene kadar yaşadı. Yaraların hiçbirinde enfeksiyon bulgusuna rastlanmadı. Mekanik gerim aleti yerleştirilen hayvanlar (Grup 3 ve Grup 4) tekli kafeslerde bakılmalarına rağmen sütürler yardımıyla cilde tutturulan aletin günlük kontrolü ve sütürü kopanların tekrar sütürlenmesi gerekli oldu.

28. gün sonunda makroskopik değerlendirmede; gruplar arasında Grup 3 ve Grup 4 de oluşan skarlar Grup 1 ve Grup 2'ye göre daha belirgindi. Grup 4'deki bazı skarlar üzerinde lokal iyileşme problemleri ve iyileşmede gecikme gözlemlendi. Grup 1 ve Grup 2'nin skarları makroskopik olarak çevre dokudan zor ayırt edilir haldeydi. Her gruptan rastgele 7 şer hayvan stereoloji ve enflamatuvar hücre yoğunluğunun ölçülmesi için seçilerek örnekler üzerinde sayım yapıldı. İmmünohistokimyasal inceleme için için 3 hayvan ayrıldı ve değerlendirmesi uygun boyamalardan sonra bağımsız histologlar tarafından yapıldı

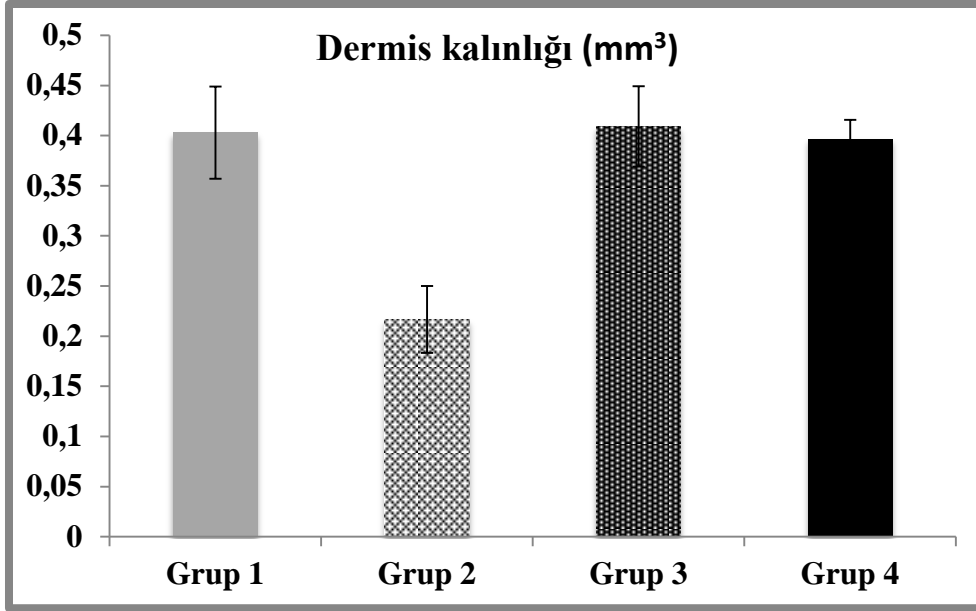


Şekil 12. Gruplara ait makroskopik skar örnekleri. Grup1 ve Grup 2'deki skar daha zor seçilirken Grup 3 ve Grup 4'te daha belirgin olarak izlenmekte

5.2 Stereolojik bulgular

5.2.1. Dermis hacmi

Dermisteki skar dokularının stereolojik hacim hesaplamaları noktalı alan ölçüm cetveli kullanılması ile hesaplanan Cavalieri prensibine uygun olarak yapılmıştır. Her bir kesitten yapılan örneklemelelere bağlı olarak 10x'lik objektifte resimler çekilmiştir ve gerekli hesaplamalar yapılmıştır. Hesaplamalara ait verilen **Tablo 4** ve **Şekil 13**'de görülmektedir. Sonuçlara incelendiğinde Grup 2'nin diğer gruplar ile arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlenmiştir ($p < 0,05$).



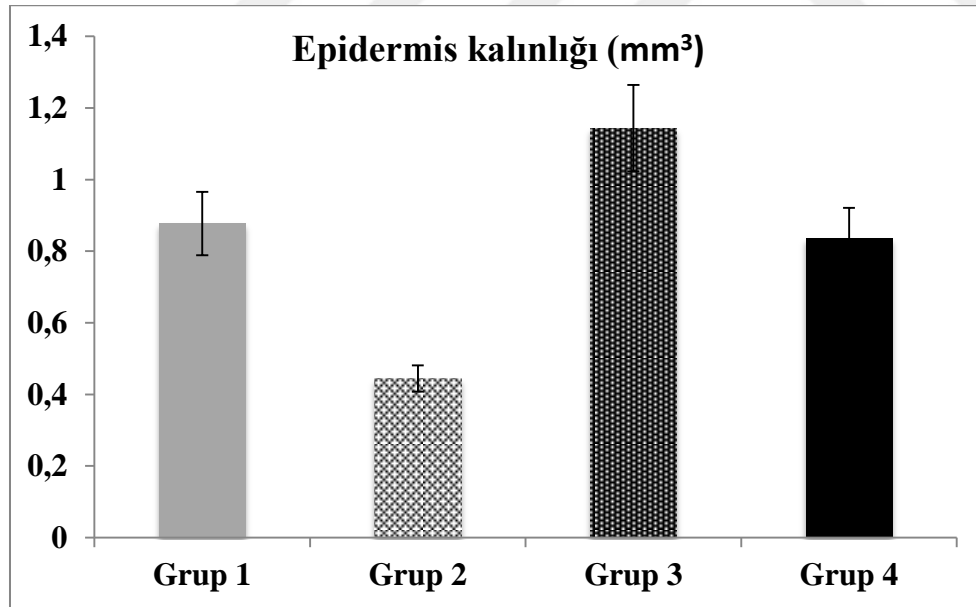
Şekil 13. Her bir gruba ait ortalama dermis kalınlıkları. Grup 1 ve Grup 2 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$); Grup 2 ve Grup 3 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$); Grup 2 ve Grup 4 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$) ifade etmektedir.

Tablo 4. Dermis ortalama hacim değerleri

| Gruplar | Dermis ortalama hacmi(mm3) | SEM (Standart error of mean) değeri |
|---------|----------------------------|-------------------------------------|
| Grup 1 | 0,40 | 0,04 |
| Grup 2 | 0,21 | 0,03 |
| Grup 3 | 0,40 | 0,04 |
| Grup 4 | 0,39 | 0,01 |

5.2.2. Epidermis hacmi

Stereolojik epidermis hacim hesabı ortalamalarının analizine göre; Grup 2'nin epidermis hacmi diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı Şekilde küçüktür. Grup 3'n ortalama hacmi değer olarak Grup 1 ve Grup 4'den yüksek olmakla birlikte istatistiksel anlamlı fark bulunamamıştır. Grupların ortalama sonuçları **Tablo 5** ve **Şekil 14** gösterilmiştir.



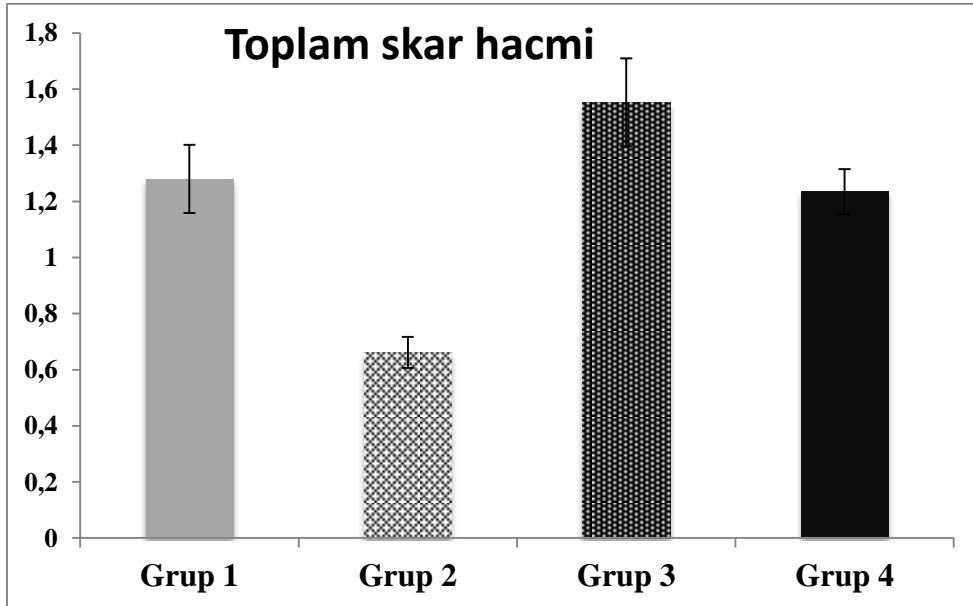
Şekil 14. Her bir gruba ait ortalama epidermis kalınlıkları. Grup 2 ve Grup 4 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$); Grup 1 ve Grup 2 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$); Grup 2 ve Grup 3 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$) ifade etmektedir

Tablo 5. Epidermis ortalama hacim değerleri

| Gruplar | Epidermis ortalama hacmi (mm ³) | SEM (Standart error of mean) değeri |
|---------|---|-------------------------------------|
| Grup 1 | 0,87 | 0,08 |
| Grup 2 | 0,44 | 0,03 |
| Grup 3 | 1,14 | 0,12 |
| Grup 4 | 0,83 | 0,08 |

5.2.3. Toplam skar hacmi

Toplam skar hacimlerinin ortalamalarının stereolojik olarak hesaplanması sonucu yine epidermis ve dermisin hacimlerinin ayrı ayrı hesaplanmasına benzer sonuçlar vermiştir. Grup 2'nin toplam skar hacim ortalaması diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde küçük çıkmıştır. Grup 3'ün skar hacmi miktar olarak Grup 1 ve Grup 4'den fazla olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Grupların ortalama sonuçları **Tablo 6** ve **Şekil 15** gösterilmiştir.



Şekil 15. Her bir gruba ait ortalama toplam skar kalınlıkları. Grup 2 ve Grup 4 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$); Grup 1 ve Grup 2 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$); Grup 2 ve Grup 3 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$) ifade etmektedir

Tablo 6. Toplam skar ortalama hacim değerleri

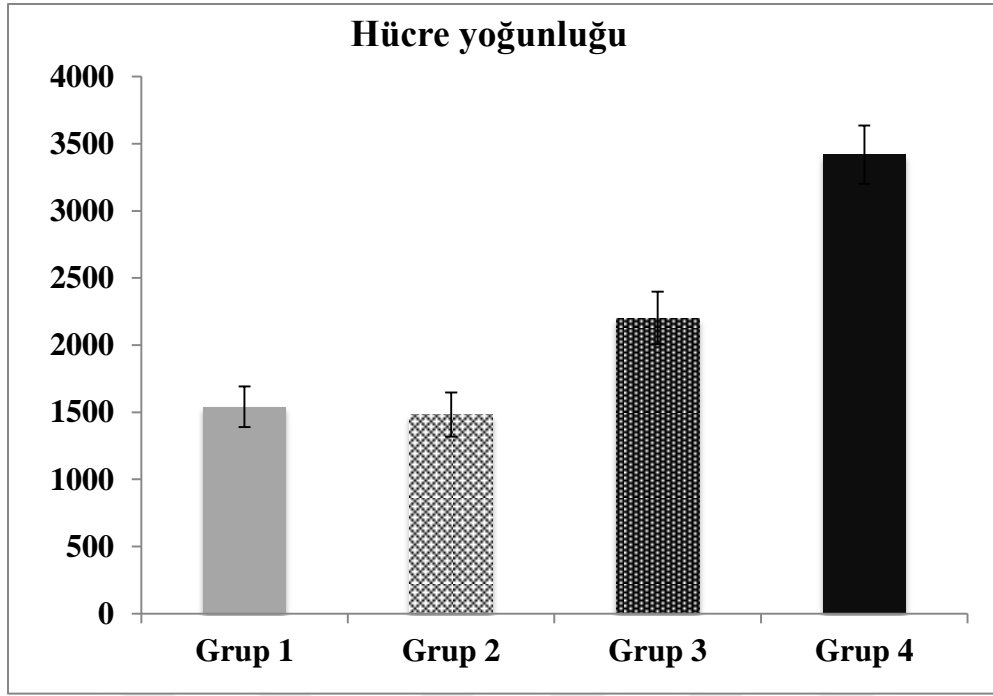
| Gruplar | Toplam skar ortalama hacmi (mm ³) | SEM (Standart error of mean) değeri |
|---------|---|-------------------------------------|
| Grup 1 | 1,28 | 0,12 |
| Grup 2 | 0,66 | 0,05 |
| Grup 3 | 1,55 | 0,15 |
| Grup 4 | 1,23 | 0,08 |

5.3 Enflamatuar hücre yoğunluğu

Skar kesitlerinde hayvan başına 40 x büyütmede 9x9 mm lik birim alana düşen enflamatuar hücre yoğunluğu ve grup ortalamaları **Tablo 7** ve **Şekil 16**'da gösterilmiştir.

Tablo 7. 40 x büyütmede 9x9 mm lik birim alana düşen ortalama hücre sayısı

| Gruplar | Birim alana düşen enflamatuar hücre ortalaması | SEM (Standart error of mean) değeri |
|---------|--|-------------------------------------|
| Grup 1 | 1541.71 | 151.6 |
| Grup 2 | 1482.71 | 163.8 |
| Grup 3 | 2202.71 | 194.5 |
| Grup 4 | 3418.71 | 216.8 |

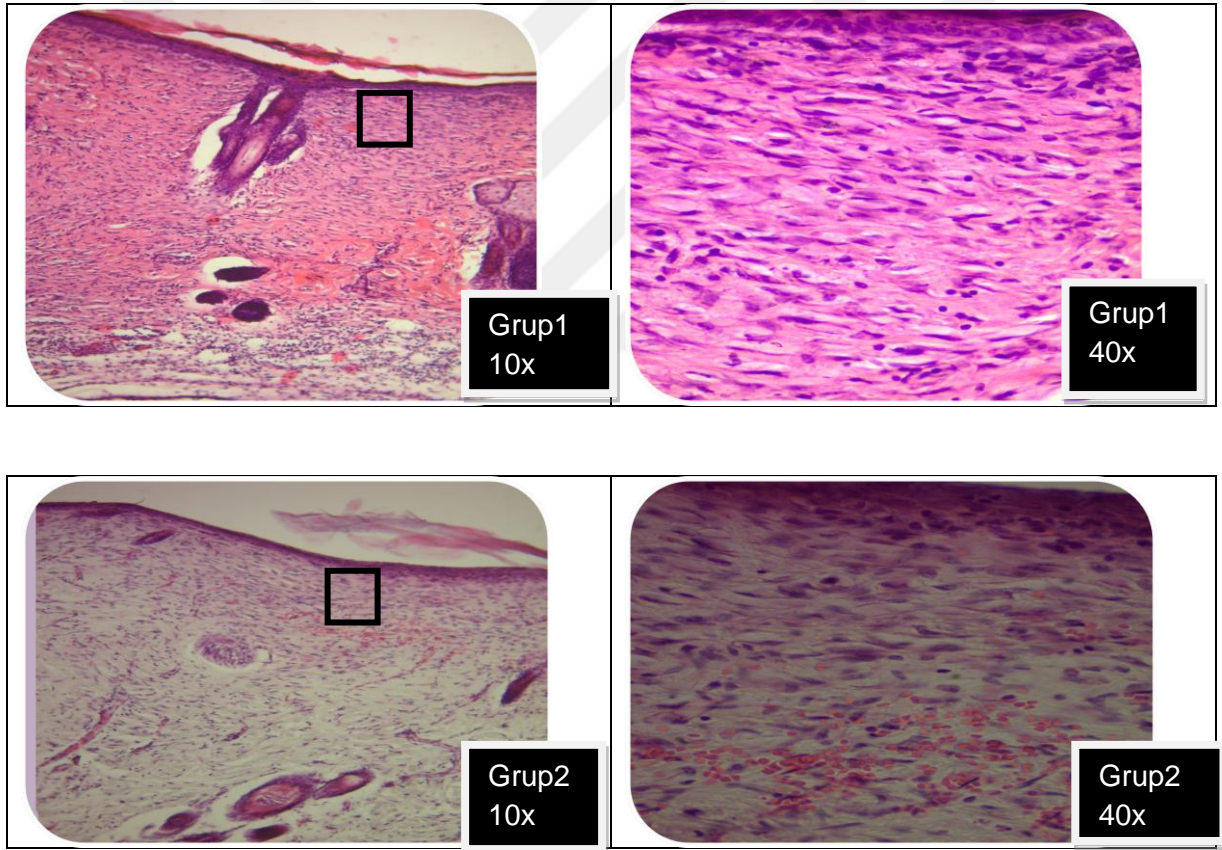


Şekil 16. 40 x büyütmede 9x9 mm lik birim alana düşen ortalama enflamatuar hücre yoğunluğu. Grup 2 ve Grup 4 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$); Grup 1 ve Grup 4 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$) Grup 3 ve Grup 4 arasında ileri derece farkı ($p < 0,05$) ifade etmektedir

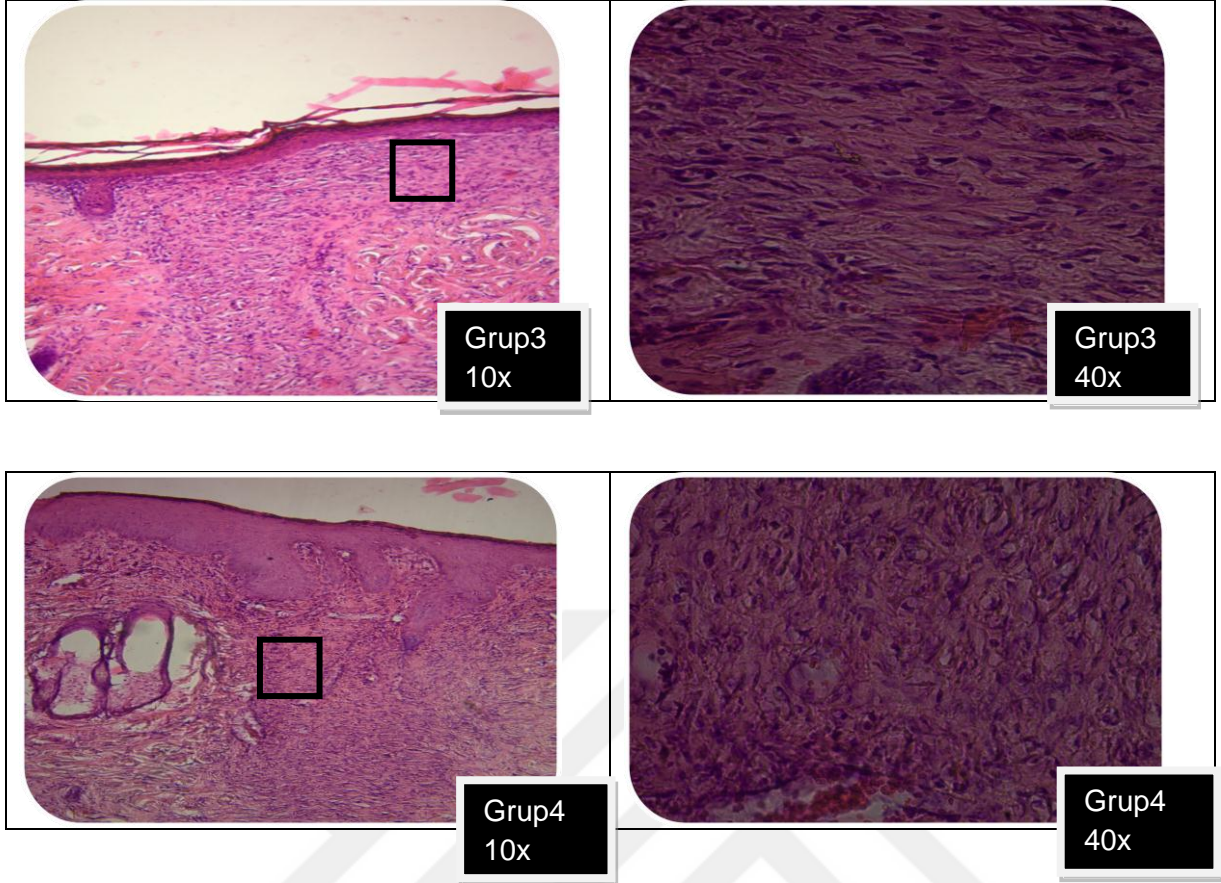
Grup 4'ün enflamatuar hücre yoğunluğunun ortalamasının diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Grup 2'nin Grup 1 ile enflamatuar hücre yoğunluğu açısından istatistiksel anlamlılık oluşturacak fark yoktu. Bu iki grubun ortalama hücre sayıları (Grup 2 daha az olmak üzere) birbirine yakın çıkmıştır. Grup 2'nin Grup 3 ile hücre sayısı olarak farkı ortaya çıksa da bunun istatistiksel olarak anlamı yoktu ($p > 0,05$). Grup 1'in de yine Grup 3 ile hücre sayı ortalaması arasında fark gözlense de bu istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir ($p > 0,05$).

5.4. Histopatolojik bulgular

Aşağıda her gruba ait kesitlerin 10 X ve 40 X 'lik objektif altındaki görüntüleri gösterilmiştir. Grup 2 de oluşan skarın diğer gruplara göre daha küçük boyutta, daha az kollajen içerikli olduğu görülmektedir. Özellikle Grup 4'te olmakla birlikte diğer üç grupta artmış epidermis kalınlığı, kollajen artışı ve yoğun hücre birikimi görülmektedir. Yine mekanik gerim uygulanan gruplarda (Grup 3 ve Grup 4) kıl folikülü gibi adneks yapılarının kaybolduğu ve kollajen liflerinin gerim yönüne paralel olarak biriktiği gözlenmiştir. Yine bu gruplarda hücresellik artışı ve yoğun mast hücresi gözlenmiştir.



Şekil 17. Her gruba ait histolojik kesitlerin 10 x ve 40 x büyütme altındaki görüntüleri

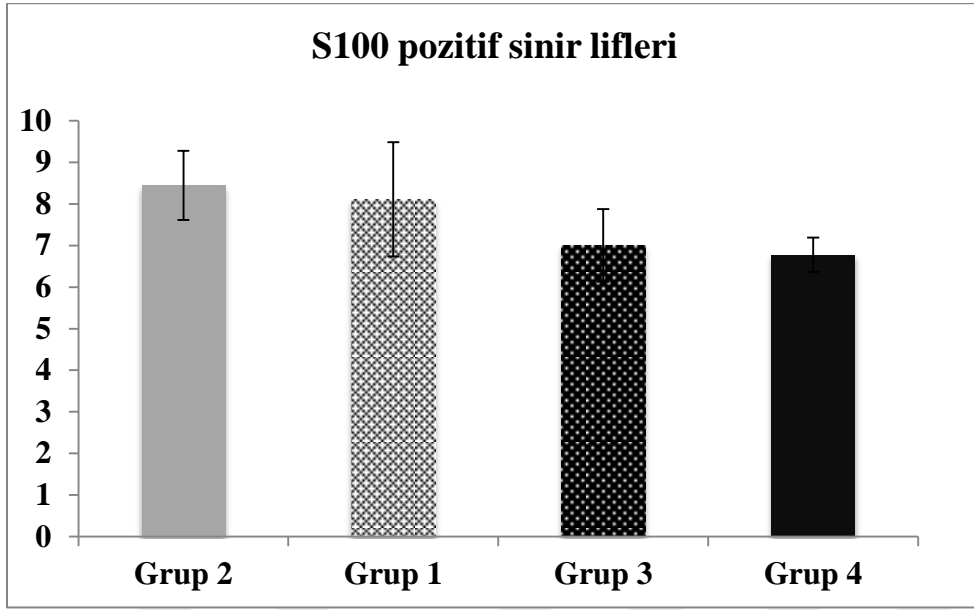


Şekil 17 devamı. Her gruba ait histolojik kesitlerin 10 x ve 40 x büyütme altındaki görüntüleri

5.5. İmmünohistokimya (sinir liflerinin sayısı ve n-gf ekspresyonu)

5.5.1 S100 Antikoru ile elde edilen bulgular

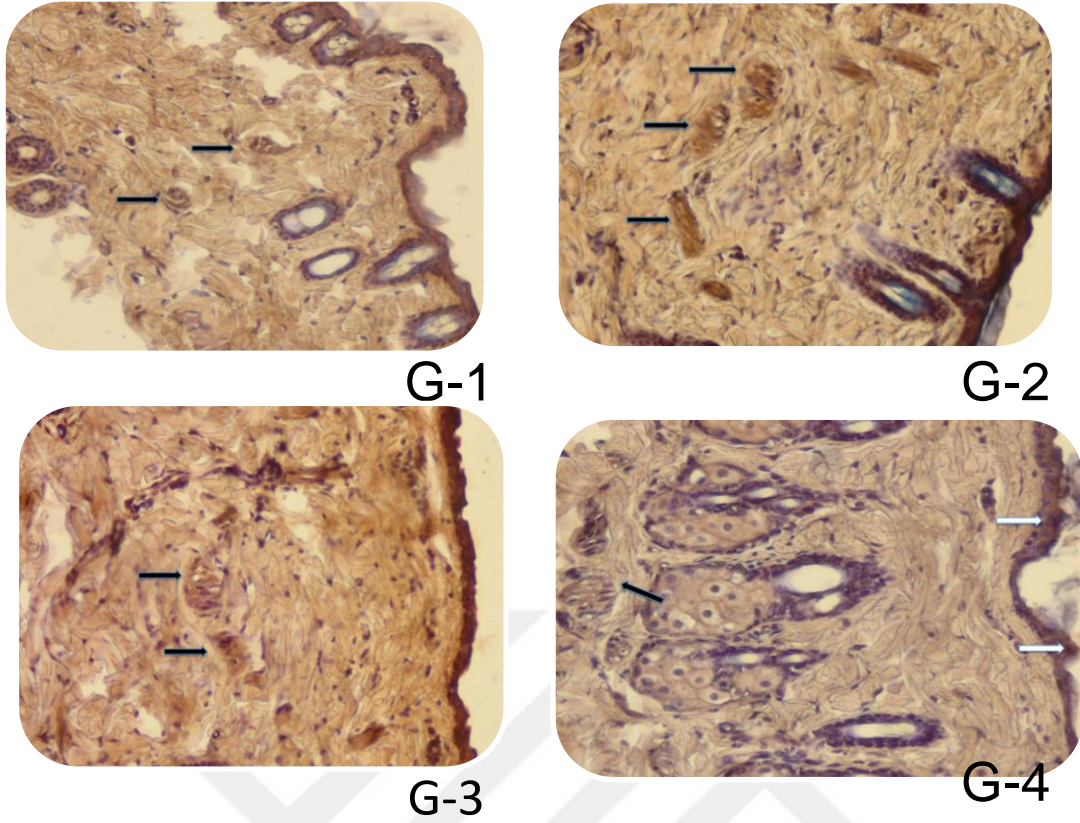
Deneklerden alınan kesitler üzerinde S100 antikoru (ab14849 abcam) kullanılarak yapılan immünohistokimyasal boyamada tüm gruplara ait dermis alanlarının incelenmesinde; koyu boyanan ve çapraz olarak seyir eden lif alanları pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Tüm gruplar içerisinde en fazla pozitif alanların Grup 2'ye ait olduğu izlenmektedir (Şekil 19). Grup 4'e ait kesitlerde sinir lifleri grup olarak izlenememiş ve epidermiste bulunan bazı hücrelerin ise pozitifliği dikkat çekmiştir. Grup 1'de Grup 2'den daha düşük oranlarda bir pozitiflik gözlemlenmiştir. Grup 3'de grup olarak seçilen sinir liflerinin yoğunluğu Grup 2'ye oranla daha düşük ve Grup 4'e yakındır. Sayısal bulgular için kesitler üzerinde 9x8 mm'lik kareler olacak şekilde 30 birim karelik alanlar incelenmiş ve sayım sonuçlarına ait sonuçlar grafikte gösterilmiştir. İstatistiksel olarak hiçbir grup arasında fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 18. S100 antikoru ile boyanmış kesitler üzerinde yapılan sayım sonuçları

Tablo 8. 2160 cm'lik alana düşen sinir lifi değerlerinin ortalamaları

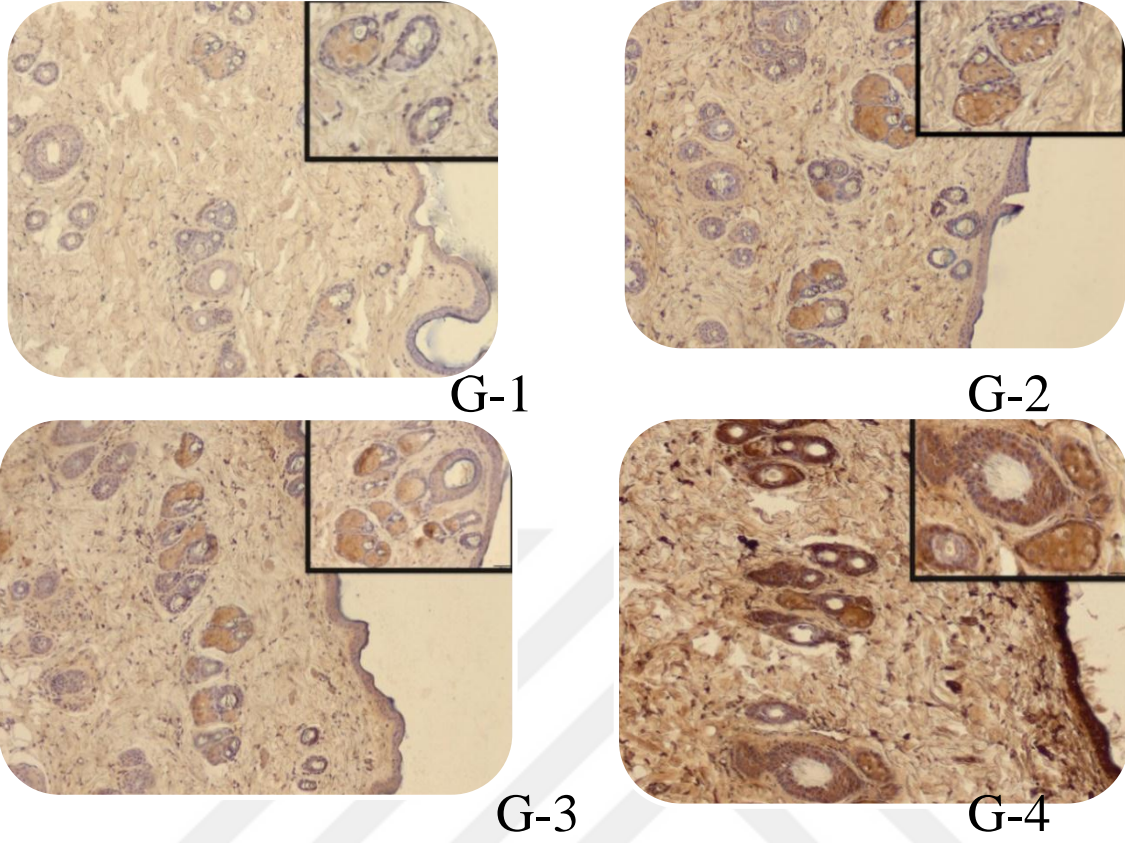
| Gruplar | Ortalama sinir lifi sayısı | SEM (Standart error of mean) değeri |
|---------|----------------------------|-------------------------------------|
| Grup 1 | 8,1 | 1,37 |
| Grup 2 | 8,4 | 0,83 |
| Grup 3 | 7,0 | 0,87 |
| Grup 4 | 6,8 | 0,40 |



Şekil 19. S100 antikoruna ile boyanan sinir lifleri Siyah oklar sinir liflerini, beyaz oklar epidermal hücreleri göstermektedir. Dermise yerleşimli sinir gövdeleri özellikle Grup 2’de yoğun olarak görülmüştür.

5.5.2. NGF Antikoru ile elde edilen bulgular

Deneklerden alınan kesitler üzerinde NGF (ab6199 abcam) kullanılarak yapılan immünohistokimyasal boyamada tüm gruplara ait epidermis alanlarının incelenmesinde; epidermiste bulunan koyu boyanan hücreler pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Grup 2’de özellikle bez köklerinde pozitifliğin fazla olduğu gözlemlendi. Aynı grupta epidermis içerisinde pozitif hücrelerin varlığına çok düşük oranda rastlanmıştır. Ancak en fazla pozitiflik Grup 3 ve Grup 4’de epidermis düzeyinde gözlemlenmiştir. Grup 4’de ayrıca kıl foliküllerinin etrafında bulunan epidermis tabakalarında da pozitiflik gözlemlenmiştir. Grup 1’e ait kesitlerde pozitiflik oldukça az ve bezler bünyesinde fark edilmiştir (**Şekil 20**).



Şekil 20. NGF antikoruna ile boyanan pozitif hücreler görülmektedir. Özellikle Grup 3 ve Grup 4'de epidermiste sinir hücrelerinde yoğunluk artışı mevcuttur.

6. TARTIŞMA

Aşırı dermal skarlaşmayı enfeksiyon, iyileşememe ve kontraktür gibi bir yara komplikasyonu olarak değerlendirmek mümkündür (Goldman, 2004). Aşırı yara iyileşmesi cilt dışı dokularda da oluşabilir. Dupuytren hastalığı, karaciğer sirozu, Peyronie hastalığı, desmoid tümörler, fibrosarkom, glomerulonefrit ve skleroderma gibi pek çok patolojik durumda artmış bir fibroplazi ve proliferatif iyileşme söz konusudur (Sabiston, D. Textbook of Surgery 1997, Tuan ve Nichter,1998). Keloid ve hipertrofik skar insan türüne özgü normalde diğer canlılarda oluşmayan aşırı dermal skarlaşmanın farklı biçimleridir. HTS ve keloidlerde, dermis ve subkutan dokularda aşırı miktarda ECM depolanması vardır. Aşırı yara iyileşmesinin pozitif ve negatif etkili sitokinler ve ECM sentezi ile yıkımı arasındaki dengelerin bozulması ile meydana geldiği düşünülmektedir (Xiaolong ve ark., 2013).

Cilt dokusu sinir sistemi, immün sistem ve endokrin sistemle sıkı bir ilişki içerisinde olup bu yapı 'nöroendokrinoimmünokütanöz sistem' olarak adlandırılmaktadır (Brazzini ve ark., 2003). Cilt dokusu hem otonom hem de duyuşal sinirlerle yoğun şekilde uyarılır. OSS esas olarak sempatik sinirlerden oluşur ve bu sinirler dermiste yerleşimlidir. OSS terlemenin düzenlenmesi, piloereksiyon, vazomotor aktivite, kan akımının ve vücut ısısının düzenlenmesi görevlerinde rol alır. Duyu sinirleri ise miyelinsiz (C-fiber) ve miyelinli (A β ve A δ) serbest sinir sonlanmaları ve taktik korpusküller (Meissner, Pacini, Ruffini) den oluşmuştur. Daha evvelki yapılan çalışmalarda; serbest sinir sonlanmalarıyla pek çok kütanöz (Langerhans hücreleri, Merkel hücreleri, keratinosit ve melanosit) ve dermal (dentritik hücreler, fibroblast ve mast hücreleri) hücrelerle olan anatomik ilişkisi ortaya konulmuştur (Wiesner-Menzel ve ark., 1981, Sueki ve ark., 1995, Gaudillere ve ark. , 1996, Chateau ve Misery, 2004).

NEICS i oluşturan farklı hücre grupları arasında iletişim nöropeptid, nörohormon ve nörotropin diye adlandırılan üç grup özel moleküller ile sağlamaktadır. Bu moleküllerin reseptörleri cilt dokusunda ve nöral dokuda sentezlenir. Bu üç grup molekülün cilt yara iyileşmesi üzerindeki etki mekanizmaları halen tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte sinir hasarı oluşan hastalarda yara iyileşme bozukluklarının görülmesi sinir sonlanmalarının önemini göstermektedir (Falanga, 2005). Nöropeptidlerin enflamasyonun yanı sıra anjiogenez, keratinosit proliferasyonu ve fibrogenezi arttırıcı etki yapmaları, normal yara iyileşmesinde sinir dokusunun rolünü ortaya koymaktadır. Yanık nedeniyle oluşan yaraların

iyileşme sürecinde çok sayıda nöropeptid içeren sinir lifi tespit edilmiştir (Altun ve ark., 2001). Öte yandan periferik nöropati gelişen diabetik yaralarda normal cilt ve yara kenarındaki sinir liflerinin sayısında azalma görülmüştür (Underwood ve ark., 2001).

Dolayısıyla kronik diyabetik yaraların etyolojisinde nöropeptid miktarındaki düşüşün etkili olduğu düşünülebilir.

İnsan vücudunda aşırı skarlaşma sıklıkla göğüs ön duvarı, omuzlar, skapular alan ve alt abdomen gibi mekanik gerim etkilerinin fazla olduğu bölgelerde gözlenmektedir (Ogawa ve ark., 2003). Benzer şekilde skar tedavisinde kullanılan pek çok teknik minimal mekanik gerim oluşturacak şekilde skarın reoryante edilmesine dayanmaktadır (Longacre ve ark., 1976, Robson ve ark., 1992, Mustoe ve ark., 2002). Yapılan hayvan çalışmalarında siklik gerim uygulanan ratlarda epidermal hücre proliferasyonunun ve dermal vaskülaritenin arttığı saptanmıştır (Pietramaggiore ve ark., 2007). Ayrıca yine siklik gerim uygulanan bir başka çalışmada fare cildinde nöropeptid ve growth faktör ekspresyonlarında artış bulunmuştur (Chin ve ark., 2009). Aarabi ve ark. (2007) yapmış olduğu çalışmada ise fare sırtına uygulanan mekanik gerimin hipertofik skara benzer bir skar oluşturduğu saptanmış olup bu çalışma mekanik gerimin aşırı skarlaşmada etkisini göstermiştir. Nörojenik enflamasyon kavramına göre; mekanik gerim oluşturan kuvvetler hücrese düzeyde mekanoreseptörler (mekanosensör) ve /veya mekanosensitif nosiseptörler tarafından algılanarak buna cevaben sinir sonlanmalarından nöropeptid salınımına neden olurlar. Bu nöropeptidlerin direk etkisiyle ve/veya çeşitli büyüme faktörleri üzerinden ilgili hücreleri uyarıp enflamasyon oluşumuna neden olurlar ve bu durum aşırı yara iyileşmesiyle sonuçlanır (Ogawa, 2011). Ancak C ve A δ lifleri mekanik gerim haricinde diğer birçok fiziksel ve kimyasal uyarı tipine cevap verebilirler (Steinhoff ve ark., 2003, Roosterman ve ark., 2006). “Mekanik gerim” tipi uyarının yanı sıra, kaşıma hareketi, elbiselerin sürekli sürtünmesi, yara bölgesine tekrarlayan travma, kimyasal iritan maddelerle temas gibi günlük hayatta yaşanması muhtemel diğer olaylar da sinir liflerini uyarak nörojenik enflamasyona bağlı süreci başlatabilir.

Çalışmamızda; sıçan sırt derisinde oluşturduğumuz insizyonel skar bölgelerinin cildinin denerve edilerek ve edilmeden, bu bölge cildine cihaz yardımıyla uygulanacak mekanik stresin (germe) dermal skarlaşma üzerine etkisini karşılaştırmalı olarak inceledik. Stereolojik hacim hesaplanması sonucu epidermis ve dermis kalınlığı Grup 2’de diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük çıktı. Skar dokusundaki bu istatistiksel anlamlı hacim küçüklüğü Yağmur ve ark. (Yağmur ve ark., 2011) tavşan kulağında yapmış olduğu çalışmada denerve grupta ortaya koydukları skar elevasyon indeksindeki azalmayla uyumludur. Ayrıca istatistiksel olarak anlam ifade etmese de Grup 3’ün ortalama skar hacmi değer olarak Grup 1 ve Grup 4 yüksek olarak bulunmuş olup bu mekanik gerimin skar arttırıcı etkisini gösteriyor olabilir. Mekanik gerim uygulanan sıçanlarda skar alanında epidermal kalınlaşma daha önceki yapılan çalışmalarda da ortaya konulmuştu (Xiao ve ark., 2013). Biz de burada sadece mekanik gerim uygulanan Grup 3’ün epidermal kalınlığını yüksek olarak bulduk. Burada Grup 4’ün hacim değerleri de önemlidir. Grup 4’te hem epidermis hem dermis ortalama kalınlığı kontrol grubuna çok yakın değerlerde çıkmıştır. Bu durum mekanik gerimin denervasyon ile birlikteliğinde skar hacmi olarak normalize edici etkisini gösterebilir.

Aksonotomi/rezeksiyon yapılan sinirlerde doğal olarak sinyal iletimi bozulur. Bütünlüğü bozulan nöronlarda, gen ekspresyonundaki değişimler sonucu, nörotransmisyonla ilgili maddelerin sentezi azalırken hücre zarı bileşenlerinin ve büyüme ile ilgili proteinlerin sentezi artar (Navarro ve ark., 2007). Nöronlar, “sinyal iletici” durumdan “rejeneratif” bir duruma geçerler. Çalışmamızda Grup 2’deki sıçanlarda yara iyileşme gecikmesi veya problemlili yara iyileşmesi gözlemlenmedi. Grup 2’nin yara iyileşmesi ve epitelizasyonu diğer gruplarla kıyaslandığında normal olarak oluştu. Sıçan derisinde yapılan denervasyon çalışmalarının bir kısmında yara iyileşmesi ve epitelizasyonun denervasyonla (nörotomi/kapsaisin) azaldığı bildirilmiştir (Smith ve ark., 2002, Kjartansson ve ark., 1987, Richards ve ark., 1997). Buna karşılık Ranne ve ark. (2000) ile Wallengren ve ark. (1999) denervasyonun yara iyileşmesini ve epitelizasyonunu etkilemediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda gruplar arası dermisteki sinir demetlerinin ve epidermal sinirlerin S-100 ve n-GF ile immünohistokimyasal olarak boyanıp incelemesi yapılmıştır. S-100 dermis bölgesindeki demet halindeki sinir yoğunluğunu göstermekte olup gruplar arası anlamlı fark saptanmamıştır. Fakat özellikle Grup 2’de dermal sinir demetlerinin artmış olduğu gözlenmiş olup denerve edilen sinirlerin rejeneratif aktivasyon artışını gösteriyor olabilir. Yine Grup 2’de bez köklerinde yoğunlaşan sinir demetleri de bu reaktif yanıtın bileşeni olarak

düşünülebilir. Bu demet halindeki dermal sinirler gerim uygulanan Grup 3 ve Grup 4'te daha az yoğunlukta bulunmuştur. Öte yandan n-GF ile boyanan epidermal sinir lifleri gerim uygulanan Grup 3 ve Grup 4'te daha yüksek oranda gözlemlenmiştir. Xiao ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada sinir lifleri yoğunluğunu gerim uygulanan grupta anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır.

Gruplardaki örneklerin incelenmesinde büyük kısmında nötrofil ağırlıklı karışık (mixed) tip enflamasyon tesbit edilmiştir. Grup 3 ve Grup 4'te kollajen demetleriyle epidermise paralel yoğun olarak depolanmış fibroblastlar görülmekteydi. Çalışmamızda Grup 4'ün enflamatuvar hücre yoğunluğunun ortalamasının diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Grup 3'ün hücre sayısı Grup 1 ve Grup 2'den yüksek olmakla birlikte istatistiksel anlam oluşturmamaktadır (Sırasıyla p değerleri 0.065 ve 0.104). Grup 4'teki bu yoğun hücre birikimi skar bölgesinde oluşan iyileşememe ve epitelizasyon gecikmesine bağlı enflamasyon artışı ile açıklanabilir. Biz çalışmamızda gerim oluşturduğumuz bu gruba denervasyon uygulamasının enflamatuvar hücre yoğunluğunda azaltıcı etkisinin olmadığını bulduk. Gerim uygulanan her iki grupta da ortalama yoğunluk olarak artış söz konusu olup bu mekanik gerimin inflamasyonu arttırıcı etkisini gösterebilir. Aarabi ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada hücre yoğunluğunun gerim uygulanan grupta arttığını göstermişlerdir. Ve bunun gerim uygulanan gruplardaki apoptozis azalmasına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Günümüzde aşırı dermal skarlaşma durumlarında uygulanan tedavi yöntemlerinin etkinlikleri kısıtlıdır. Bunun en önemli nedeni bu fibroproliferatif süreçlerin patogenezi hakkındaki bilgilerin hala yetersiz olmasıdır. Özellikle yanık hastalarında sık oluşan fibroproliferatif skarların ağrı, kaşıntı, ülserasyon, eklemlerde fonksiyon kaybı gibi fiziksel etkilerinin yanı sıra boyutlarına bakılmaksızın hastalar üzerinde önemli estetik, sosyal ve psikolojik etkileri olmaktadır (Lydia ve ark., 2009). Bu nedenle etkin bir tedavi bulma veya önleme amaçlı yapılan çalışmalar devam etmektedir. Moleküler ve genetik alanda teknolojik gelişmelere rağmen hipertrofik skarın insanlara özgü olması ve uzun sürede meydana gelmesi altta yatan mekanizmayı çözmeyi zorlaştırmaktadır. Bu amaçla günümüze kadar birçok hayvan modeli tanımlanmış, hücre kültürü ortamlarında özellikle fibroblastların davranışları araştırılmış, birçok büyüme faktörü ve sitokinlerin etkileri ortaya konmuştur.

Çalışmamız sonucunda özellikle skar hacminin ve epidermal sinir lifleri yoğunluğunun (buna bağlı olarak nörojenik enflamasyonun) azaltılması konusunda denervasyonun olumlu etkisi olabileceğini düşündüren bulgular elde etmiş olsak da bu konuda daha geniş çalışmalar yapılması gereklidir. Ayrıca mekanik gerimin skarlaşma üzerindeki etkisi sadece sinirler üzerinden olmayabilir anjiogenezi, nöropeptid salgısını ve benzeri olayları direk etkiyle artırarak etki ediyor olabilir.



7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yara iyileşmesi pek çok değişkenin rol oynadığı karmaşık ve kesintisiz iç içe geçmiş basamaklardan oluşan bir süreçtir. Bu süreçte birçok hücre tipi ve nöromediatörler rol almaktadır. Burada yara iyileşmesiyle ilgili hücrelerin ve ara maddelerin eksikliği kadar bunlar arasında doğru etkileşimi sağlayan nöromediatörlerin azlığı da iyileşmenin bozulmasına neden olur. Bu aşamada iyileşme sürecinin aktif bir elemanı olan sinir liflerinin önemi ortaya çıkar. Çalışmamız cilt bölgesinin denervasyonu ile o bölgeye uygulanan mekanik gerimin skar oluşumu üzerindeki karşılıklı etkisini inceleyen ilk çalışmadır. Gerim altındaki cilt bölgelerinde oluşturulacak denervasyonun skar üzerine olumlu etkisinin tespit edilmesi tedavi stratejilerini etkileyebilecek ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini sağlayacaktır. Çalışmamız denervasyonun gerim uygulanan skarlara hacim küçültücü etkisini ortaya koymuştur, ancak daha geniş hayvan gruplarında benzer çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Bu aşamada henüz klinik kullanımı için erkendir. Bu konuyla ilgili gelecekte yapılacak çalışmalarda CGRP (Calcitonin gene related peptid), SP (Substans P) ve PGP (Protein gene product) 9. 5 gibi direk olarak epidermal serbest sinir sonlanmalarıyla ilişkili skar markerlerinin çalışılması nörojenik enflamasyonun aşırı skarlaşmadaki etkilerini ortaya koymada aydınlatıcı olacaktır. Aynı şekilde cilt dışında diğer organlarda görülen fibroproliferatif hastalıklarla ilgili benzer mekanizmaların varlığını sorgulayan hayvan çalışmalarına da ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Aarabi S, Bhatt KA, Shi Y, et al. Mechanical load initiates hypertrophic scar formation through decreased cellular apoptosis. *FASEB J.* 2007;21(12):3250-3261.

Aarabi S, Longaker MT, Gurtner GC. Hypertrophic scar formation following burns and trauma: new approaches to treatment. *PLoS Med.* 2007 Sep;4(9): e234.

Agha R, Ogawa R, Pietramaggiore G, Orgill DP. A review of the role of mechanical forces in cutaneous wound healing. *J Surg Res.* 2011 Dec;171(2):700-8.

Akaishi S, Ogawa R, Hyakusoku H. Keloid and hypertrophic scar: neurogenic Inflammation hypotheses. *Med Hypotheses* 2008;71(1): 32-8.

Ala Kokko L, Rintala A, Savolainen ER. Collagen gene expression in keloids: analysis of collagen metabolism and type I, III, IV, and V procollagen mRNAs in keloid tissue and keloid fibroblast cultures. *J. Invest. Dermatol.* 1987; 89: 238.

Alster TS, Handrick C. Laser treatment of hypertrophic scars, keloids, and striae. *Semin. Cutan. Med. Surg.* 2000; 19: 287–92.

Alster TS, Tanzi L E Hypertrophic scars and Keloids Etiology and Management. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4 (4): 235-243.

Altun V, Hakvoort TE, Van Zuijlen PP, Van der Kwast TH, Prens EP. Nerve outgrowth and neuropeptide expression during the remodelling of human burn wound scars. A 7-month follow-up study of 22 patients. *Burns* 2001; 27: 717–22.

Amadeu TP, Braune AS, Porto LC, et al. Fibrillin-1 and elastin are differentially expressed in hypertrophic scars and keloids. *Wound Rep Regen* 2004; 12: 169–74.

Anand P, Terenghi G, Warner G, et al. The role of endogenous nerve growth factor in human diabetic neuropathy. *Nat Med.* 1996; 2: 703–707.

- Ansel JC, Armstrong CA, Song I, Quinlan KL, Olerud JE, Caughman SW et al. Interactions of the skin and nervous system. *J Investig Dermatol Symp Proc* 1997; 2: 23–6.
- Apikian M, Goodman G. Intralesional 5- fluorouracil in the treatment of keloid scars. *Australas. J. Dermatol.* 2004; 45:140–3.
- Armour A, Scott PG, Tredget EE. Cellular and molecular pathology of HTS: basis for treatment. *Wound Repair Regen.* 2007;15 Suppl 1: S6–17.
- Armstrong JR, Ferguson MW. Ontogeny of the skin and the transition from scar-free to scarring phenotype during wound healing in the pouch young of a marsupial, *Monodelphis domestica*. *Dev Biol.* 1995; 169: 242–260.
- Atiyeh Bishara S, Costagliola M. Hayek S H. Keloid or Hypertrophic scar. The controversy: review of the literature. *Annals of Plastic Surgery • Volume 54, Number 6, June 2005* 676-680.
- Atiyeh BS. Nonsurgical management of hypertrophic scars: evidencebased therapies, standard practices, and emerging methods. *Aesthetic Plast Surg.* 2007;31(5):468–92.
- B. Hochman, F. C. Vilas Boas, M.Mariano, and L.M. Ferreiras, “Keloid heterograft in the hamster (*Mesocricetus auratus*) cheek pouch, Brazil,” *Acta Cir´urgica Brasileira*, vol. 20, no. 3, pp. 200– 212, 2005.
- Bakker A, Maertens KJ, Van Son MJ, Van Loey NE. Psychological consequences of pediatric burns from a child and family perspective: a review of the empirical literature. *Clin Psychol Rev* 2013; 33: 361e71.
- Bailey AJ, Bazin S, Sims TJ, Le Lous, M, Nicoletis C, Delaunay A. Characterization of the collagen of human hypertrophic and normal scars. *Biochim. Biophys. Acta* 1975; 405: 412.
- Barker AR, Rosson GD and Dellon AL. Wound healing in denervated tissue. *Ann Plast Surg* 2006; 57: 339-342.

- Basson MD, Burney RE. Defective wound healing in patients with paraplegia and quadriplegia. *Surg Gynecol Obstet* 1982; 155: 9–13.
- Baum CL, Arpey CJ. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic surgery: official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al]* 2005; 31: 674-686; discussion 686.
- Bazin S, Nicoletis C, Delbet JP, Delaunay A. Comparative study of water, collagen and mucopolysaccharide contents in healthy human skin, in normal and keloid cicatrix. *C. R. Acad. Sci. Hebd. Seances. Acad. Sci. D.* 1970; 270: 1532.
- Berman B, Bielely HC. Keloids. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1995; 33: 117–23.
- Berman B, Duncan MR. Short-term keloid treatment in vivo with human interferon alfa-2b results in a selective and persistent normalization of keloidal fibroblast collagen, glycosaminoglycan, and collagenase production in vitro. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1989; 21:694–702.
- Berman B, Kaufman J. Pilot study of the effect of postoperative imiquimod 5% cream on the recurrence rate of excised keloids. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2002; 47: S209–11.
- Bigliardi PL, Sumanovski LT, Büchner S, Ruffli T, Bigliardi-Qi M. Different expression of mu-opiate receptor in chronic and acute wounds and the effect of beta-endorphin on transforming growth factor beta type II receptor and cytokeratin 16 expression. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 145–52.
- Bloemen MCT, Van der Veer WM, Ulrich MW, van Zuijlen PP, Niessen FB, Middelkoop E. Prevention and curative management of hypertrophic scar formation. *Burns.* 2009;35(4):463–75.
- Blotnik S, Peoples GE, Freeman MR, et al. 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 CD4+

- and CD8+ T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 2890–4.
- Botchkarev VA, Metz M, Botchkareva NV, Welker P, Lommatzsch M, Renz H et al. Brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3, and neurotrophin-4 act as “epitheliotrophins” in murine skin. *Lab Invest* 1999; 79: 557–72.
- Böhm M, Schulte U, Kalden H, Luger TA. Alpha-melanocystimulating hormone modulates activation of NF-kappa B and AP-1 and secretion of interleukin-8 in human dermal fibroblasts. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 885: 277–86.
- Brain SD, Grant AD. Vascular actions of calcitonin generelated peptide and adrenomedullin. *Physiol Rev* 2004; 84: 903–34.
- Brazeau P. Somatostatin: a peptide with unexpected physiologic activities. *Am J Med* 1986; 81 (6B): 8–13.
- Brazzini B, Ghersetich I, Hercogova J, Lotti T. The neuroimmuno-cutaneous-endocrine network: relationship between mind and skin. *Dermatol Ther* 2003; 16: 123–31.
- Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg*. 2006;1171: 32-47.
- Broughton G, JE Janis, and CE Attinger. *The Basic Science of Wound Healing. Plastic and Reconstructive Surgery* 2006; 117:12-34.
- Buchanan EP, Longaker MT, Lorenz HP. Fetal skin wound healing. *Adv Clin Chem*. 2009; 48: 137–161.
- Burbach GJ, Ansel JC, Armstrong CA. Cytokines in the skin. In: Woodley DT, Feinkel RK, editors. *The biology of the skin*. New York: Parthenon Publishing Group; 2000; 299–330.
- Burbach GJ, Kim KH, Zivony AS, Kim A, Aranda J, Wright S et al. The neurosensory tachykinins substance P and neurokinin A directly induce keratinocyte nerve growth factor. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 1075–82.
- Campos MM, Calixto JB: Neurokinin mediation of edema and inflammation. *Neuropeptides*,

- 2000, 34, 314–322.
- Canimdat E, Demirkan F, Ayhan S. Delayed effect of denervation on wound contraction in rat skin. *Plast Reconstr Surg.*1995;98:1063–7.
- Cao J, Cetrulo CL, Theoharides TC. Corticotropin-releasing hormone induces vascular endothelial growth factor release from human mast cells via the cAMP/protein kinase A/p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 998–1006.
- Cass DL, Bullard KM, Sylvester KG, et al. Wound size and gestational age modulate scar formation in fetal wound repair. *J Pediatr Surg.* 1997; 32: 411–415.
- Castagnoli C, Stella M, Magliacani G. Role of T-lymphocytes and cytokine in post-burn hypertrophic scars. *Wound Rep Regen* 2004; 110: 107–8.
- Castagnoli C, Trombotto C, Ondeï S, et al. Characterization of T-cell subsets infiltrating post-burn hypertrophic scar tissues. *Burns* 1997;28: 565.
- Cesarman-Maus G, Hajjar KA. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *Br J Haematol* 2005;129(3):307–21.
- Chateau Y, Misery L. Connections between nerve endings and epidermal cells: are they synapses? *Exp Dermatol* 2004; 13: 2–4.
- Chen JC, Lin BB, Hu HW, Lin C, Jin WY, Zhang FB, Zhu YA, Lu CJ, Wei XJ, and Chen RJ. NGF Accelerates Cutaneous Wound Healing by Promoting the Migration of Dermal Fibroblasts via the PI3K/Akt-Rac1-JNK and ERK Pathways *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 547187.
- Chen MA, Davidson TM. Scar management: Prevention and treatment strategies. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;13(4):242-7.
- Chin MS, Lancerotto L, Helm DL, et al. Analysis of neuropeptides in stretched skin. *Plast Reconstr Surg* 2009; 124: 102.
- Cho JW, Cho SY, Lee SR, Lee KS. Onion extract and quercetin induce matrix

- metalloproteinase-1 in vitro and in vivo. *Int J of Mol Med.* 2010;25(3):347–52.
- Chowdri NA, Masarat M, Mattoo A, Darzi MA. Keloids and hypertrophic scars: results with intraoperative and serial postoperative corticosteroid injection therapy. *Aust N Z J Surg* 1999;69(9):655–9.
- Circolo A, Welgus HG, Pierce GF. Differential regulation of the expression of proteinases/antiproteinases in fibroblasts: effects of interleukin-1 and platelet-derived growth factor. *J Biol Chem* 1991; 266: 12283.
- Clark RA. Basics of cutaneous wound repair. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 1993;19: 693.
- Cohen KI, Diegelmann RF, Lindblad WJ. Wound healing: biochemical and clinical aspects. Philadelphia: WB Saunders; 1992.
- Collado B, Carmena MJ, Clemente C, Prieto JC, Bajo AM. Vasoactive intestinal peptide enhances growth and angiogenesis of human experimental prostate cancer in a xenograft model. *Peptides* 2007; 28: 1896–901.
- Colwell AS, Phan TT, Kong W, Longaker MT, Lorenz PH. Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor-beta stimulation. *Plast Reconstr Surg* 2005;116(5):1387–90. discussion 91-92.
- Costa AM, Peyrol S, Porto LC, Comparin J P, Foyatier JL, Desmouliere A. Mechanical forces induce scar remodeling. Study in non-pressure-treated versus pressure-treated hypertrophic scars. *Am. J. Pathol.* 1999; 155: 1671–1679.
- Cracco C, Stella M, Teich Alasia S, Filogamo G. Comparative study of Langerhans cells in normal and pathological human scars. II. Hypertrophic scars. *Eur. J. Histochem.* 1992; 36: 53.
- Craig RD. Collagen biosynthesis in normal human skin, normal and hypertrophic scar and keloid. *Eur. J. Clin. Invest.* 1975; 5: 69.
- Crooke ST, Bradner WT. Bleomycin, a review. *J Med.* 1976;7(5):333–428.

- Crowe R, Parkhouse N, McGrouther D, Burnstock G. Neuropeptide-containing nerves in painful hypertrophic human scar tissue. *Br J Dermatol* 1994; 130: 444–52.
- Dallos A, Kiss M, Polyánka H, Dobozy A, Kemény L, Husz S. Effects of the neuropeptides substance P, calcitonin generelated peptide, vasoactive intestinal polypeptide and galanin on the production of nerve growth factor and inflammatory cytokines in cultured human keratinocytes. *Neuropeptides* 2006; 40: 251–63.
- Darby I, Skalli O, Gabbiani G. Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. *Lab. Invest.* 1990; 63: 21.
- Datubo-Brown DD. Keloids: a review of the literature. *Br J Plast Surg* 1990; 43: 276-80.
- Dechant G. Molecular interactions between neurotrophin receptors. *Cell Tissue Res* 2001; 305: 229–38.
- Deitch EA, Wheelahan TM, Rose MP, Clothier J, Cotter J. Hypertrophic burn scars: analysis of variables. *J. Trauma.* 1983; 23: 895–898.
- Delavary BM, van der Veer WM, van Egmond M, et al. Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology.* 2011.
- Denda M, Nakatani M, Ikeyama K, et al. Epidermal keratinocytes as the forefront of the sensory system. *Exp Dermatol* 2007;16: 1571.
- Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F, et al. Transforming growth factor-beta1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J. Cell Biol.* 1993; 122: 103.
- Desmouliere A, Redard M, Darby I, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. *Am J Pathol* 1995;146: 56–66.
- Diegelmann R. Analysis of collagen synthesis. *Methods Mol. Med.* 2003; 78: 349.
- Di Marco E, Mathor M, Bondanza S, Cutuli N, Marchisio PC, Cancedda R et al. Nerve

- growth factor binds to normal human keratinocytes through high and low affinity receptors and stimulates their growth by a novel autocrine loop. *J Biol Chem* 1993; 268: 22838–46.
- Donnerer J, Schuligoi R, and 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* 49:693-698, 1992.
- Duncan MR, Frazier KS, Abramson S, Williams S, Klapper H, Huang X, et al. Connective tissue growth factor mediates transforming growth factor beta-induced collagen synthesis: down-regulation by cAMP. *FASEB J* 1999;13(13):1774–86.
- Ehrlich H, Krummel T. Regulation of wound healing from a connective tissue perspective. *Wound Repair Regen.* 1996; 4: 203.
- Ehrlich HP, Desmouliere A, Diegelmann RF, et al. Morphological and immunochemical differences between keloid and hypertrophic scar. *Am. J. Pathol.* 1994; 145: 105.
- El-Ghalbzouri A, Gibbs S, Lamme E, Van Blitterswijk CA, Ponc M. Effect of fibroblasts on epidermal regeneration. *Br J Dermatol* 2002;147(2):230-43.
- Espana A, Solano T, Quintanilla E. Bleomycin in the treatment of keloids and hypertrophic scars by multiple needle punctures. *Dermatol Surg.* 2001;27(1):23–7.
- Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet* 2005; 366: 1736–43.
- Farooqui JZ, Medrano EE, Abdel-Malek Z, Nordlund J. The expression of proopiomelanocortin and various POMC-derived peptides in mouse and human skin. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 680: 508–10.
- Frank S, Kampfer H, Wetzler C, et al. Large induction of the chemotactic cytokine RANTES during cutaneous wound repair: a regulatory role for nitric oxide in keratinocyte-derived RANTES expression. *Biochem J.* 2000; 347(Pt 1):265–273.

- Frazier K, Williams S, Kothapalli D, Klapper H, Grotendorst GR. Stimulation of fibroblast cell growth, matrix production, and granulation tissue formation by connective tissue growth factor. *J Invest Dermatol* 1996;107(3):404–11.
- Fine NA, Mustoe TA. Wound Healing. In Greenfield LJ, editor. *Surgery: scientific principles and practice*. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. p. 67–83.
- Freedberg IM, Tomic-Canic M, Komine M, Blumenberg M. Keratins and the keratinocyte activation cycle. *J Invest.Dermatol* 2001;116(5):633–40.
- Friedman DW, Boyd CD, Mackenzie JW, Norton P, Olson RM, Deak SB. Regulation of collagen gene expression in keloids and hypertrophic scars. *J. Surg. Res.* 1993; 55: 214.
- Fukai T, Takeda A, Uchinuma E. Wound healing in denervated rat skin. *Wound Repair Regen.* 2005 Mar-Apr;13(2):175-80.
- Furuichi T, Tatsumi H, Sokabe M. Mechano-sensitive channels regulate the stomatal aperture in *Vicia faba*. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 366(3): 758-62.
- G Henry, WL Garner. Inflammatory mediators in wound healing *Surg Clin N Am* 2003; 83: 483–507.
- Ghahary A, Shen YJ, Nedelec B, Wang R, Scott PG, Tredget EE. Collagenase production is lower in post-burn hypertrophic scar fibroblasts than in normal fibroblasts and is reduced by insulin-like growth factor-1. *J. Invest. Dermatol.* 1996; 106: 476.
- Gailit J, Marchese MJ, Kew RR, Gruber BL. The differentiation and function of myofibroblasts is regulated by mast cell mediators. *J Invest Dermatol* 2001;117(5):1113-9.
- Gaillard I, Keramidas M, Liakos P, Vilgrain I, Feige JJ, Vittet D. ACTH-regulated expression of vascular endothelial growth factor in the adult bovine adrenal cortex: a possible role in the maintenance of the microvasculature. *J Cell Physiol* 2000; 185: 226–34.
- Garg HG, Lippay EW, Carter EA, Donelan MB, Remensnyder JP. Proteoglycan synthesis in human skin and burn scar explant cultures. *Burns* 1991;17: 452.

- Gaudillere A, Misery L, Souchier C, Claudy A, Schmitt D. Intimate associations between PGP9.5-positive nerve fibres and Langerhans cells. *Br J Dermatol* 1996; 135: 343–4.
- Gauglitz GG, et. al. Hypertrophic Scarring and Keloids: Pathomechanisms and Current and Emerging Treatment Strategies. *Mol Med*. 2011.17 (1-2):p 1 13-125.
- Gibbins IL, Wattchow D, Coventry B. Two immunohistochemically identified populations of calcitonin gene-related peptide (CGRP)-immunoreactive axons in human skin. *Brain Res* 1987; 414: 143–8.
- Gilbert TW, Stewart-Akers AM, Sydeski J, et al. Gene expression by fibroblasts seeded on small intestinal submucosa and subjected to cyclic stretching. *Tissue Eng* 2007; 13: 1313.
- Gillitzer R, Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing. *J Leukoc Biol* 2001; 69: 513–21.
- Gold LI, Sung JJ, Siebert JW, Longaker MT. Type I (RI) and type II (RII) receptors for transforming growth factor-beta isoforms are expressed subsequent to transforming growth factor-beta ligands during excisional wound repair. *Am J Pathol* 1997; 150: 209–22.
- Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: Past, present, and future. *Adv. Skin Wound Care* 2004; 17: 24.
- Goppold A, Kaune KM, Buhl T, Schon MP, Zutt M. 595 nm pulsed dye laser combined with intralesional corticosteroids in hypertrophic symptomatic scars following breast reduction surgery. *Eur J Dermatol* 2011; 21: 26.
- Granoth R, Fridkin M, Gozes I. VIP and the potent analog, stearyl-Nle (17)-VIP, induce proliferation of keratinocytes. *FEBS Lett* 2000; 475: 78–83.
- Grinnell F, Feld M, Minter D. Fibroblast adhesion to fibrinogen and fibrin substrata: Requirement for cold-insoluble globulin (plasma fibronectin). *Cell* 19; 1980; 517, 1980.
- Gruber BL. Mast cells in the pathogenesis of fibrosis. *Curr Rheumatol Rep* 2003;5(2):147–53.

- Guix B, et al. Treatment of keloids by high-dose-rate brachytherapy: a seven-year study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001; 50: 167–72.
- Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker M T. Wound repair and regeneration. *Nature.* 2008; vol. 453, no. 7193, p 314–321.
- H. Matsuda, H. Koyama, H. Sato et al., “Role of nerve growth factor in cutaneous wound healing: accelerating effects in normal and healing-impaired diabetic mice,” *Journal of Experimental Medicine*, vol. 187, no. 3, pp. 297–306, 1998.
- Har-Shai Y, Amar M, Sabo E. Intralesional cryotherapy for enhancing the involution of hypertrophic scars and keloids. *Plast Reconstr Surg* 2003;111(6):1841–52.
- Har-Shai Y, Lindenbaum E, Tendler M, Gamliel-Lazarovich A, Feitelberg L, Hirshowitz B. Negatively charged static electricity stimulation as a possible mechanism for enhancing the involution of hypertrophic and keloid scars. *Isr Med Assoc J.* 1999;1(3):203-5.
- Har-Shai Y, Mettanes I, Zilberstein Y, Genin O, et al. Keloid histopathology after intralesional cryosurgery treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011;25(9):1027–36.
- Harrop AR, Ghahary A, Scott PG, Forsyth N, Uji Friedland A, Tredget E E. Regulation of collagen synthesis and mRNA expression in normal and hypertrophic scar fibroblasts in vitro by interferon-gamma. *J. Surg. Res.* 1995; 58: 471.
- Hayakawa K, Tatsumi H, Sokabe M. Actin stress fibers transmit and focus force to activate mechanosensitive channels. *J Cell Sci* 2008;121(Pt 4) :496-503.
- Helme RD, Andrews PV. The effect of nerve lesions on the inflammatory response to injury. *J Neurosci Res.* 1985; 13: 453– 459.
- Hinz B, Celetta G, Tomasek JJ, et al. Alpha-smooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 2730.
- Hinz B, Celetta G, Tomasek JJ, Gabbiani G, Chaponnier C. α -Smooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 2730–41.

- 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: 1009–20.
- Ho WS, Ying SY, Chan PC, Chan HH. Use of onion extract, heparin, allantoin gel in prevention of scarring in Chinese patients having laser removal of tattoos: A prospective randomized controlled trial. *Dermatol Surg*. 2006;32(7):891–6.
- Holzer P. Neurogenic vasodilatation and plasma leakage in the skin. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 5-1.
- Huang S, Chen CS, Ingber DE. Control of cyclin D1, p27 (Kip1), and cell cycle progression in human capillary endothelial cells by cell shape and cytoskeletal tension. *Mol Biol Cell* 1998; 9: 3179.
- Huang S, Ingber DE. Shape-dependent control of cell growth, differentiation, and apoptosis: Switching between attractors in cell regulatory networks. *Exp Cell Res* 2000; 261: 913.
- Hunt TK, Hopf HW. Wound healing and wound infections: what surgeons and anesthesiologists can do. *Surg Clin N Am* 1997; 77: 587–606.
- Iacono JA, Ehrlich HP, Gottrup F, et al. The biology of healing. In: Leaper DJ, Harding KG (eds). *Wounds: Biology and Management*. Oxford, New York: Oxford University Press. 1998; 10-22.
- Jancso N, Jancso-Gabor A, and Szolcsanyi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol Chemother* 1967; 31: 138–151.
- Jimenez SA, Freundlich B, Rosenbloom J. Selective inhibition of human diploid fibroblast collagen synthesis by interferons. *J. Clin. Invest.* 1984; 74: 1112–6.
- Kakurai M, Demitsu T, Umemoto N, Kobayashi Y, Inoue-Narita T, Fujita N et al. Vasoactive intestinal peptide and inflammatory cytokines enhance vascular endothelial growth factor

- production from epidermal keratinocytes. *Br J Dermatol* 2009; 161: 1232–8.
- Karagoz H, Yuksel F, Ulkur E, Evinc R. Comparison of efficacy of silicone gel, silicone gel sheeting, and topical onion extract including heparin and allantoin for the treatment of postburn hypertrophic scars. *Burns*. 2009;35(8):1097–103.
- Kawamoto K, Matsuda H. Nerve growth factor and wound healing. *Prog Brain Res* 2004; 146: 369–84.
- Kim LR, Whelpdale K, Zurowski M. Sympathetic denervation impairs epidermal healing in cutaneous wounds. *Wound Rep Reg* 1998; 6: 194–201.
- Kischer C, W Wagner, HN Jr, Pindur J, et al. Increased fibronectin production by cell lines from hypertrophic scar and keloid. *Connect. Tissue Res*. 1989;23: 279.
- Kischer CW. Comparative ultrastructure of hypertrophic scars and keloids. *Scan. Electron Microsc.* 1984; Pt 1: 423.
- Kjartansson MD, Dalsgaard CJ, Jonsson CE. Decreased survival of experimental critical flaps in rats after sensory denervation with capsaicin. *Plast Reconstr Surg*. 1987;79: 218 –221.
- KJ Cross, TA Mustoe. Growth factors in wound healing *Surg Clin N Am* 83 2003; 531–545.
- Kupietzky A, Levi-Schaffer F. The role of mast cell-derived histamine in the closure of an in vitro wound. *Inflamm Res* 1996;45(4):176–80.
- Lai X, Wang ZG, Zhu JM, Wang LL. Effect of substance P on gene expression of transforming growth factor beta-1 and its receptors in rat's fibroblasts. *Chin J Traumatol* 2003;6(6):350-4.
- Lawrence, W., and Diegelmann, R. Growth factors in wound healing. *Clin.Dermatol.* 1994; 12: 157.
- Lee JY, Yang CC, Chao SC, Wong TW. Histopathological differential diagnosis of keloid and hypertrophic scar. *Am J Dermatopathol.* 2004 Oct;26(5):379-84.

- Lewin GR, Mendell LM. Nerve growth factor and nociception. *Trends Neurosci* 1993; 16: 353–9.
- Lewis WH, Sun KK. Hypertrophic scar: a genetic hypothesis. *Burns*. 1990;16: 176–8.
- Li AK, Koroly MJ, Schattenkerk ME, Malt RA, Young M. Nerve growth factor: acceleration of the rate of wound healing in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980; 77: 4379–81.
- Li WY, Huang EY, Dudas M, Kaartinen V, Warburton D, Tuan TL. Transforming growth factor-beta3 affects plasminogen activator inhibitor-1 expression in fetal mice and modulates fibroblast-mediated collagen gel contraction. *Wound Repair Regen* 2006;14(5):516–25.
- Linares HA, Larson DL, Willis-Galstaun BA. Historical notes on the use of pressure in the treatment of hypertrophic scars or keloids. *Burns*.1993;19(1):17–21.
- Lingen MW. Role of leukocytes and endothelial cells in the development of angiogenesis in inflammation and wound healing. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125: 67–71.
- Liu J-Y, Hu J-H, Zhu Q-G, Li F-Q, Sun H-J. Substance P receptor expression in human skin keratinocytes and fibroblasts. *Br J Dermatol* 2006; 155: 657–62.
- Longacre JJ, Berry HK, Basom CR, Townsend S F. The effects of Z plasty on hypertrophic scars. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1976; 10: 113–128.
- Luger TA, Brzoska T, Scholzen TE, Kalden DH, Sunderkötter C, Armstrong C et al. The role of alpha-MSH as a modulator of cutaneous inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 917: 232–8.
- Lund T, Onarheim H, Reed RK. Pathogenesis of edema formation in burn injuries. *World J Surg* 1992; 16: 2.
- Luster AD. Chemokines—chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J. Med* 1998; 338: 436–45.

- Lydia M. Ferreira, Alfredo Grangnani, Fabianne Furtado, and Bernardo Hocman. Control of the skin scarring response, *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 2009;81(3):p. 623-629).
- Machesney M, Tidman N, Waseem A, Kirby L, Leigh I Activated keratinocytes in the epidermis of hypertrophic scars. *Am J Pathol* 1998;152(5):1133–41.
- Macintyre L, Baird M. Pressure garments for use in the treatment of hypertrophic scars—a review of the problems associated with their use. *Burns*. 2006; 32: 10–5.
- Madden J W, Smith HC. The rate of collagen synthesis and deposition in dehisced and resutured wounds. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1970; 130: 487.
- Manuskiatti W, Fitzpatrick RE. Treatment response of keloidal and hypertrophic sternotomy scars: Comparison among intralesional corticosteroid, 5-fluorouracil, and 585-nm flashlamp- pumped pulsed-dye laser treatments. *Arch Dermatol.* 2002 ;138 (9): 1149-55.
- Marconi A, Panza MC, Bonnet-Duquennoy M, Lazou K, Kurfurst R, Truzzi F et al. Expression and function of neurotrophins and their receptors in human melanocytes. *Int J Cosmet Sci* 2006; 28: 255–61.
- Markovics A, Szoke É, Sándor K, Börzsei R, Bagoly T, Kemény Á et al. Comparison of the anti-inflammatory and antinociceptive effects of cortistatin-14 and somatostatin-14 in distinct in vitro and in vivo model systems. *J Mol Neurosci* 2012; 46: 40–50.
- Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol.* 2005; 15: 599–607.
- MC Robson. Proliferative scarring *Surg Clin N Am* 83 2003; 557–569.
- Mehendale F, Martin P. The cellular and molecular events of wound healing. In: Falanga V (ed) *Cutaneous Wound Healing*, 1st edn. London: Martin Dunitz. 2001:15–37.
- Mevlut Y. The axon Reflex. *Neuroanatomy* 2008 7: 17–19.

- Meuli M, Lorenz HP, Hedrick MH, et al. Scar formation in the fetal alimentary tract. *J Pediatr Surg.* 1995;30: 392–395.
- Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004; 36: 1031–1037.
- Moulin V, Larochelle S, Langlois C, Thibault I, Lopez-Valle CA, Roy M. Normalskin wound and hypertrophic scar myofibroblasts have differential responses to apoptotic inducers. *J Cell Physiol* 2004; 198: 350–8.
- Movafagh S, Hobson JP, Spiegel S, Kleinman HK, Zukowska Z. Neuropeptide Y induces migration, proliferation, and tube formation of endothelial cells bimodally via Y1, Y2, and Y5 receptors. *FASEB J* 2006; 20: 1924–6.
- Murray JC. Keloids and hypertrophic scars. *Clin. Dermatol.* 1994; 12: 27–37.
- Murray CJ, Pinnel SR. Keloids and excessive dermal scarring. In: *Woundhealing, Biochemical and Clinical Aspects.* Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ (eds.). Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 1992;500–9.
- Mustoe TA, Cooter RD, Gold MH, Hobbs F D, Ramelet A A, Shakespeare P G, Stella M, Teot L, Wood FM, Ziegler UE. International clinical recommendations on scar management. *Plast. Reconstr. Surg.* 2002; 110; 560–571.
- Nanda S, Reddy BS. Intralesional 5-fluorouracil as a treatment modality of keloids. *Dermatol. Surg.* 2004; 30: 54–7.
- Navarro X, Vivó M, Valero-Cabré A. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration. *Prog Neurobiol.* 2007 Jul;82(4):163-201.
- Nemeth AJ. Keloids and hypertrophic scars. *J Dermatol Surg Oncol* 1993; 19: 738– 46.
- Niessen FB, Spauwen PH, Schalkwijk J, Kon M. On the nature of hypertrophic scars and keloids: a review. *Plast Reconstr Surg.* 1999;104(5):1435-1458.

- Niessen FB, Spauwen PH, Robinson PH, Fidler V, Kon M. The use of silicone occlusive sheeting (Sil-K) and silicone occlusive gel (Epiderm) in the prevention of hypertrophic scar formation. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102(6):1962-72.
- Odland G, Ross R. Human wound repair. I Epidermal regeneration. *J Cell Biol* 1968; 39: 135–151.
- Ogawa R. Mechanobiology of scarring. *Wound Repair Regen*. 2011; Sep; 19 Suppl 1: s2-9.
- Ogawa R, Mitsuhashi K, Hyakusoku H, et al. Postoperative electron-beam irradiation therapy for keloids and hypertrophic scars: Retrospective study of 147 cases followed for more than 18 months. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111: 547.
- O'Toole EA. Extra-cellular matrix and keratinocytes migration. *Clin and Exp Dermatol* 2001;26: 525–530.
- Otsuka M, Yoshioka K: Neurotransmitter functions of mammalian tachykinins. *Physiol Rev*, 1993; 73, 265–270.
- P. D. Butler, D. P. Ly, M. T. Longaker, and G. P. Yang, “Use of organotypic coculture to study keloid biology,” *American Journal of Surgery*, vol. 195, no. 2, pp. 144–148, 2008.
- Palazzo E, Marconi A, Truzzi F, Dallaglio K, Petrachi T, Humbert P et al. Role of neurotrophins on dermal fibroblast survival and differentiation. *J Cell Physiol* 2012; 227: 1017–
- Parenti A, Amerini S, Ledda F, Maggi CA, Ziche M. The tachykinin NK1 receptor mediates the migration-promoting effect of substance P on human skin fibroblasts in culture. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1996; 353: 475–81.
- Park TH, Seo SW, Kim JK, Chang CH. Clinical characteristics of facial keloids treated with surgical excision followed by intra- and postoperative intralesional steroid injections. *Aesthetic Plast Surg* 2012;36(1):169–73.

- Payan DG, Hess CA, Goetzl EJ. Inhibition by somatostatin of the proliferation of T-lymphocytes and Molt-4 lymphoblasts. *Cell Immunol* 1984; 84: 433–8.
- Pearce RH, Grimmer BJ. Age and the chemical constitution of normal human dermis. *J Invest Dermatol* 1972; 58: 347–361.
- Peled ZM, Chin GS, Liu W, Galliano R, Longaker MT. Response to tissue injury. *Clin Plastic Surg.* 2000; 27 4: 489-500.
- Phan TT, Lim IJ, Bay BH, et al. Role of IGF system of mitogens in the induction of fibroblast proliferation by keloid-derived keratinocytes in vitro. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;284: C860–9.
- Pierce G, Mustoe T, Altrock B, et al. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J. Cell Biochem.* 1991; 45: 319.
- Pietramaggiore G, Liu P, Scherer SS, et al. Tensile forces stimulate vascular remodelling and epidermal cell proliferation. *Ann Surg* 2007; 246: 896.
- Placik OJ, Lewis VL Jr. Immunologic associations of keloids. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1992; 175: 185–93.
- Pradhan L, Cai X, Wu S, Andersen ND, Martin M, Malek J et al. Gene expression of pro-inflammatory cytokines and neuropeptides in diabetic wound healing. *J Surg Res* 2011; 167: 336–42.
- Prathiba V, Rao KS, Gupta PD. Altered expression of keratins during abnormal wound healing human skin. *Cytobios* 2001; 104: 43–51.
- R. Bernabei, F. Landi, S. Bonini et al., “Effect of topical application of nerve-growth factor on pressure ulcers,” *The Lancet*, vol. 354, no. 9175, p. 307, 1999.
- R. J. Koch, R. L. Goode, and G. T. Simpson, “Serum-free keloid fibroblast cell culture: an in vitro model for the study of aberrant wound healing,” *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 99, no. 4, pp. 1094–1098, 1997.

- Rabello FB, Souza CD, Farina Júnior JA. Update on hypertrophic scar treatment. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014 Aug;69(8):565-73. Review.
- Ramakrishnan KM, Thomas KP, Sundararajan CR. Study of 1,000 patients with keloids in South India. *Plast. Reconstr. Surg.* 1974; 53: 276–80.
- Ranne J, Kamilo H, Pyykko K. Wound healing in denervated rat groin skin flap. *Eur Surg res* 2000; 32: 197–202.
- Raychaudhuri SK, Raychaudhuri SP, Weltman H, Farber EM. Effect of nerve growth factor on endothelial cell biology: proliferation and adherence molecule expression on human dermal microvascular endothelial cells. *Arch Dermatol Res* 2001; 293:291–5.
- Regan M, Kirk S, Wasserkrug H, et al. The wound environment as a regulator of fibroblast phenotype. *J. Surg. Res.* 1991; 50: 442.
- Reno F, et al. In vitro mechanical compression induces apoptosis and regulates cytokines release in hypertrophic scars. *Wound Repair Regen.* 2003; 11: 331–6.
- Reno F, Sabbatini M, Stella M, Magliacani G, Cannas M. Effect of in vitro mechanical compression on Epilysin (matrix metalloproteinase-28) expression in hypertrophic scars. *Wound Repair Regen.* 2005;13(3): 255-61.
- Reish RG, Eriksson E. Scar treatments: preclinical and clinical studies. *J. Am. Coll. Surg.* 2008; 206: 719–30.
- Rest M, Garrone R. Collagen family of proteins. *FASEB J* 1991; 5:2814– 2823.
- Reynolds M, Alvares D, Middleton J and Fitzgerald M. Neonatally wounded skin induces NGF-independent sensory neurite outgrowth in vitro. *Brain Res Dev Brain Res* 1997; 102: 275-28.
- Richards AM, Floyd DC, Terenghi G and McGrouther DA. Cellular changes in denervated tissue during wound healing in a rat model. *Br J Dermatol* 1999; 140: 1093-1099.

- Richards AM, Mitsou J, Floyd DC, et al. Neural innervation and healing. *Lancet*. 1997; 350: 330–340.
- Robert R, Meyer W, Bishop S, Rosenberg L, Murphy L, Blakeney P. Disfiguring burn scars and adolescent self-esteem. *Burns* 1999; 25: 581e5.
- Roberts HR, Tabares AH. Overview of the coagulation reactions. New York: Marcel Dekker; 1995.
- Robson MC, Barnett RA, Leitch IO, Hayward PG. Prevention and treatment of postburn scars and contracture. *World J. Surg.* 1992; 16: 87–96.
- Robson MC. Growth factors as wound healing agents. *Curr Opin Biotechnol.* 1991;2: 863–7.
- Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg* 2001; 38: 61–140.
- Roosterman D, Goerge T, Schneider SW, Bunnett NW, Steinhoff. Neuronal control of skin function: the skin as a neuroimmunoendocrine organ. *Physiol Rev.* 2006 Oct; 86(4): 1309-79.
- Sabiston, D. *Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice*. 15th Ed. St. Louis, Mo.: Saunders, 1997. P. 209.
- Satish L, Babu M, Tran K, et al. Keloid fibroblast responsiveness to epidermal growth factor and activation of downstream intracellular signalling pathways. *Wound Rep Regen* 2004; 12: 183–92.
- Sato Y, Ohshima T, Kondo T. Regulatory role of endogenous interleukin-10 in cutaneous inflammatory response of murine wound healing. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265: 194–9.
- 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.

Scott PG, et al. Chemical characterization and quantification of proteoglycans in human post-burn hypertrophic and mature scars. *Clin. Sci. (Lond)*. 1996; 90: 417–25.

Seo BF, Lee JY, Jung SN. Models of Abnormal Scarring. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 423147.

Shaffer JJ, Taylor SC, Cook-Bolden F. Keloidal scars: a review with a critical look at therapeutic options. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: S63–97.

Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Control of scarring in adult wounds by neutralising antibody to transforming growth factor beta. *Lancet*. 1992; 339: 213–4.

Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralisation of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 or exogenous addition of TGF-beta 3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. *J. Cell. Sci*. 1995;108(Pt 3): 985–1002.

Shi C-M, Qu J-F, Cheng T-M. Effects of the nerve growth factor on the survival and wound healing in mice with combined radiation and wound injury. *J Radiat Res* 2003; 44: 223–8.

Silver FH, Siperko LM, Seehra GP. Mechanobiology of force transduction in dermal tissue. *Skin Res Technol* 2003; 9: 3–23. Review.

Simpson DM, Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repair: a study with anti neutrophil serum. *J Clin Invest*. 1972; 51: 2009-2023.

Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *The New England Journal of Medicine*. 1999; 341(10): 738–746.

Singer AJ, Hollander J E, Quinn JV Evaluation and management of traumatic lacerations. *N Engl, J Med*. 1997; 337: 1142–1148.

Slemp AE, Kirschner RE. Keloids and scars: a review of keloids and scars, their pathogenesis, risk factors, and management. *Curr. Opin. Pediatr*. 2006; 18: 396–402.

Smith CJ, Smith JC, Finn MC. The possible role of mast cells (allergy) in the production of keloid and hypertrophic scarring. *J. Burn Care Rehabil* 1987;8: 126.

- Smith PG, Liu M. Impaired cutaneous wound healing after sensory denervation in developing rats: effects on cell proliferation and apoptosis. *Cell Tissue Res* 2002; 307: 281-291.
- Smola H, Thiekotter G, Fusenig N. Mutual induction of growth factor gene expression in by epidermaldermal cell interaction. *J. Cell Biol.* 1993;122: 417.
- Steinhoff M, Ständer S, Seeliger S, Ansel JC, Schmelz M, Luger T. Modern aspects of cutaneous neurogenic inflammation. *Arch Dermatol* 2003;139, 1479–1488.
- Stephen J. Mathes, second edition, vol.1 p: 209-218.
- Stolberg S, McCloskey KE. Can shear stress direct stem cell fate? *Biotechnol Prog* 2009; 25: 10.
- Sueki H, Telegan B, Murphy GF. Computer-assisted threedimensional reconstruction of human dermal dendrocytes. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 704–8.
- Szolcsanyi J. Capsaicin-sensitive sensory nerve terminals with local and systemic efferent functions: facts and scopes of an unorthodox neuroregulatory mechanism. *Prog Brain Res* 1996; 113: 343–359.
- Tanaka T, Danno K, Ikai K, Imamura S. Effects of substance P and substance K on the growth of cultured keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1988; 90: 399–401.
- Tanaka A, Hatoko M, Tada H, et al. Expression of p53 family in scars. *J Dermatol Science.* 2004; 34: 17–24.
- Teofoli P, Barduagni S, Ribuffo M, et al. Expression of Bcl-2, p53, c-jun and cfos protooncogenes and hypertrophic scars. *J Dermatol Sci.* 1999; 22: 31–37.
- Thorne CH, Grabb and Smith *Plastic Surgery.* 7nd edition, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins. 2014.
- 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: 349–63.

- Tredget EE, Iwashina T, Scott PG, Ghahary A. Determination of plasma Ntau-methylhistamine in vivo by isotope dilution using benchtop gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997;694(1):19.
- Tredget EE, Nedelec B, Scott PG, Ghahary A: Hypertrophic scars, keloids and contractures. The cellular and molecular basis for therapy. *Surg clin North Am* 1997; 77: 701-730.
- Truzzi F, Marconi A, Atzei P, Panza MC, Lotti R, Dallaglio K et al. p 75 neurotrophin receptor mediates apoptosis in transit-amplifying cells and its overexpression restores cell death in psoriatic keratinocytes. *Cell Death Differ* 2011; 18: 948–58.
- Tuan TL, Nichter LS. The molecular basis of keloid and hypertrophic scar formation. *Mol Med Today*. 1998; 4(1):19-24.
- Tuan TL, Wu H, Huang EY, Chong SS, Laug W, Messadi D, et al. Increased plasminogen activator inhibitor-1 in keloid fibroblasts may account for their elevated collagen accumulation in fibrin gel cultures. *Am J Pathol* 2003;162(5):1579–89.
- Underwood RA, Gibran NS, Muffley LA, Usui ML, Olerud JE. Color subtractive computer-assisted image analysis for quantification of cutaneous nerves in a diabetic mouse model. *J Histochem Cytochem* 2001; 49: 1285–91.
- Velnar T, T Bailey, and V Smrkolj. The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research* 2009; 37(5): p. 1528-1542.
- Vockel M, Pollok S, Breitenbach U, Ridderbusch I, Kreienkamp H-J, Brandner JM. Somatostatin inhibits cell migration and reduces cell counts of human keratinocytes and delays epidermal wound healing in an ex vivo wound model. *PLoS ONE* 2011; 6: e19740.

- Wallengren J, Chen D, Sundler F. Neuropeptide-containing C-fibers and wound healing in rat skin. Neither capsaicin nor peripheral neurotomy affect the rate of healing. *Br J Dermatol* 1999; 140: 400–8.
- Wang Z, Fong KD, Phan TT, Lim IJ, Longaker MT, Yang GP. Increased transcriptional response to mechanical strain in keloid fibroblasts due to increased focal adhesion complex formation. *J Cell Physiol* 2006; 206: 510–7.
- Wang R, Ghahary A, Shen Q, Scott PG, Roy K, Tredget EE. Hypertrophic scar tissues and fibroblasts produce more transforming growth factor-beta1 mRNA and protein than normal skin and cells. *Wound Rep Reg* 2000;8(2):128–37.
- Weber L, Meigel WN, Spier W. Collagen polymorphism in pathologic human scars. *Arch. Dermatol. Res.* 1978; 261: 63.
- Wei T, Guo T-Z, Li W-W, Hou S, Kingery WS, Clark JD. Keratinocyte expression of inflammatory mediators plays a crucial role in substance P-induced acute and chronic pain. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 181.
- Welker P, Grabbe J, Grützkau A, Henz BM. Effects of nerve growth factor (NGF) and other fibroblast-derived growth factors on immature human mast cells (HMC-1). *Immunology* 1998; 94: 310–17.
- Werb Z, Banda MJ, Jones PA. Degradation of connective tissue matrices by macrophages: I: proteolysis of elastin, glycoproteins and collagen by proteinases isolated from macrophages. *J Exp Med* 1980; 152: 1340.
- Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological reviews* 2003; 83: 835-870.
- Weshahy AH. Intralesional cryosurgery. A new technique using cryoneedles. *J Dermatol Surg* 1993;19(2):123–6.

- Wheeland RG. Keloids and hypertrophic scars. In: Cutaneous Medicine and Surgery. Arndt KA, Robinson JK, Leboit PE, Wintroub BU (eds.). Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 1996; 900–5.
- Wiedermann CJ, Auer B, Sitte B, Reinisch N, Schratzberger P, Kähler CM. Induction of endothelial cell differentiation into capillary-like structures by substance P. *Eur J Pharmacol* 1996; 298: 335–8.
- Wiesner-Menzel L, Schulz B, Vakilzadeh F, Czarnetzki BM. Electron microscopical evidence for a direct contact between nerve fibres and mast cells. *Acta Derm Venereol* 1981; 61: 465–9.
- Wimalawansa SJ. Calcitonine gene-related peptide and its receptors: molecular genetics, physiology, pathophysiology and therapeutic potentials. *17:533-585,1996.*
- Wintzen M, Gilchrist BA. Proopiomelanocortin, its derived peptides, and the skin. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 3–10.
- Wipff PJ, Rifkin DB, Meister JJ, et al. Myofibroblast contraction activates latent TGF- β 1 from the extracellular matrix. *J Cell Biol* 2007; 179: 1311.
- Witte M, Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair. *Am. J. Surg.* 2002;183: 406.
- Wynn TA. Fibrotic disease and the T (H)1/T (H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol* 2004;4(8):583–94.
- Xiao H, Wang D, Huo R, Wang Y, Feng Y, Li Q. Mechanical tension promotes skin nerve regeneration by upregulating nerve growth factor expression. *Neural Regen Res.* 2013 Jun 15;8(17):1576-81.
- Xia Y, Zhao Y, Marcus J et al. Effects of keratinocyte growth factor-2 (KGF- 2) on wound healing in an ischemia impaired rabbit ear model and on scar formation. *J. Pathol.* 1999;188: 431.

- Xiaolong H et. al. The role of ERK nad JNK signaling in connective tissue growth factor induced extracellular matrix protein production and scar formation. Arch dermatolo res. 2013; 305: p. 433-445).
- Xu SJ, Teng JY, Xie J, Shen MQ, et al. Comparison of the mechanisms of intralesional steroid, interferon or verapamil injection in the treatment of proliferative scars. Chinese Journal of Plastic Surgery 2009;25(1):37–40.
- Yager DR, Nwomeh BC. The proteolytic environment of chronic wounds. Wound Repair Regen. 1999; 7: 433-441.
- Yagmur C, Guneren E, Kefeli M, Ogawa R. The effect of surgical denervation on prevention of excessive dermal scarring: a study on rabbit ear hypertrophic scar model. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2011 Oct;64(10):1359-65.
- Yoshimura K, Usukura J, Sokabe M. Gating-associated conformational changes in the mechanosensitive channel MscL. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105(10):4033-8.
- Zbytek B, Mysliwski A, Slominski A, Wortsman J, Wei ET, Mysliwska J. Corticotropin-releasing hormone affects cytokine production in human HaCaT keratinocytes. Life Sci 2002; 70: 1013–21.
- Zegarska B, Lelinska A, Tyrakowski T. Clinical and expermental aspect of cutaneous neurogenic inflammation. Pharmacol Rep 2006;58(1):13-21.
- Zhu Z. et al. The molecular mechanism of hypertrophic scar. Journal of Cell Communication and Signaling, 2013.
- Ziche M, Morbidelli L, Pacini M, Dolara P, Maggi CA. NK1- receptors mediate the proliferative response of human fibroblasts to tachykinins. Br J Pharmacol 1990; 100: 11–4.

Zouboulis CC, Rosenberger AD, Forster T, Beller G, et al. Modification of a device and its application for intralesional cryosurgery of old recalcitrant keloids. Arch Dermatol 2004;140 (10):1293–4.

Zurada JM, Kriegel D, Davis IC. Topical treatments for hypertrophic scars. J. Am. Acad. Dermatol. 2006;55: 1024–31.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Kamil YILDIRIM

Doğum Yeri: Kahramanmaraş

Doğum Tarihi: 18.06.1982

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): 2007 yılında Meram Tıp Fakültesinden mezun

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Kilis 1.Nolu ASH 2007-2008, Gaziantep Üniversitesi Radyasyon Onkolojisi 2008-2009, Çukurova Üniversitesi Anatomi A.D. 2009-2010, Samsun EAH Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği 2010-2015, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.D. 2015-2016

E-posta: drkamilyildirim@gmail.com

