

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

TAVŞAN KULAĞI HİPERTROFİK SKAR MODELİNDE
İNSÜLİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:
DENEYSEL ÇALIŞMA

Uzmanlık Tezi

Gökhan EFE

TRABZON 2019

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

TAVŞAN KULAĞI HİPERTROFİK SKAR MODELİNDE
İNSÜLİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI:
DENEYSEL ÇALIŞMA

Uzmanlık Tezi

Gökhan EFE

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Naci KARAÇAL

TRABZON 2019

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini aktararak bana yol gösteren, tüm zorluklarına rağmen yaptığım hekimlik mesleğini sevmemi sağlayan değerli hocalarımdan tez danışmanım Prof. Dr. Naci KARAÇAL'a, Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Murat LİVAOĞLU'na ve Prof. Dr. Muhammet URALOĞLU'na,

Tezimin deney aşamasında bana yardımcı olan kıdemlim Dr. Mustafa Keleş ve histopatolojik incelemelerinde değerli katkıları olan Dr. Öğr. Üyesi İsmail SAYGIN'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk ve gurur duyduğum asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve bölümümüzün diğer çalışanlarına,

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan, hekimlik mesleğinin yoğun ve özverili temposu içerisinde ayakta durmamı sağlayan değerli annem, babam ve ablalarıma,

Evliliğimizin ilk aylarında vaktinden çalmak zorunda kalmama rağmen yanımda olan ve beni destekleyen meslektaşım, canım eşim Dr. İpek HÜROĞLU EFE'ye ...

Sonsuz teşekkürler.

ÖZET

Tavşan Kulağı Hipertrofik Skar Modelinde İnsülinin Etkilerinin Araştırılması: Deneysel Çalışma

Amaç: Cerrahi, travmatik yaralanma veya yanık gibi sebeplere bağlı derin dermal hasar sonrası gelişen hipertrofik skar her yıl milyonlarca insanı etkileyen klinik bir problemdir. Hipertrofik skar kontraktür, ağrı ve kaşıntı gibi semptomatik problemlere yol açar. Aynı zamanda psikolojik ve estetik açıdan da olumsuz sonuçlara sebep olmaktadır. İnsülin polipeptit yapılı bir hormondur ve insülinin vücutta eksikliği veya etkin kullanılamaması durumunda çeşitli organlarda inflamasyon ve fibrozis görülmektedir. İnsülinin antifibrotik ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı hipertrofik skarın tedavisinde kullanılabileceğini düşünerek bu çalışmayı planladık.

Gereç ve Yöntem: 9 adet, ağırlıkları 3000-3500 gram arasında olan, Yeni Zelanda tipi dişi tavşan kontrol, steroid ve insülin olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Tavşanların her bir kulağının ventral kısmına birbirlerine eşit aralıklı 4 adet 6mm çaplı sirküler defektler oluşturularak hipertrofik skar modeli tasarlandı. Postoperatif 14. günde sırası ile serum fizyolojik, triamsinolon ve insülin enjeksiyonları yapıldı. 40. günde hipertrofik skarlar çevresinde 5mm sağlam cilt olacak şekilde tam kat eksize edildi ve 'Hemotoksilen Eozin' ve 'Masson Trikrom' ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Skar elevasyon indeksi (SEİ), skarlı alanda yeni oluşmuş dermis (neodermis) alanının, yaralanmamış dermis alanına oranıdır. Epidermal kalınlık indeksi (EKİ) ise, skarlı alanda yeni oluşmuş epidermis (neoepidermis) alanının, yaralanmamış epidermis alanına oranıdır. Bu indeksler deneysel hipertrofik skar modellerinde kullanılmakta olan kantitatif değerlendirme yöntemleridir.

Bulgular: Skar elevasyon indeksleri (SEİ) karşılaştırıldığında, kontrol grubu ortalama $2,15 \pm 0,068$, steroid grubundaki indeks ortalama $1,46 \pm 0,03$, insülin grubundaki indeks ise ortalama $1,59 \pm 0,04$ olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak hem steroid grubu hem de insülin grubu SEİ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Steroid grubu ile insülin grubu arasında anlamlı fark bulunmadı.

Epidermal kalınlık indeksleri (EKİ) karşılaştırıldığında, kontrol grubu ortalama $2,76\pm0,07$, steroid grubundaki indeks ortalama $1,73\pm0,04$, insülin grubundaki indeks ise ortalama $1,94\pm0,04$ olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak hem steroid grubu hem de insülin grubu EKİ değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Steroid grubu ile insülin grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında ise steroid grubu EKİ değeri insülin grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu.

Diğer parametreler olan vaskülarite, fibroblast sayısı, inflamasyon şiddeti ve kollajen yoğunluğu değerlendirildiğinde, tüm parametrelerde steroid ve insülin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük değerler elde edildi ve steroid ile insülin grubu arasında anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç: İnsülinin yara iyileşme süresini kısalttığı ve çeşitli organlardaki antifibrotik ve antiinflamatuvar etkileri daha önceki çalışmalarda kanıtlanmıştır. Çalışmamızda da hipertrofik skar üzerine etkin olduğu makroskopik olarak gözlenmiş ve histopatolojik parametrelerdeki anlamlı farkla kanıtlanmıştır. Tavşan kulağı hipertrofik skar modelinde insülinin steroid tedavisine benzer etki sağlaması, insülinin hipertrofik skar tedavisinde yeni bir modalite olabileceğini göstermiştir.

SUMMARY

Efficacy of Insulin in Rabbit Ear Hypertrophic Scar Model: An Experimental Study

Objective: Hypertrophic scarring secondary to surgery, trauma or burns is a clinical problem affecting millions of people every year. Hypertrophic scar causes symptomatic problems such as contracture, pain and itching. It also might leads psychological and cosmetic problems as well. Insulin is a polypeptide-structure hormone and when it is deficient or can't be used effectively, inflammation and fibrosis are seen in various organs in the body. Due to the anti-fibrotic and anti-inflammatory effects of insulin, we planned this study considering that it can be used to treat hypertrophic scar.

Materials and Methods: 9 New Zealand female rabbits weighing between 3000-3500 grams were divided into three groups as control, steroid and insulin. A hypertrophic scar model was designed by creating 4circular defects with 6 mm diameter, equal spacing on the ventral part of each ear of rabbits. On postoperative day 14, saline, triamcinolone and insulin injections were performed respectively. On day 40, hypertrophic scars were excised with an intact skin border of 5 mm and stained with 'Hemotoxylin Eosin' and 'Masson Trichrome', then histopathological evaluation was performed. The scar elevation index (SEI) is the ratio of the newly formed dermis (neodermis) area of the scar to the area of the surrounding unwounded dermis. The epidermal thickness index (ETI) is the ratio of the newly formed epidermis (neoepidermis) area of the scar to the area of the surrounding unwounded epidermis These indexes are quantitative values used in experimental hypertrophic scar models.

Results: When the scar elevation indexes were compared, the mean SEI in the control group was 2.15 ± 0.68 , the mean SEI was 1.46 ± 0.03 in the steroid group and the mean SEI was 1.59 ± 0.04 in the insulin group. SEI values for both steroid and insulin groups were statistically significantly lower than the control group. There was no significant difference between the steroid and insulin groups.

When the epidermal thickness indexes were compared, the mean value in the control group was 2.76 ± 0.07 , the mean ETI was 1.73 ± 0.04 in the steroid group and

the mean ETI was $1,94 \pm 0,04$ in the insulin group. ETI values for both steroid and insulin groups were statistically significantly lower than the control group. Comparison between Steroid group and insulin group showed that steroid group 's mean ETI value was statistically significantly lower.

When vascularity, fibroblast count, inflammation intensity and collagen density were evaluated; In all parameters, steroid and insulin groups were statistically significantly lower than control group and there was no significant difference between steroid and insulin groups.

Conclusion: It has been proved with previous studies that insulin shortens wound healing time and it has anti-fibrotic and anti-inflammatory effects in various organs. In our study, it was observed macroscopically that insulin was effective on hypertrophic scar and it was proved with a significant difference in histopathological parameters. The similar effect of insulin to steroid treatment in the rabbit ears hypertrophic scar model has shown that insulin may be a new modality in hypertrophic scar treatment.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
GRAFİKLER LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe.....	2
2.2. Deri Anatomisi Ve Fizyolojisi	3
2.3. Normal Yara İyileşmesi	6
2.3.1. İnflamatuar Aşama.....	6
2.3.1.1. Erken İnflamatuar Aşama.....	6
2.3.1.2. Geç İnflamatuar Aşama.....	7
2.3.2. Proliferatif Aşama.....	8
2.3.3. Yeniden Şekillendirme Aşaması.....	9
2.4. Patolojik Skar	10
2.4.1. Giriş	10
2.4.2. Hipertrofik Skar	10
2.4.3. Keloid	11
2.4.4. Patolojik Skarların Etyopatogenezi	11
2.4.5. Hipertrofik Skar Ve Keloid Tedavi Protokolleri	14
2.4.5.1. Cerrahi Tedavi.....	14
2.4.5.2. İntralezyonel Kortikosteroid Enjeksiyonu	14
2.4.5.3. Silikon Jel Uygulaması.....	15
2.4.5.4. Basınç Tedavisi	15
2.4.5.5. Radyoterapi	16
2.4.5.6. Lazer Tedavisi	16

2.4.5.7. Kriyoterapi	16
2.4.5.8. İmmünmodülatörler.....	17
2.5. İnsülin Ve Hipertrofik Skar.....	17
2.5.1. İnsülinin Keşfi ve Doğası	17
2.5.2. İnsülinin Skar Üzerine Etkileri	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Hayvan Modeli	20
3.2. Deney Protokolü.....	20
3.2.1. Deney Grupları	20
3.2.2. Anestezi	21
3.2.3. Cerrahi Yöntem	21
3.2.4. Enjeksiyon	23
3.2.5. Örneklerin Toplanması	24
3.3. Değerlendirme	25
3.3.1. Klinik Değerlendirme	25
3.3.2. Histopatolojik Değerlendirme	26
3.3.2.1. Skar Elevasyon İndeksi (SEİ)	26
3.3.2.2. Epidermal Kalınlık İndeksi (EKİ)	27
3.3.2.3. Diğer Parametreler	28
3.4. İstatistiksel Yöntem.....	28
4. BULGULAR.....	30
4.1. Klinik Bulgular.....	30
4.2. Histopatolojik Bulgular	33
4.2.1. Skar Elevasyon İndeksi.....	33
4.2.2. Epidermal Kalınlık İndeksi.....	35
4.2.3. Vaskülarite Değerlendirilmesi.....	38
4.2.4. Fibroblast Sayılarının Değerlendirilmesi.....	40
4.2.5. İnflamasyon Şiddetinin Değerlendirilmesi	43
4.2.6. Kollajen Yoğunluğunun Değerlendirilmesi.....	45
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ	59
7. KAYNAKLAR	60

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

- bFGF : basic Fibroblast growth factor
CTGF : Connective tissue growth factor
EGF : Epidermal growth factor
EKİ : Epidermal kalınlık indeksi
FAF : Fibroblast activator factor
FGF-2 : Fibroblast growth factor 2
Glut-4 : Glucose transporter type 4
HE : Hematoksilen-Eozin
HIF1-a : Hypoxia-inducible factor 1 a
ICAM-1 : İnterselüler adezyon molekülü 1
IGF-1 : Insulin growth factor 1
IL-10 : İnterlökin 10
IRS-1 : İnsülin reseptör substuratu 1
MAP : Mitojenle aktive olan protein
MCP-1 : Monosit kemoatraktan protein 1
MMPs : Matriks metalloproteinazlar
MT : Masson Trikrom
PAI-1 : Plazminojen aktivatör inhibitör 1
PDGF : Platelet derived growth factor
PNL : Polimorfonükleer lökosit
PPAR- γ : Peroksizom proliferatör aktive reseptör γ
SEİ : Skar elevasyon indeksi
TGF β : Transforming growth factor β
Th2 : T helper 2
TLR : Toll like receptor
TNF- α : Tümör nekroz faktör alfa
VEGF : Vasküler endotelial growth factor
 α -SMA : α smooth muscle antijen (düz kas antijeni)

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Yüzeysel ve derin dermal fibroblastların hipertrofik skar fibroblastları ile karşılaştırılması.....	13
Tablo 2. Deney Grupları	21
Tablo 3. Semikantitatif İnflamasyon Skorlaması.....	28
Tablo 4. Semikantitatif Kollajen Yoğunluğu Skorlaması.....	28
Tablo 5. Skar Elevasyon İndekslerinin Gruplara Göre Karşılaştırılması	34
Tablo 6. Epidermal Kalınlık İndekslerinin Gruplara Göre Karşılaştırılması.....	36
Tablo 7. 5 Farklı X400 Büyütme Alanındaki Kapiller Sayılarının Ortalamalarının Gruplara Göre Karşılaştırılması	39
Tablo 8. 3 Farklı X400 Büyütme Alanındaki Fibroblast Sayılarının Ortalamalarının Gruplara Göre Karşılaştırılması	41
Tablo 9. İnflamasyon Şiddetinin Gruplara Göre Karşılaştırılması	44
Tablo 10. Kollajen Yoğunluğunun Gruplara Göre Karşılaştırılması.....	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Smith Papirüsü.....	2
Şekil 2.	Yoruba Heykeli.....	3
Şekil 3.	Derinin Tabakaları.....	4
Şekil 4.	Epidermisin Tabakaları.....	4
Şekil 5.	Deneyde Kullanılan Cerrahi Aletler	22
Şekil 6.	Deney Tavşanlarının Kulaklarının İç Yüzlerine Yapılan İşaretlemeler	22
Şekil 7.	Punch Biyopsi Aleti İle İnsizyon Ve Subperikondrial Diseksiyon Aşaması	22
Şekil 8.	Deney Tavşanlarının Kulaklarında Oluşturulan 6 Mm Çaplı Sirküler Defektler	23
Şekil 9.	Cerrahi İşlem Sonrası Pansuman.....	23
Şekil 10.	Oluşturulan Hipertrofik Skar Modelinde İntralezyonel Enjeksiyon.....	24
Şekil 11.	40. Gün Patolojik İnceleme Öncesi Eksize Edilmiş Spesimen	25
Şekil 12.	Skar Elevasyon İndeksinin Hesaplanması.....	27
Şekil 13.	Epidermal Kalınlık İndeksinin Hesaplanması	27
Şekil 14.	Kontrol Grubundaki Bir Tavşanın 28. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü	30
Şekil 15.	Kontrol Grubundaki Bir Tavşanın 40. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü	31
Şekil 16.	Steroid Grubundaki Bir Tavşanın 28. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü	31
Şekil 17.	Steroid Grubundaki Bir Tavşanın 40. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü	32
Şekil 18.	İnsülin Grubundaki Bir Tavşanın 28. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü	32
Şekil 19.	İnsülin Grubundaki Bir Tavşanın 40. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü	33
Şekil 20.	Kontrol Grubu SEİ Örneği (HE, X40).....	34
Şekil 21.	Steroid Grubu SEİ Örneği (He, X40)	35

Şekil 22. İnsülin Grubu SEİ Örneği (He, X40).....	35
Şekil 23. Kontrol Grubu EKİ Örneği (He, X40 ve X400).....	37
Şekil 24. Steroid Grubu EKİ Örneği (He, X40 ve X400).....	37
Şekil 25. İnsülin Grubu EKİ Örneği (He, X40 ve X400).....	38
Şekil 26. Kontrol Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Lümenli Kapiller Yapılar İşaretlenmiştir (→)	39
Şekil 27. Steroid Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Lümenli Kapiller Yapılar İşaretlenmiştir (→)	40
Şekil 28. İnsülin Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Lümenli Kapiller Yapılar İşaretlenmiştir (→)	40
Şekil 29. Kontrol Grubuna (HE, X200) Ait Bir Spesimende Yoğun Miktardaki Fibroblastlar.....	42
Şekil 30. Steroid Grubuna (HE, X200) Ait Bir Spesimende Yoğun Miktardaki Fibroblastlar.....	42
Şekil 31. İnsülin Grubuna (HE, X200) Ait Bir Spesimende Yoğun Miktardaki Fibroblastlar.....	43
Şekil 32. Kontrol Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Belirgin Şiddetli İnflamasyon Görülmekte	44
Şekil 33. Steroid Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Hafif Şiddetli İnflamasyon Görülmekte	45
Şekil 34. İnsülin Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Hafif Şiddetli İnflamasyon Görülmekte	45
Şekil 35. Kontrol Grubuna (MT, X200) Ait Bir Spesimende Yoğun Kollajenasyon Görülmekte	47
Şekil 36. Steroid Grubuna (HE, X200) Ait Bir Spesimende Hafif Şiddette Kollajenasyon Görülmekte	47
Şekil 37. İnsülin Grubuna (MT, X200) Ait Bir Spesimende Orta Şiddette Kollajenasyon Görülmekte	48

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1. Grupların SEİ Değerlerinin Grafik Üzerinde Gösterilmesi.....	34
Grafik 2. Grupların EKİ Değerlerinin Grafik Üzerinde Gösterilmesi	36
Grafik 3. Grupların Ortalama Kapiller Sayılarının Grafik Üzerinde Gösterilmesi....	39
Grafik 4. Grupların Ortalama Fibroblast Sayılarının Grafik Üzerinde Gösterilmesi.....	41



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dermal yaralanmanın ardından oluşan hipertrofik skar, her yıl milyonlarca insanı etkileyen önemli bir klinik problemdir (1). Hipertrofik skar, cerrahi, travmatik yaralanmalar veya yanıklara sekonder olarak gelişebilir ve etkilenen bireylerde fonksiyonel, psikolojik ve estetik açıdan olumsuz sonuçlara neden olabilir (2). Geçirilmiş travma veya cerrahi sonrası hipertrofik skara sahip olan hastaların, depresyon ve anskiyete gibi daha yüksek düzeyde psikolojik morbidite sergiledikleri iyi bilinmektedir (3). Aynı zamanda, kontraktür, ağrı ve kaşıntı gibi skarlaşmanın fiziksel belirtileri yaygındır ve yetişkin yanık hastalarının %87'sine kadarı bu sorunları bildirir (4).

İnsülin, moleküler ağırlığı 5,8 kilodalton olan, polipeptit yapılı ve vücuttaki karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde glukagon ile birlikte rol alan bir hormondur. Diyabet hastalarının,(insülin eksikliği veya insülinin etkin olarak kullanılmaması durumu) akciğer, böbrek ve pankreas gibi çeşitli doku ve organlarında aşırı fibrozise eğilim olduğu bilinmektedir (5). Bu gerçek, insülinin aşırı fibrozise karşı koruyucu olabileceğini akla getirmektedir.

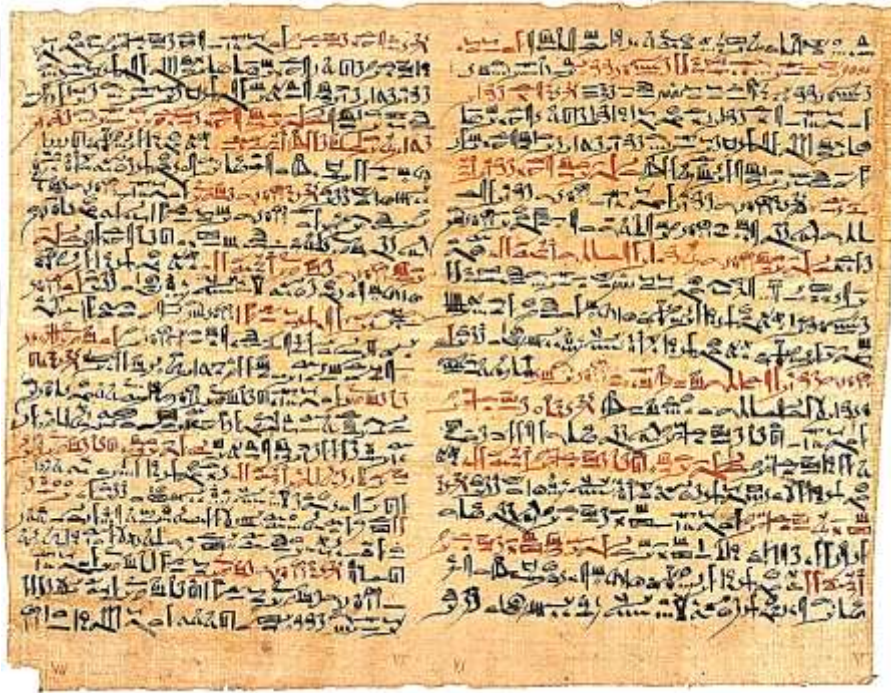
İyi bir glisemik kontrol sağlamak için uygulanan sistemik insülin tedavisinin özellikle yanık hastalarında ve multi travmalı hastalarda yara iyileşmesini hızlandırdığı uzun süredir bilinmektedir (6, 7). Pierre ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, kısmi kalınlıkta deri grefti donör alanlarının kontrol grubuna göre sistemik insülin tedavisi alan grupta daha hızlı iyileştiği bildirilmiştir (8).

Çeşitli nedenlere bağlı olarak uzamış yara iyileşmesinin hipertrofik skar gelişme ihtimalini artırması ve diyabetik hastalardaki fibrozise eğilim gerçeklerinden yola çıkarak, bu çalışmada insülinin, hayvan modelinde oluşturulan hipertrofik skarda etkilerinin araştırılması planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

1862'de arkeolog Edwin Smith tarafından Teb şehrinde bulunan cerrahi papirüs, bilinen en eski tıbbi dokümandır. M.Ö. 1700'lü yıllarda yazılmış olan bu papirüs, 48 cerrahi vakanın, batıl inançlar yerine gözlem ve mantıksal çıkarımlara dayanarak tanımlamalarını içermektedir. Smith papirüsü 45'inci vaka'da 'göğsünde ki geniş, yayılan ve sert şişlik' olarak, yazılı tarihte ilk kez hipertrofik skar tariflenmiştir (9), (Şekil 1).



Şekil 1. Smith Papirüsü

Batı Nijerya'daki antik Yoruba halkı, m.s. 10. yüzyılda keloidlere sayısız referanslar kaydetmiştir. Yorubalılar, yüzlerinde keloidal formlar oluşturarak bunu ritüelleştirmişlerdir ve ayrıca bunu sözlü ve heykel sanatlarında kullanmışlardır (10). (Şekil 2)



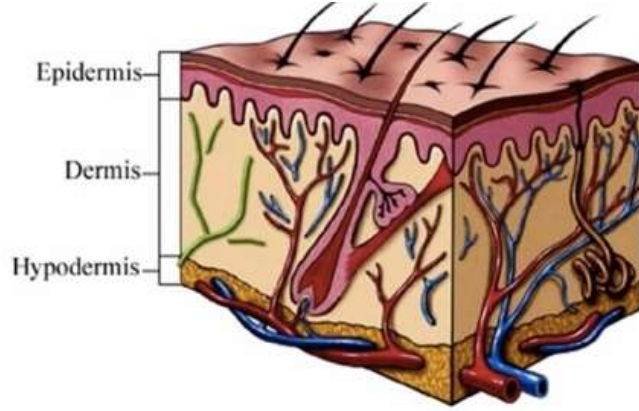
Şekil 2. Yoruba Heykeli

1817'de Alibert, Yunanca 'chele' den türetilmiş ve 'yengeç pençesi' anlamına gelen 'cheloide' terimini kullandı (11). Yengeç pençesine referansı keloidin, pençe benzeri uzantılar ve yengeç benzeri yanal hareketlerle karakterize büyümesiyle uygundur. Alibert' in dermatolojik metninin 1825 yılında yayımlanan ikinci baskısında 'Les cancroïdes o kelloïdes' başlıklı bir bölüm açılmış ve günümüz terminolojisini oluşturmuştur (12).

1962 yılında Mancinive ve 1970 yılında Peacock bu skarları, keloid ve hipertrofik skar olarak 2 ayrı başlıkta sınıflandırmıştır. Buna göre her ikisi de ciltten kabarıktır; fakat hipertrofik skarlar yara sınırından taşmazken keloidler yara sınırından dışarı taşmaktadır (13).

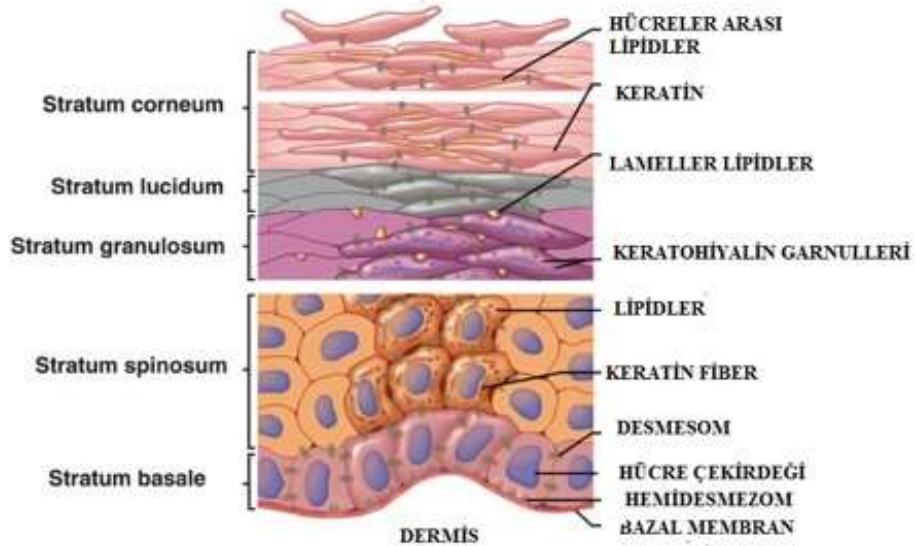
2.2. Deri Anatomisi ve Fizyolojisi

Deri, vücudun en büyük organıdır ve bünyesinde duyu cisimcikleri, ter bezleri, yağ bezleri ve kıl kökleri gibi özel yapılar bulundurur. Derinin, vücudu mekanik, kimyasal, ısı, ışık ve osmotik etkilerden korumak, duyu organı olarak görev yapmak, vücut sıcaklığını korumak ve dengede tutmak, D vitamini sentezlemek ve çeşitli maddelerin vücuttan atılmasını sağlamak gibi çeşitli görevleri bulunmaktadır. Deri, epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç tabakadan meydana gelmektedir (14), (Şekil 3).



Şekil 3. Derinin tabakaları

Epidermis, keratinize çok katlı yassı epitelden oluşmuş en dış tabakadır. Epidermiste damar yapısı bulunmaz, bu nedenle dermisten difüzyonile beslenmektedir. Epidermisin, dermis ile komşu olan hücreleri canlıdır, yüzeyele gittikçe bu hücreler şekil değiştirir ve canlılığını yitirir. Epidermis, 5 ayrı katmanda sınıflandırılmıştır (Şekil 4).



Şekil 4. Epidermisin Tabakaları

Bunlar derinden yüzeyele doğru;

1. Stratum bazale
2. Stratum spinozum

3. Stratum granülozum
4. Stratum lucidum
5. Stratum korneum'dur.

Epiderminin en dışında 'stratum korneum' tabakası vardır. Bu tabakadaki hücreler yassı, çekirdeklerini kaybetmiş ve keratin bakımından oldukça zenginleşmişlerdir. Stratum korneum tabakasının altında ise 'stratum lucidum' tabakası vardır. Bu tabaka ayak tabanı ve avuç içi derisinin epidermisinde yer alır. Bunun altında da 'stratum granülozum' tabakası vardır. D vitamini sentezi bu tabakada gerçekleşmektedir. Stratum granülozumun altında 'stratum spinosum' adlı tabaka bulunur. En altta da epiderminin en derin tabakası olan 'stratum bazale' tabakası bulunur. Spinosum ve bazale tabakalarının ortak adı 'stratum germinativum'dur. Bu iki tabaka hücre üretiminden sorumludur, ayrıca bu tabakalarda melanin üreterek deriye rengini veren melanositler ve immünolojik savunmada görev alan dendritik hücrelerde bulunur.

Dermis, nörovasküler yapılardan zengin, kalınlığı 1-3mm arası değişen ve epiderminin hemen altında yer alan kısımdır. 'Stratum papilla' ve 'stratum retikularis' olarak iki kısımdan oluşur. Konik çıkıntılar aracılığı ile epidermise uzanan stratum papilla, yoğun sinir sonlanmaları ve vasküler yapı içerir. Papiller dermiste bulunan yoğun vasküler yapı epiderminin difüzyon ile beslenmesini sağlar. Stratum retikularis ise, elastik lifler ve düz kas hücrelerinden zengin, bol miktarda yağ ve ter bezleri, kıl köklerini, duyu cisimcikleri ve serbest sinir sonlanmalarını bünyesinde bulundurur.

Dermiste fibroblastlar, mast hücreleri, histiositler, monositler, lenfositler ve Langerhans hücreleri bulunur. Dermisin bütünlüğü ara madde ve iki çeşit protein içeren destekleyici bir matriks tarafından sağlanır. Çok kuvvetli bir gerilme gücü olan kollajen derminin ana komponentini oluşturur. Elastin ise hacim olarak daha az yer tutar.

Hipodermis, bağ dokusundan oluşur. Bünyesinden yağ dokusu, sinirler ve deri altı kasları bulundurur (15).

2.3. Normal Yara İyileşmesi

Yara, anatomik bir yapının bütünlüğünün bozulması şeklinde tanımlanmaktadır. Memelilerde deri hasarına karşı verilen yanıt 3 aşamada gerçekleşir. Bunlar; inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillendirme olarak sınıflandırılmıştır. Her ne kadar yara iyileşmesi 3 ayrı aşama şeklinde sınıflandırılmış olsa da, bu aşamalar birbiri içine geçmiş olaylar zinciri bütünüdür (16).

2.3.1. İnflamatuar Aşama

Mekanik, immünolojik, termal veya kimyasal; yaralanma şekline bakılmaksızın yaralanmaya ilk verilen cevap spesifik olmayan bir inflamasyondur. İnflamasyon; ısı artışı, eritem, ödem ve ağrı ile karakterizedir. Doku seviyesinde vasküler permeabilite artışı ve lökosit migrasyonu meydana gelir. İnflamasyonun birincil fonksiyonu, inflamatuvar hücreleri yara alanına toplayarak, bakterileri yok etmek, canlılığını yitirmiş hücreleri debride etmek ve tamir aşamasına geçişi sağlamaktır (17).

2.3.1.1. Erken İnflamatuar Aşama

Bu aşamada öncelikli amaç; hemostazın sağlanması, devitalize dokuların uzaklaştırılması ve patojenlerin kolonize olması engellenerek enfeksiyonların önlenmesidir (18,19). Epidermis ve dermis bütünlüğü bozulduğunda, travma sonrası damar rüptürü nedeni ile gerçekleşen ilk olay kanamadır. Endotel hasarını takiben vazokonstriksiyon ve trombosit aktivasyonu gerçekleşir, sonuç olarak trombosit tıkaç meydana gelir. Bu olay primer hemostaz olarak isimlendirilir. Daha sonra koagülasyon kaskadı başlatılır ve fibrinojenden fibrin üretilerek trombosit tıkaç sağlamlaştırılır. Bu olay da sekonder hemostaz olarak isimlendirilir (16,17).

Endotel hücrelerinin hasarı; damar geçirgenliğini artıran lokal sitokinlerin salınımı, pıhtılaşma kaskadının başlatılması ve trombositlerin degranülasyonuna neden olur. Trombositlerden platelet derived growth factor (PDGF), insülin growth factor-1(IGF-1), epidermal growth factor (EGF) ve transforming growth factor β

(TGF- β) gibi sitokinler ve büyüme faktörleri salınır. Bu sitokinler ve büyüme faktörleri, inflamasyon fazının habercisi olan kompleman kaskatını başlatır. Bu sayede patojenlerin kolonizasyonu engellenir (20,21).

Endotel, lökositler ve fibroblastlar açısından kemotaktik ve mitojenik olup vazoaktifirler (22). Elde edilen hematoma, fibrin oluşumuna bağlı olarak katılaştır ve daha fazla kanamayı durdurur. Pıhtı yalnızca hemostatik bir işleve sahip değildir; ayrıca hücre çoğalmasını ve göçünü uyaran geçici bir hücre dışı matriks oluşturur. Fibrin matriksinin çıkarılması yara iyileşmesini ciddi şekilde bozar (23).

2.3.1.2. Geç inflamatuvar aşama

Bu aşamada predominat hücre polimorfonükleer lökositlerdir (PNL). Travma sonrası ilk iki gün nötrofiller kemotaksis ile ekstravasküler alana göç ederek yara kavitesini dolduran fibrin matriksine infiltre olur. Bu hücreler, devitalize doku ile bakterileri fagosite etmekle görevlendirilmiştir. Ekstraselüler matriks kalıntılarını degrade edecek çeşitli protezlar salarak, yarayı iyileşmeye hazırlarlar. Nötrofiller yara iyileşmesi için şart değildir bununla birlikte yara yerinde uzun süre kalmaları akut yaraların kronik yaraya dönüşümüne neden olduğu iddia edilmektedir (24).

Üçüncü günden itibaren makrofajlar predominat hücre haline gelir. Dolaşımdaki monositler yaraya ulaşır, monosit kemoatraktan protein 1 (MCP-1) aracılığı ile dokuya girerek makrofajları oluştururlar. Makrofajlar devitalize dokuları ve bakterileri fagosite eder. Asıl kritik görevi; fibroblastların ekstraselüler matriks üretimi ve anjiyogenez için gerekli olan büyüme faktörlerinin üretilmesidir. Makrofajlar, nötrofillerin aksine yara iyileşmesi için esansiyeldir ve yokluğu yara iyileşmesini bozar (25).

Yaralanmanın ardından interlökin-1(IL-1) aracılığı ile yaralanma bölgesine gelen lenfositler, en son gelen hücrelerdir.(17) IL-1, interlökin-2(IL-2), TGF- β , EGF, tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), fibroblast aktivatör faktör (FAF) gibi sitokinlerin salınımından sorumluluğu olduğu için özellikle CD4 pozitif lenfositler yara iyileşmesi için önemlidir. Otokrin olarak T hücre diferansiyasyonu ve proliferasyonunun yanında diğer fonksiyonları da mevcuttur (26).

2.3.2. Proliferatif Aşama

Yaralanmayı takiben 4-21. günlerde meydana geldiği kabul edilir fakat daha önce de belirtildiği gibi bu aşamalar birbiri içine geçmiş olaylar zinciri bütünüdür. Bu aşamanın reepitelizasyon kısmı, yaralanmadan 24-48 saat sonra başlamaktadır. Hasarlanmayı takiben, yara bölgesine komşu keratinositler, fenotiplerini değiştirirler. Keratinositlerin bazal membran ile olan hemidesmozomal ve keratinositler arası olan desmozomal bağlantılarındaki kayıp, hücreleri serbestleştirerek laterale hareket etmelerine imkân verir. Bu olay, eş zamanlı olarak keratinositlerin sitoplazmalarında oluşan aktin filamentlerinin, keratinositlere aktif hareket kabiliyeti kazandırması sayesinde gerçekleşir. Keratinositler geçici fibrin matriks içinde ilerleyerek, özel mediatörler vasıtasıyla ekstraselüler matriks proteinleri (fibronektin ve tip 1 kollajen gibi) ile etkileşime girerler (27).

Geçici fibrin matriksi, granülasyon dokusu ile aşamalı bir şekilde yer değiştirir. Fibroblastlar, makrofajlar ve endotel hücreleri, granülasyon dokusu oluşumunda kritik ve bağımsız rol oynayan üç hücre tipidir. Bu hücreler, ekstraselüler matriks ve kan damarları gibi granülasyon dokusu bileşenlerini oluştururlar. Bu olay, yaralanmayı takiben 4. günde meydana gelir (28).

Bu süreçte ana görevi fibroblastlar üstlenmektedir, iyileşen yarayı dolduran ekstraselüler matriksi yaparak keratinosit migrasyonu için uygun ortam oluştururlar. Bu matriks, kutanöz skarlaşmanın en belirgin ögesi olacaktır. Makrofajlar, endotel hücrelerini uyararak yeni damar oluşumunu sağlarlar. Ayrıca, PDGF ve TGF- β gibi büyüme faktörlerini üretmeye devam ederek fibroblastları uyarır. Bu sayede fibroblastların matriks içine migrasyonu sağlanır, fibroblastlar proliferer olur ve matriks depolanır. Proliferatif aşama sırasında, geçici matriks yerini tip 3 kollajene bırakır. Sağlıklı dermiste tip 3 kollajen %20 oranındayken, tip 1 kollajen %80 oranındadır. Bu aşamada, yaradaki granülasyon dokusunda baskın olan tip 3 kollajen, yeniden şekillendirme aşamasında yerini tip 1 kollajene bırakır (29).

Endotelial hücreler, granülasyon dokusunun kritik bir ögesidir ve anjiyogenez ve vaskülogenez aracılığı ile yeni kan damarlarını meydana getirir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2), anjiyopietin-1 ve trombostin, makrofajlar tarafından salınan proanjyotik faktörlerdir.

Bu faktörler sayesinde sağlam damar duvarından migrasyon ile ayrılan endotel hücreleri lümen oluşturacak bir çatı hazırlar. Hipoksi, hipoksi ile indüklenebilir faktör 1-a (HIF1-a) protein stabilizasyonu aracılığı ile proanjyotik faktörlerin gen ekspresyonunu artırır (30).

Yara kavitesi kollajen matriks ile dolduğunda, fibroblastlar ortamdan kaybolur ve yeni oluşmuş kan damarları regrese olur. Bu olay apoptoz ile gerçekleşmektedir. Bu süreçteki düzensizliğin, hipertrofik skar gibi fibrotik bozukluklara neden olduğu düşünülmektedir (31).

2.3.3 Yeniden Şekillendirme Aşaması

Bu aşama, insanlarda 21 gün ila 1 yıl arasında sürdüğü gösterilmiş olan, yara iyileşmesinin en uzun bölümüdür. Yara kavitesi granülasyon dokusu ile dolduğunda ve üzeri keratinositler ile örtüldüğünde, yeniden şekillendirme aşaması başlar. Yara kontraksiyonu ve kollajen şekillendirilmesi aşamalarının her ikisinin birlikteliği ile karakterizedir. Sitoplazmalarında aktin filamentleri içeren özelleşmiş fibroblastlar olan miyofibroblastlar, yara kontraksiyonu işleminden sorumludur. Miyofibroblastlar yara kontraksiyonunu, kollajen matriks ile integrin etkileşimleri yaparak gerçekleştirirler (32).

Bu aşamanın bir diğer karakteristik özelliği olan kollajen şekillendirilmesi; makrofajlar, fibroblastlar ve endotel hücrelerinin salgıladığı matriks metalloproteinazlar (MMPs) tarafından tip 3 kollajenin yavaş degradasyonu ile tip 1 kollajen üretimi arasındaki denge ile sağlanır. Kollajen fibrilleri, yara boyunca gerim çizgilerine paralel olacak biçimde şekillenir. Bu dönem sürecinde, yaranın gerim gücü belirgin olarak artmasına rağmen, asla normal doku gerim gücüne ulaşamamaktadır. Ulaşabileceği maksimum gerim gücü, normal dokunun %70-80'i kadardır. Yeniden şekillendirme, sentez ve degradasyon arası denge gerektiren dinamik bir süreçtir, bu dengedeki bozukluklar atrofik veya hipertrofik skara neden olur (33).

2.4. Patolojik Skar

2.4.1. Giriş

Patolojik skarlar; yara sınırına bağlılık, ağrı, kaşıntı, kozmetik açıdan şekil bozukluğu ve iyileşme süresi açısından anormal izlerdir. Patolojik izler için çok çeşitli tedaviler olmasına rağmen, hepsinin etkinliği çeşitli derecelerde değişmekle birlikte kesin bir etkinlik yoktur ve tedavi zor bir hal alır (34).

Patolojik skarlar; hipertrofik skar ve keloid olmak üzere iki türdür ve her ikisi de aşırı dermal fibrozis ile karakterizedir. Patolojik olarak değilse de, klinik olarak spektrumun en kötü ucunda keloidler bulunmaktadır. Her ikisi de sık görülmekle birlikte, her ikisinin farklı tedavileri ve prognozları mevcuttur. Koyu tenli bireylerde keloid yaralanmayı takiben %6-16 arasında görülmektedir (35,36). Derin dermal yanıkları takiben %90 oranında hipertrofik skar ile iyileşme görülmektedir (37). Klinik farklılıklar iyi bilinmesine rağmen, histopatolojik olarak, artmış vaskülarite, yüksek mezenkimal yoğunluk ve artmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile karakterizedir ve hemen hemen aynı görünmektedir (38). Basit terimlerle şu şekilde tanımlanabilirler; hipertrofik skar, orijinal lezyonun sınırlarıyla sınırlı kalırken, keloid bu sınırların dışına taşarak büyür (39). Ek olarak, hipertrofik skarlar zamanla geriler ve eksizyon sonrası rekürrens azdır, fakat keloidler zamanla gerilemez ve hemen her zaman eksizyon sonrası rekürrens görülür (40). Muir, keloidler gibi davranan ancak orijinal lezyon sınırları içinde kalan üçüncü bir ara grup önermiştir (41).

2.4.2. Hipertrofik Skar

Klinik olarak hipertrofik skarlar, sert, kırmızı, bazen hassas ve ince bir epitel ile kaplı lezyonlar olarak görünmektedir. Vücudun herhangi bir yerinde görülebilirler de, keloidler gibi göğüs, omuz ve sırtta görülme ihtimali daha yüksektir ve ayak tabanında çok nadir görülür. İlginç bir şekilde cildin direk olarak kemiği örttüğü alanlarda hipertrofik skar oluşmaz (42).

Prevalans ırklar arası farklılık göstermektedir. Afrika kökenliler ve Kafkas ırkında daha sık görülmektedir. Cerrahi insizyon sonrası hipertrofik skar görülme prevalansı Kafkasyalılarda %15 ile %63 arasında değişmektedir (43).

Histolojik olarak hipertrofik skarlar, orijinal yara sınırlarıyla sınırlı olan, aşırı kollajen fibril kitleleri olarak tanımlanabilir. Hipertrofik süreç yaralanmadan 3 ila 6 hafta sonra başlar, genişleme 3 ila 7. aylarda meydana gelir ve sonra stabilize olur. Yaklaşık 1 yıl sonra regresyon başlar (44).

Hipertrofik skarlar bası ülserlerinin olduğu yerlerde oluşmazlar, bununla birlikte gevşek deri gerilim çizgilerini, eklemleri ve diğer mobil bölgeleri geçen yaralarda meydana gelirler (42). Bu anatomik tercihler yara geriliminin, hipertrofik skar patolojisinde nedensel olma ihtimalini artırmaktadır. Hatta “cilt konileri” olarak adlandırılan histolojik bir temele sahip olabilirler. Bunlar normal bir dermal yapıdır ama sadece hipertrofik skarların geliştiği cilt alanlarında bulunur (45).

2.4.3. Keloid

Keloidler, orijinal yara sınırlarının ötesine uzanan, ilerleyici, yalancı tümoral skar dokusu birikimidir. Koyu tenli bireyler keloid oluşumu açısından daha yüksek risk altındadır, ancak açık tenli kişilerde de görülebilirler. Yaşlılar, genç erişkinlere göre keloid gelişimi açısından daha az eğilimlidir, bu da hormonal faktörlerin keloid gelişiminde rol oynayabileceğini göstermektedir (42). Kafkaslı hasta gurubunda yapılan bir kohort çalışmasında, keloid ile ilişkilendirilmiş TGF- β 3 mutasyonu olmadığı gösterilmiştir (46). Bununla birlikte, keloid oluşumunda genetik faktörlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir ve kalıtım, otozomal dominant şekilde kendini gösterir. Profibrotik olan TGF- β 1 ve TGF- β 2, keloid fibroblast kültürlerinde normal fibroblast kültürlerine göre daha yüksek seviyede bulunmuştur (47).

2.4.4. Patolojik Skarların Etyopatogenezi

Klinik uygulamada, yara enfeksiyonu, gerginlik, gecikmiş iyileşme, yanık, genç erişkin yaş grubu, kalıtım, zayıf cerrahi teknik gibi risk faktörlerinin, artmış hipertrofik skar riskiyle ilişkisi iyi bilinmektedir (1).

Keloid için risk faktörleri, aile öyküsü ve cilt tipi gibi her hasta için daha bireyseldir. Ancak bu nedenlerin altında yatan biyokimyasal ve hücresel süreçleri açıklamak daha zordur. Büyüme faktörleri, ekstraselüler matriks bileşenleri, anormal kollajen turnover hızı, sebum immünoreaktivitesi, genetik etkiler ve yara gerginliğinin hepsi dahil edilmesine rağmen, her iki patolojik skarın da etiyojisi tam olarak bilinmemektedir (48).

Basit olarak, patolojik skarlar yara selülaritesinin düzenlenmesindeki ve kollajen sentezindeki düzensizlikten kaynaklanmaktadır. TGF- β 1 ekspresyonunda, sinyal yolunda veya duyarlılığındaki bozukluklar bu düzensizliğin sebebi olabilir. Örneğin, bağ dokusu büyüme faktörünün (CTGF) mRNA ekspresyonu, normal fibroblastlara kıyasla TGF- β 1'e yanıt olarak hipertrofik skarlarda 150 kat artar ve TGF- β 1 inhibitörü olan hücre içi sinyal proteinlerinden olan SMAD 6 ve 7 mRNA ekspresyonu keloidde normal skar fibroblastlarına oranla belirgin derece düşük bulunmuştur. Ayrıca meme ameliyatı yapılan hastaların olduğu bir çalışmada, dermis ve epiderminin TGF- β izoform ekspresyon profillerinin, normal ve hipertrofik skar gelişimini etkilediği gösterilmiştir (49,50).

Hipertrofik skar ve keloidin her ikisi için, apoptoz yetersizliği de bir neden olarak öne sürülmüştür. Hipertrofik skarlar, yağ asidi sentaz aracılı (FAS-FAS ligand aracılı) apoptoza karşı oldukça dirençli fibroblastlara sahiptir ve apoptoza karşı koruyucu Bcl-2 gibi genlerin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (51). Ayrıca, proapoptotik TNF- α mRNA seviyeleri hipertrofik skarlarda anlamlı derecede düşüktür (52). Keloidlerde, apoptozisten kaçmalarını sağlayan p53 ve p63 seviyeleri yüksektir (53).

Bazı sistemik olayların da patolojik skarlar için predispozan olduğu düşünülmektedir. Hipertrofik skar gelişen yanık hastalarında, hipertrofik skar gelişmeyenlere oranla yanığın erken döneminde daha yüksek interlekin-10(IL-10), TGF- β 1 seviyeleri ve artmış IL-4 pozitif Th2 hücre sayısı bulunmuştur (54). Keloidlerde normal dermal fibroblastlarla karşılaştırıldığında en az 6 genin up-regüle edildiği ve en az iki genin down-regüle edildiği gözlenmiştir (55). Keloidleri olan hastalarda pozitif aile öyküsünün yaygın olduğu ve bazı anatomik bölgelerin keloid oluşumu ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (46). Afro-Amerikalılarda, artmış deri pigmentasyonunun D vitamin seviyelerinin düşmesine neden olduğu ve

dolayısıyla yaralanmaya cevaben daha fazla inflamasyona yol açarak patolojik skar eğilimini artırdığı öne sürülmüştür (56).

Yara gerginliği sıklıkla patolojik skarlaşmanın bir nedeni olarak gösterilmesine rağmen, literatürde bunu destekleyen kanıtlar eksiktir. Ayrıca cilt germe cihazı ile yaraların belirgin gerginlikte kapatıldığı bir çalışmada, yaraların kaçınılmaz bir son olarak patolojik skarla iyileşmek zorunda olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada yara izinin ciddiyetinin en çok, cildin farklı alanlarda değişen viskoelastik özelliklerini yansıtan yaranın anatomik konumundan etkilendiği bulunmuştur. Bununla birlikte, gerilmeye cevap olarak keloid fibroblastlarının mRNA'larının up-regülasyona uğradığı ve TGF- β 1, TGF- β 2 ve kollajen 1 α protein ekspresyonlarının normal fibroblastlara kıyasla arttığı gösterilmiştir (57).

Fibroblastlar hem fiziksel lokasyon hem de fenotip olarak yüzeysel (papiller) ve derin (retiküler) olarak ikiye ayrılırlar. Yüzeysel dermal, derin dermal ve hipertrofik skar fibroblastları karşılaştırıldığında (Tablo 1), hipertrofik skar fibroblastlarının, derin dermal fibroblastlara benzediği görülmüştür. Dunkin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yüzeyselden derine doğru artan derinlikte hasar oluşturulmuş ve yüzeysel yaralanma (derinlik ≤ 0.56 mm) minimum skar ile rejenerasyona neden olurken, daha derin hasarlarda derinlikle doğru orantılı olarak artan skar formasyonu gözlenmiştir. Bu durum, fibrojenik sitokin uyarımı ile dermal fibroblastların aşırı çoğalması ve/veya yaralanmaya bağlı yüzeysel dermal fibroblastların hasar görmesi nedeni ile derin dermal fibroblastların baskın hale gelmesi ile açıklanmıştır.(58)

Tablo1. Yüzeysel ve derin dermal fibroblastların hipertrofik skar fibroblastları ile karşılaştırılması

	Yüzeysel dermal fibroblast	Derin dermal fibroblast	Hipertrofik skar fibroblastı
Kollajen üretimi	↓	↑	↑
Kollajenaz üretimi	↑	↓	↓
TGF- β üretimi	↓	↑	↑
CTGF üretimi	↓	↑	↑
Keratinosit Proliferasyonu	↑	↓	↓
Kapiller oluşumu	↑	↓	↓

2.4.5. Hipertrofik Skar ve Keloid Tedavi Protokolleri

Patolojik skar formasyonu için fiziksel, farmasötik ve cerrahi birçok tedavi protokolü olmasına rağmen, skarın normal bir cilde dönüşümünü sağlayacak güncel tedavi protokolü yoktur. Bu tedavi protokolleri skarın görünümünü hafifletmeye yöneliktir ve birçoğunun kullanımını destekleyen kanıtlar yetersizdir. Gerçekten de ‘Skar yönetiminde uluslararası klinik öneriler’ in yazarları kanıta dayalı öneri açısından sadece silikon jel ve intralezyonel steroid enjeksiyonu için yeteri kadar kanıt olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bu tedavi protokollerinin bile yetersiz olduğu kısımlar mevcuttur. Uzun süreli kullanımda silikon jel tedavisi hipertrofik skarların düzleşmesine ve yumuşamasına yardımcı olur fakat keloidler için etkisi yetersizdir. Steroid enjeksiyonlarının ise dermiste incelme, telenjiektazi, pigmentasyon değişiklikleri gibi yan etkileri mevcuttur. Bu nedenle, etkili bir tedavi protokolü arayışı, bir klinik ihtiyaç olarak önümüzde durmaya devam etmektedir (44).

2.4.5.1. Cerrahi tedavi

Patolojik skarın cerrahi eksizyonu en eski tedavi yöntemi olmasına rağmen, tek başına kullanıldığında rekürrens oranı %50-80’dir. Başarı oranını artırmak için, cerrahi; intralezyonel steroid enjeksiyonu, radyoterapi, bası giysisi veya silikon jel uygulaması gibi diğer tedavi protokolleri ile kombine edilmelidir. Cerrahi skar revizyonunda, yara mümkün ise gevşek deri gerilim çizgilerine paralel kapatılmalı, inflamasyonu tetikleyecek sütür materyallerinden ve cerrahi alandaki epitelyal traktlar ve kistler gibi dokular ortamdaki uzaklaştırılmalı, yara gerginliği minimumda tutulmalı, gerekir ise lokal flepler, z plastiler veya seri eksizyon yapılmalıdır (59,60).

2.4.5.2. İntralezyonel Kortikosteroid Enjeksiyonu

İntralezyonel kortikosteroid enjeksiyonu, genellikle triamsinolon, patolojik skar tedavisinde uygulanan en sık yöntemdir (44). Sıklıkla 3-4 hafta ara ile 3-4 seans şeklinde intralezyonel uygulanmaktadır. Derin dermise geçişi kısıtlı olduğu için topikal uygulamanın etkili olmadığı gösterilmiştir (61). Steroidler inflamatuvar yanıtı

baskılayarak çalışırlar bu yüzden aktif skarlarda daha etkilidir. Hipertrofik skarlardan ziyade keloidlerde daha etkilidir, bu etkinlik eksizyon, bası giysisi, silikon jel gibi diğer tedavi modeliteleri ile kombine edildiğinde daha da artmaktadır (62). Triamsinolon, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) salınımını azaltır, kollajen sentezini inhibe eder ve hücrel proliferasyonu azaltır (63). Bununla birlikte, intralezyonel uygulama ağrılıdır ve ciltte incelme, depigmentasyon ve telenjiektazi gibi yan etkileri mevcuttur (64).

2.4.5.3. Silikon jel uygulaması

Silikon jel uygulaması, hipertrofik skarlar için ilk basamak tedavidir ve etkisi yapılan büyük bir meta-analizde kanıtlanmıştır.(65) Silikon jel, hipertrofik skarın kızarıklık, kaşıntı, sertlik ve kalınlığında azalmayı sağlar ancak tam olarak iyileşmeyi sağlayamamaktadır. Etki mekanizması günümüzde hala tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen, oklüzyon yaparak skar dokusunun hidrasyonunu artırması sayesinde etki ettiği düşünülmektedir. 12 saatlik periyodlarla yaklaşık 4-6 ay kullanımı önerilmektedir. Tedavi amaçlı ya da cerrahi sonrası profilaktik amaçlı kullanılabilir (66).

2.4.5.4. Basınç tedavisi

Kompresyon giysiler biçimindeki basınç tedavisi, özellikle hipertrofik yanık izleri için yaygın olarak kullanılmaktadır. Günde 23 saat, 12-18 ay boyunca kullanılması gerekmektedir. Uyguladığı 24-30 mm-Hg basınç skar içindeki kapillerlerde tıkanmalara yol açarak dokuda hipoksi oluşturmaktadır. Fibroblast ve kollajen sentezinde azalma ile kollajenaz aktivitesini artırarak hipertrofik skarı önlemekte veya tedavi etmekte olduğu belirtilmiştir. Fakat etkinliği açısından literatürde güçlü kanıtlar mevcut değildir. Her anatomik bölgede istenilen basınç elde edilememesi ve hasta uyumu açısından zahmetli bir tedavi yöntemi olması dezavantajlarındandır (44).

2.4.5.5. Radyoterapi

Monoterapi şeklinde de uygulanabilmesine rağmen yüksek rekürrens ihtimali nedeni ile sıklıkla cerrahi ile birlikte kombine tedavi şeklinde uygulanmaktadır. 100-1200 cGy, 3 veya 4 boyutta, 3-6 doz şeklinde geniş bir tedavi protokol aralığı mevcuttur ve erken postopertatif dönemde kullanılmaktadır. Yara iyileşmesinin bozulması ve pigmentasyon bozukluğu gibi yan etkileri mevcuttur. En çok korkulan yan etkisi olan karsinogenez riski nedeni ile adölozan dönemde kullanılması önerilmemektedir (67).

2.4.5.6. Lazer tedavisi

Çeşitli lazerler hipertrofik skar tedavisinde kullanılsa da etkinliklerinin kanıt düzeyi düşüktür (44). İlk olarak karbondioksit ve argon lazerler kullanılmıştır ve yüksek rekürrens ile birlikte bazı skarlarda artış gözlenmiştir. Günümüzde Nd:YAG ve pulse dye lazerler kullanılmaktadır ve rekürrenste %60 azalma olduğu bildirilmiştir. İntralezyonel steroid enjeksiyonu ile birlikte kombine kullanılabilir. Hipertrofik skarı düzleştirmede ve eritemin azaltılmasında etkili olabileceği bildirilmiştir fakat kanıt düzeyi yüksek yeterli çalışma bulunmamaktadır (68).

2.4.5.7. Kriyoterapi

Dokuları kriyoterapi ile dondurmak, hücre hasarı ve mikrosirküler bozukluğa neden olur. Hipoksi sonucu doku nekrozu görülür. Hipertrofik skarlar, keloidlere göre daha iyi yanıt verirler. Kriyoterapi, pigmentasyon değişiklikleri, cilt atrofisi ve ağrı gibi yan etkileri nedeniyle küçük skarların tedavisi ile sınırlı olma eğilimindedir. Yapılan bir çalışmada, sıvı azot kaynağına bağlı bir iğne kullanılarak uygulanan intralezyonel kriyoterapi yönteminin, keloidlerin küçülmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (69).

2.4.5.8. İmmünmodülatörler

İntralezyonel interferon uygulamasının, kollajen yıkımını artırdığı, hipertrofik skarları düzleştirdiği ve keloidlerdeki rekürrens oranını azalttığı bildirilmiştir (44). Bununla birlikte, grip benzeri semptomlar, ağrı gibi yan etkileri ve pahalı olması kullanımını sınırlandırmaktadır. İnterferon indükleyicisi olan imiquimod'un topikal uygulamasının hipertrofik skar ve keloid tedavisinde etkisiz olduğu gösterilmiştir (70)(71). Sitotoksik kemoterapi ilaçları olan 5-floroürasil (5-FU) ve bleomisin, hipertrofik skar ve keloid düzleştirilmesinde potansiyel etkinlik göstermiştir (72,73). Yine de, immünmodülatörler ile genel sonuçlara varılmadan önce geniş randomize kontrollü çalışmaların yapılması gerekmektedir.

2.5. İnsülin ve Hipertrofik Skar

2.5.1. İnsülinin Keşfi ve Doğası

İnsülin 1921 yılında keşfedildi ve bu olay 21. yüzyıldaki en önemli tıbbi gelişmelerden biriydi. İnsülinin keşfi ile diyabet hastalarının morbidite ve mortalitesini olumlu yönde etkileyecek büyük bir adım atılmış oldu. Bu adım Macleod'a 1923 yılında Nobel ödülünü kazandırmıştır. İnsülin aminoasit dizilimi belirlenen ilk protein olması ile 1958 yılında kimya dalında Fred Sanger'e Nobel ödülünü kazandırmıştır. İnsülin, moleküler ağırlığı 5.8 kilodalton olan, geniş etkileri bulunan bir polipeptid yapıda bir hormondur. Birçok hücre tipine mitojeniktir etki eder ayrıca sinir hücrelerinde, endotel hücrelerinde ve fibroblastlarda apoptozu baskılar (74,75). Şaşırtıcı bir şekilde, insülinin ana etkisinin kesin mekanizması insülinin keşfinin ardından dekatlar geçmesine rağmen hala belirsizliğini korumaktadır (76). 1949 yılında Bracknell Levine, insülinin, glikozun çeşitli ekstrehepatik dokulardaki transmembran transportunu kolaylaştırarak, kandaki glukoz seviyesini düşürdüğü hipotezini ortaya atmıştır (77). 1988 yılında bu durumun, glikoz transpoter 4 (glut4) ile insüline duyarlı olan kas ve yağ dokuda gerçekleştirildiği bulunmuştur (78,79). İnsülinin bu transportu nasıl kolaylaştırdığı şimdilik tam olarak çözülememiştir, fakat hücre membranındaki tirozin kinaz yapılı

reseptörü tanımlanmıştır. Bu reseptör, insülin ile ilgili genleri aktive etmek için ikincil bir haberci olarak görev yapan insülin reseptörü substrat 1 (IRS-1) dahil olmak üzere bir dizi proteini fosforile ederek insülin sinyalleşmesine aracılık eder (80).

2.5.2. İnsülinin Skar Üzerine Etkileri

İnsülin ve deri skarları arasındaki bağlantı literatürde tartışılmamasına rağmen, diğer dokuların fibrozisi ile olan potansiyel bir bağlantı tanımlanmıştır. Diyabetes mellitus ve daha hafif insülin direnci, vücutta yaygın fibrozis ile karakterizedir. Kronik diyabet hastalarında, alkolik olmayan steatohepatit, diyabetik böbrek hastalığı, aterosklerotik plak oluşumu ve pankreatit gibi inflamasyon ve fibrozisin tüm belirtileri görülmektedir (81). İnsülin direnci olan kişilerin iskelet kaslarında bile artmış kollajen içeriği saptanmıştır (5). Diyabetik olmayan yanık hastalarına sistemin insülin verildiğinde, deri grefti donör alanlarının insülin verilmeyen gruba göre daha hızlı iyileştiği gözlenmiştir (8). Aynı şekilde başka bir çalışmada diyabetik olmayan bireylerin deri insizyon yaralarına topikal insülin uygulandığında, uygulama yapılmayan gruba göre daha hızlı iyileşme olduğu saptanmıştır (82). Fakat bu iki çalışmada da skar yönünden araştırma yapılmamıştır.

İnsülin ve TGF- β 1'in glukoz seviyesi ile gevşek bir bağlantısı vardır; insan böbrek mezengial hücrelerinde yüksek glukoz seviyesinin, TGF- β 1 hassasiyetini artırdığı gözlenmiştir. Spesifik olarak düşük seviyelere (6.5mM) kıyasla yüksek glikoz konsantrasyonlarına (20mM) maruz kalan mezengial hücreler daha yüksek R-SMAD fosforilasyonu ve nükleer birikim gösterirler ve daha yüksek tip I kollajen mRNA ekspresyonu gösterir. Dahası, bu etki mitojenle aktive olan protein (MAP) kinaz / hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) inhibitörü tarafından da ortadan kaldırılmaktadır (83). İnsülinin TGF- β 1'e antagonistik etki gösterdiği başka örneklerde mevcuttur. İnsan kornea epitelinde insülin, proliferasyonu destekleyerek ve apoptozu inhibe ederek TGF- β 1'in tam tersi etki gösterir (84).

Bu ilişki daha önce dolaylı olarak diyabetik hastalardaki bozulmuş yara iyileşme modelleri kullanılarak incelenmiştir. Bu modeller; azalmış granülasyon dokusu, azalmış miktarda kollajen proteini ve gecikmiş yara iyileşmesi ile

karakterizedir (85, 86). Diyabetik insizyon yaralarına TGF- β 1'in uygulanması, granülasyon dokusunda ve kollajen miktarında ve yara gerim gücünde artış meydana getirmiştir (87, 88).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onay alınan, 2019/18 protokol numaralı çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Çalışmada Saki Yenelili Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen, ağırlıkları 3000-3500 gram arasında olan 9 adet Yeni Zelanda tipi dişi tavşan kullanılmıştır.

3.1. Hayvan Modeli

Morris ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, tavşan kulaklarında yaratılan kritik boyuttaki tam kalınlıkta defektlerin hipertrofik skara benzer yapıda iyileşme paterni gösterdiği bulunmuş ve kantitatif ölçüm yapılabilecek şekilde deneysel hayvan modeli oluşturulmuştur (89).

Bu hipertrofik skar modelinde, tavşanların kulaklarının iç yüzlerine birbirlerine eşit ve uzak mesafede cilt, cilt altı doku ve perikondriumun dahil edildiği, zeminde perikondriyumsuz kartilaj bırakıldığı defektler oluşturulmaktadır. 6mm'lik perikondriyumsuz defektler hipertrofik skar benzeri iyileşme paterni gösterir. Oluşturulan hipertrofik skar dokusu miktarı histolojik inceleme yapılarak ölçülebilmektedir ve bu sayede oluşturulacak deney grupları sayısal olarak karşılaştırılabilmektedir. Üretilen sayısal veri, skar dokusunun en yüksek olduğu alandan bir histolojik kesit alındıktan sonra kartilajın üstündeki doku alanının, skar etrafındaki sağlam dokuya göre tahmin edilen normal dokunun alanına bölünmesiyle elde edilen skar elevasyon indeksidir (SEİ).

$SEİ = \frac{\text{Skarlı alandaki neodermis kalınlığı}}{\text{yaralanmamış alandaki dermis kalınlığı}}$

3.2. Deney Protokolü

3.2.1. Deney Grupları

9 adet, ağırlıkları 3000-3500 gram arasında olan, Yeni Zelanda tipi dişi tavşanlar, standart tavşan yemi ve musluk suyu ile 12 saat gece, 12 saat gündüz

ortamında, sürekli 20°C oda sıcaklığı sağlanarak ve klimayla havalandırılarak muhafaza edildi. Denekler 1'den 9'a kadar numaralandırıldı. Randomize olarak 3 ayrı gruba ayrıldı. Gruplar tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Deney Grupları

Grup 1	Kontrol	n=3
Grup 2	Steroid	n=3
Grup 3	İnsülin	n=3

3.2.2. Anestezi

Anestezi, 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, EWL Eczacıbaşı Warner Lambert İlaç Sanayi ve Ticaret A.S., İstanbul) ve 5 mg/kg Ksilazin (Rompun® Bayer İstanbul) intra muskuler uygulanarak yapıldı ve yaklaşık 10 dakika sonra derin sedasyon sağlandı.

3.2.3. Cerrahi Yöntem

İlk gün, derin sedasyon sağlandıktan sonra, tavşanların kulaklarının iç yüzlerine eşit aralık olacak şekilde 4'er adet işaretleme yapıldı (Şekil 6). Povidon iyodür ile asepsi sağlandıktan sonra her bir işaretli alana 6mm'lik punch biyopsi aleti ile insizyonlar yapıldı. Sonrasında 4x loupe eşliğinde penset ve perikondrium elevatörü yardımı ile subperikondriyal diseksiyonlar yapılarak, her bir kulakta 4'er adet kartilaj dokunun açıkta kaldığı 6'şar mm'lik tam kat defektler oluşturuldu (Şekil 7 ve 8). Oluşturulan defektler, yarı geçirgen şeffaf pansuman malzemesi (Tegaderm, 3M, Minnesota, ABD) kapatıldıktan sonra sekonder iyileşmeye bırakıldı (Şekil 9). Denekler, yara yeri enfeksiyonu ve pansuman gerekliliği açısından günlük takip edildi.



Şekil 5. Deneyde Kullanılan Cerrahi Aletler



Şekil 6. Deney Tavşanlarının Kulaklarının İç Yüzlerine Yapılan İşaretlemeler



Şekil 7. Punch Biyopsi Aleti ile İnsizyon ve Subperikondrial Diseksiyon Aşaması



Şekil 8. Deney Tavşanlarının Kulaklarında Oluşturulan 6 Mm Çaplı Sirküler Defektler



Şekil 9. Cerrahi işlem sonrası pansuman

3.2.4. Enjeksiyon

Deneyin 15. gününde, tüm yaraların tamamen epitelize olduğu, çevre dokuya göre daha kabarıklık ve palpasyonda sert olduğu gözlenerek, hipertrofik skar modelinin oluştuğu teyit edildi. Kontrol grubu olarak planlanmış Grup 1'deki deneklerde oluşturulan her bir hipertrofik skara 0,1ml serum fizyolojik (%0,9 NaCl) intralezyonel enjekte edildi. Grup 2'de ki deneklerde oluşturulan her bir hipertrofik skara 0,1ml'de 0,8mg olacak şekilde Kenacort-A ® (Triamsinolon asetonid)

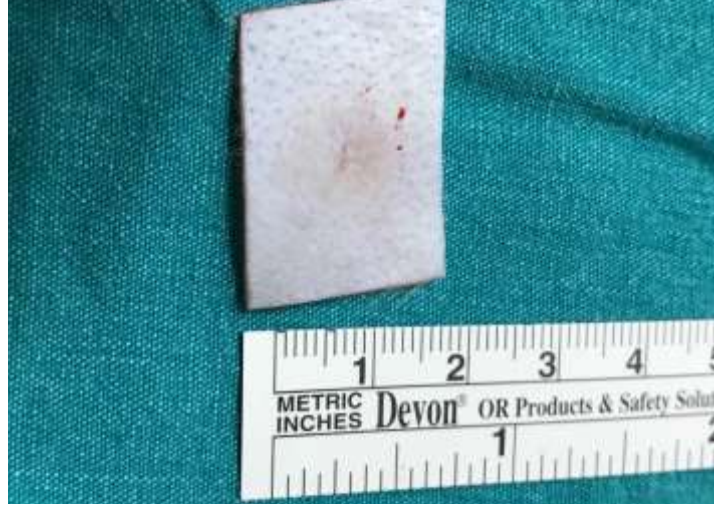
intralezyonel enjekte edildi. Grup 3'te ki deneklerde oluşturulan her bir hipertrofik skara 0,1 IU Insulatard ® HM (Novo Nordisk) enjekte edildi (Şekil 10).



Şekil 10. Oluşturulan hipertrofik skar modelinde intralezyonel enjeksiyon

3.2.5. Örneklerin Toplanması

40. günde tüm deneklere yüksek doz anestezi ile ötenazi uygulandı. Histolojik inceleme için her tavşanda bulunan 8 adet hipertrofik skar, kenarlarında 5mm sağlam cilt içeren kare şeklindeki bloklar halinde, zemine kartilajla birlikte, kulak posteriorundaki cilt spesimen dışında bırakılarak çıkarılarak eksize edildi (Şekil 11), nötral tamponlanmış %10 formaldehit solüsyon içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi.



Şekil 11. 40. Gün patolojik inceleme öncesi eksize edilmiş spesimen

3.3. Değerlendirme

Toplam 40 gün süren deney sürecinin sonunda hiçbir denek kaybedilmedi, enfeksiyon bulgusuna rastlanmadı ve tüm denekler değerlendirmeye alındı.

3.3.1. Klinik Değerlendirme

Deneklerin kulaklarına yapılmış olan pansumanların 5 ila 7 gün içerisinde kendiliğinden düştüğü gözlemlendi. Düşmüş olan pansumanlar epitelizasyon tamamlanana kadar yenilendi ve epitelizasyon sonrası açık bırakıldı. Bu süreçte yaralar enfeksiyon açısından klinik gözlem yapılarak değerlendirildi. Postoperatif 15. günde tüm deneklerde hipertrofik skar modelinin oluştuğu gözlemlendi.

0. gün, 7. gün, 15. gün, 28. gün ve deneyin sonlandırıldığı 40. gün aynı laboratuvarında aynı mesafeden aynı fotoğraf makinası ile deneklerin kulaklarına fotoğraflama yapıldı.

Hipertrofik skarlar, 15. gün, 28. Gün ve 40. günde inspeksiyonda renk ve palpasyonda sertlik açısından fizik muayene ile değerlendirildi ve kaydedildi.

3.3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'nda, alınan tüm dokular (her tavşandan 8 adet olmak üzere; her gruptan 24, toplam 72 doku) nötral tamponlanmış %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde 72 saat fikse edildi. Fikse edilen dokular ışık mikroskopunda incelenmek üzere Leica ASP® 300 (Leica microsystems, Germany) otomatik vakumlu doku takip cihazında takip edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan Leica RM® 2135 (Leica microsystems, Germany) marka rotary mikrotom cihazı ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Lamlara alınan bu kesitler normal histopatolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (HE) ve Masson-Trikrom (MT) boya ile boyandı.

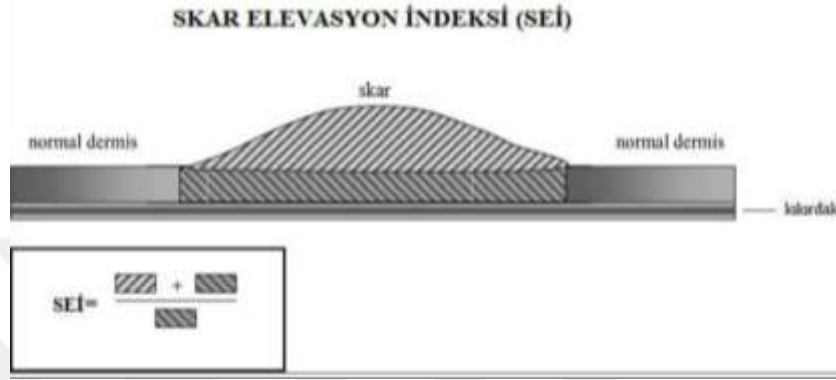
Hazırlanan preparatlar Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda Olympus BX53F (Olympus, Tokyo, Japan) ışık mikroskopunda değerlendirildi. Daha sonra Olympus E-330 fotoğraf makinası ile fotoğrafları çekildi.

Her bir skar dokusu için HE ile boyanan kesitlerde skar elevasyon indeksi (SEİ), epidermal kalınlık indeksi (EKİ), vaskülarizasyon ve fibroblast sayısı için kantitatif değerlendirmeler, inflamasyon için ise semikantitatif değerlendirmeler yapılmıştır. Ayrıca kollajen yoğunluğunun değerlendirmek için MT ile boyanan preparatlarda semikantitatif değerlendirme yapılmıştır.

3.3.2.1. Skar Elevasyon İndeksi (SEİ)

Skar elevasyon indeksi, skarlı dokudaki dermal hipertrofi derecesini kantitatif olarak değerlendirebilmek için ilk kez 1997 yılında Morris ve arkadaşları tarafından kullanılmış ve günümüzde deneysel çalışmalarda halen kullanılmakta olan bir değerlendirme yöntemidir.(89) Bu indeks, skarlı alanda yeni oluşmuş dermis (neodermis) alanının, yaralanmamış dermis alanına oranıdır. SKİ >1 olması skarın hipertrofik olarak iyileştiğini, SKİ <1 olması ise skarın atrofik olarak iyileştiğini göstermektedir.

Skar elevasyon indeksi, hipertrofik skarlarda tabanda kartilajdan en tepe noktada skar yüzeyini örten epitelin bazal membranına uzanan dik çizginin mikrometre cinsinden uzunluğunun, skarsız alandaki kartilaj ve intakt yüzey epitelinin bazal membranı arasına çizilen dik çizginin mikrometre cinsinden uzunluğuna oranı olarak tanımlanmıştır (Şekil 12).



Şekil 12. Skar Elevasyon İndeksinin Hesaplanması (Morris ve arkadaşlarından alınarak düzenlendi)

3.3.2.2. Epidermal kalınlık indeksi (EKİ)

Tandara ve arkadaşları tarafından tariflenmiş olan EKİ, epidermal hipertrofiyi derecelendirmek için kullanılmaktadır (90). Bu indeks, skarlı alanda yeni oluşmuş epidermis (neoepidermis) alanının, yaralanmamış epidermis alanına oranıdır (Şekil 13). EKİ >1 olması, epidermal hipertrofiyi belirtir.



$$EKİ = A/B$$

Şekil 13. Epidermal Kalınlık İndeksinin Hesaplanması (Tandara ve arkadaşlarından alınarak düzenlendi)

3.3.2.3. Diğer parametreler

Vaskülarite değerlendirmesinde, X400 büyütme altında yoğunluğun en fazla olduğu 5 farklı alanda lümenli kapiller damarlar sayılarak ortalaması alındı ve her spesimen için ortalama lümenli kapiller sayısı belirlendi.

Fibroblast sayısı için X400 büyütme altında fibroblast yoğunluğunun en fazla olduğu 3 farklı alanda fibroblast sayısı belirlenerek ortalaması alındı.

İnflamasyon derecesi, X400 büyütme alanında akut inflamatuvar hücreler (nötrofiller) ve kronik inflamatuvar hücrelerin (lenfosit ve plazma hücreleri) yoğunluğu semikantitatif olarak 0-3 arasında skorlanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Semikantitatif İnflamasyon Skorlaması

İnflamasyon derecesi	Skor
İnflamatuvar hücre yok	0
Hafif derece inflamasyon	1
Orta derece inflamasyon	2
Belirgin inflamasyon	3

Kollajen yoğunluğu, MT ile boyalı preparatlarda hafif, orta ve yoğun olmak üzere semikantitatif olarak 1-3 arasında skorlanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Semikantitatif kollajen yoğunluğu skorlaması

Kollajen yoğunluğu	Skor
Hafif	1
Orta	2
Şiddetli	3

3.4. İstatistiksel Yöntem

Verilerin analiz aşamasında SPSS 23,0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Değerlendirme sonuçlarının tanımlayıcı istatistikleri; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortanca, standart sapma, minimum, maksimum olarak verilmiştir. Bağımsız gruplarda kategorik değişkenlerin

oranları arasındaki farkların analizinde ki-kare testi kullanılmıştır. Verilerin normal dağılım koşullarına uygunluğunun değerlendirilebilmesi için Shapiro-Wilk Testi kullanılmıştır. Normal dağılım koşulları sağlanmadığından bağımsız üç veya daha fazla grup arasında sayısal değişkenlerin karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Post hoc analizler için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Kontrol Grubu

Kontrol grubundaki 3 tavşanın 28 ve 40'ıncı günlerdeki hipertrofik skarları fotoğraflanarak kaydedilmiştir. 28'inci gün kontrol grubu hipertrofik skarları, steroid ve insülin gruplarına göre daha hiperemik ve kabarıktı. (Şekil 14). 40'ıncı gün kontrol grubu hipertrofik skarları 28. güne oranla daha soluk ve yumuşak olmasına rağmen, diğer 2 gruba göre daha hiperemik, kabarık ve palpasyonda sertti (Şekil 15).



Şekil 14. Kontrol Grubundaki Tavşanların 28. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü



Şekil 15. Kontrol Grubundaki Tavşanların 40. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü

Steroid Grubu

28ve 40'ıncı günlerde hipertrofik skarlar fotoğraflanarak kaydedilmiştir. Hem 28. günde hem de deneyin sonlandırıldığı 40. günde hipertrofik skarlar diğer gruplara göre daha soluk, daha düz ve daha yumuşaktı. En iyi makroskopik sonuçlar bu grupta izlendi (Şekil 16 ve 17).



Şekil 16. Steroid Grubundaki Tavşanların 28. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü



Şekil 17. Steroid Grubundaki Tavşanların 40. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü

İnsülin Grubu

İnsülin grubundaki 3 tavşanın 28 ve 40'ıncı günlerdeki hipertrofik skarları fotoğraflanarak kaydedilmiştir. Hem 28'incigünde hem de 40. gündeki hipertrofik skarlar steroid grubu ile benzer özellikleri taşımakla birlikte steroid grubuna göre çok az daha sert ve kabarıktı (Şekil 18 ve 19).



Şekil 18. İnsülin Grubundaki Tavşanların 28. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü



Şekil 19. İnsülin Grubundaki Tavşanların 40. Günde Hipertrofik Skarlarının Görüntüsü

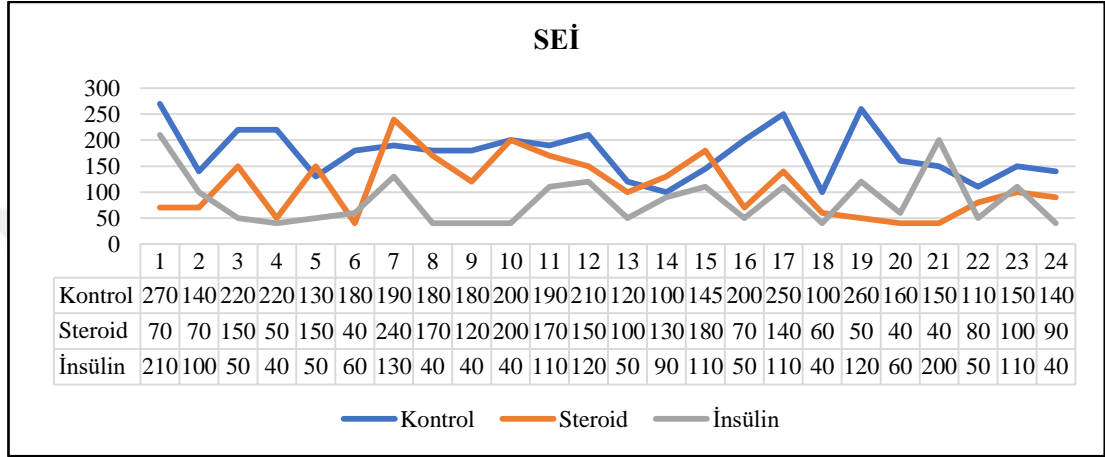
4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Skar Elevasyon İndeksi

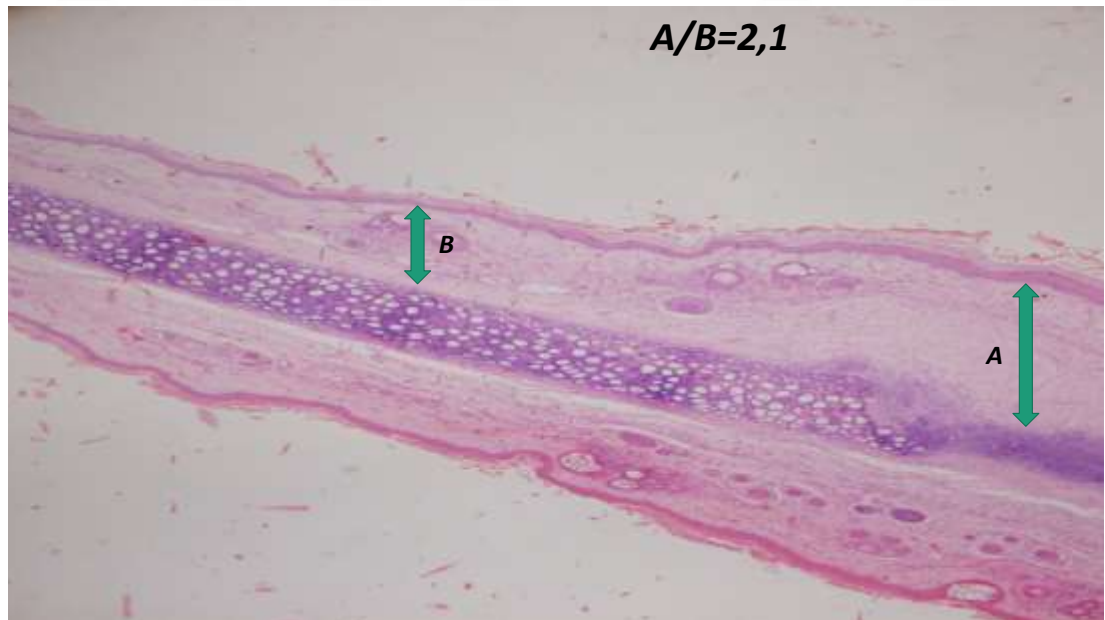
SEİ bulgularını karşılaştırdığımızda; kontrol grubundaki indeks 1,55 ile 2,80 arasında, ortalama $2,15 \pm 0,68$, steroid grubundaki indeks 1,13 ile 1,82 arasında, ortalama $1,46 \pm 0,03$, insülin grubundaki indeks ise 1,22 ile 2,05 arasında, ortalama $1,59 \pm 0,04$ olarak bulunmuştur. (Tablo 5) (Grafik 1) Bu değerler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, steroid ve insülin grubu SEİ, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p < 0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan olduğunu değerlendirmek için yapılan post hoc analizinde hem steroid grubu hem de insülin grubu SEİ değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0,017$). Ancak steroid grubunun SEİ değerinin, insülin grubundan daha düşük olmasına rağmen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,017$).

Tablo 5. Skar Elevasyon İndekslerinin Gruplara Göre Karşılaştırılması

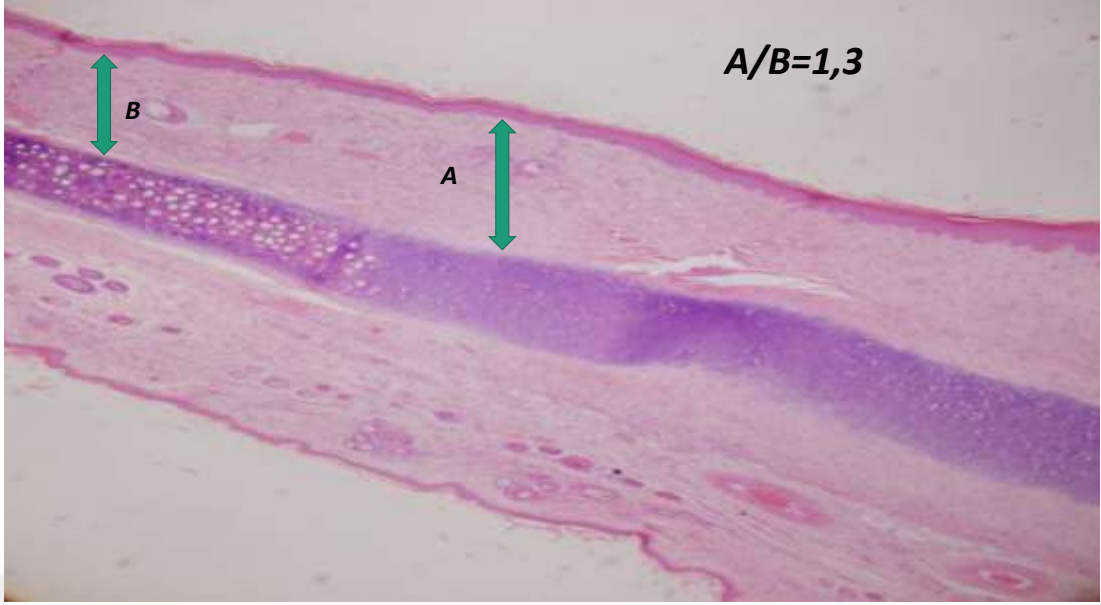
SEİ	Min.	Maks.	Median	Ort±Sd
Kontrol	1,55	2,80	2,23	2,15±0,68
Steroid	1,13	1,82	1,45	1,46±0,03
İnsülin	1,22	2,05	1,54	1,59±0,04



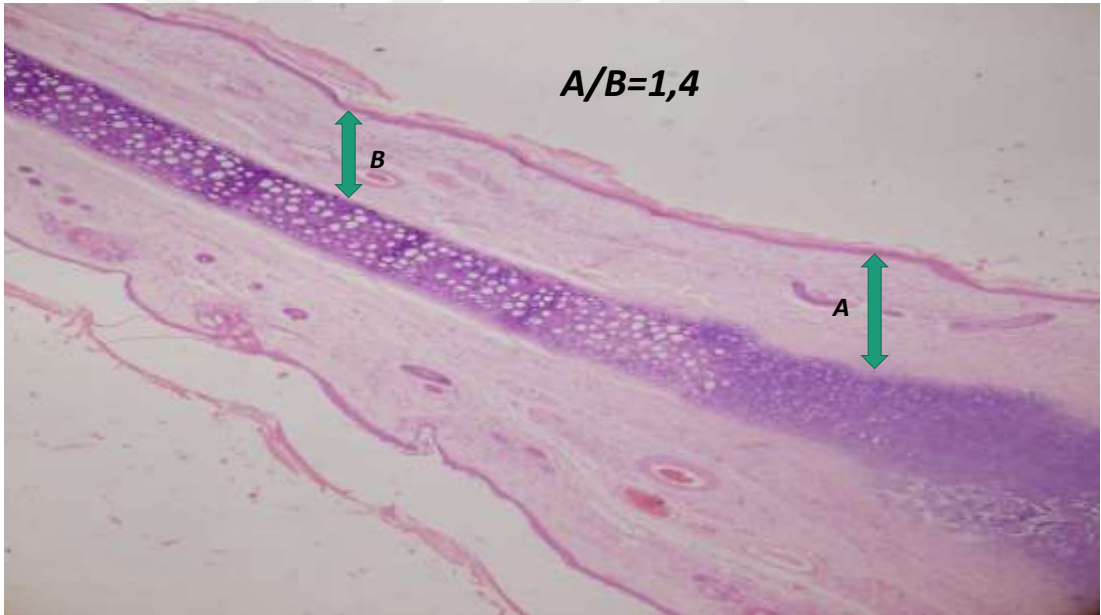
Grafik 1. Grupların SEİ Değerlerinin Grafik Üzerinde Gösterilmesi



Şekil 20. Kontrol Grubu SEİ Örneği (HE, X40)



Şekil 21. Steroid Grubu SEİ Örneği (HE, X40)



Şekil 22. İnsülin Grubu SEİ Örneği (HE, X40)

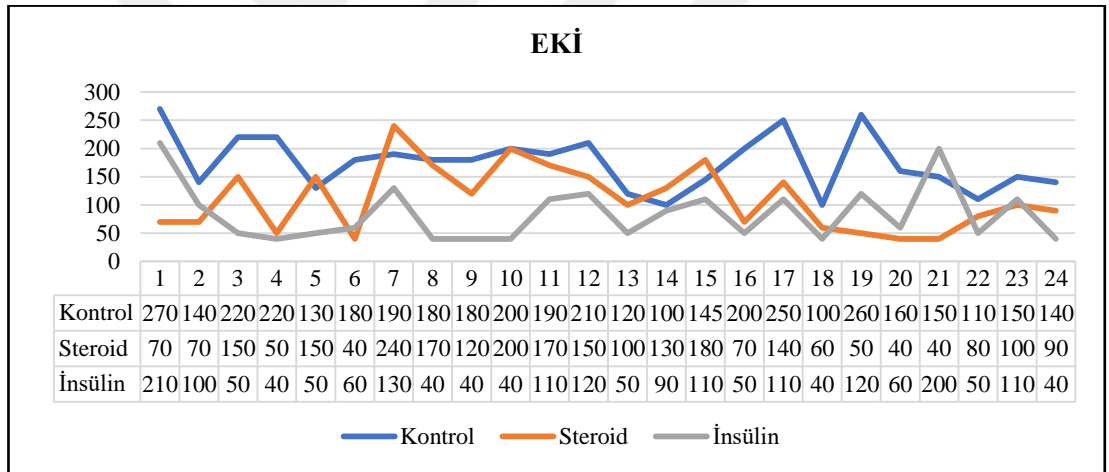
4.2.2. Epidermal Kalınlık İndeksi

EKİ bulgularını karşılaştırdığımızda; kontrol grubundaki indeks 2,04 ile 3,44 arasında, ortalama $2,76 \pm 0,07$, steroid grubundaki indeks 1,26 ile 2,20 arasında, ortalama $1,73 \pm 0,04$, insülin grubundaki indeks ise 1,56 ile 2,56 arasında, ortalama $1,94 \pm 0,04$ olarak bulunmuştur (Tablo 6), (Grafik 2). Bu değerler istatistiksel olarak

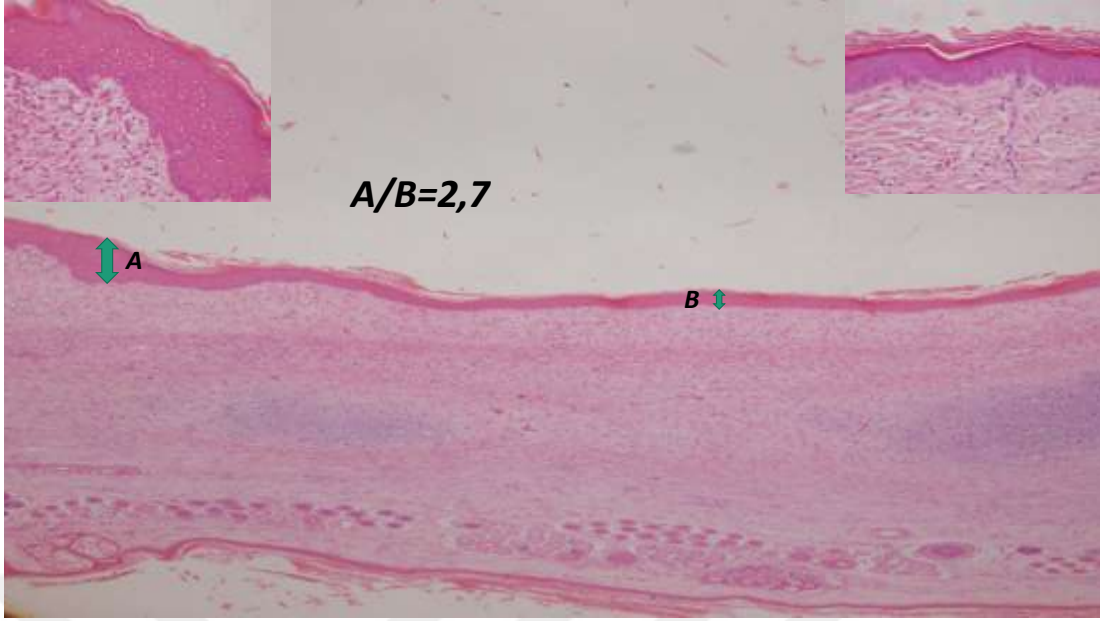
değerlendirildiğinde, steroid ve insülin grubu EKİ, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p<0.05$). Anlamlılığın hangi gruptan olduğunu değerlendirmek için yapılan post hoc analizinde hem steroid grubu hem de insülin grubu SEİ değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.017$). Ayrıca SEİ'nden farklı olarak steroid grubunun EKİ değerinin, insülin grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.017$).

Tablo 6. Epidermal Kalınlık İndekslerinin Gruplara Göre Karşılaştırılması

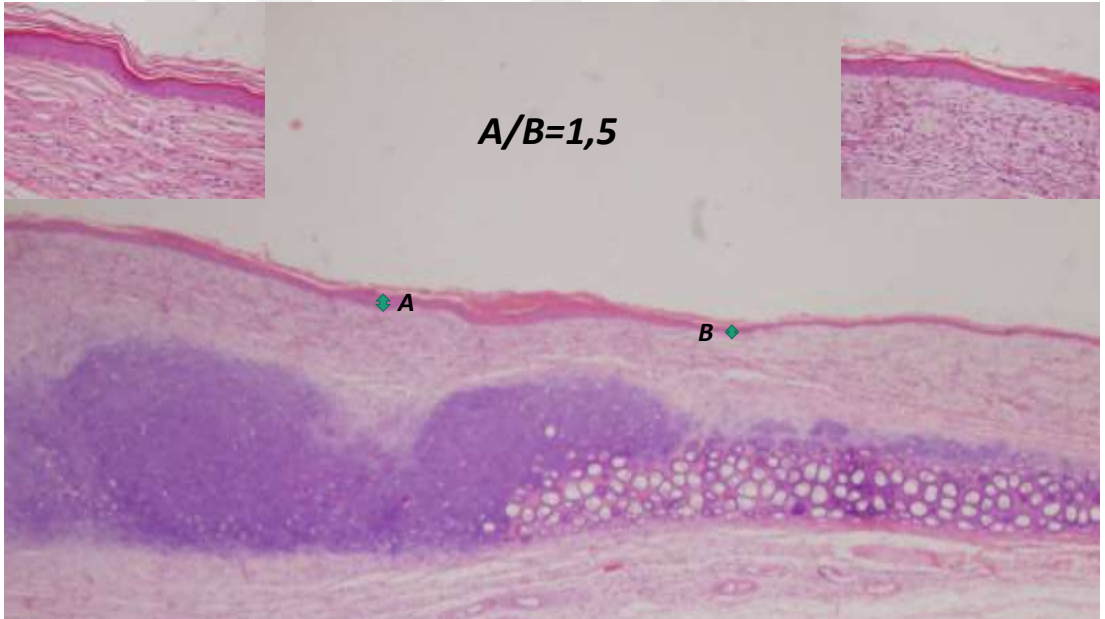
SEİ	Min.	Maks.	Median	Ort±Sd
Kontrol	2,04	3,44	2,82	2,76±0,07
Steroid	1,26	2,20	1,70	1,73±0,04
İnsülin	1,56	2,56	1,94	1,94±0,04



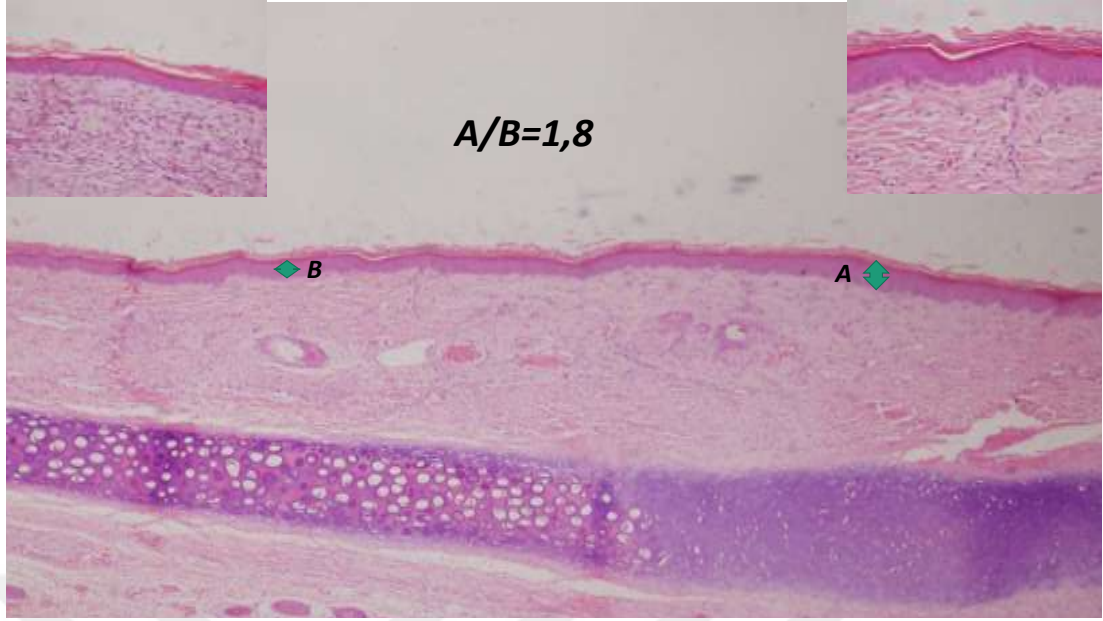
Grafik 2. Grupların EKİ Değerlerinin Grafik Üzerinde Gösterilmesi



Şekil 23. Kontrol Grubu EKİ Örneği (HE, X40 ve X400)



Şekil 24. Steroid Grubu EKİ Örneği (HE, X40 ve X400)



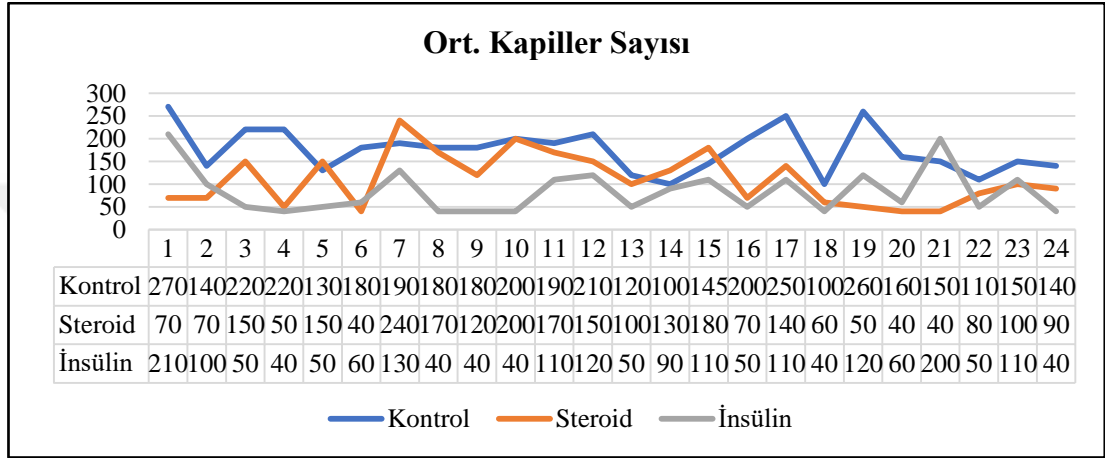
Şekil 25. İnsülin Grubu EKİ Örneği (HE, X40 ve X400)

4.2.3. Vaskülarite Değerlendirilmesi

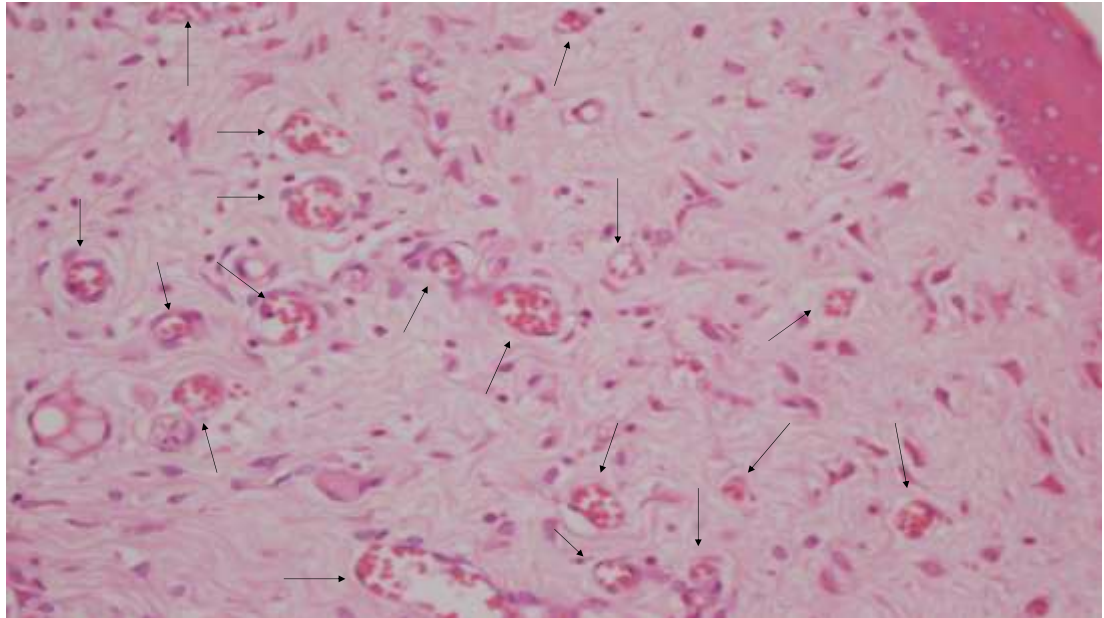
Kontrol grubundaki kapiller sayılarının ortalaması 9,33 ile 38,33 arasında, ortalama $16,87 \pm 1,49$, steroid grubunda 4,00 ile 14,67 arasında, ortalama $7,81 \pm 0,58$, insülin grubunda ise 3,33 ile 14,00 arasında, ortalama $8,55 \pm 0,71$ olarak bulunmuştur. (Tablo 7), (Grafik 3) Bu değerler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, steroid ve insülin grubu ortalama kapiller sayıları, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p < 0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan olduğunu değerlendirmek için yapılan post hoc analizinde hem steroid grubu hem de insülin grubu ortalama kapiller sayıları, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0,017$). Ancak steroid grubunun ortalama kapiller sayısı, insülin grubundan daha düşük olmasına rağmen, iki grup arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,017$).

Tablo 7. 5 Farklı X400 Büyütme Alanındaki Kapiller Sayılarının Ortalamalarının Gruplara Göre Karşılaştırılması

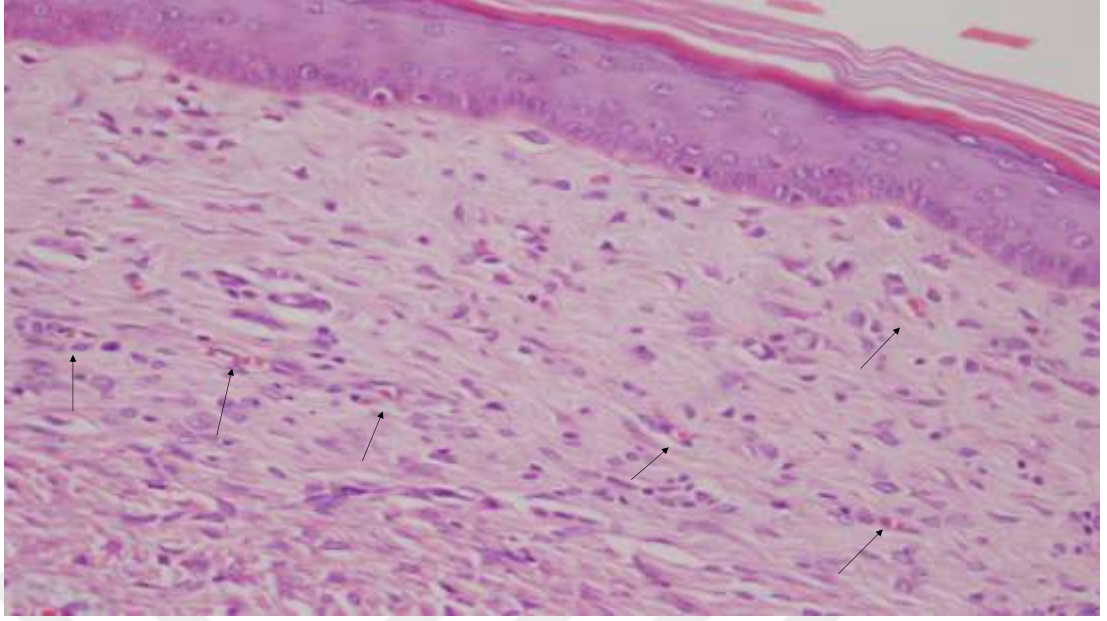
Ortalama Kapiller Sayısı	Min.	Maks.	Median	Ort±Sd
Kontrol	9,33	38,33	15,33	16,87±1,49
Steroid	4,00	14,67	7,33	7,81±0,58
İnsülin	3,33	14,00	8,83	8,55±0,71



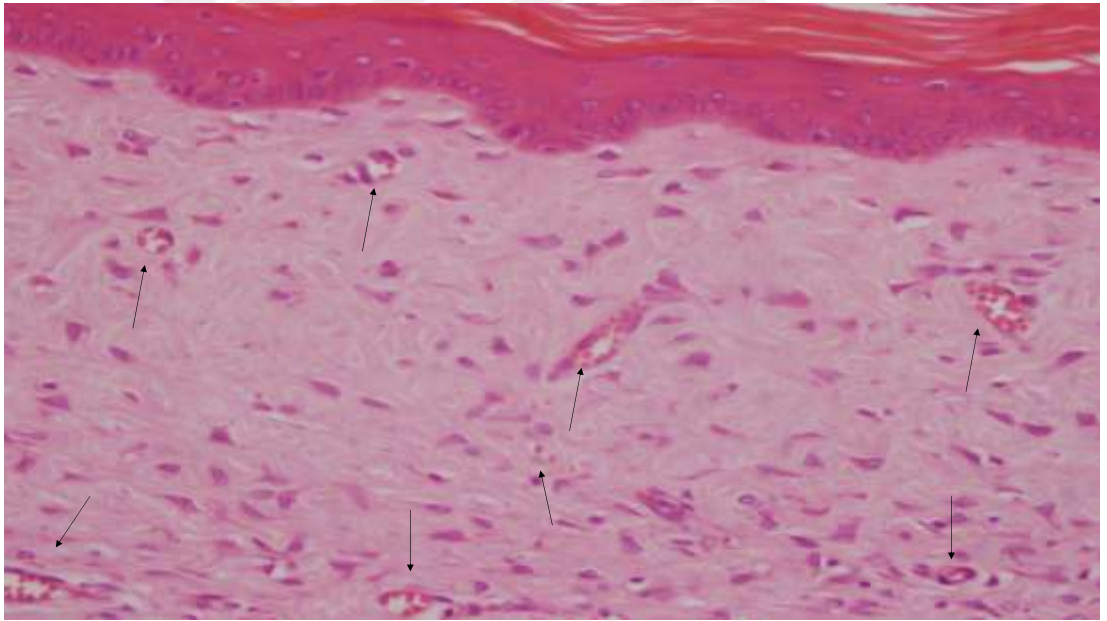
Grafik 3. Grupların Ortalama Kapiller Sayılarının Grafik Üzerinde Gösterilmesi



Şekil 26. Kontrol Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Lümenli Kapiller Yapılar İşaretlenmiştir (→)



Şekil 27. Steroid Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Lümenli Kapiller Yapılar İşaretlenmiştir (→)



Şekil 28. İnsülin Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Lümenli Kapiller Yapılar İşaretlenmiştir (→)

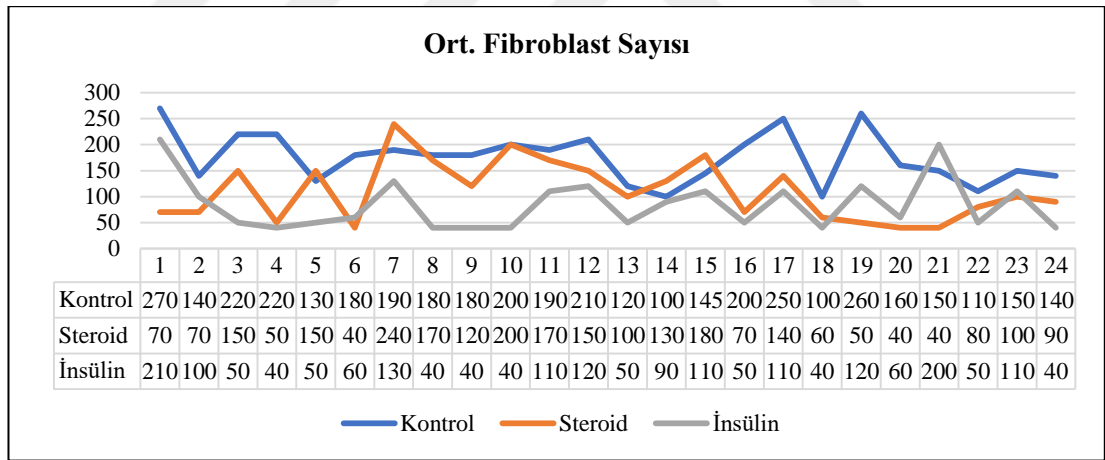
4.2.4. Fibroblast Sayılarının Değerlendirilmesi

Kontrol grubundaki ortalama fibroblast sayıları 100 ile 270 arasında, ortalama $174,79 \pm 9,91$, steroid grubunda 40 ile 240 arasında ortalama $110,83 \pm 11,57$, insülin grubunda ise 40 ile 210 arasında, ortalama $84,17 \pm 10,03$ olarak bulunmuştur. (Tablo 8)

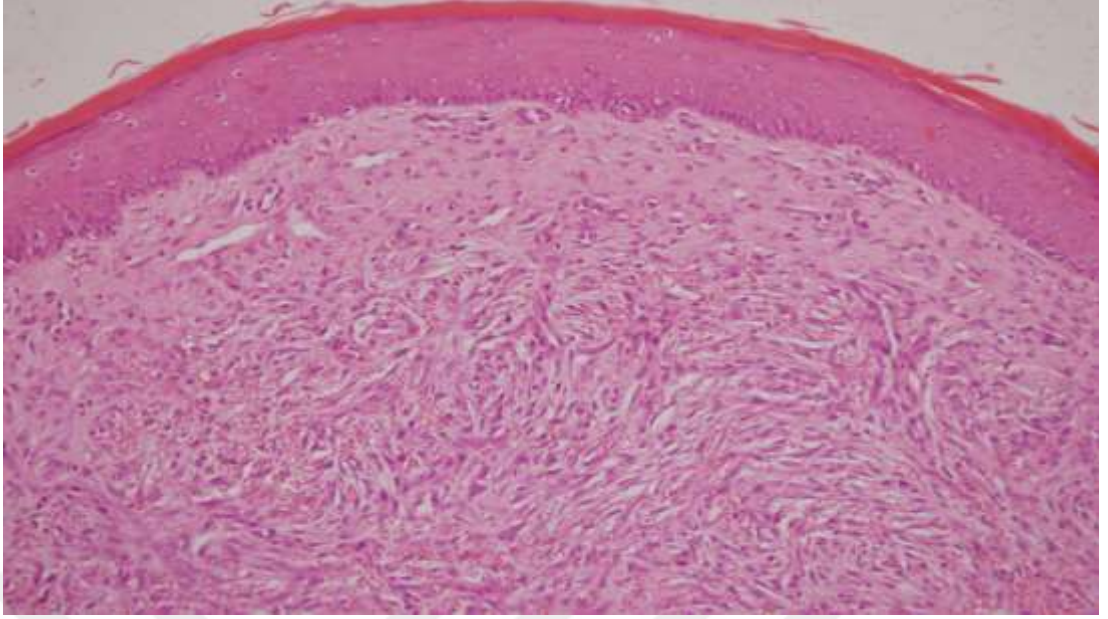
(Grafik 4) Bu değerler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, steroid ve insülin grubu ortalama fibroblast sayıları, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p<0.05$). Anlamlılığın hangi gruptan olduğunu değerlendirmek için yapılan post hoc analizinde hem steroid grubu hem de insülin grubu ortalama kapiller sayıları, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.017$). Ancak insülin grubunun ortalama fibroblast sayısı, steroid grubundan daha düşük olmasına rağmen, iki grup arasındaki bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0.017$).

Tablo 8. 3 Farklı X400 Büyütme Alanındaki Fibroblast Sayılarının Ortalamalarının Gruplara Göre Karşılaştırılması

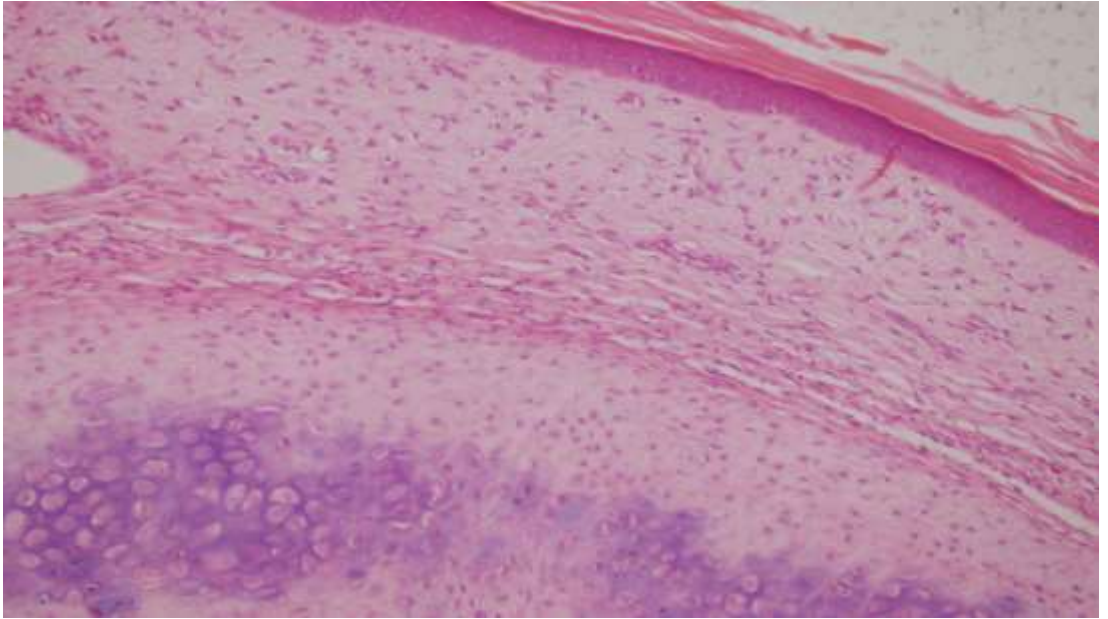
Ortalama Fibroblast Sayısı	Min.	Maks.	Median	Ort±Sd
Kontrol	100	270	180	174,79±9,91
Steroid	40	240	100	110,83±11,57
İnsülin	40	210	60	84,17±10,03



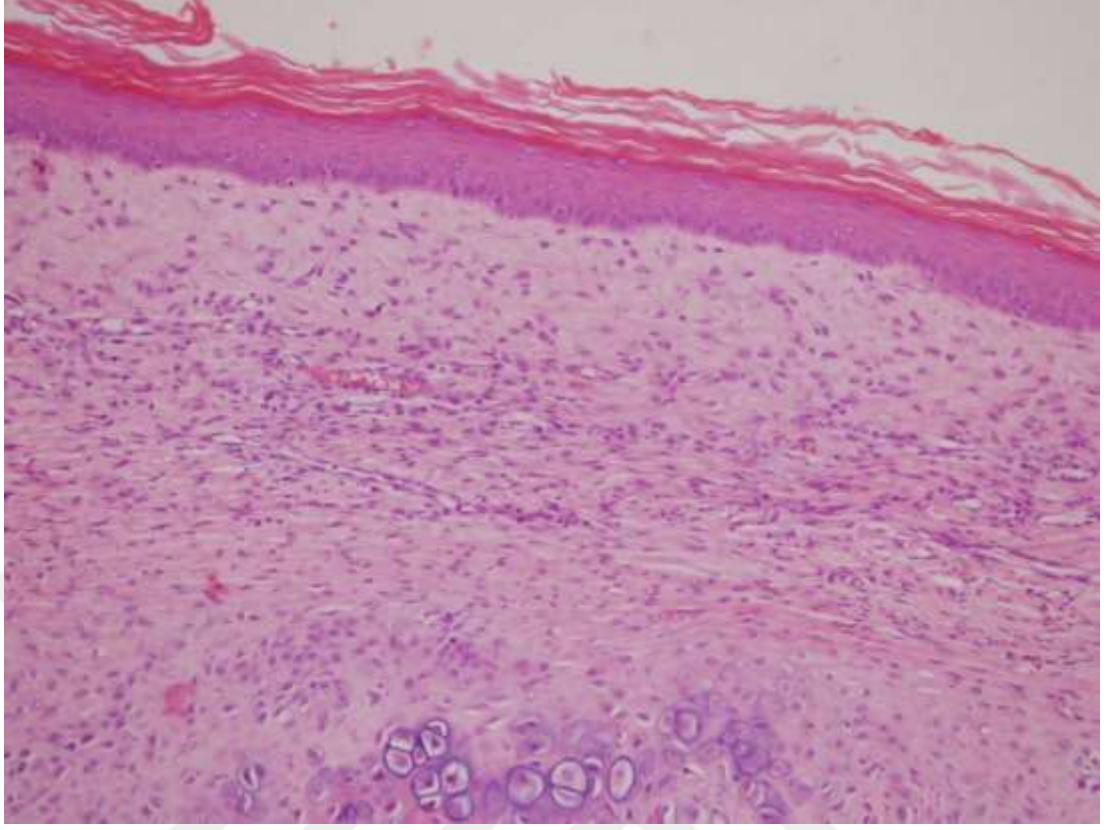
Grafik 4. Grupların Ortalama Fibroblast Sayılarının Grafik Üzerinde Gösterilmesi



Şekil 29. Kontrol Grubuna (HE, X200) Ait Bir Spesimende Yoğun Miktardaki Fibroblastlar



Şekil 30. Steroid Grubuna (HE, X200) ait Bir Spesimende Kontrol Grubuna Göre Daha Az Miktardaki Fibroblastlar



Şekil 31. İnsülin Grubuna (HE, X200) Ait Bir Spesimende Steroid Grubuna Benzer Şekilde Az Miktardaki Fibroblastlar

4.2.5. İnflamasyon Şiddetinin Değerlendirilmesi

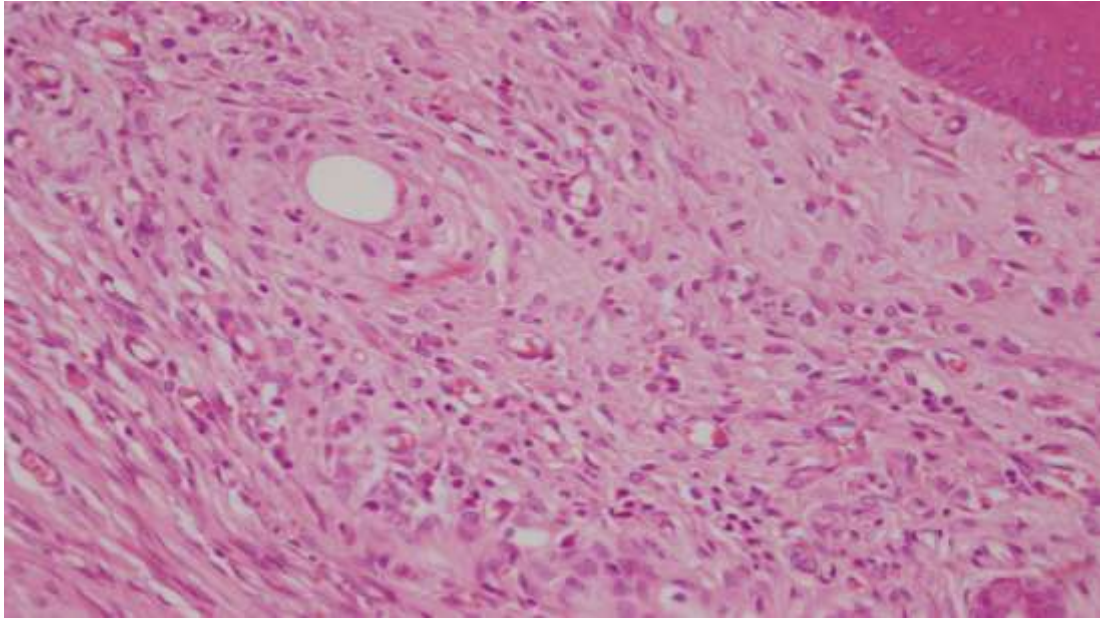
Kontrol grubunun %87,5'inde orta şiddetli, %12,5'inde belirgin şiddetli inflamasyon gözlenirken, hafif şiddetli inflamasyon gözlenmemiştir. Steroid grubunda, %41,7 hafif şiddetli, %58,3 orta şiddetli inflamasyon gözlenmiş, belirgin şiddetli inflamasyon gözlenmemiştir. İnsülin grubunda ise %54,2 hafif şiddetli, %37,5 orta şiddetli ve %8,3 belirgin şiddetli inflamasyon gözlenmiştir. (Tablo 9) İstatistiksel değerlendirme için spesimen sayısı yetersiz geldiğinden, orta şiddetli ve belirgin şiddetli inflamasyon tek bir kategori şeklinde alınarak hafif şiddetli inflamasyon ile karşılaştırıldı.

Hafif şiddetli ile orta-belirgin şiddetli inflamasyon grupları arası karşılaştırıldığında, steroid ve insülin gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde hafif inflamasyon gözlenmiştir ($p < 0.05$). İstatistiksel anlamlı farklılığın, hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek üzere yapılan post hoc analizinde hem steroid grubu hem de insülin grubunda inflamasyonun kontrol

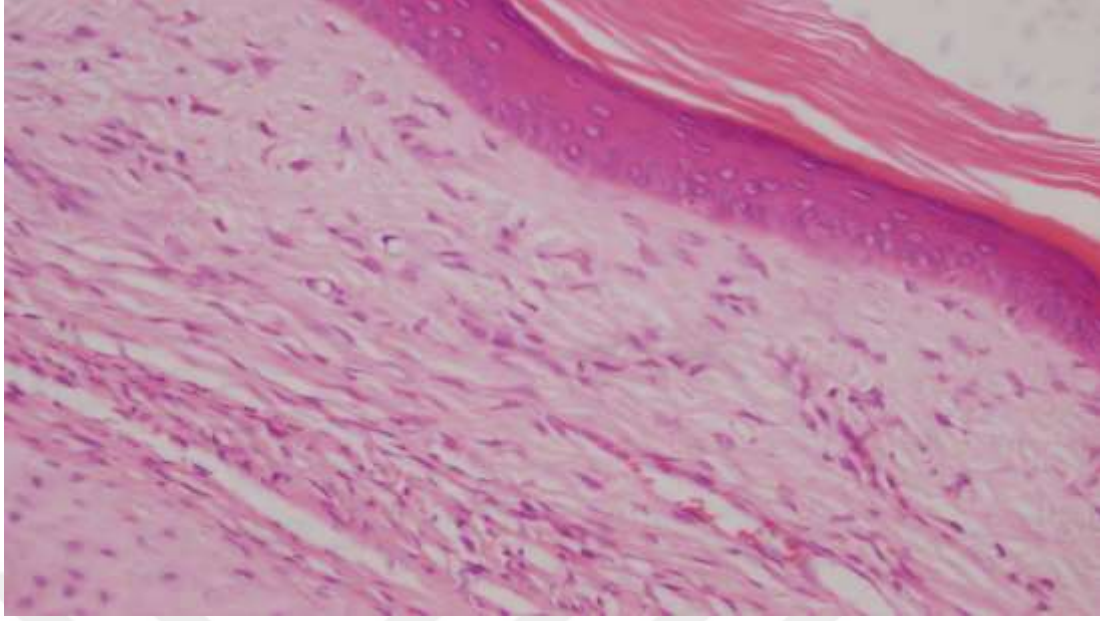
grubuna göre anlamlı olarak hafif şiddette olduğu bulunmuştur ($p<0.017$). Ancak steroid grubu ile insülin grubu arasında inflamasyon şiddeti açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı sonucuna varılmıştır ($p>0.017$).

Tablo 9. İnflamasyon Şiddetinin Gruplara Göre Karşılaştırılması

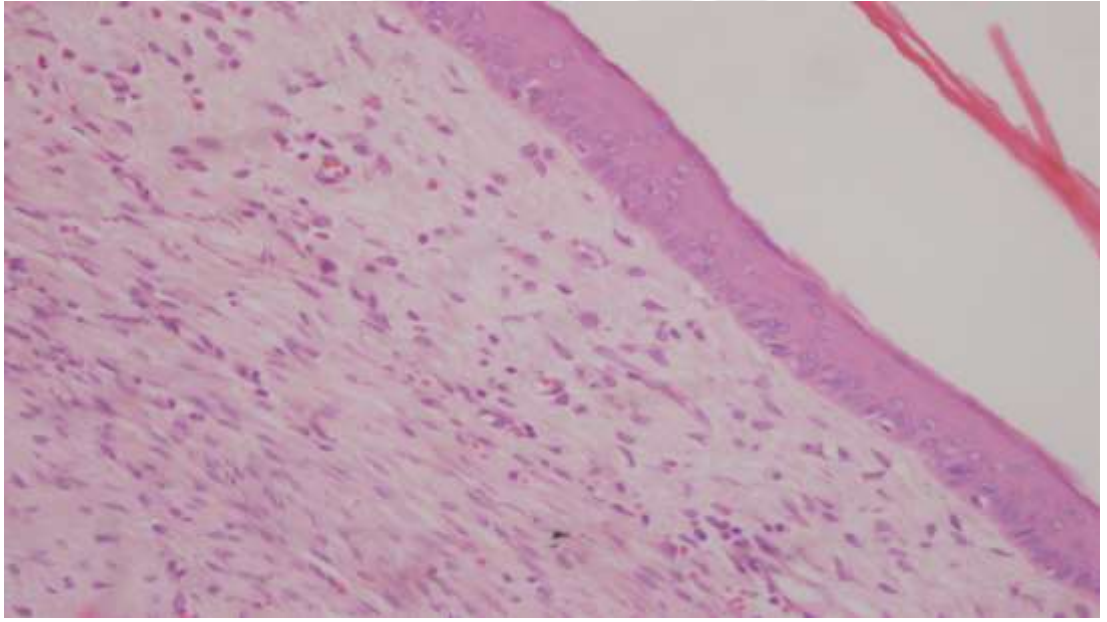
İnflamasyon Skoru		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Belirgin)	Toplam
Kontrol	Sayı	0	0	21	3	24
	Yüzde	0,00	0,00	87,5	12,5	100,00
Steroid	Sayı	0	10	14	0	24
	Yüzde	0,00	41,74	58,3	0,00	100,00
İnsülin	Sayı	0	13	9	2	24
	Yüzde	0,00	54,2	37,5	8,3	100,00



Şekil 32. Kontrol Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Belirgin Şiddetli İnflamasyon Görülmekte



Şekil 33. Steroid Grubuna (HEX, 400) Ait Bir Spesimende Hafif Şiddetli İnflamasyon Görülmekte



Şekil 34. İnsülin Grubuna (HE, X400) Ait Bir Spesimende Hafif Şiddetli İnflamasyon Görülmekte

4.2.6. Kollajen Yoğunluğunun Değerlendirilmesi

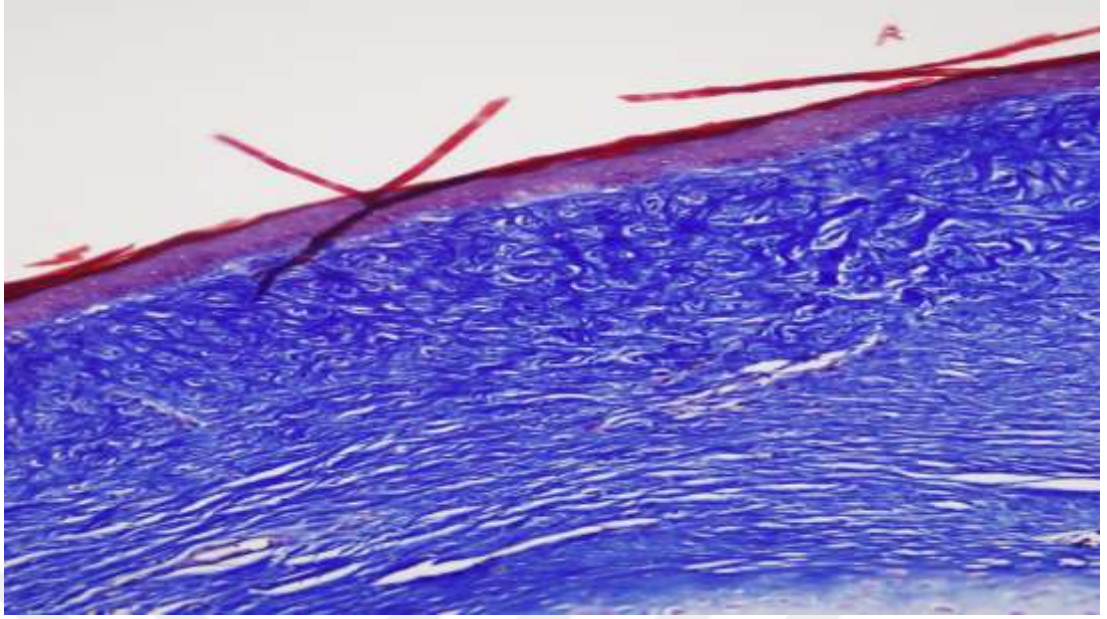
Kontrol grubunun %29,20'inde orta şiddetli, %70,80'inde belirgin şiddetli kollajenasyon gözlenirken, hafif şiddetli kollajenasyon gözlenmemiştir. Steroid gurubunda, %16,70 hafif şiddetli, %54,20 orta şiddetli ve %29,20 belirgin şiddetli

kollajenasyon gözlenmiştir. İnsülin grubunda ise %45,80 orta şiddetli ve %54,20 belirgin şiddetli kollajenasyon gözlenmiş ancak hafif şiddetli kollajenasyon gözlenmemiştir. (Tablo 10) Hafif-orta şiddetli ile belirgin şiddetli kollajenasyon grupları arası karşılaştırıldığında, steroid ve insülin gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde hafif-orta şiddetli kollajenasyon gözlenmiştir ($p<0.05$). İstatistiksel anlamlı farklılığın, hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek üzere yapılan post hoc analizinde hem steroid grubu hem de insülin grubunda kollajenasyonun kontrol grubuna göre anlamlı olarak hafif-orta şiddette olduğu bulunmuştur ($p<0.017$). Ancak steroid grubu ile insülin grubu arasında kollajenasyon şiddeti açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı sonucuna varılmıştır ($p>0.017$).

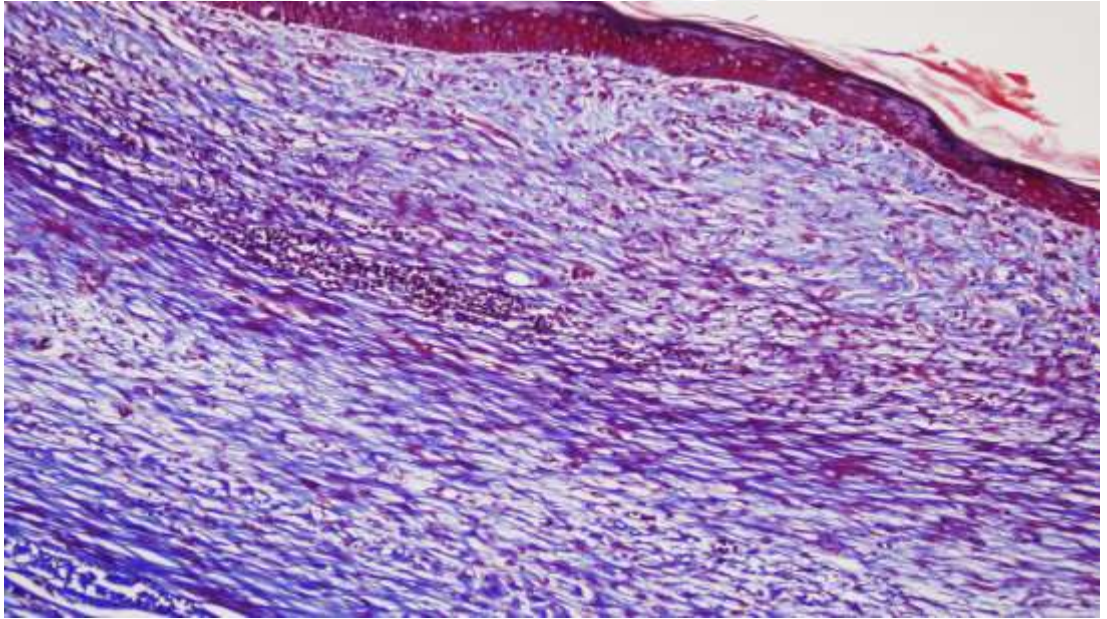
Kollajenizasyon paterni histopatolojik olarak incelendiğinde; kontrol grubunda çok sayıda, düzensiz dizilmiş, kısa ve kalın kollajen yapısı gözlenmiş, steroid ve insülin grubunda ise ince ve uzun fibriler daha düzenli ve retiküler paternde sıralanmıştı.

Tablo 10. Kollajen Yoğunluğunun Gruplara Göre Karşılaştırılması

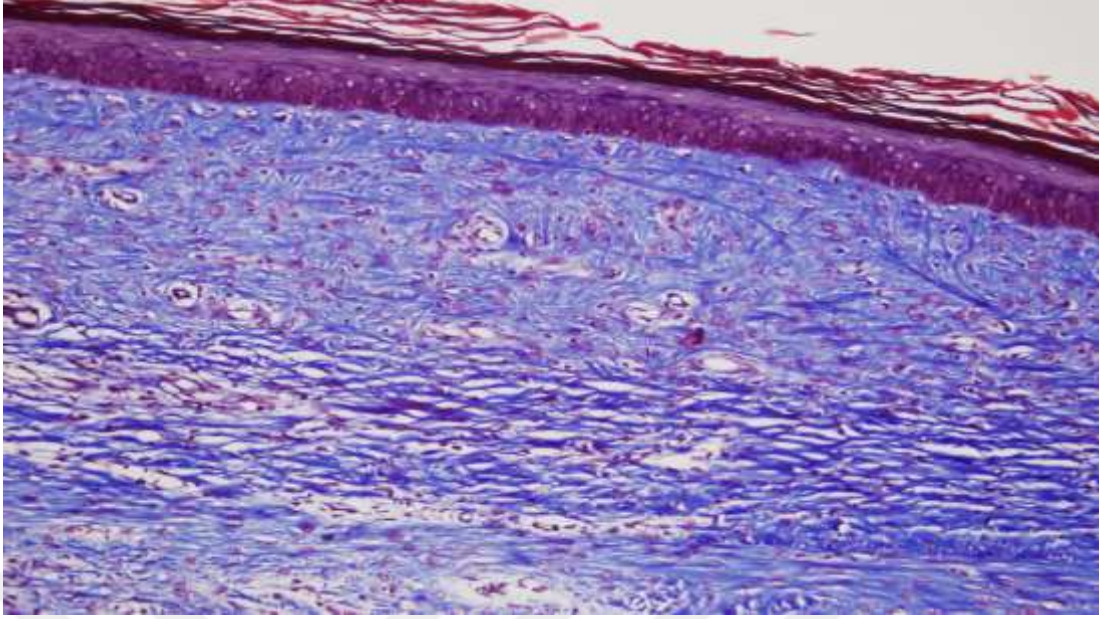
Kollajen Yoğunluğu Skoru		0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Belirgin)	Toplam
Kontrol	Sayı	0	0	7	17	24
	Yüzde	0,00	0,00	29,20	70,8	100,00
Steroid	Sayı	0	4	13	7	24
	Yüzde	0,00	16,7	54,2	29,20	100,00
İnsülin	Sayı	0	0	11	13	24
	Yüzde	0,00	0,00	45,8	54,2	100,00



Şekil 35. Kontrol Grubuna (MT, X200) Ait Bir Spesimende Yoğun Kollajenasyon Görülmekte



Şekil 36. Steroid Grubuna (HE, X200) Ait Bir Spesimende Hafif Şiddette Kollajenasyon Görülmekte



Şekil 37. İnsülin Grubuna (MT, X200) Ait Bir Spesimende Orta Şiddette Kollajenasyon Görülmekte

5. TARTIŞMA

Hipertrofik skarlar, en yaygın patolojik skarlardır ve cildin aşırı fibrozisle karakterize bir hastalıdır (91). Hipertrofik skarlar, fibroblastların aşırı proliferasyonu ve yoğun ekstraselüler matriks formasyonundan kaynaklanmaktadır (92,93). Hipertrofik skarların en yaygın semptomları; kaşıntı, ağrı, eritem ve şişliktir ve bunlarda bireylerde estetik ve fonksiyonel problemlere yol açar (94). Hastalarda fiziksel problemlere yol açmasının yanında, hastanın özgüvenini etkileyerek hastada aşağılık kompleksi gelişmesine neden olabilir ve yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyebilirler (95,96). Yapılan bir çalışmada, hipertrofik skar gelişen yanık hastalarında hastaları en çok endişelendiren komplikasyonların anormal görünüm (%75,2), kaşıntı (%73,3) ve ağrı (%67,6) olduğu bildirildi (97). Cerrahi prosedürler, travma ve özellikle yanık sonrası gelişen hipertrofik skarlar, hastalar için önemli bir endişe kaynağıdır ve klinisyenler için yönetimi güç bir sorundur.

Hipertrofik skarın etyopatogenezi, yıllardır yapılmakta olan kapsamlı incelemelere rağmen bazı sonuçlara varılsa bile hala net olarak aydınlatılamamıştır. Her ne kadar hipertrofik skarların tedavisi hakkında birçok makale yayınlanmış olsa da, henüz evrensel olarak kabul edilmiş bir tedavi protokolü mevcut değildir. Hipertrofik skarların önlenmesi en iyi strateji olmaya devam etmektedir; bu nedenle, aşırı skar geliştirmeye yatkın olan bireyler zorunlu olmayan ameliyatlardan kaçınmalıdırlar (98). Bununla birlikte hastaların çoğu matür hipertrofik skarların tedavisi için hekimlere başvurumaktadırlar.

Günümüzde hipertrofik skar için kullanılan en yaygın konservatif tedavi seçenekleri; intralezyonel steroid enjeksiyonu, topikal silikon jel uygulaması, silikon tabaka ve basınç uygulamaları, allantoin ve soğan ekstresi içeren kremler, radyoterapi, lazer, kriyoterapi ve immünmodülatörlerdir (44). Tedavi seçeneklerinin bu kadar çok olmasına rağmen, henüz evrensel olarak kabul edilmiş bir tedavi protokolünün olmaması ve yeni arayışların devam etmekte olması, hipertrofik skar etyopatogenezinin henüz net olarak aydınlatılamamış olmasından kaynaklanmaktadır.

Hipertrofik skar etyopatogenezinde rol alan basamakları tam olarak aydınlatmak, yeni ilaç hedeflerini tanımlamak ve yeni geliştirilen tedavi

modalitelerinin test edilmesi için deneysel hipertrofik skar modelleri gerekmektedir. Günümüzde deneysel hayvan modelleri, in vitro hücre kültürü ve doku mühendisliği, insan hipertrofik skarını temsil etmek için kullanılmaktadır. Hastalar üzerinde yapılan çalışmalar, hayvan ve in vitro modellerde tanımlanan potansiyel yeni anti-skar tedavilerinin değerlendirilmesi için esastır ve her zaman gerekli olacaktır. İnsanlar; etik sorunlar, yasal engeller ve ayrıca travmanın kapsamı ve süresi bakımından hastalardaki farklılıklar nedeni ile, hipertrofik skar oluşumunun etyopatogenezini araştırmak için kullanılmazlar. Hasta çalışmalarının karşılaştığı sorunların üstesinden gelmek için araştırmacılar, hayvan çalışmalarından elde ettikleri veriler ile sonuca ulaşmaya çalışmışlardır.

In vitro hücre kültürü modelleri, hipertrofik skarlardan izole edilen fibroblastların ve/veya keratinositlerin laboratuvar ortamında çoğaltılmasıyla oluşturulmaktadır. Çevresel etkilerden izole edilen hücrelere etki eden spesifik değişkenleri kontrol etmek daha kolay olduğu için hipertrofik skar patogenezinin farklı yönleri hakkında fikir edinmek için uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Ancak hayvan çalışmalarına kıyasla daha ekonomik olmasına rağmen, hipertrofik skar ortamındaki hücrelerin ve moleküllerin etkileşimini tam olarak taklit edemediği için, hiçbir zaman potansiyel skar tedavilerini test etmek için kullanılmamıştır (99).

Hayvan modelleri insan hipertrofik skarını birebir yansıtmasa da, hipertrofik skarın altında yatan mekanizmalarının aydınlatılmasında yardımcı olur ve terapötik müdahalelerin kontrollü bir ortamda çalışmasını sağlar. Literatürde birçok hayvan modeli kendi kısıtlılıkları ile tanımlanmıştır. En sık kullanılan modeller; atimik fareye heterolog hipertrofik skar implantasyonu, tavşan kulağında hipertrofik skar modeli ve domuzlarda yanık veya kısmi kalınlıkta yara modelidir. Kullanılabilecek model sayısının fazla olması, anormal yara iyileşmesinin tam olarak çözülememiş olmasını yansıtmaktadır. Her modelin belirli bir amaç için kullanılmasına rağmen, hepsi hipertrofik skar gelişimini ve ilerleme sürecini özetleyen gerçek modellerdir. Uygun modeli seçmek, iyi düşünülmüş bir çalışmanın tasarlanmasında, hastalık ve hasta sonuçlarının anlaşılmasında büyük bir etkiye sahip olabilecek çok önemli bir adımdır (100).

İlk olarak 1960'lı yılların sonlarında geliştirilen tavşan kulağı modeli, bir tavşanın kulağının ventral yüzeyinde elektrokoter, insizyonlu tıraşlama (shaving)

veya eksizyon yoluyla büyük miktarda bir yara oluşturulmasını gerektirir. Tavşan kulağındaki yara izi derecesi, insanlarda hipertrofik yara oluşumu ile karşılaştırılmıştır ve travma sonrası 2-3 hafta kadar erken bir sürede benzer yapının meydana geldiği gözlenmiştir (101,102). İncelemede lezyonlar; kabarık ve sert papüler görünümündedir, bu kabarıklığın 40 günden fazla sürdüğü bilinmektedir (89). Histopatolojik özellikler artmış kollajen lifleri, artmış vasküler doku ve artmış inflamasyon bulgularını içermektedir. Kortikosteroid tedavisinin, insanlardaki hipertrofik skar tedavisinde gözlendiği gibi, tavşan kulak modelinde de dermal kalınlık ve fibrozisi azalttığı gözlenmiştir. Bu model iyi belgelenmiştir ve hipertrofik skar tedavisi için önerilen birçok antifibrotik tedavinin etkinliğini incelemek için kullanılmıştır (103,104).

Yaptığımız çalışmada Morris ve arkadaşlarının (89) 1997 yılında yayınladığı tavşan kulağı hipertrofik skar modeli esas alındı. Bu model, insülinin antifibrotik etkinliğinin hipertrofik skar üzerine etkilerinin histolojik olarak sayısal ve karşılaştırılabilir veri üretmesi ve bu sayede yöntemin tekrar edilebilir olması özelliklerine dikkat edilerek seçildi. Yeniden üretilebilirlik konusunda oluşabilecek sorunun önüne geçmek için Morris ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile kendi çalışmamızın hipertrofik skar endeksi parametreleri kullanıldı. Morris ve arkadaşlarının çalışmasında ölçülen hipertrofik skar endeksi; serum fizyolojik ile tedavi edilen grup için 1,22-2,72 değerleri arasında ve steroid ile tedavi edilen grup için 0,8-2,32 değerleri arasında bulunmuştur. Bu sonuçlar ve bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar T testi ile karşılaştırıldığında, çalışmamızda yer alan kontrol grubu (serum fizyolojik) ile Morris ve arkadaşlarının çalışmasındaki serum fizyolojik ile tedavi edilen skar grubu arasında ($p=0,28$) ve çalışmamızda yer alan steroid grubu ile Morris ve arkadaşlarının çalışmasındaki steroid ile tedavi edilen skar grubu arasında ($p=0,32$) istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür. Böylece modelin güvenilirliği ve tekrar edilebilirliği kanıtlanmıştır.

Çalışmamızdaki enjeksiyon dozajları triamsinolon ve serum fizyolojik için Morris ve arkadaşlarının tariflediği tavşan kulağı hipertrofik skar modeli ile birebir aynı uygulanmıştır. İnsülin için, her bir lezyona 0,1 IU insulatard olmak üzere 1 tavşan için toplam 0,8 IU yapılmıştır. Bu doz literatür araştırmasına dayanarak uygulanmıştır. Diyabetik olmayan, ağırlığı 3000-3500 gr arası olan tavşanlarda bu

dozun hipoglisemiye neden olmadığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir.(105–107) Hallam ve arkadaşlarının estetik meme cerrahisi geçiren hastalar üzerinde yaptığı bir çalışmada, submammarian insizyonlar kapatılmadan hemen önce 1 cm uzunluğa 0,1 IU olacak şekilde insulatard enjekte edilmiş ve daha sonra suture edilmiş, sonuç olarak insülin enjeksiyonunun skar görünümünü azalttığını belirtmiştir.(108)

İnsülin hormonunun eksikliği veya etkisizliği sonucu ortaya çıkan diyabet hastalığının, akciğer, pankreas ve böbrek gibi çeşitli organlarda ve dokularda aşırı fibrozise eğilim ile sonuçlandığı bilinmektedir.(81)

Hu ve arkadaşları 2014'te tip 1 diyabetik fare modeli oluşturmuş ve akciğer biyopsileri alarak histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Alveollerde aşırı fibrozis ve inflamatuvar hücre sayısında artış ile birlikte, inflamasyon ile ilişkili TNF- α ve plazminojen aktivatör inhibitör 1(PAI-1) genlerinin ve fibrozis ile ilişkili olan connective tissue growth factor(CTGF) ve fibronektin genlerinin mRNA ve protein ekspresyonunda artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Tip 1 diyabet ile pulmoner fibrozis arasında histopatolojik korelasyon olduğu sonucuna varmışlardır.(109)

TGF- β , çoğu hücrede proliferasyonu, hücreSEL farklılaşmayı ve diğer fonksiyonları kontrol eden bir sitokin türüdür. Araştırmalar TGF- β 'nın hipertrofik skar dokularında up-regülasyona uğradığını ve dermal fibroblastların çoğalmasını, kollajen oluşumunu ve farklılaşmasını teşvik ettiğini göstermiştir.(110) Pscherer ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları çalışmada, diyabetik hastalarda serum TGF- β düzeylerinin oral anti-diyabetikler ve insülin tedavisi ile ilişkilerini incelemişlerdir. Çeşitli oral anti-diyabetik ajanların ve insülin rejimlerinin karşılaştırıldığı çalışmada, hepsinin farklı derecelerde olmasına rağmen bazal serum TGF- β düzeylerini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, pro-fibrotik bir sitokin olan TGF- β 'nın diyabetik hastalarda böbrek fibrozu veya diğer patolojilerin gelişimi ile ilgili klinik önemini açıklığa kavuşturmak için daha fazla araştırma yapılması gerektiğini belirtmişlerdir (111).

İnsülinin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri, diyabetik hastalar ile diyabetik olmayan hastaların postopertatif iyileşme hızlarını gözlemleyen cerrahlar tarafından 20. yüzyılın başlarında araştırılmaya başlanmıştır (112). Schazzilo ve Ksendowsky, 1928'de insülinin kemik kırığı onarımı üzerindeki etkilerini araştırmak için

radıyografık ve histolojik teknikleri kullandıkları bir çalışma yapmışlardır. Sıçan modeli kullanılarak yapılan çalışmada, test hayvanlarına 1 ünite kristalize insülin subkutanöz enjekte edilmiş ve kontrol grubuna kıyasla daha hızlı kemik iyileşmesi sağlandığı bildirilmiştir (113).

Kısa bir süre sonra, Joseph diyabetik olmayan hastalarda bası yaralarını tedavi etmek için insülin tedavisi kullanmıştır. Joseph 5 hastaya günde bir kez 10 ünite subkutanöz kristalize insülin uygulamış ve 14 günlük tedavi sonunda yaralarda %50 ila %100 iyileşme gözlemlediğini bildirmiştir (114).

Rosenthal ve Brooklyn, erkek albino Wistar sıçanlarında primer yara iyileşmesinin insülin ile ivmelenmesini incelemiştir. Sıçanların batın sol st kadrnlarına periton korunarak 4 cm'lik vertikal insizyon yapılmış ve deney grubuna günde 1 kere subkutanöz protamin çinko insülin cerrahiden 3 gün önce başlanmış ve makroskopik iyileşme tamamlana kadar devam edilmiştir. İnsülin grubunda kontrol grubuna göre 7 günlük daha hızlı iyileşme olduğu ve yara gerim kuvvetlerinin %15 daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir (115).

1998 yılında Pierre ve arkadaşları, toplam vücut yüzey alanının %40'ından fazla yanığı olan, diyabetik olmayan hastalarda sistemik insülin tedavisinin greft donör alanı epitelizasyonu üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışma yapmışlar ve sistemik insülin tedavisinin plaseboya göre yaklaşık %25 daha hızlı iyileşme sağladığını belirtmişlerdir (8).

Günümüzde gecikmiş yara iyileşmesinin, hipertrofik skar ile iyileşme riskini artırdığı iyi bilinmektedir. Yara iyileşme sresinin azaltılmasının skar oluşumunu azaltabileceği fikrinin keşfinden sonra, 1970'li yıllarda 3 hafta içinde kendiliğinden iyileşemeyeceği öngörülen derin yanık hastalarında erken tanjansiyel eksizyon ve kısmi kalınlıkta deri grefti ile onarım standart tedavi yöntemi haline gelmiştir (116).

500'den fazla pediatrik yanık hastası üzerinde, Cubison ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada, önemli bir zaman dilimi olarak belirlenen 21 ila 25 gün içinde iyileşme zamanının, güçlü bir hipertrofik skar belirteci olduğunu doğrulanmıştır (117).

2018 yılında Hallam ve arkadaşlarının yaptığı randomize koltroll bir çalışmada, bilateral estetik meme cerrahisi geçiren 91 hastanın bir meme insizyonuna intaoperatif düşük doz insülin enjekte edilmiş, diğer insizyona plasebo uygulanmış

ve subkutanöz insülin enjeksiyonlarının plaseboya kıyasla skar görünümünü azalttığı sonucuna varılmıştır (108).

İnsülinin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri, 1920'li yıllardan başlayıp günümüzde halen devam etmekte olan çalışmalarla desteklenmiştir, fakat hiçbirinde hipertrofik skar tedavisi üzerine etkileri incelenmemiştir.

Çalışmamızda SEİ'nin steroid ve insülin gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi fakat steroid ve insülin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Bu çalışmada literatürle uyumlu olarak steroid grubunda dermal hipertrofinin azaldığı görülmüştür. Buna paralel olarak insülin grubunda benzer histolojik ve kantitatif sonuçlar elde edilmesi nedeniyle insülinin hipertrofik skar üzerinde steroid ile benzer etkinliğe sahip olduğu ve hipertrofik skar miktarını azalttığı söylenebilir.

Literatüre baktığımızda hipertrofik skar ile ilgili son derlemeler, durumu dermis patolojisi olarak ele almaktadır ve epidermis ile ilgili bir rol paylaşılmamıştır (91,92,94). Bununla birlikte, yara iyileşmesinin, epidermis, dermis, endotel hücreleri ve inflamatuvar yanıtı içeren olaylar dizisi olduğu bilinmektedir. Yara iyileşme bozukluğu olan hipertrofik skarın, dermiste ki izole patolojiden ziyade epidermal-mezenkimal etkileşimlerindeki anormalliklerden kaynaklanabileceği hipotezi ortaya atılmış ve 1998 yılında Machesney ve arkadaşları tarafından 16 hastada hipertrofik skar alanından ve aynı bölge sağlıklı ciltten punch biyopsiler alınarak epidermisleri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. Çalışmada hipertrofik skar epidermisinin, sağlıklı cilt epidermisine göre anlamlı derece daha kalın olduğu bulunmuştur. Ayrıca aktif keratinosit sayısının artmış olduğu ve normalde interfoliküler alanda bulunmaması gereken keratin 6 ve keratin 10 moleküllerinin aynı psöriasisiz, seboreik keratoz ve akut yara iyileşmesinin re-epitelizasyon aşamasında olduğu gibi hipertrofik skar epidermisinde de bulunduğu saptanmıştır (118). Çalışmamızda da, literatüre paralel şekilde kontrol grubu hipertrofik skar epidermisinde hipertrofi gözlenmiştir.

Kortikosteroidlerin keratinositleri inhibe ederek epidermiste incelmeye neden olduğu uzun yıllardır bilinmektedir ve inflamatuvar cilt hastalıklarında geniş kullanım alanına sahiptir. Örneğin psöriaziste, hem inflamasyonu baskılayıcı özelliği hem de keratinosit hiperproliferasyonunu baskılayıcı özelliği nedeni ile kullanılmaktadır. Fakat uzamış tedavi geri dönüşümsüz epidermal atrofiye neden olmaktadır (119).

Çalışmamızda, kontrol grubuna göre hem steroid hem de insülin grubu EKİ anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar hipertrofik skarda görülen epidermis hipertrofisini tedavi etmek için hem steroidin hem de insülinin etkin olduğunu göstermektedir. Steroid ile insülin grubu karşılaştırıldığında ise, steroid grubunda EKİ indeksi insüline göre anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur. Buna göre epidermal hipertrofiyi tedavi etmede steroid enjeksiyonunun insülinden daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak steroid tedavisine bağlı olası epidermal atrofiyi göz önünde bulundurduğumuzda, insülin tedavisinin daha güvenli alternatif bir seçenek olabileceğini düşünmekteyiz.

Hipertrofik skarlarda kan damarlarının histolojik bulguları literatürde daha önce tartışılmıştır. İyileşme sürecindeki hipertrofik skarlarda bulunan çok sayıda genişlemiş kan damarları eritem olarak görünür ve bu durum mikro damarlardaki rejenerasyon süreci ile ilişkilidir (120). Hipertrofik skarlarda dermal fibrosizme bağlı doku hipoksisi görülür, bu durum VEGF üretimini uyarır ve artmış anjiogenezise neden olur (121).

Steroidlerin anjiogenezisi baskılayıcı özelliği uzun yıllardan beri bilinmektedir ve özellikle neovaskülarizasyon ile seyreden göz hastalıklarının tedavisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır (122). 2009 yılında Lee ve arkadaşları tarafından retina pigment epiteli hücre kültüründe yapılan bir çalışmada triamsinolon'un VEGF üretimini baskılayarak, anjiogenezisi baskıladığı gösterilmiştir (123).

2009 yılında Liu ve arkadaşları insülin ile uyarılmış anjiogenezisin moleküler mekanizmasını incelediği bir çalışmada, insülin enjekte edilmiş fare derisinde uygun farklılaşma ve olgunlaşma gösteren daha fazla sayıda damar olduğunu gözlemlemişlerdir. İnsülinin, endotelial hücre migrasyonu ve matür tüp formasyonunu stimüle ettiğini ve bu etkilerin VEGF/VEGFR sinyallerinden bağımsız olarak kendi reseptörü aracılığı ile gerçekleştirdiğini ortaya koymuşlardır. Bu bulgular doğrultusunda insülinin, iskemik yaraların ve matür kan damarı oluşumunun bozulduğu diğer durumların tedavisi için iyi bir aday olduğunu savunmuşlardır (124).

Dandona ve arkadaşları insülinin VEGF ve MMP-9 üzerindeki antiinflamatuvar etkilerini ortaya koymak için yaptıkları bir çalışmada, 10 adet

diyabetik olmayan hastaya, insülin (2 IU /s), %5 dekstroz (100 ml / s) ve KCI (8 mmol / s) infüzyonu 4 saat boyunca uygulamışlar ve 0,2,4 ve 6. saatlerde kan örneği alarak incelemişlerdir. Aynı hastalar 3'er hafta ara ile tekrar çalışmaya alınarak, saline infüzyonu ve dekstroz infüzyonu yapılarak kan örnekleri toplanmış ve karşılaştırma yapılmıştır. Sonuç olarak insülinin plazma VEGF ve MMP-9 düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğünü tespit etmişlerdir (125).

Çalışmamızda vaskülarite değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre steroid ve insülin grubunda damar sayısı anlamlı olarak düşük bulunmuş, steroid grubu ile insülin grubu kendi arasında karşılaştırıldığında steroid grubundaki damar sayısı insülin grubuna göre daha az olmasına rağmen aralarında anlamlı fark bulunmamıştır. İnsülin grubundaki damar sayısının kontrol grubuna göre az olmasını, insülinin matür damar oluşumunu stimüle ederek hipertrofik skar dokusunda erken dönemde hipoksiyi azaltarak VEGF üretimini baskılamasına, ayrıca direkt olarak VEGF inhibisyonuna bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Peroxisom prolifer-aktif reseptör γ (PPAR- γ), hücre farklılaşmasını ve lipid metabolizmasını düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Hipertrofik skar patogeneğinde PPAR- γ nin rolü şu şekilde özetlenebilir. PPAR- γ , TGF- β /Smad3 ve MAPK sinyal yollarını hedef alır ve fibrojenite öncülü TGF- β yolağını bloke eder. Böylece α -SMA ve kollajen üretimini azaltarak, fibrozis oluşumu engellendiği için hipertrofik skar oluşumu baskılanır. Bu yolağın baskılanması sadece hipertrofik skar oluşumunu engellemekle kalmaz, inflamasyon öncülü sitokinlerin de baskılanması ile anti inflamatuvar etki de göstermiş olur (126).

Zu ve arkadaşların 2015 yılında insan hipertrofik skar fibroblast kültüründe yaptıkları bir çalışmada, PPAR- γ agonisti olan troglitazunun kollajen üretimini baskıladığını gösterilmiştir (127).

İnsülinin, PPAR- γ transkripsiyon faktörünün gen ekspresyonunu azalttığı yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. 1999 yılında Rieusset ve arkadaşları, 14 sağlıklı gönüllü, 11 tip 2 diyabetik ve 19 diyabetik olmayan obez olmak üzere toplam 44 kişinin katıldığı bir çalışma yapmıştır. Katılımcılarda insülin/dekstroz infüzyonu ile normoglisemik hiperinsülemi tablosu oluşturulmuştur. İnsülin/dekstroz infüzyondan 2 saat önce ve 2,4 ve 6 saat sonra iğne aspirasyonu ile abdominal subkutanöz yağ doku biyopsileri alınmıştır. Yapılan protein ölçümlerinde, insülin infüzyonu sonrası

PPAR- γ m-RNA düzeylerinin normal bireylerde ortalama %88, diyabetik olmayan obez bireylerde ortalama %91 ve tip 2 diyabetik bireylerde %98 oranında arttığı bulunmuştur.

Çalışmamızda, insülin grubundaki kollajen yoğunluğu, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Kollajenizasyon paterni kontrol grubunda çok sayıda, düzensiz, kısa ve kalın kollajen fibrillerinden oluşmaktayken, insülin grubunda ince ve uzun fibriller daha düzenli ve retiküler paternde sıralanmıştı. Bu bulgular ile insülinin hipertrofik skarda kollajen miktarını azaltmada ve kollajen fibrillerini morfolojik olarak daha fizyolojik bir hale getirmede etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Literatürde insülinin anti-inflamatuar etkileri ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Hiperglisemi, glikotoksisite yolu ile TNF- α ve IL-6 gibi pro-inflamatuar sitokinlerin salınmasına yol açar. Dolayısı ile insülin, kan glukoz seviyesini düşürerek insülin anti-inflamatuar etki göstermektedir (128–130).

Yapılan son çalışmalar insülinin glukozdan bağımsız olarak da anti-inflamatuar etkilerinin olduğunu orta koymuştur. Aljada ve arkadaşları, insan aort endotel hücre kültüründe yaptıkları bir çalışmada, insülinin 3 önemli inflamatuvar mediatör olan inteselüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1), MCP-1 ve NF κ B moleküllerinin ekspresyonunu baskıladığını göstermişlerdir (131). Ghanim ve arkadaşları, sağlıklı gönüllüler üzerinde, saatte 2 IU insülin infüzyonu ve normoglisemiyi devam ettirmek için dextroz infüzyonu sonrası kan örnekleri olarak toll-like reseptör (TLR) üzerine etkilerini incelemişlerdir. İnsülin grubunda kontrol grubuna göre, mononükleer hücrelerin TLR-1,2,7 ve 9 mRNA gen ekspresyonlarının azaldığını bulmuşlardır. İnsülinin TLR aracılı inflamasyonu baskılamada etkili olduğu sonucuna varılmıştır (132).

Çalışmamızdaki inflamasyon üzerine yapılan histopatolojik değerlendirme sonuçları incelendiğinde insülin uygulanan grupta %54,2 hafif şiddetli, %37,5 orta şiddetli ve %8,3 belirgin şiddetli inflamasyon gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az inflamasyon gözlenmesi, insülinin hipertrofik skar tedavisinde anti-inflamatuar etkinliğini kanıtlamıştır

Miyofibroblastlar hem fibroblast hem de düz kas hücrelerinin tüm morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine sahip olan hücrelerdir. Normal olarak

miyofibroblastlar yara iyileşme sürecinin ilk aşamasında ortaya çıkar ve apoptozla kaybolana kadar açık bir yaranın her iki kenarını yaklaştırmak için kasılma kuvvetleri oluşturur. Miyofibroblastlar kontraksiyon süresince aktif çalışır ancak epitelizasyon tamamlandıktan sonra apoptoz ile kaybolurlar (133).

Shin ve arkadaşlarının 2004 yılında hipertrofik skar doku kültüründe yaptıkları araştırma, miyofibroblastların hipertrofik skar kontraktüründe ana rolü oynadığını göstermiştir (134).

2008 yılında Baker R. tarafından yapılan bir tez çalışmasında insan hipertrofik skar fibroblastlarının büyüme faktörü deaktive edilmiş medyumda, normal büyüme faktörlü medyuma göre daha fazla oranda miyofibroblasta diferansiye olduğu gözlenmiştir. Büyüme faktörü deaktive edilmiş medyuma insülin eklenmesi ile miyofibroblast sayısının %80 olarak azaldığı keşfedilmiştir (135).

Çalışmamızda, zeminde sağlam kıkırdak dokusu bulunduğu için, kontraksiyon olmayacağını düşündük ve skar alanının genişliğini çalışmaya dahil etmedik. Bu da tavşan kulağı hipertrofik modelinin kısıtlılıklarından biridir. Farklı hayvan modellerinde insülinin skar kontraksiyonu üzerine azaltıcı etkisinin gösterilebileceği kanısındayız.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma bilgimiz dahilinde, intralezyonel insülin tedavisinin hipertrofik skar üzerine etkilerini steroid tedavisi ile sayısal parametreler kullanarak kıyaslayan literatürdeki ilk çalışmadır.

Çalışmamızda insülinin, hipertrofik skar yönetiminde steroid tedavisine benzer klinik ve histopatolojik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle gelecekte hipertrofik skar tedavisinde tek başına veya diğer tedavi yöntemleriyle kombine edilerek kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

İntralezyonel steroid kullanımının telenjiektezi, epidermal atrofi ve depigmentasyon gibi doz bağımlı yan etkilerinin insülin ile kombine tedavi modalitesi geliştirilerek önlenebileceğini düşünmekteyiz.

Öneriler;

1. Çalışmamızda yara kontraksiyonu kullandığımız model nedeniyle değerlendirilememiştir. İnsülinin miyofibroblast diferansiyasyonunu baskıladığı literatürde yer almıştır. Farklı hayvan modelleri kullanılarak hipertrofik skar kontraktürü üzerine insülinin etkileri incelenmelidir.
2. Çalışmamızda insülin tedavisi epitelizasyonu takiben erken dönemde yapılmış olup, geç dönem uygulama yapılarak sonuçlarının karşılaştırılması gereklidir.
3. Uygun tedavi modalitesini geliştirebilmek için farklı hayvan modelleri ve farklı dozlarda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.
4. Diyabetik hastalarda hipertrofik skar etyopatogenezinde rol oynayan biyomarkerlar araştırılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Bayat A, McGrouther DA Ferguson MWJ. Skin scarring. Vol. 326, British Medical Journal. 2003. p. 88–92.
2. Atiyeh BS, Ioannovich J, Al-Amm CA, El-Musa KA, Dham R. Improving scar quality: A prospective clinical study. *Aesthetic Plast Surg.* 2002 Nov;26(6):470–6.
3. Kim MS, Rodney WN, Cooper T, Kite C, Reece GP, Markey MK. Towards quantifying the aesthetic outcomes of breast cancer treatment: Comparison of clinical photography and colorimetry. *J Eval Clin Pract.* 2009 Feb;15(1):20–31.
4. Van Loey NEE, Bremer M, Faber AW, Middelkoop E, Nieuwenhuis MK. Itching following burns: Epidemiology and predictors. *Br J Dermatol.* 2008 Jan;158(1):95–100.
5. Berria R, Wang L, Richardson DK, Finlayson J, Belfort R, Pratipanawatr T, et al. Increased collagen content in insulin-resistant skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006 Mar;290(3).
6. Meyer JS. Diabetes and wound healing. *Crit Care Nurs Clin North Am.* 1996 Jun;8(2):195–201.
7. Rosenthal SP. Acceleration of primary wound healing by insulin. *Arch Surg.* 1968 Jan;96(1):53–5.
8. Grewal RS, Gupta SC, Singhal GM, Gupta SN. Wound healing in relation to insulin. *Int Surg.* 1972 Mar;57(3):229–32.
9. Tsourdi E, Barthel A, Rietzsch H, Reichel A, Bornstein SR. Current aspects in the pathophysiology and treatment of chronic wounds in diabetes mellitus. Vol. 2013, *BioMed Research International.* 2013.
10. Pierre EJ, Barrow RE, Hawkins HK, Nguyen TT, Sakurai Y, Desai M, et al. Effects of insulin on wound healing. *Journal of Trauma- Injury, Infection and Critical Care.* 1998. p. 342–5.
11. Breasted JH, University of Chicago. Oriental Institute. The Edwin Smith surgical papyrus, published in facsimile and hieroglyphic transliteration with translation and commentary in two volumes. University of Chicago, Oriental Institute; 1930.
12. Omo-Dare P. Yoruban Contributions to the Literature on Keloids. Vol. 65. 1973.
13. Alibert JLM. Quelques recherches sur la cheloide. *Mem Soc Med d'Emul.* 2019 Nov 6;

14. Alibert J-L (1768-1837). A du texte. Description des maladies de la peau observées à l'hôpital Saint-Louis, et exposition des meilleures méthodes suivies pour leur traitement, par J.-L. Alibert. avec figures coloriées. 1806;
15. Gauglitz GG, Korting HC, Pavicic T, Ruzicka T, Jeschke MG. Hypertrophic scarring and keloids: Pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol Med*. 2011 Jan;17(1-2):113-25.
16. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatology*. 2002;12(4):390-401.
17. Wilson PK. William Cowper's anatomy of human skin. *Int J Dermatol*. 1992;31(5):361-4.
18. Monaco JAL, Lawrence WT. Acute wound healing: An overview. Vol. 30, *Clinics in Plastic Surgery*. 2003. p. 1-12.
19. Ramasastry SS, Saunders WB. Acute wounds. Vol. 32, *Clinics in Plastic Surgery*. 2005;195-208.
20. Broughton GI, Jeffrey Janis UE, Attinger CE. The Basic Science of Wound; Healing Phases of wound healing.. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117(7S):12S-34S.
21. Strecker-McGraw MK, Jones TR, Baer DG. Soft Tissue Wounds and Principles of Healing. Vol. 25, *Emergency Medicine Clinics of North America*. 2007. p. 1-22.
22. Jurk K, Kehrel BE. Platelets: Physiology and biochemistry. In: *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2005. p. 381-92.
23. Saboor M, Ayub Q, Ilyas S, Moinuddin. Platelet receptors: An instrumental of platelet physiology. Vol. 29, *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2013.
24. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. Vol. 91, *Blood*. 1998. p. 3527-61.
25. Laurens N, Koolwijk P, de Maat MP. Fibrin structure and wound healing. Vol. 4, *Journal of thrombosis and haemostasis . JTH*. 2006. p. 932-9.
26. Hart J. Inflammation. 1: Its role in the healing of acute wounds. Vol. 11, *Journal of wound care*. 2002. p. 205-9.
27. Snyder RJ, Lantis J, Kirsner RS, Shah V, Molyneaux M, Carter MJ. Macrophages: A review of their role in wound healing and their therapeutic use. *Wound Repair Regen*. 2016 Jul 1;24(4):613-29.
28. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am*. 1997;77(3):509-28.

29. Li S, Huang NF, Hsu S. Mechanotransduction in endothelial cell migration. Vol. 96, *Journal of Cellular Biochemistry*. 2005. p. 1110–26.
30. Krizbai IA, Bauer H, Amberger A, Hennig B, Szabó H, Fuchs R, et al. Growth factor-induced morphological, physiological and molecular characteristics in cerebral endothelial cells. *Eur J Cell Biol*. 2000;79(9):594–600.
31. Clark RAF. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. Vol. 306, *American Journal of the Medical Sciences*. 1993. p. 42–8.
32. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, Van Der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997 Feb 14;275(5302):964–7.
33. Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol*. 1998 Sep;30(9):1019–30.
34. Desmoulière A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. Vol. 13, *Wound Repair and Regeneration*. 2005. p. 7–12.
35. Rohani MG, Parks WC. Matrix remodeling by MMPs during wound repair. Vols. 44–46, *Matrix Biology*. Elsevier; 2015. p. 113–21.
36. Niessen FB, Spauwen PHM, 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.
37. Oluwasanmi JO. Keloids in the African. *Clin Plast Surg*. 1974 Jan;1(1):179–95.
38. Darzi MA, Chowdri NA, Kaul SK, Khan M. Evaluation of various methods of treating keloids and hypertrophic scars: a 10-year follow-up study. *Br J Plast Surg*. 1992;45(5):374–9.
39. Macintyre L, Baird M. Pressure garments for use in the treatment of hypertrophic scars - A review of the problems associated with their use. Vol. 32, *Burns*. 2006. p. 10–5.
40. Lee JYY, Yang CC, Chao SC, Wong TW. Histopathological differential diagnosis of keloid and hypertrophic scar. *Am J Dermatopathol*. 2004 Oct;26(5):379–84.
41. Peacock EE, Madden JW, Trier WC. Biologic basis for the treatment of keloids and hypertrophic scars. *South Med J*. 1970;63(7):755–60.
42. Rockwell WB, Cohen IK, Ehrlich HP. Keloids and hypertrophic scars: A comprehensive review. *Plast Reconstr Surg*. 1989;84(5):827–37.

43. Muir IFK. On the nature of keloid and hypertrophic scars. *Br J Plast Surg.* 1990;43(1):61–9.
44. Téot L. Scar evaluation and management: recommendations. *J Tissue Viability.* 2005;15(4):6–10.
45. Li-Tsang CWP, Lau JCM, Chan CCH. Prevalence of hypertrophic scar formation and its characteristics among the Chinese population. *Burns.* 2005 Aug;31(5):610–6.
46. Mustoe TA, Cooter RD, Gold MH, Hobbs FDR, Ramelet AA, Shakespeare PG, et al. International clinical recommendations on scar management. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110(2):560–71.
47. Matsumura H, Engrav LH, Gibran NS, Yang TM, Grant JH, Yunusov MY, et al. Cones of skin occur where hypertrophic scar occurs. *Wound Repair Regen.* 2001;9(4):269–77.
48. Bayat A, Arscott G, Ollier WER, Mc Grouther DA, Ferguson MWJ. Keloid disease: Clinical relevance of single versus multiple site scars. *Br J Plast Surg.* 2005 Jan;58(1):28–37.
49. Polo M, Smith PD, Kim YJ, Wang X, Ko F, Robson MC. Effect of TGF-beta2 on proliferative scar fibroblast cell kinetics. *Ann Plast Surg.* 1999 Aug; 43(2):185–90.
50. Al-Attar A, Mess S, Thomassen JM, Kauffman CL, Davison SP. Keloid pathogenesis and treatment. Vol. 117, *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2006. p. 286–300.
51. Colwell AS, Phan TT, Kong W, Longaker MT, Lorenz PH. Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor- β stimulation. *Plast Reconstr Surg.* 2005 Oct;116(5):1387–90.
52. Mutalik S. Treatment of keloids and hypertrophic scars. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2005;71(1):3.
53. Nedelec B, Shankowsky H, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE. Myofibroblasts and apoptosis in human hypertrophic scars: The effect of interferon- α 2b. *Surgery.* 2001;130(5):798–808.
54. Zhang J, Lin Z, Jiang H, Yuan X, Zhao Y, Wu J, et al. [The dynamic expression of TNF-alpha mRNA of hypertrophic scars and its roles]. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi.* 2004 Jan; 20(1):57–9.
55. Yu H, Bock O, Bayat A, Ferguson MW, Mrowietz U. Decreased expression of inhibitory SMAD6 and SMAD7 in keloid scarring. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2006 Mar;59(3):221–9.

56. Tredget EE, Wang R, Shen Q, Scott PG, Ghahary A. Transforming growth factor- β mRNA and protein in hypertrophic scar tissues and fibroblasts: Antagonism by IFN- α and IFN- γ in vitro and in vivo. *J Interf Cytokine Res.* 2000;20(2):143–51.
57. Cohly H, Scott H, Ndebele K, Jenkins J, Angel M. Differential Gene Expression of Fibroblasts: Keloid versus Normal. *Int J Mol Sci.* 2002 Nov 30; 3(11):1162–76.
58. Cooke GL, Chien A, Brodsky A, Lee RC. Incidence of hypertrophic scars among African Americans linked to vitamin D-3 metabolism. *J Natl Med Assoc.* 2005 Jul;97(7):1004–9.
59. Melis P, Van Noorden CJF, Van Der Horst CMAM. Long-term results of wounds closed under a significant amount of tension. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Jan;117(1):259–65.
60. Thomas JR, Prendiville S. Update in scar revision. Vol. 10, *Facial Plastic Surgery Clinics.* W.B. Saunders; 2002. p. 103–11.
61. Singleton M a, Gross CW, Shons a R, Press BH, Perdanasari AT, Lazzeri D, et al. The efficacy of complete surgical excision of keloid and piercing sinus tract on earlobe keloid. *Ann Dermatol.* 2013;25(3):1377–81.
62. Juckett G, Hartman-Adams H. Management of keloids and hypertrophic scars. Vol. 80, *American Family Physician.* American Academy of Family Physicians; 2009. p. 253–60.
63. Berman B, Bieleley HC. Adjunct therapies to surgical management of keloids. *Dermatologic Surg.* 1996;22(2):126–30.
64. Carroll LA, Hanasono MM, Mikulec AA, Kita M, Koch RJ. Triamcinolone stimulates bFGF production and inhibits TGF- β 1 production by human dermal fibroblasts. *Dermatologic Surg.* 2002 Aug;28(8):704–9.
65. Coppola MM, Salzillo R, Segreto F, Persichetti P. Triamcinolone acetonide intralesional injection for the treatment of keloid scars: Patient selection and perspectives. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2018;11:387–96.
66. Poston J. The use of silicone gel sheeting in the management of hypertrophic and keloid scars. Vol. 9, *Journal of wound care.* 2000. p. 10–6.
67. Borgognoni L. Biological effects of silicone gel sheeting. *Wound Repair Regen.* 2002 Mar-Apr;10(2):118-21.
68. Zainib M, Amin NP. Radiation Therapy, Keloids. *StatPearls.* 2018 May
69. Leszczynski R, da Silva CA, Kuczynski U, da Silva EM. Laser therapy for treating hypertrophic and keloid scars. *Cochrane Database Syst Rev* 2015 April, Issue 4. Art. No.: CD011642.

70. Har-Shai Y, Sabo E, Rohde E, Hyams M, Assaf C, Zouboulis CC. Intralesional cryosurgery enhances the involution of recalcitrant auricular keloids: A new clinical approach supported by experimental studies. *Wound Repair Regen.* 2006;14(1):18–27.
71. Berman B, Frankel S, Villa AM, Ramirez CC, Poochareon V, Nouri K. Double-blind, randomized, placebo-controlled, prospective study evaluating the tolerability and effectiveness of imiquimod applied to postsurgical excisions on scar cosmesis. *Dermatol Surg.* 2005;31(11 Pt 1):1399–403.
72. Davison SP, Sarah Mess D, Kauffman LC, Al-Attar A. Ineffective Treatment of Keloids with Interferon Alpha-2b. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Jan;117(1):247-52.
73. Kontochristopoulos G, Stefanaki C, Panagiotopoulos A, Stefanaki K, Argyrakos T, Petridis A, et al. Intralesional 5-fluorouracil in the treatment of keloids: an open clinical and histopathologic study. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52(3 Pt 1):474–9.
74. Saray Y, Güleç T. Treatment of keloids and hypertrophic scars with dermojet injections of bleomycin: A preliminary study. *Int J Dermatol.* 2005 Sep;44(9):777–84.
75. Draznin B. Mechanism of the mitogenic influence of hyperinsulinemia. Vol. 3, *Diabetology and Metabolic Syndrome.* 2011.
76. Hermann C, Assmus B, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Insulin-mediated stimulation of protein kinase Akt: A potent survival signaling cascade for endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Feb; 20(2):402–9.
77. Cohen P. The twentieth century struggle to decipher insulin signalling. Vol. 7, *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2006. p. 867–73.
78. Levine R, Goldstein M, Klein S, Huddleston B. The action of insulin on the distribution of galactose in eviscerated nephrectomized dogs. *J Biol Chem.* 1949 Jun; 179(2):985.
79. James DE, Brown R, Navarro J, Pilch PF. Insulin-regulatable tissues express a unique insulin-sensitive glucose transport protein. *Nature.* 1988;333(6169):183–5.
80. Birnbaum MJ. Identification of a novel gene encoding an insulin-responsive glucose transporter protein. *Cell.* 1989 Apr 21;57(2):305–15.
81. Prisco M, Romano G, Peruzzi F, Valentinis B, Baserga R. Insulin and IGF-I receptors signaling in protection from apoptosis. *Horm Metab Res.* 1999;31(2–3):80–9.

82. Ban CR, Twigg SM. Fibrosis in diabetes complications: Pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers. Vol. 4, Vascular Health and Risk Management. 2008. p. 575–96.
83. Greenway SE, Filler LE, Greenway FL. Topical insulin in wound healing: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *J Wound Care*. 1999;8(10):526–8.
84. Hayashida T, Schnaper HW. High ambient glucose enhances sensitivity to TGF- β 1 via extracellular signal-regulated kinase and protein kinase C δ activities in human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*. 2004 Aug;15(8):2032–41.
85. Yanai R, Yamada N, Inui M, Nishida T. Correlation of proliferative and anti-apoptotic effects of HGF, insulin, IGF-1, IGF-2, and EGF in SV40-transformed human corneal epithelial cells. *Exp Eye Res*. 2006 Jul;83(1):76–83.
86. Hunt LM, Benoit PW. Evaluation of a microcrystalline collagen preparation in extraction wounds. *J Oral Surg (Chic)*. 1976;34(5):407–14.
87. Seifter E, Rettura G, Padawer J, Stratford F, Kambosos D, Levenson SM. Impaired wound healing in streptozotocin diabetes. Prevention by supplemental vitamin A. *Ann Surg*. 1981;194(1):42–50.
88. Broadley KN, Aquino AM, Hicks B, Ditesheim JA, McGee GS, Demetriou AA, et al. The diabetic rat as an impaired wound healing model: stimulatory effects of transforming growth factor-beta and basic fibroblast growth factor. *Biotechnol Ther*. 1989;1(1):55–68.
89. Bitar MS, Labbad ZN. Transforming growth factor- β and insulin-like growth factor-I in relation to diabetes-induced impairment of wound healing. *J Surg Res*. 1996 Feb 15;61(1):113–9.
90. Morris DE, Wu L, Zhao LL, Bolton L, Roth SI, Ladin DA, et al. Acute and chronic animal models for excessive dermal scarring: Quantitative studies. *Plast Reconstr Surg*. 1997;100(3):674–81.
91. Tandara AA, Mustoe TA. The role of the epidermis in the control of scarring: evidence for mechanism of action for silicone gel. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg*. 2008 Oct;61(10):1219–25.
92. Huang C, Murphy GF, Akaishi S, Ogawa R. Keloids and hypertrophic scars: Update and future directions. *Plast Reconstr Surg*. 2013 Jul 2;1(4).
93. Slemp AE, Kirschner RE. Keloids and scars: A review of keloids and scars, their pathogenesis, risk factors, and management. Vol. 18, Current Opinion in Pediatrics. 2006. p. 396–402.

94. Ogawa R. Mechanobiology of scarring. *Wound Repair Regen.* 2011 Sep;19(SUPPL. 1).
95. Baisch A, Riedel F. Hyperplastische narben und keloide. Teil I: Grundlagen und prävention. Vol. 54, *HNO.* 2006. p. 893–905.
96. Younai S, Nichter LS, Wellisz T, Reinisch J, Nimni ME, Tuan TL, et al. Modulation of collagen synthesis by transforming growth factor- β in keloid and hypertrophic scar fibroblasts. *Ann Plast Surg.* 1994;33(2):148–54.
97. Robles DT, Berg D. Abnormal wound healing: keloids. *Clin Dermatol.* 2007 Jan;25(1):26–32.
98. Forbes-Duchart L, Cooper J, Nedelec B, Ross L, Quanbury A. Burn therapists' opinion on the application and essential characteristics of a burn scar outcome measure. *J Burn Care Res.* 2009 Sep;30(5):792–800.
99. Alster TS, Tanzi EL. Hypertrophic scars and keloids: Etiology and management. Vol. 4, *American Journal of Clinical Dermatology.* 2003. p. 235–43.
100. Van den Broek LJ, Limandjaja GC, Niessen FB, Gibbs S. Human hypertrophic and keloid scar models: Principles, limitations and future challenges from a tissue engineering perspective. *Exp Dermatol.* 2014;23(6):382–6.
101. Marttala J, Andrews JP, Rosenbloom J, Uitto J. Keloids: Animal models and pathologic equivalents to study tissue fibrosis. Vol. 51, *Matrix Biology.* Elsevier B.V.; 2016. p. 47–54.
102. Tollefson T, Kamangar F, Aminpour S, Lee A, Durbin-Johnson B, Tinlings S. et al. Comparison of effectiveness of silicone gel sheeting with microporous paper tape in the prevention of hypertrophic scarring in a rabbit model. *Arch Facial Plast Surg.* 2012;14(1):45–51.
103. Joseph J, Dyson M. Tissue replacement in the rabbit's ear. *Br J Surg.* 1966;53(4):372–80.
104. Kloeters O, Tandara A, Mustoe TA. Hypertrophic scar model in the rabbit ear: A reproducible model for studying scar tissue behavior with new observations on silicone gel sheeting for scar reduction. *Wound Repair Regen.* 2007 Sep;15(SUPPL. 1).
105. Uzun H, Bitik O, Hekimoğlu R, Atilla P, Kaykçoğlu AU. Angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril reduces formation of hypertrophic scars in a rabbit ear wounding model. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2013.

106. Zhang X jun, Wu X, Wolf SE, Hawkins HK, Chinkes DL, Wolfe RR. Local Insulin-Zinc Injection Accelerates Skin Donor Site Wound Healing. *J Surg Res.* 2007 Sep;142(1):90–6.
107. Zhang XJ, Chinkes DL, Ramanujam VMS, Wolfe RR. Local injection of insulin-zinc stimulates DNA synthesis in skin donor site wound. *Wound Repair Regen.* 2007 Mar;15(2):258–65.
108. Zhang XJ, Chinkes DL, Wolf SE, Wolfe RR. Insulin but not growth hormone stimulates protein anabolism in skin wound and muscle. *Am J Physiol.* 1999;276(4):E712-20.
109. Hallam MJ, Pitt E, Thomas A, Nduka C. Low-dose insulin as an antiscarring therapy in breast surgery: A randomized controlled trial. *Plast Reconstr Surg.* 2018 Apr 1;141(4):476e-485e.
110. Hu Y, Ma Z, Guo Z, Zhao F, Wang Y, Cai L, et al. Type 1 diabetes mellitus is an independent risk factor for pulmonary fibrosis. *Cell Biochem Biophys.* 2014 Nov 1;70(2):1385–91.
111. Van der Veer WM, Bloemen MCT, Ulrich MMW, Molema G, van Zuijlen PP, Middelkoop E, et al. Potential cellular and molecular causes of hypertrophic scar formation. Vol. 35, *Burns.* 2009. p. 15–29.
112. Pscherer S, Freude T, Forst T, Nussler AK, Braun KF, Ehnert S. Anti-diabetic treatment regulates pro-fibrotic TGF- β serum levels in type 2 diabetics. *Diabetol Metab Syndr.* 2013;5(1).
113. Gurd FB. Postoperative use of insulin in the nondiabetic with special reference to wound healing. *Ann Surg.* 1937 Oct;106(4):761-769.
114. Schazillo BA, Ksendowsky MJ. Die Wirkung des Insulins auf die Regeneration. Die biologische Rolle der K- und Ca-Ionen bei diesem Vorgange. *Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere.* 1928 Dec;220(1):774–81.
115. Joseph B. Insulin in the treatment of non-diabetic bed sores. *Ann Surg.* 1930 Aug;92(2):318–9.
116. Janžekovič Z. A new concept in the early excision and immediate grafting of burns. *J Trauma- Inj Infect Crit Care.* 1970;10(12):1103–8.
117. Cubison TCS, Pape SA, Parkhouse N. Evidence for the link between healing time and the development of hypertrophic scars (HTS) in paediatric burns due to scald injury. *Burns.* 2006 Dec;32(8):992–9.
118. Machesney M, Tidman N, Waseem A, Kirby L, Leigh I. Activated keratinocytes in the epidermis of hypertrophic scars. *Am J Pathol.* 1998 May;152(5):1133–41.

119. Slominski AT, Zmijewski MA, Zbytek B, Tobin DJ, Theoharides TC, Rivier J. Key role of CRF in the skin stress response system. Vol. 34, *Endocrine Reviews*. 2013. p. 827–84.
120. Kischer CW, Shetlar MR, Chvapil M. Hypertrophic scars and keloids: A review and new concept concerning their origin. *Scan Electron Microsc*. 1982;(pt 4):1699–713.
121. Le AD, Zhang Q, Wu Y, Messadi D V., Akhondzadeh A, Nguyen AL, et al. Elevated Vascular Endothelial Growth Factor in Keloids: Relevance to Tissue Fibrosis. In: *Cells Tissues Organs*. 2004. p. 87–94.
122. Conti SM, Kertes PJ. The use of intravitreal corticosteroids, evidence-based and otherwise. Vol. 17, *Current Opinion in Ophthalmology*. 2006. p. 235–44.
123. Lee YC, Yoon TJ, Choi GJ, Kim DH. Effect of Triamcinolone on Angiogenesis-related Factors of Cultured Retinal Pigment Epithelial Cells. *J Korean Ophthalmol Soc*. 2009;50(4):594.
124. Liu Y, Petreaca M, Martins-Green M. Cell and molecular mechanisms of insulin-induced angiogenesis. *J Cell Mol Med*. 2009 Nov;13(11–12):4492–504.
125. Dandona P, Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Bandyopadhyay A, Chaudhuri A. Insulin Suppresses Plasma Concentration of Vascular Endothelial Growth Factor and Matrix Metalloproteinase-9. *Diabetes Care*. 2003 Dec;26(12):3310–4.
126. Zhang F, Lu Y, Zheng S. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ cross-regulation of signaling events implicated in liver fibrogenesis. Vol. 24, *Cellular Signalling*. 2012. p. 596–605.
127. Zhu HY, Li C, Zheng Z, Zhou Q, Guan H, Su LL, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) agonist inhibits collagen synthesis in human hypertrophic scar fibroblasts by targeting Smad3 via miR-145. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015 May 30;459(1):49–53.
128. Dandona P, Chaudhuri A, Ghanim H, Mohanty P. Anti-Inflammatory Effects of Insulin and the Pro-Inflammatory Effects of Glucose. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;18(4):293–301.
129. Ceriello A, Zarich SW, Testa R. Lowering Glucose to Prevent Adverse Cardiovascular Outcomes in a Critical Care Setting. Vol. 53, *Journal of the American College of Cardiology*. 2009.
130. Goyal R, Faizy AF, Siddiqui SS, Singhai M. Evaluation of TNF- α and IL-6 levels in obese and non-obese diabetics: Pre- and postinsulin effects. *N Am J Med Sci*. 2012 Apr 11;4(4):180–4.

131. Aljada A, Ghanim H, Saadeh R, Dandona P. Insulin Inhibits NF κ B and MCP-1 Expression in Human Aortic Endothelial Cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Jan;86(1):450–3.
132. Ghanim H, Mohanty P, Deopurkar R, Sia CL, Korzeniewski K, Abuaysheh S, et al. Acute modulation of toll-like receptors by insulin. *Diabetes Care.* 2008 Sep;31(9):1827–31.
133. Hinz B. The role of myofibroblasts in wound healing. *Curr Res Transl Med.* 2016 Oct;64(4):171–7.
134. Shin D, Minn KW. The effect of myofibroblast on contracture of hypertrophic scar. *Plast Reconstr Surg.* 2004 Feb;113(2):633–40.
135. Baker RHJ. An investigation into the efficacy and mechanism of action of insulin as an agent for the prevention or reduction of cutaneous scarring. Dr thesis, Univ London. 2008;