



T.C.

BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

Ana Bilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Ethem GÜNEREN

**Sıçanlarda Silikon İmplant Etrafında
Kapsül Oluşumuna Otojen Yağ Dokudan
Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücrelerin
Etkisinin Araştırılması: Sıçan Modelinde
Deneysel Çalışma**

Fatma Nilay YOĞUN

İSTANBUL

2011

T.C.
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI
Ana Bilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Ethem GÜNEREN

Sıçanlarda Silikon İmplant Etrafında
Kapsül Oluşumuna Otojen Yağ Dokudan
Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücrelerin
Etkisinin Araştırılması: Sıçan Modelinde
DeneySEL Çalışma
Tıpta Uzmanlık Tezi

Fatma Nilay YOĞUN

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Mehmet Veli KARAALTIN

İSTANBUL

2011

ONAY SAYFASI

TEŞEKKÜR

Tezin her aşamasında eleştirileri ile çalışmanın ilerlemesini sağlayan, tavsiyeleri ve engin bilgisi ile yolumu aydınlatan hocam Prof. Dr. Ethem GÜNEREN'e teşekkür ederim.

Tüm asistanlığım süresince, Plastik Cerrahide bilimsel ve uygulamalı gelişimimin her aşamasında emeği geçen değerli danışmanım, ağabeyim Yard. Doç. Dr. Mehmet V.KARAALTIN'a bir kez daha teşekkür ederim.

Değerli hocalarım, ağabeylerim Prof. Dr. Seyhun SOLAKOĞLU, Yard. Doç. Dr. Ünal USLU ile Asistan Dr. Alev CUMBUL'a tez çalışmam boyunca mesleki ilerlememde tecrübe ve bilgilerini cömertçe paylaştıkları için minnettarım.

Plastik Cerrahi eğitimimin en başından itibaren bana güvenen ve olumlu eleştirileri ile her zaman yanımda olan hocam Doç. Dr. Zafer ÖZSOY'a ayrıca teşekkür ederim.

Plastik Cerrahiye ilk başladığımdan bu yana her zaman bilgisini ve tecrübesini paylaşan değerli hocalarım Doç. Dr. Aydın GÖZÜ'ye ,Doç. Dr. Tayfun TÜRKASLAN'a ve Doç. Dr. Selma SÖNMEZ ERGÜN'e teşekkür ederim.

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Proje Destekleme Birimine tezin gerçekleşmesinde sundukları finansal destekten ötürü teşekkür ederim.

Ayrıca savunma jürisine katılarak destekte bulunan değerli hocalarıma teşekkürü borç bilirim.

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Servisinde birlikte eğitim aldığım asistan arkadaşlarıma ve kurum çalışanlarına eğitimim boyunca gösterdikleri anlayış ve destekten dolayı teşekkür ederim. Adı geçmeyen ama dostluklarıyla her zaman yanımda olan herkese teşekkürü borç bilirim.

Son olarak beni sevginin, emeğin, cesaretin ve bilimin kutsallığına inandıran canım babam Mehmet YOĞUN'a, tüm bunları yapabilecek sonsuz imkanı veren biricik annem Şefika ALYAMAÇ YOĞUN'a, öteki yarım ablam Dr. Ayşe Esmeray YOĞUN'a, çok değerli ağabeylerim Lider, Hasip ve Bülent YOĞUN'a varlıkları için teşekkür ederim.

ÖZET**Sıçanlarda Silikon İmplant Etrafında Kapsül Oluşumuna Otojen Yağ Dokudan Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücrelerin Etkisinin Araştırılması: Sıçan Modelinde Deneysel Çalışma**

Bu çalışmada, Otojen yağ dokudan elde edilen mezenkimal kök hücrelerin silikon etrafındaki kapsül oluşumuna etkisini araştırdık. Çalışmada 270-310 gr ağırlığında 16 adet Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Denekler deney ve kontrol grubu olmak üzere eşit sayıda iki gruba ayrıldı. Tüm grupların pektoral bölgesinde protez kadar poş açılarak cilt altına silikon implantlar yerleştirildi. Grup 1 için herhangi bir uygulama yapılmazken Grup II için 40milyon/cc hücre bulunan süspansiyon silikonun olduğu poşa enjekte edildi. Tüm gruplardan ameliyattan 8 hafta sonra protezler çıkarıldı. Oluşan kapsül iki tabaka halinde çıkarılarak histopatolojik değerlendirmeye alındı.

Morfometrik değerlendirme ile kapsül kalınlığı hacimsel ölçüldü, immunohistokimya yapılarak prokollajen–kollajen miktarına bakıldı ve Masson Trikrom boyama ile ışık mikroskopisi yapıldı. Grup I ile Grup II arasında morfometrik değerlendirmede kapsül kalınlığı açısından anlamlı farklılık görüldü ($p<0,032$). Grup II’de prokollogen-kollogen miktarı düşük bulundu. Işık Mikroskopisinde ise Grup II de neoanjiogenez yüksek olduğu saptandı.

Bu çalışmada, 40milyon/cc mezenkimal kök hücre kullanılarak silikon implant etrafında kapsül oluşumunu azalttığını ve silikon implantın yabancı cisim reaksiyonu oluşturmadığını saptadık.

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal kök hücre, yağ doku, silikon implant

ABSTRACT

An experimental study in a rat model: The research of the effect of mesenchymal stem cells derived from autogenous fat tissue to the capsule formation around silicone implants.

In this study, the effect of mesenchymal stem cells derived from autogenous fatty tissue on capsule formation around silicone implants was investigated.

16 Wistar Albino rats, weighing between 270-310 gr, were used for the study. The subjects were divided into two groups as control group (Group I,N:8) and stem cell treated group (Group II,N:8) . The silicone implants were placed subcutaneously in the pectoral area by creating a implant size pocket precisely.In group II(N:8) a 40 million cells / cc of stem cell suspension was injected in the pocket yet surrounding the implant evenly. All animals were autologized and implants were removed with the capsule shell at the postoperative 8th week from.The specimens were examined histologically by using the morphometric evaluation for capsule thickness and the immunohistochemical dye for measuring procollagen/collagen ratio. Results showed that the capsule thickness was significantly decreased in groupII($p<0,032$).Also the procollagen/collagen ratio was lower in group II in comparing to values in the control group.

In conclusion, this study shows that adipose derived mesenchymal stem cells have indeed decreased the capsule formation in silicone implants which may denote to a future treatment modality in capsule contracture resulted after breast augmentation.

Key Words: Mesenchymal Stem Cell, Fat Tissue, Silicon Implant

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
GRAFİK LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Dermisin Anatomik ve Histolojik Yapısı.....	3
2.2. Fare Derisinin Anatomik ve Histolojik Yapısı.....	5
2.3. İmplant Materyelleri ve Silikonun Kimyasal Yapısı.....	5
2.4. Silikon İmplantlar.....	7
2.5. Kök Hücre	9
2.5.1. Tanımlamalar ve Tarihçe.....	10
2.5.2. Tarihi Gelişim.....	11
2.5.3. Kök Hücre Türleri	12
2.5.4. Kök Hücre Plastisitesi	17
2.5.5. Kök Hücrelerin Kullanım Alanları	19
2.5.5.1. Kök Hücrelerin Temel Yasam Bilimlerinde Kullanım Alanları.....	19
2.5.5.2. Kök Hücrelerin Klinik Bilimlerde Kullanım Alanları	19
2.5.6. Kök Hücre Kaynakları.....	22
2.5.6.1. Kemik İliği	22
2.5.6.2. Periferik Kan	22
2.5.6.3. Kordon Kanı.....	22
2.5.6.4. Fetal Karaciğer	23
2.5.7. Mezankimal Kök Hücre	23
2.5.8. Kök Hücre Uygulamalarının Geleceği	25
2.6. Silikon İmplantlara Bağlı Kapsüler Kontraktür	26
2.6.1. Nedenleri	26

2.6.2. Kapsüler Kontraktür Ölçüm Yöntemleri	27
2.6.2.1. Subjektif Yöntemler	28
2.6.2.2. Objektif Yöntemler	28
2.6.2.3. Kapsül Oluşumu ve Kontraktürünün Önlenmesine Yönelik Çalışmalar	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Denekler	31
3.2. Kök Hücrenin Hazırlanışı.....	32
3.3. Histopatoloji Değerlendirmenin Yapılması	32
3.3.1. Morfometrik Değerlendirme	32
3.3.2. İmmunhistokimya.....	33
3.4. Cerrahi Teknik.....	34
3.4.1. Kullanılan Cerrahi Araç-Gereç.....	34
3.4.2. İmplantların Yerleştirilmesi.....	34
3.4.3. İmplantlar Yerleştirildikten Sonra Kök Hücrenin Uygulanması.....	35
3.4.4. İmplantların Çıkarılması.....	37
3.5. İstatistiksel Yöntem.....	37
4. BULGULAR	38
4.1. Makroskopik Bulgular.....	38
4.2. Mikroskopik Bulgular	40
5. TARTIŞMA	47
SONUÇ	49
KAYNAKLAR.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

nm	: Nanometre
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
µg	: Mikrogram
mL	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
g	: Gram
cc	: Santrimetre küp
IGF-I	: İnsulin like growth factor-I
TGF-β	: Transforming growth factor –beta
VEGF	: Vascular endothelial growth factor
PDGF	: Platelet-derived growth factor
bFGF	: Basic fibroblast growth factor
n	: Denek sayısı
İ	: Ortalama değer
SME	: Standard Sapma değeri
°	: Derece birimi
SiO₂	: Silisyum oksit
RTV	: Room temperature vulcanization
HTV	: High temperature vulcanization
IVF	: Invitro fertilizasyon
GVHH	: Greftversus- Host hastalığı
HLA	: Human leukocyte antigen
DETAE	: Deneysel Tıbbi Araştırma Enstitüsü
CMF-PBS	: Kalsiyum magnezyum free-Phosphate Buffer saline
FCS	: Fetal Calf Serum
EDTA	: Etilen Diamino Tetra Asetikası
ASC	: Adiposit Stem Cell
FDA	: Food and Drug Administration
BAP	: Bilimsel Araştırma Projesi
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
PVP	: Polivinilprolidon

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Derinin katmanlarının görünümü	3
Şekil 2. Kök Hücre Özellikleri. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Abraham L. Kierszenbaum. Ramazan Demir (ç. ed.) 2006	11
Şekil 3. 3 günlük embriyo	12
Şekil 4. 4 günlük embriyo	13
Şekil 5. Pluripotent kök hücre farklılaşması	14
Şekil 6. Blastosist 6. gün	15
Şekil 7. Blastosist 8. Gün T: Trofoblast, ICM: Inner Cell Mass (Nodus Embriyonalis)	15
Şekil 8. Hematopoetik kök hücre farklılaşması	16
Şekil 9. Koloni yapan tavsan mezankimal kök hücreleri (x20, saflaştırma sonrası 3.pasaj kültürü-ATİ Teknoloji/ KTÜ)	24
Şekil 10. Koloni yapan Tavsan mezankimal kök hücreleri (x10, saflaştırma sonrası 2.pasaj kültürü-ATİ Teknoloji/ KTÜ)	25
Şekil 11. Sıçanlar için kullanılan Nagor® silikon implant	31

TABLO VE GRAFİK LİSTESİ-

Tablo 1. Grup I ve Grup II kapsül hacmi değerlendirme tablosu 46

Grafik 1. Grup I ve Grup II kapsül hacmi değerlendirme grafiği 46

1. GİRİŞ

Alloplastik implantların, yumuşak doku ve kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda kullanımı gün geçtikçe artmaktadır.

Silikon, polimerler sınıfından olup, yalnız kozmetik amaçlı operasyonlarda değil, tendon rekonstrüksiyonu, eklem replasmanı, hipertrofik skar tedavisinde olduğu gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir. Silikon, non-toksik, non-irritan, non-allergenik, non-karsinojenik inert bir materyaldir (1-3). Vücuda yerleştirildiğinde çevresinde fibröz kapsül gelişir. Kapsülün zamanla kalınlaştığı, kontrakte olduğu ve böylelikle implantın distorsiyonuna neden olduğu bilinir (4). Kapsül oluşumu ve sonrasında kapsüller kontraktür gelişimini önlemeye ve azaltmaya yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. İmplantın ait yüzey özelliklerinin, implantı dolduran maddeye ait özelliklerin, implant lokalizasyonunun kapsül gelişimi üzerine olan etkileri incelenmiştir (5). İmplantın yerleştirileceği alan povidon iyot solüsyonuyla yıkanmış, intraluminal antibiyotik denenmiştir (6,7). Peroperatif ve postoperatif dönemlerde; steroidler, E ve A vitamini, ibuprofen kullanılmış, kapsüle MitomisinC, amnion sıvısı gibi maddelerin enjeksiyonu incelenmiştir (8-11).

Subkutan mastektomi sonrası beklemeeksizin ekspandır ve implant ile meme rekonstrüksiyonu uygulanması hastalar için önemli bir seçenektir. Yapılan çalışmalar, silikon implant ile meme rekonstrüksiyonu sonrası radyoterapi uygulanan olgularda başta kapsüller kontraktür olmak üzere komplikasyon oranının arttığını göstermiştir (12-15).

Yeni binyıl ile popülerliğini artıran “kök hücre teknolojisi” henüz az bilgiye rağmen birçok konuda umut vaat etmektedir. Yapılan çalışmalarda miyokard infarktüsünden Parkinson hastalığına, diabetten kansere kadar birçok hastalığın tedavisinde, kök hücre ile olumlu sonuçlar alınmıştır. Hatta ileri dönem Hodgkin ve lösemi hastalarına günümüzde tek çare olarak kök hücre tedavisi önerilmektedir (16). Oluşmuş olan kapsülü yok etmeye ya da azaltmaya yönelik kök hücre çalışmaları yapılmıştır. Kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücreler ile subklinik enfeksiyonu yok ederek, adiposit kaynaklı kök hücrelerden salınan hepatosit growth faktör, fibroblast growth faktör ile oluşmuş olan kapsülün azaltılması sağlanmıştır (17). İn vitro bir çalışmada ise yağ dokudan elde edilen stromal hücrelerin fibroblast growth faktör üzerinden fibrogenesi inhibe ettiği saptanmıştır (18).

Bu çalışmada amaç biyolojik protez oluşturmaya çalışmaktır. Biyolojik bir protez için gerekli olan ise yabancı cisim reaksiyonu yaratmamalı, mikroorganizmaların üremesine ortam hazırlamamalı ve steril edilebilir, non toksik, non allerjenik, nonkarsinojenik ve biyolojik olarak uyumlu olmalıdır . Günümüzde tamamen bu kriterlere uygun protez mevcut

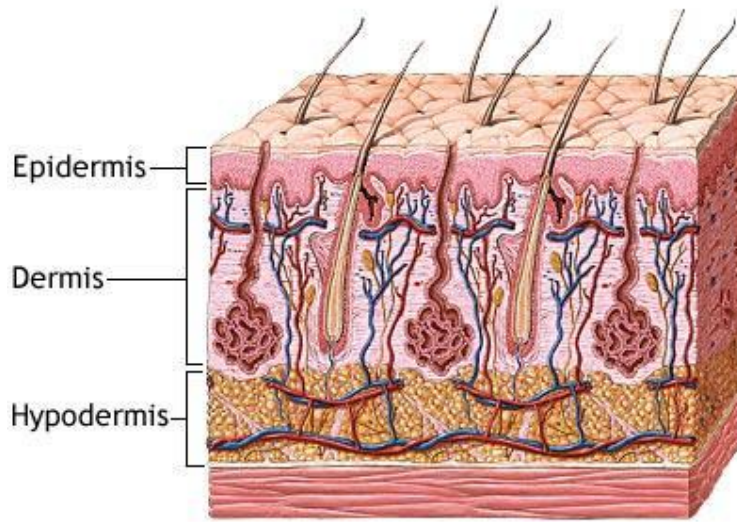
değildir.Yağ doku kaynaklı kök hücrelerin verildiği bölgede yeni damar oluşumunu sağlayarak kan akımını arttırdığı ,bu mekanizmayla bakteri üremesine karşı direnç oluşturduğu bilinmektedir.Aynı zamanda uygulandığı bölgede fibroblastların davranışını değiştirerek yara iyileşmesinin reorganizasyon safhasında kollajenin aşırı olarak üretilmesini engellediği düşünülmektedir.Aynı zamanda kök hücreler protezin etrafını bir örtü gibi sararak hücrel sinyalleri değiştirerek yabancı cisim reaksiyonunu engelleyebilirler.Tüm bu mekanizmalardan faydalanılarak protezin otojen bir dolgu şeklinde kullanılmasını sağlayabilirler.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dermisin Anatomik ve Histolojik Yapısı

Derinin epidermisten sonra, derin katmanını oluşturan dermisin primer fonksiyonu epidermisi beslemek ve desteklemektir (Şekil1). Dermis daha kompleks yapıya sahiptir ve iki tabakadan kompozisyonuyla oluşur.

- a. Papiller dermis
- b. Retiküler dermis



Şekil 1. Derinin katmanlarının görünümü

Papiller dermis tabakası insana özgü bir yapıdır, diğer memeli türlerinde daha az gelişmiştir. Papiller dermis incedir. Kapillerlerin, elastik ve retiküler liflerin, daha az oranda kollajenin gevşek bir konnektif bağ dokusu içinde düzenli ve seyrek dağılımından oluşmuştur.

Retiküler dermis kalındır. Daha geniş çaplı kan damarlarını, elastik lifleri, çapraz bağlar yapmış ve yüzeye paralel düzenlenmiş kollajen lifleri içeren sıkı konnektif dokudan oluşur. Retiküler tabaka, ayrıca fibroblastları, mast hücrelerini, sinir uçlarını, lenfatikleri, epidermal

cepleri içerir (19). Dermis mukopolisakkaridlerin (hyaluronik asit başta olmak üzere) kondroitin sulfat ve glikoproteinlerin kompozisyonuyla oluşmuş jel benzeri zeminle sınırlanmıştır. Dermisin asıl hücre tipi fibroblastlardır. Bu hücreler prokollajen üretir ve salınımını sağlar. Prokollajen tek bir aminoasit zincirinden oluşur. Bu zincirler disülfid bağlarıyla bağlanıp üçlü heliks yapısında tropokollajeni oluşturur. C vitamininin koenzim olduğu prolin ve lizin hidroksilasyonundan sonra çapraz bağlı kollajen lif yapısı oluşur. Bu sıkı çapraz bağlı kollajen lifler derinin sıyrılma ve diğer mekanik güçlere karşı dirençli olmasını sağlar ve gerim gücünü oluşturur. Dermisin ağırlığının % 70'ini Tip I kollajen (total kollajenin % 85'i) ve Tip III (Total kollajenin % 15'i) oluşturur. Elastik lifler dermis ağırlığının % 1'den azını oluşturur ancak cildin deforme edici güçlere karşı direncini ve eski formuna dönmesini sağlar.

Dermiste yer alan diğer hücreler mast hücreleri, histiositler, lenfositler, Langerhans hücreleridir. Mast hücreleri, diğer konnektif doku hücrelerinden bazik anilin boyaları ile metakromatik boyanma özelliği göstermesi ile ayrılır. Bu hücreler kan damarları, sinirler ve deri eklerine yakın yer alırlar. Mast hücreleri panhemapoetik belirteçler sunarlar. Langerhans hücrelerinin geç aşırı duyarlılık ve deri allogreft reaksiyonlarında anahtar rol oynayan, kemik iliği kökenli immunkompetan hücre olduğu bilinmektedir. Dermoepidermal bileşke epidermis ve dermisi birbirine bağlayan tabakadır. Lamina lucida ve lamina densanın kompozisyonundan oluşur. Lamina lucida epidermal keratinositlerin bazal tabakasının hemen altında yer alır. Lamina densa kalındır, dermisle temas halindedir. Dermal papillalar papiller dermisten cilt yüzeyine uzanan, kapiller ve lenfatik pleksusu içeren, parmak benzeri çıkıntılardır. Bu çıkıntılar yüzey alanını genişleterek, avasküler epidermisen dermisten oksijen ve besin ihtiyacını difüzyon yoluyla karşılamasını kolaylaştırır (20). Epidermal girintiler, differansiyasyona uğramış epitel hücrelerinin oluşturduğu, intradermal epitelyal tabakadır. Üstteki epidermis tabakası ayrıldığında (yanık, abrazyon, kısmi kalınlıkta deri grefti alındığında) epitelizasyon için gerekli epitel hücrelerinin kaynağı bu tabakadır. Epidermal girintiler sebace bezler, yağ bezleri, apokrin bezler, meme bezleri, kıl foliküllerinin etrafını da ayrıca çevreler. İnsan derisi iyi kanlanan bir organdır. Kutanöz damarlar; septokutanöz, fasiokutanöz perforatörlerden veya muskuler damarların terminal dallarından (muskulokutanöz perforatörler) orjin alırlar. Epidermis, dermisten diffüzyon yoluyla beslenir. Deriyi besleyen damarlar, komşuluğunda seyrettiği konnektif dokuda (kemik, kas, fasya, yağ) seyreden damarların dalları ile anastomozlar yapar. Böylece birbirlerine kominikan damarlarla bağlı yüzeyel ve derin vasküler pleksus oluşur. Bu pleksusların kapillerleri papiller dermise kadar ulaşır. Kutanöz damarlar diğer kutanöz damarlarlada anastomoz yaparak

horizontal damar ağı oluşturur. Random cilt fleplerinin beslenmesini bu ağ sağlar. Termoregulasyon, hipotalamusun kontrolü altında kutanöz damarların vazokonstriksiyon ve vazodilatasyonu ile sağlanır. Dermiste myelinli ve myelinsiz duyu sinirleri bulunur. Sinir uçları epidermise penetre olurlar. Dokunma duyunu algılayan Meissner cisimcikleri, basınç duyunu algılayan Pacinian cisimcikleri dermiste bulunur. Motor sinirler kan damarlarını, ter bezlerini, erekteör pili kasını innerve eder. Erekteör pili kasının inersiyosu kıl kökündedir. Kasıldığında kılı dik konuma getirir.

2.2. Fare Derisinin Anatomik ve Histolojik Yapısı

Yapılan çalışmalar; epidemis, dermis ve subkutan dokuyu ve yağ bezlerini içermesi yönünden insan dersine en yakın derinin fare derisi olduğunu göstermiştir. Fare epidermisi iki, üç sıra hücreden oluşan çok katlı yassı epitel yapısındadır. Keratin katı oldukça incedir. Stratum spinosum tabakası yoktur. Stratum bazale ve granülozum belirgindir. Papiller dermis az gelişmiştir. Kollajen lifler epidermise yakın ince, derinde kalın demetler yapar, insan derisinden farklı olarak yüzeye paralel seyretmeyip her yöne doğru uzanım gösterir. İnce kollajen lifler subkutan dokuda yağ hücreleri çevresinde de izlenir. İnsan derisinde elastik lifler tüm dermise yayılmış olup retiküler dermiste sıkı bir ağ tabakası oluştururken, fare derisinde elastik lifler seyrek ve çaprazlaşmadan bulunur. Dermis kıl foliküllerini ve yağ bezlerini yoğun biçimde içerir. Fare derisinde subkutan doku kalındır (21).

2.3. İmplant Materyelleri ve Silikonun Kimyasal Yapısı

İmplant materyelleri, ilk kez İnkalar tarafından altın ve gümüşün doku defektlerinde kullanılması ile tıp dünyasına girmiştir (1). Yapılan çalışmalar ideal implant materyelinin, nonalerjen, non-karsinojen, gerilme ve bası gibi eksternal travmatik güçlere dirençli olmasının yanında, steril edilebilir ve istenilen formda üretilebilir olması gerektiğini ortaya koymuştur (3,8,22). Otojen doku kullanımına alternatif olan implantların avantajları; operasyon süresini kısaltmaları, donör saha morbiditesinin olmaması, rezorbsiyona daha az uğramaları sayılabilir. Ancak implant için ideal şartların olmadığı, radyoterapi uygulanmış, çevre dokuda kan akımının yetersiz ve doku kalitesinin düşük olduğu durumlarda vaskülarize otojen doku kullanılması daha uygundur. Bu durumlarda, implantı çevreleyen dokuların iyileşmesi problemlidir, infeksiyon riski artar ve implant ekspoze olabilir (1).

Kimyasal kompozisyonlarına göre implant materyelleri 4 grupta toplanabilir:

1. Metal alaşımlı implantlar
2. Seramik alaşımlı implantlar
3. Polimerler
4. Biyolojik materyeller

Silikon, polimer yapılı implant materyelleri arasında bulunan non-toksik, non-irritan, non-alerjen ve biodegradasyona uğramayan materyeldir (1,8). Silikon temel olarak Silisyum atomu içeren bir maddedir. Berzelius silisyum oksit (SiO_2)'i veya silika olarak isimlendirilen yapıyı potasyum florür ile birleştirmiş, Deville elde edilen maddeyi eriterek silisyum tozunu oluşturmuştur(8). Silisyumun keton ile reaksiyone edilmesi ile oluşan bileşik "silikon" ismini almıştır. Tıbbi kullanım için en basit silikon, dimetilsiloksanın polimerizasyonu ile elde edilen "polidimetilsiloksan"dır. Polidimetilsiloksan, dimetilsiloksanın lineer zincir yapısıyla oluşur. Lineer zincirlerin uzunluğu silikonun akıcılığı üzerine doğrudan etkilidir (1,2,8). Sıvı silikon kısa polimer zincirlerinden oluşurken, polimer zincirlerin uzaması jelöz tipte silikonu, silikon polimerlerinin yan bağlarının artırılması ve zincirlerin birbirine bağlanması ise katı silikonu oluşturur (8,22). Polidimetilsiloksan ağının boşluklarının silikat, demir oksit, benzoil peroksit gibi maddelerle doldurulması silikonun elastikiyet ve dayanıklılığını artırır. Bu işleme "vulkanizasyon" adı verilir. Vulkanizasyon oda ısısında (room temperature vulcanization; RTV) veya yüksek ısıda (high temperature vulcanization; HTV) yapılabilir. Medikal kateterler, hidrosefali şant ve drenaj tüpleri, meme protezlerinin membranları, eklem protezleri, penil protezler RTV veya HTV şeklinde üretilen yüksek yoğunluklu silikon elastomerleridir (8). Uchida 1961 yılında meme augmentasyonunda ilk sıvı silikon enjeksiyonu uygulanmış 1963 yılında geliştirmiştir (5). Ancak Chaplin 1969 yılında bu enjeksiyonların meme nodülleri, kronik inflamasyon, cilt ve meme nekrozu ve ölüme yol açtığını rapor etmiştir (5). Jel formundaki silikon enjeksiyonunda kontur deformitelerinin düzeltilmesinde uygulanmış, ancak "Human Adjuvant Disease" adı verilen otoimmün reaksiyonları arttırabileceği ve migrasyonları sonrası, yağ dokularında kısa zincirli polimer yapıları ile fibröz kapsül reaksiyonları oluşturdukları rapor edilmiş, 1992 den itibaren kullanımını kısıtlanmıştır (5,8,22,23). FDA tarafından alınan bu karar ABD'de halen geçerlidir.

2.4. Silikon İmplantlar

1.Silikon implantların tipleri

Silikon meme implantları:

- a) İçleri doldurulmuş implantlar,
- b) Şişirilebilir implantlar,
- c) Çift lümenli implantlar olarak sınıflandırılabilir.

Yüzey özelliklerine göre ise:

- a) Düz yüzeyli,
- b) Pürtüklü (texture) yüzeyli olarak ikiye ayrılır(5).

a) İçleri doldurulmuş implantlar: Meme implantları geliştirilirken daima iki kriter aranmıştır: güvenlik ve etkinlik. Güvenirliliğini toksik etkisi, immunojenik etkisi, teratojenik etkisi, karsinojenik etkisi ve mamografi üzerindeki potansiyel etkisinin olmaması belirlerken; etkinliğini kapsuler kontraktür, deflasyon, palpasyonla ele gelmesi ve kıvrılma olasılığının düşük olması belirler (24,25). Bu, ABD’de kullanılan meme implantı seçenekleri dolayısıyla kullanılan dolgu materyelleri zaman içinde sınırlanmıştır. Cronin ve Gerow, 1960 yılında dayanıklı polimerik membran ile çevrelenmiş silikon jel dolu implantı uygulamışlardır (26) . Ancak % 30-50 oranında kapsül kontraksiyonu geliştiğini tespit etmişlerdir (5,8). 1970 ve 80’li yıllarda poliüretan kaplanmış silikon jel dolu implantlar geliştirilerek kapsül gelişiminin azaltılması amaçlanmıştır. Ancak poliüretanın çevre dokuya sıkıca yapışması ve poliüretanın biodegradasyonu sonucu toluen 2,4 diisosiyanat ve toluen 2,6 diisosiyanat gibi karsinojenik iki ürünün oluştuğunun saptanması üzerine implantlar kullanımdan kaldırılmıştır (27). Saline (serum fizyolojik) dolu implantlar 1960’dan bu yana kullanılmaktadır. Orijinal salin dolu implantlar düz yüzeyli iken, 1980’den sonra pürtüklü (textured) yüzeyliler geliştirilmiştir. Pürtüklü yüzeyin kapsüler kontraksiyon oranını azalttığı çalışmalarla gösterilmiştir (28,29). Diğer alternatif dolgu materyelleri organik polimerler ve ek kimyasal içerenler olarak iki grupta toplanabilir: Organik polimerler içinde lipidler (trigliseridler, soya yağı, yer fıstığı yağı), hidrojel, polivinilpirolidon(PVP), hidroksipropilmetilselüloz, hyaluronik asit, yosun sayılabilir. Kimyasal içerikli olana örnek polietilenglikoldür (30). Bunlardan PVP ve soya yağı kullanımdan kalkmıştır.

b) Çift lümenli implantlar: 1974 yılında geliştirilmişlerdir. İki lümen içerir: ayarlanabilir volümde salin dolu lümen ve sabit volümde silikon jel dolu lümen. Orijinal çift lümenli implant 2 şekildedir:

- a) Jel dolu iç lümen ve salin dolu dış lümen
- b) Salin dolu iç lümen ve jel dolu dış lümen.

Jel dolu iç lümen ve salin dolu dış lümenin avantajının salin dolu lümenin silikon jel için ikinci bir bariyer oluşturması olarak sunulmuştur. Salin dolu lümen intraluminal antibiyotik ve steroidlerin yapılmasına olanak sağlar. Ellenberg ve Braun 291 hastayı içeren serilerinde çift lümenli implant + intraluminal steroid ile silikon jel dolu implantı karşılaştırmışlardır (5,8). Çift lümenli implant + steroid grubunda kapsüler kontraktür oranı önemli ölçüde azalmıştır. Becker ekspansiyon protezi jel dolu dış lümen ve salin dolu iç lümen şeklinde tasarlanmış çift lümenli implantın modifikasyonudur (5,8).

c) Şişirilebilir (inflatable) implantlar: 1965 yılında Arion tarafından sunulmuştur (5). İmplant düz yüzeyli sert polimerik silikonla kaplı normal salin solusyonunu içerir. Politetrafloroetilen içeren valv sistemi vardır. Avantajları; küçük insizyondan kolayca yerleştirilir, meme asimetrisi rekonstrüksiyonunda boyutlar ayarlanabilir. En önemli dezavantajı valv hasarına bağlı sıvı kaçağı ve sönmedir (5,31).

2. Silikon implantlarda kapsül oluşumu

Silikon implant ile meme büyütme ameliyatı sonrası en yaygın komplikasyon, implant etrafında konstriktif fibröz kapsül oluşmasıdır (32). Kapsül, vücuda yerleştirilen yabancı cisim çevresinde oluşan fibröz skar dokusu şeklinde tanımlanabilir (4). Kapsül duvarı iki tabakadan oluşur: Dış tabaka; sıkı kollajen kompozisyonundan oluşur ve kapsülün kalınlığından primer sorumludur. Bu tabakanın kalınlığı arttıkça, hipertrofik skar dokusu gelişiminde olduğu gibi, kollajen liflerin düzenlenmesi değişir. Hücresel içerik daha belirgindir. Mononükleer makrofajlar başta olmak üzere, histiositler ve lenfositleri içerir. İç tabaka; yüzeye paralel daha ince düzenli kollajen liflerinden oluşur. Kapsülün iç yüzüne doğru lifler daha az güçlüdür ve hyalin dejenerasyon gösterir (10,33,34). Ginschbach, Busch, Kühnel yaptıkları çalışmalarda fibröz kapsül yapısı içinde kontrakte olma özelliğine sahip, az sayıda myofibroblastların olduğunu tespit etmişlerdir (32). İmplantlar çevresinde kapsülün meydana geliş aşamalarına yönelik yapılmış histolojik incelemelerden elde edilen sonuçlara göre kapsül gelişimi 3 döneme ayrılabilir (8):

1. Erken dönem: Kapsül oluşumunda hücrel reaksiyon belirgindir. İlk hafta içinde implant çevresinde makrofaj, fibroblast ve lenfositlerden zengin granülasyon dokusu meydana gelir. Fibroblast öncü hücre olup, matür hali fibrosit ismini alır. Dördüncü haftanın sonunda kapsül yapısındaki hücreler progresif azalır, kapsül kollajen liflerin baskın olduğu bir yapıya dönüşür. İkinci aya kadar kollajen sentezi ve birikimi devam eder. Bu süreden sonra kollajen miktarı azalıp yeni kapiller damarların oluşumu belirginleşir.

2. Standart dönem: 3-24 ay arası dönemdir. Kapsülde yağ hücresi infiltrasyonu başlar. Yara iyileşme sürecine benzer özellikler gösterir.

3. Geç dönem: Gecikmiş yara iyileşme etkenlerinin kronik hal alması sonucu meydana gelir. Kollajen lifler kalınlaşır. Fibröz kapsül yapısı içinde talk, silikon damlacıkları gibi yabancı cisimler gösterilmiştir (8,34,35).

2.5.Kök Hücre

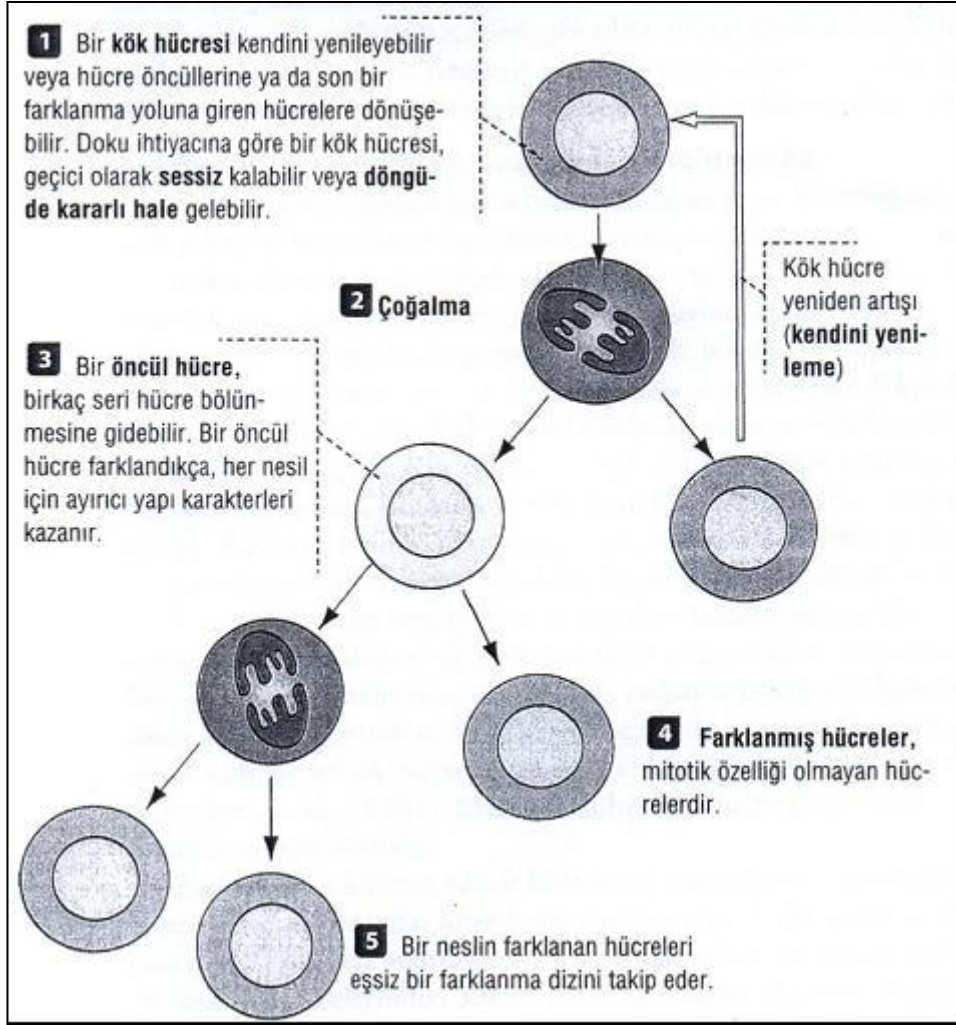
Kök hücre araştırmaları, günümüzün bilim ve teknoloji gündeminin en önemli, aynı zamanda en tartışmalı konusunu oluşturmaktadır. Embriyonel gelişme mekanizmalarının incelenmesini mümkün kılan çok ayrıntılı bir model sunmasının ötesinde kök hücre, doku ve organları yenileme anlamındaki üstün potansiyeli sayesinde, doku harabiyeti veya kaybı sonucunda ortaya çıkan pek çok hastalığın tedavisine yönelik tıp dünyasında ve toplumda büyük beklentiler doğurmaktadır. İnsan kök hücresinin bir kaynağı erişkin birey dokularıdır. Araştırmalar, erişkin bireylerin farklılaşmış olan dokularında bulunan bu tür kök hücrelerin farklı yönlerde gelişme yeteneklerinin kısıtlanmış olduğunu göstermiştir. Beklentilere karşılık verebilecek potansiyeli taşıyan embriyonel kök hücre kaynakları tartışmalıdır. Bunlar, insanda tüp bebek uygulamalarından artan ve kullanılmayan embriyolar ya da gebeliğin sonlandırılmasıyla ceninden elde edilen doku örnekleridir. İnsan doku ve hücrelerinin araştırma amaçlı kullanılması özellikle batı ülkelerinde çeşitli çevrelerin tepkisini çekmekte ve embriyo hakları adına insan yaşamının ne zaman başladığına ilişkin farklı görüşlere dayalı etik ve yasal tartışmalara yol açmaktadır. Tedavi amacıyla gerçekleştirilen bu işlemler, aynı zamanda insan klonlama işlemlerinin ilk ve en kritik aşamasına da karşılık gelmektedir. Tartışmalar, en yoğun biçimde sürdürüldükleri batı ülkelerinde, bu ülkelerin bilim ve teknolojik alt yapılarına karşılık, kök hücre araştırmalarını sınırlayan ve engelleyen bir boyut kazanmış, sonuçta bu alandaki araştırmaların ağırlığı Güney Kore gibi ülkelere kaymaya başlamıştır. Son yıllarda bu alandaki atılımların gelişmekte olan ülkelere yapılmaya başlaması bunun açık göstergesidir. Ülkemiz; tıp bilim ve teknolojileri alanlarında ulaştığı

bilgi ve birikim ile kök hücre araştırmalarında ciddi bir atılım yapmak için uygun bir konumda bulunmaktadır. Tüm kurumları ile kök hücre çalışmalarına kaynak ve insan gücü aktarabildiğinde, ülkemizin batı ülkelerinden doğan boşluğu doldurabilecek ve bu alanda öne çıkma şansını yakalayabileceğine inanıyoruz.

2.5.1. Tanımlamalar ve Tarihçe

Gerekli bilgileri amaca uygun aktarabilmek için bazı temel terimleri açıklamak uygun olacaktır:

Kök hücre, bölünerek kendini yenileyebilen ve kan, karaciğer, kas ve sinir dokusu gibi özelleşmiş görevler üstlenen dokuları oluşturabilecek biçimde farklılaşabilen hücrelerdir. Bu hücreleri diğerlerinden ayıran başlıca iki özellik yenilenebilme ve farklılaşabilme yetenekleridir (Şekil 2). Okarma ve arkadaşları, tekli hücrelerden elde edilen embriyonik kök hücre serilerinin 300–400 döngü boyunca çoğalabildiklerini göstermiştir (36). Sonuç olarak, meydana gelen hücreler özelleşmemişlerdi ve bu nedenle hücrelerin uzun dönemde kendilerini yenileyebilme yeteneklerine sahip oldukları bildirildi. Hücrelerin bölünme kapasitelerini kromozomların uç kısmında bulunan ve “telomer“ denilen DNA zincirleri belirler. Telomerler ne kadar uzunsa hücreler o kadar çok bölünebilir. Telomerlerin de uzun kalmasını sağlayan “telomeraz enzimi”dir. Bir hücrede telomeraz enzimi ne kadar aktif ise telomer uzunluğu da o kadar korunabilir. Kök hücrelerinde de çok aktif telomeraz enzim aktivitesi vardır. Bu nedenle kök hücreler bu kadar çok bölünebilir. Kök hücreler, birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Farklılaşma kabiliyetlerine göre totipotent, pluripotent ve multipotent hücreler olmak üzere üç grupta incelenirler.



Şekil 2. Kök Hücre Özellikleri. Histoloji ve Hücre Biyolojisi

2.5.2. Tarihi Gelişim

1949 yılında Jacobson ve ark 1951 de Lorenz ve ark. ilk defa ölümcül dozda ışınlanmış hayvanları kurtarmak için intravenöz kemik iliği infüzyonu ihtimalini ortaya atmışlardır (37,38).

1959- Invitro fertilizasyon (IVF) yöntemi ile ilk hayvan (tavşan) üretildi.

1961- Till ve McCulloch hematopoetik kök hücrelerin sıçanlardaki radyasyona bağlı gelişen hematopoetik yetmezliği düzeltebileceğini ortaya attılar .

1968- Edwards ve Bavister ilk insan ovumunu in vitro olarak fertilize ettiler.

1978- İlk IVF bebek İngiltere’de doğdu.

- 1981- Evans ve Kaufman fare embriyonik kök hücrelerini elde ettiler.
1988- Kordon kanı transplantasyonu, ilk kez Fanconi anemili bir hastaya uygulandı.
1996- Rhesus maymunlarının embriyonik kök hücreleri elde edildi.
1998- Thomson ve arkadaşları ilk insan embriyonik kök hücrelerini elde ettiler.
2000- İnsan embriyonik kök hücrelerinin pluripotent olduğu anlaşıldı.

2.5.3. Kök Hücre Türleri

a. Totipotent kök hücreler (Totus-Tam, bölünmemiş; Potentia-Güç)

Her yönde farklılaşma ve farklı yönlere gidebilme yeteneğinde olan kök hücrelerdir. Zigot, vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip ilk embriyonel hücredir.

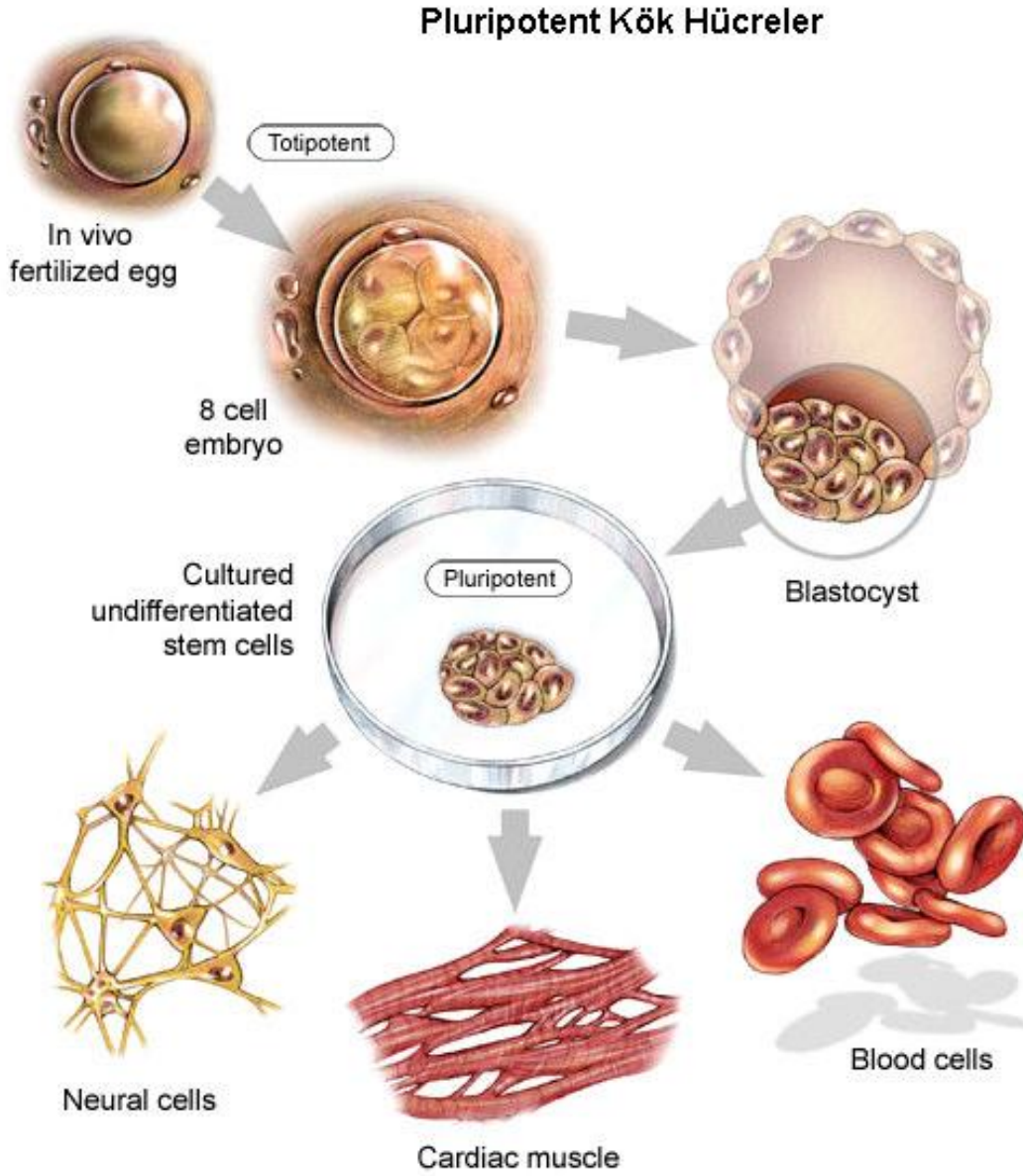
Bu hücreye her şeyi yapabilen anlamına gelen “totipotent hücre” denir. Bu terim embriyonun 5. gününe kadar tüm blastomerleri için geçerlidir (erken embriyonik dönem). Bu hücrelerin her birinden ayrı birey elde edilebilir (Şekil 3,4).



Şekil 3. Üç (3) günlük embriyo



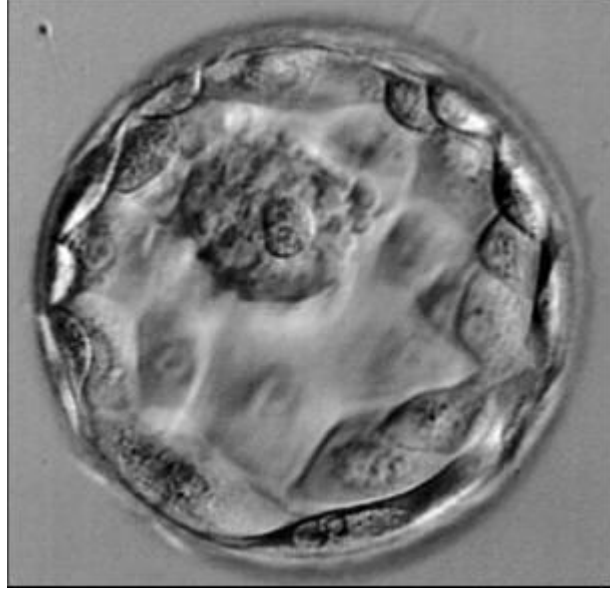
Şekil 4. Dört(4) günlük embriyo



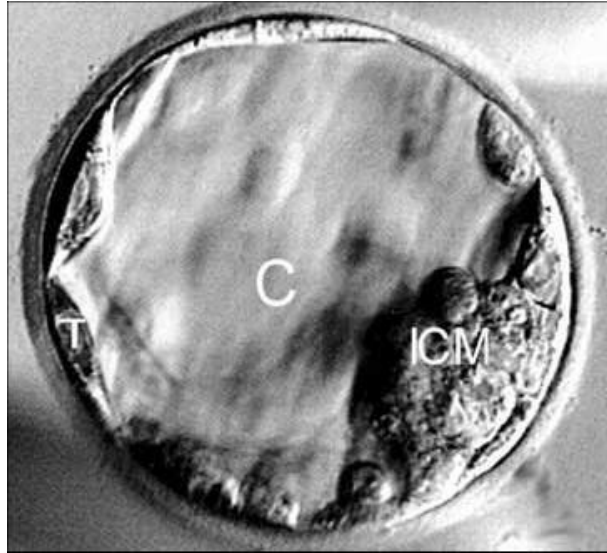
Şekil 5. Pluripotent kök hücre farklılaşması

b. Pluripotent Kök Hücreler

Gebeliğin 5. gününde “blastosöl” şekillenir. Embriyo bu dönemde blastosist olarak tanımlanır (Şekil 5). Blastosist 3 yapıyı içine alır: Trofoblast, Blastosöl, Nodus embriyonalis. (Şekil 6,7) Blastosist hücreler pluripotent kök hücreler olarak sınıflandırılabilir. Bu hücreler, vücuttaki bütün dokulara kaynaklık edebilir fakat yeni bir birey meydana getiremez.



Şekil 6. Blastosist altıncı (6.) gün

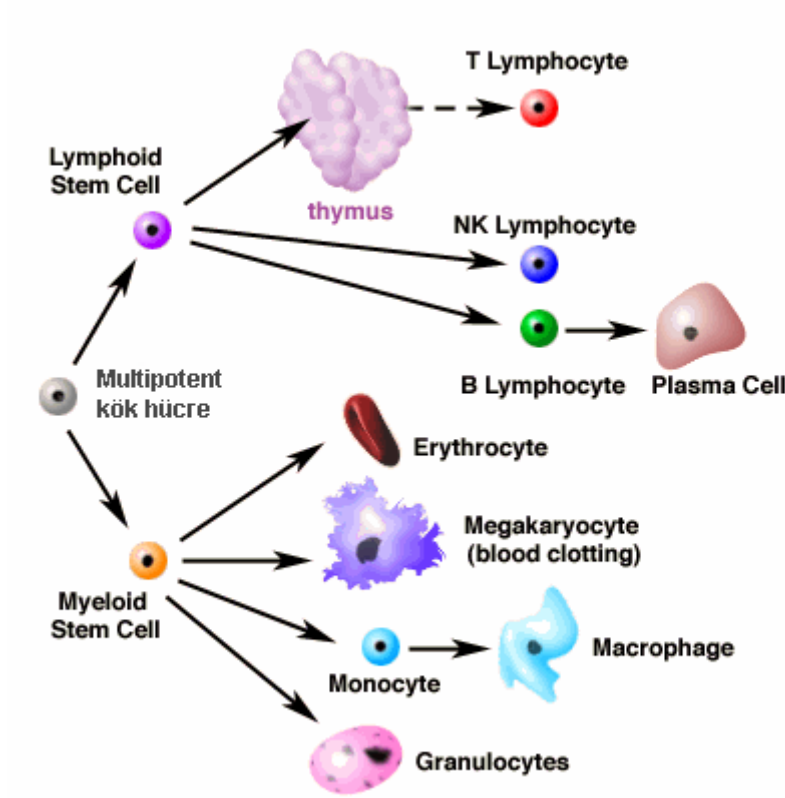


Şekil 7. Blastosist 8. Gün T: Trofoblast, ICM: Inner Cell Mass (Nodus Embriyonalis)

c. Multipotent kök hücreler

Fetal dönemde hücreler, biraz daha özelleşmiş erişkin kök hücrelerine dönüşür. Bu erişkin kök hücreleri de tipik olarak buldukları dokunun hücre tipini üretirler. Yani multipotent kök hücrelerin farklılaşması, daha sınırlı sayıda hücre dizesidir (39).

Bu tür hücrelere en iyi bilinen örnek, hematopoetik kök hücrelerdir (Şekil 8).



Şekil 8. Hematopoetik kök hücre farklılaşması

İnsan vücudunda ancak birkaç hücre türüne dönüşebilen multipotent kök hücreler, laboratuvar koşullarında gerekli destekleyici ortam ve sinyaller sağlandığında çok daha fazla hücre türüne dönüşebilmektedir. Bu bilgiler ışığında insanlık tarihi boyunca sorulmuş olan şu soru tekrar gündeme gelmiştir: “Hasara uğramış bir organın fonksiyonlarını restore etmenin, onun yerine yenisini koymaktan daha iyi bir yolu var mıdır?”

Tarih boyunca transplantasyon düşüncesi bu soru üzerine yoğunlaşmış olup Mısır sfenksleri ve denizkızları gibi mitolojik semboller birer ksenotransplantasyon örneği olarak yerini almıştır. Mitolojide ateşi Olympus Dağından çalarak, insanlığa hediye eden Prometheus'un Zeus tarafından cezalandırılması hikayesi de buna bir örnektir. Zeus tarafından Kafkas dağında bir kayaya bağlanarak karaciğerinin hergün bir kartal tarafından yenmesi şeklinde bir cezaya çarptırılan Prometheus'un karaciğeri hergün kendisini yenilmektedir. Bu hikaye, karaciğer hücresinin rejenerasyon yeteneğini ve dolayısıyla kök hücre kavramını ortaya koyan ilk anlatımdır. Yüzyıllar sonra bu transplantasyon fantezi ve teknolojisi, tıbbi bir profesyonelin eline geçerek klasik edebiyatın bir uç örneğini oluşturacak şekilde Mary Shelley'in Frankenstein romanına malzeme olmuştur.

Bugünün kök hücre tedavisi üzerine dünyada belki de ilk çalışmaları yapan, insan ömrünü uzatmanın yolunun, doğum sonrası atılan plasentalarda ve kordon hücrelerinde olduğunu söyleyen araştırmacı Prof. Dr. Süreyya Tahsin Aygün'dür. 1950–1960 lı yıllarda hayvanlarda Fetal greftler ve kordon kanı greftleri ile çeşitli hastalıkların tedavisinde araştırmalar yapmış ve Almanca tıp dergilerinde yayınlamıştır (40).

2.5.4. Kök Hücre Plastisitesi

Gerçek kök hücre tanımını oluşturan prensipler temelde şunlardır:

- 1- Kendini yenileyebilme yeteneği ya da başlangıçtaki hücrelerin karakterlerini taşıyan en az bir benzer hücre oluşturabilme yeteneği (self renewal)
- 2- Tek hücreden birden fazla seri hücrelerine farklılaşabilme (multi-lineage differentiation)
- 3- Belli bir dokunun in-vivo fonksiyonel rekonstrüksiyonu (41).

İlk olarak farelerden daha sonra da primatlardan ve çok daha yakın bir zaman önce insan blastosistlerinden elde edilen embriyonik kök hücreler bu temel prensiplerin tümüne uymaktadır (42). Erişkin kök hücrelerin büyük bölümü de self renewal ve differansiyasyon potansiyellerinin embriyonik kök hücrelerden daha düşük derecede olmasına karşın bu kriterlere uymaktadır. Üzerine en iyi çalışılmış erişkin kök hücreler olan hematopoetik kök hücreler en azından in vivo olarak kendini yenileyebilen hücre bölünmelerine uğramakta, tek hücre düzeyinde bütün matür kan elemanlarına diferansiye olabilmekte ve myeloid serisi zayıflamış bir insan veya hayvanın kemik iliğini yeniden popüle edebilmektedir. Diğer erişkin kök hücreler ise daha yakın zamanda tanımlanmış olup üzerlerinde daha az çalışılmıştır. Bununla beraber nöronal kök hücreler, mezankimal kök hücreler ve epidermal kök hücreler yukarıda açıklanan temel kriterlere uymaktadır. Korneal kök hücreler ve angioblastlar ya da

endotelial kök hücreler olarak adlandırılan diğer kök hücrelerde tek diferansiye hücre tipine farklılaşabilme özellikleri dışında bu kriterlere uymaktadırlar (43).

Son yıllarda, belli bir dokudan alınan hücrelerin farklı bir dokuya diferansiye olabilme özelliğini bildiren çalışmaların sayısı giderek artmıştır ve bu çalışmalar “kök hücre plastisitesi” çatısı altında toplanmışlardır. Kök hücre plastisitesi; bir hücrenin köken aldıkları dokuların dışındaki dokulara diferansiye olabilme özelliğini tanımlamaktadır. Bunun örnekleri arasında endotele, kas hücrelerine, kalp kasına, hepatositlere ve nöronlara dönüşebilen kemik iliği kökenli hücreler ve pürifiye edilmiş hematopoetik kök hücreler bulunmaktadır (40).

a. Hematopoetik Kök Hücre Plastisitesi

Hematopoetik kök hücre diferansiyasyonunun dokuya sınırlı olduğu bilgisinin değişmesi ve sadece hematopoetik hücrelere değil aynı zamanda iskelet kasına, endotele, nöroektoderme ve epitelyum dokusuna diferansiyasyonun tanımlanması, hematopoetik kök hücre plastisitesi kavramını ortaya çıkarmıştır. Bu diferansiyasyonun gerçekleştiğini kanıtlamak ve plastisiteden bahsetmek için üç koşul oluşmalıdır:

Birincisi, değişen hücrelerin orijini hücre işaretleyicileri ile belirlenmelidir. İkincisi, değişen hücrenin bulunduğu dokunun morfolojik parçası olduğu gösterilmelidir. Üçüncüsü; değişen hücre bulunduğu dokunun ya da organın fonksiyonlarını edinmelidir. Erişkin kök hücre plastisitesini bildiren çalışmaların neredeyse tamamı bugüne kadar kemik iliği veya hematopoetik kök hücrelerden zenginleştirilmiş periferik kan kullanılarak gerçekleştirilmiştir (40).

b. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği, yaşayan sağlıklı hücreleri vücuttan izole edip, çoğaltıp, onları biyouyumlu taşıyıcı materyallerle birleştirmek ve oluşan ürünleri hastalara yeniden transplante etme işlemidir. Kök hücrelerin çeşitli dokulara farklılaşma potansiyeli rejeneratif tıp için önemli olmakla beraber hücrelerin farklılaşma yollarını ve gelişimini, istenen dokuya nasıl yönlendirileceği konusu henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Doku mühendisliği, özellikle doku eksikliklerinin sebep olduğu boşlukları doldurma amacıyla kullanılabilir.

2.5.5. Kök Hücrelerin Kullanım Alanları

Son yirmi yıldır dünyada kabul gören sekliyle kemik iliği veya kandan elde edilen ve kan dokusu üretebilen nakil; Akdeniz anemisi, lösemi ve lenfoma gibi hastalıkların ve bazı kanser türlerinin tedavisinde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Bu yöntemin kullanımını sınırlayan en önemli faktör, alıcı ile verici arasında tam bir doku uyumunun gerekli olmasıdır. Toplumda doku uyumu açısından binlerce farklı bireyin varlığı sebebiyle bu uyum ancak kardeşler arasında gerçekleşmektedir. Kardeşlerin doku uyumu göstermesi ihtimali ise sadece % 25'dir (44).

2.5.5.1. Kök Hücrelerin Temel Yasam Bilimlerinde Kullanım Alanları

- a. Memeli organizma hücrelerinin gelişiminde kök hücrelerinin erken dönemlerde değişik hücre türlerine yönelmelerinin temel mekanizmalarının araştırılması
- b. Kök hücrelerin embriyonun erken dönemlerinden itibaren yönlendirilmelerinde rol alan biyolojik süreçlerin açıklığa kavuşturulması
- c. Diferansiyasyon ve yönelmede rol alan genlerin araştırılması
- d. Kanı oluşturan hücrelerin büyüme, çoğalma ve farklılaşmalarında rol oynayan mezankimal kök hücrelerin incelenmesi
- e. Embriyonik kök hücrelerin in vitro şartlarda erişkin hücre ve organ oluşumunu sağlamaya yönelik evrelerin açığa çıkarılmasıdır.

2.5.5.2. Kök Hücrelerin Klinik Bilimlerde Kullanım Alanları

Embriyonik kök hücreler üzerindeki temel bilimsel araştırmaların, bu hücrelerin yakın gelecekte klinikte tedavisi mümkün olmayan birçok hastalığa yeni çözüm yolları üreteceği beklenmektedir. Böylece, kendini yenileme ve onarım kapasitesi olmayan hücrelerin kaybına bağlı olarak gelişen hastalıklar tedavi edilebilir hale gelecektir. Bu bölümde, olumlu sonuçlar vermiş ve klinik pratikte uygulama ihtimali yüksek çalışmalardan bahsedilecektir.

a. Yara İyileşmesinde Kök Hücreler

Endotelial progenitör hücre tedavisi ve terapötik vaskülogenezin plastik cerrahide çeşitli uygulamaları vardır. Son yıllarda problemlili yaralarda yeni damar oluşumunu artırmak için endotelial progenitör hücre transplantasyonu kullanılmaktadır (45). Sistemik dolaşıma enjekte edildikten sonra endotelial progenitör hücreler seçici bir şekilde iskemik dokulara

yerleşir. Böylece endotelyal progenitör hücreler iskemik flepleri kurtarmada faydalı olabilir. Terapötik damar oluşumunun flep yaşayabilirliğini arttırma, yara iyileşmesini geliştirme, doku çoğalmasını hızlandırma potansiyeli vardır.

Endotelyal progenitör ve kök hücreler, diyabetik hastalarda veya yanıklarda olduğu gibi komplike yaraların tedavisinde tek başına büyüme faktörlerinden daha çok hücreleri yenileyerek yararlı olabilir (46).

b. Kemik Doku Mühendisliği ve Kök Hücre

Geniş kemik parçalarının rekonstrüksiyonu için ideal bir seçenek halen bulunamamıştır. Osteokondüktif bir çatıyla kombine edilen osteojenik işlenmiş hücrelerin mühendisliği ile elde edilen kemik greft materyali ümit veren bir yaklaşım olabilir. Bazı çalışmacılar, multipotent kök ve progenitör hücreler kullanarak kemik greft mühendisliğinde iyi sonuçlar bildirmişlerdir (47). Rapor edilen modellerin çoğunda uzun bir kemikte oluşturulmuş geniş, segmental eksiklik in vitro çoğaltılmış otolog osteojenik progenitörleri taşıyan silindir şeklinde poröz bir biyoseramik ile doldurulmuştur. Stromal osteoprogenitörler lokal olarak biyoseramik çatılara aktarıldığında kök hücreler, kritik boyutlu kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırmaktadır. Hayvanlardaki başarılı sonuçlardan sonra insanlarda kemik rekonstrüksiyonu için çeşitli klinik denemeler yapılmaktadır (48). Kök hücreler ve progenitörlerin, doku rejenerasyonundaki fonksiyonları hakkında yeterli bilgi edinildiğinde kraniyofasiyal kemik defektlerinin düzeltilmesinde önemli rol oynayacaktır.

Kraus, 2006 yılında yayınladığı çalışmasında; geniş kemik defektleri olduğu durumlarda kemik rejenerasyonu için izole edilip kültürde çoğaltılmış mezankimal kök hücreler, osteokondüktif ve osteoindüktif özellikleri ile en az otojen kansellöz kemik grefti kadar başarılı olmuştur (49).

c. Kıkırdak Doku Mühendisliğinde Kök Hücreler

Hasarlı kıkırdığın onarım ve rejenerasyonu için doku mühendisliği kullanılarak in vitro hazırlanan yapay kıkırdak kullanımı iyi bir seçenek olabilir. Çeşitli çalışmalar, kemik iliği kaynaklı mezankimal kök hücrelerin kıkırdak doku mühendisliğinde kullanımının, kültüre edilmeleri zor olan kondrositlerden daha umut verici olduğunu göstermiştir (50). Bu çalışmalarda, progenitör hücreler defekt bulunan kıkırdak doku içine implante edildikten sonra çoğalıp kondrositlere farklılaştığı gözlenmiştir.

d. Tendon Mühendisliğinde Kök Hücre

Çeşitli deneylerle fibroblastlar veya kemik iliği kaynaklı mezankimal kök hücreler tendon ve ligament onarımını iyileştirmek için tip I kollajen jellerine enjekte edilmiştir (18). Tendon ve ligament eksikliklerinin tam iyileşmesini sağlamak ve biyomekanik özellikleriyle beraber hasarlanmış tendonun fonksiyonelliğini geliştirmek için başka çalışmalara da ihtiyaç vardır. Tendon doku mühendisliği ürünleri; otogreftlere maliyet bakımından üstün olmalı, elastik özellik taşımalı, lineer olmayan strese dayanıklı olmalı, fiksasyon metoduna dayanabilmeli ve hücreler iskeleye kolayca ekilebilmelidir.

e. Nöral Doku Mühendisliğinde Kök Hücreler

Yağ kaynaklı erişkin kök hücreleri, mezankimal kök hücre kaynaklarından biri olup kondrosit, myosit, osteoblast ve nöral progenitör hücrelere dönüşebildikleri rapor edilmiştir. Nöral dokuların kök hücre araştırılması için kullanılması, vericide morbidite sebebi olduğundan sağlanabilecek hücre miktarı kısıtlıdır. Vücutta çok miktarda bulunan ve belirgin donör alan morbiditesi oluşturmadan elde edilebilecek bir doku olması nedeniyle yağ dokusu üzerinde araştırmalar yoğunlaşmış ve uygun ortamda üretim sırasında nöral doku oluşumu gözlenmiştir. Bazı araştırmacılar yağ doku kaynaklı kök hücreleri kullanarak hasarlı merkezi sinir sistemine intraserebroventriküler olarak enjekte etmiş ve bu hücrelerin daha çok hasarlı bölgelere göç ettiğini göstermişlerdir (51).

f. Erişkin Kök Hücrelerinin Kalp Kası Hücrelerine Diferansiyasyonu

Orlic ve ark seçilmiş hematopoetik kök hücreleri, koroner arterleri bağlanarak miyokard infarktüsü oluşturulan farelerin nekrozlu miyokard alanı çevresine enjekte etmişlerdir. Enjeksiyondan 9 gün sonra, hücrelerin enjekte edildiği nekrozlu alanın % 68'inde kalp dokusunun her üç tabakasının da rejenerasyonunu göstermişlerdir. Gelişen rejenerasyon ile beraber kalp fonksiyonlarında sistolik sırasında % 40 ve diyastolik sırasında % 36 olacak şekilde belirgin düzelme sağlanmıştır (52). Bir başka çalışmada Strauer ve ark kemik iliği hücrelerini intrakoroner enjekte ederek infarkt sahasında küçülme, ventriküler fonksiyonlarda ve miyokardiyal perfüzyonda düzelme sağlamışlardır (53).

2.5.6. Kök Hücre Kaynakları

2.5.6.1. Kemik İliği

Kemik iliği, heterojen yapıda hematopoetik hücre grubundan oluşur. Bu grupların bir kısmını progenitör kök hücreler oluşturur. Kemik iliği transplantasyonunda standart yöntem, kök hücrelerin herhangi bir işleme tabi tutulmadan alıcı kişiye verilmesidir. Allojenik transplantasyonda, donör ve alıcı arasındaki uyumsuzluk arttıkça Greftversus-Host hastalığı (GVHH) gibi ciddi yan etkilerin ortaya çıktığı bilinmektedir.

Greftte bulunan T lenfosit sayısını azaltma girişimleri ise GVHH şiddetini ve sıklığını azaltmakla birlikte engraftman yetersizliğine neden olabilmektedir. Başarılı kemik iliği nakli için yeterli sayıda hücrenin elde edilmesi ve büyük miktarlarda (6 x 10⁸ mononükleer hücre/kg) hücre verilmesi gerekmektedir.

2.5.6.2. Periferik Kan

Yeterli sayıda hücre elde etmek, kemik iliğine göre daha kolay olduğu gibi greft yetersizliği ve relaps oranı daha düşüktür. CD 34+ hematopoetik kök hücreler, kemoterapi veya büyüme faktörü ile mobilize edilerek periferik kandan toplanabilir. Mobilize edilmeyen periferik kan çok az miktarda (yaklaşık % 0.15 oranında) CD 34+ mononükleer hücre içerir. Periferik kan kaynaklı kök hücreler, alıcıya verilmeden önce yeterli sayıyı elde etmek için in-vitro çoğaltma sistemleri kullanılır. Periferik kan kullanımının bir avantajı da özellikle lenfoma, solid tümörlerde ve remisyonadaki lösemik hastalarda kemik iliğine göre daha az oranda malign hücre içermesidir.

2.5.6.3. Kordon Kanı

Erişkin kemik iliğinin aksine göbek kordon kanından alınan saflaştırılmış progenitör hücreler, büyüme faktörü verilmese bile maturasyona uğrarlar. Broxmeyer ve ark yaptıkları çalışmalarda, hem term hem de preterm göbek kordon kanının erişkin periferik kanına göre anlamlı olarak daha fazla sayıda progenitör kök hücre içerdiği göstermiştir (54).

İlk kordon kanı transplantasyonu, 1988 yılında Fanconi Anemili bir hastaya uygulanmıştır. Yeterli hematopoetik kök hücreye sahip kordon kanı toplanarak HLA uyumlu hastaya transplante edilmiş ve kür elde edilmiştir. Bu olgu sonrasında kordon kanı toplama, kordon kanı bankacılığı ve transplantasyon sayısı hızla artmıştır.

Başlangıç çalışmalarından çıkan ilk sonuçlar, kordon kanı transplantasyonunun kemik iliği transplantasyonuna iyi bir alternatif olduğunu göstermiştir. Çocuklarda malign ve malign olmayan hastalıklardaki sonuçlar oldukça iyidir. HLA uyumlu kordon kanı transplantasyonu yapılan hastalarda GVHH oranı daha azdır. Bu etki, kordon kanında mevcut lenfosit sayısının az olmasına, kontamine anne hücrelerinin immunsupresif etkisine ve doğumda immünolojik fonksiyonların immatür olmasına bağlanmaktadır.

2.5.6.4. Fetal Karaciğer

Fetüs gelişimi sırasında karaciğer, fizyolojik olarak hematopoetik sistemin bir parçasıdır. Gebeliğin ikinci ayından yedinci ayına kadar olan süre içinde ve lenfopoezin başlangıcından önce fetal karaciğer transplantasyon için kullanılabilir. Konjenital immün yetmezliği olan çocuklarda yapılan çalışmalarda, fetal karaciğerin hem lenfopoetik hem de hematopoetik sistemin yeniden yapılandırılmasında oldukça başarılı olduğu gösterilmiştir .

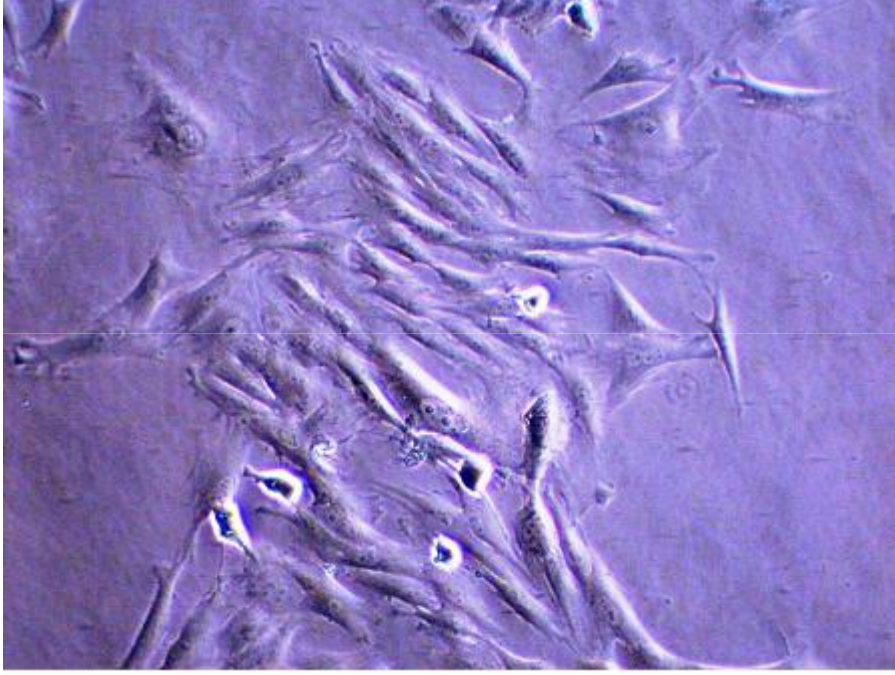
2.5.7. Mezankimal Kök Hücre

Kemik iliği stromasının yeniden yapılandırılması ve dolaşıma kök hücrelerin salınmasını sağlayan “mezankimal kök hücre” olarak adlandırılan bir progenitör hücre grubunun varlığı bilinmektedir. Mezankimal kök hücreler aynı zamanda kondrosit, osteoblast, nöroblast ve myeloblast gibi diğer mezankimal organ ve dokuların prekürsör hücreleridir (55).

Kemik iliği kaynaklı mezankimal kök hücreler kullanılarak gerçekleştirilen ilk klinik çalışmalar, osteogenesis imperfekta tanısı almış çocukların tedavisi için uygulanmıştır .

Ayrıca kalp kası hücresi ve endotel gibi özelleşmiş doku üretiminde de mezankimal kök hücrelerden yararlanılmaktadır (56).

İnsanlarda ana mezankimal kök hücre kaynağı kemik iliği stromasıdır. Mezankimal kök hücre elde etmek için krista iliakadan alınan kemik iliğinin en uygun olduğu düşünülmektedir (57). Yaşla birlikte kemik iliğindeki mezankimal kök hücre sayısı önemli oranda azalır. Bu nedenle otolog ve allojenik kullanım için alternatif kaynaklar gerekmektedir. Umbilikal kordon kanı, kök ve progenitör hücreler için zengin bir kaynaktır ve insan umbilikal veninden kültür edilen mezankimal kök hücre benzeri hücrelerin kemik iliği ve diğer kaynaklardan elde edilen kültüre edilmiş mezankimal kök hücrelerine birçok yönden oldukça benzediği gösterilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. Koloni yapan tavşan mezankimal kök hücreleri (x20, saflaştırma sonrası 3.pasaj kültürü-ATİ Teknoloji/ KTÜ)

Mezankimal kök hücreler, kemik iliği hücrelerinin sadece % 0,01 ile % 0,001'ini oluşturur. Cam ve plastik tüpe olan yapışkanlıkları sayesinde hematopoetik hücrelerden ayrılabilir. Vücutta kemik iliği, kemik, kıkırdak, düz kas ve iskelet kası gibi dokularda bulunduğu ve deri, karaciğer ve nöronlara dönüşebildiği gösterilmiştir. Tam tersi olarak nöral kök hücrelerden kan hücrelerine de dönüşüm tanımlanmıştır.

Mezankimal kök hücreleri kemik iliğinden izole edildikten sonra in-vitro kültür koşullarında çoğaltmak mümkün hale gelmiştir (Şekil 10). Bu hücrelerin doku mühendisliğinde kullanımı başarılı sonuçlar vermiştir. Ayrıca mezankimal kök hücreler, bazı retroviral ve diğer vektörlerle değiştirilerek sistemik ve lokal hastalıkların somatik gen terapileri için kullanılabilir. Kanser hastalarının malign hücrelerine kemoterapötik ilaçların taşınmasını sağlayan genlerle modifiye edilmiş mezankimal kök hücrelerle yapılmış başarılı çalışmalar mevcuttur. Kemik iliği kaynaklı mezankimal kök hücrelerin, de novo myokard oluşturduğu ve infarkt alanına yapılan mezankimal kök hücre infüzyonunun artmış kalp fonksiyonlarını sağladığı bilinmektedir.



Şekil 10. Koloni yapan Tavsan mezankimal kök hücreleri (x10, saflaştırma sonrası 2.pasaj kültürü-ATİ Teknoloji/ KTÜ)

2.5.8. Kök Hücre Uygulamalarının Geleceği

Gen değiştirme tekniklerindeki gelişmeler, kök hücrelerin in-vivo çoğaltılmaları sırasında değişebilmelerine imkan vermektedir. Böylece bir hastanın kendi kök hücrelerini daha iyi hale getirmek mümkün olabilir. Kaybolan bir gen aktivitesi sebebiyle genetik bir hastalık varlığında, genin aktivitesini düzeltmek veya durdurmak böylece başarılabilir. Ayrıca bireyden elde edilen ve kendi doku onarımı için kullanılan otolog kök ve progenitor hücreler immünolojik olarak da idealdir.

Kök hücrelerin vaat ettiği büyük potansiyele rağmen çözülmeyi bekleyen pek çok sorun vardır.

1. Transplantasyonun başarılı olabilmesi için tüm kök hücrelerin farklılaşması gerekir. Aksi durumda sürekli bölünme ve çoğalma yeteneği taşıyan tek farklılaşmamış kök hücrenin bile varlığı tümör oluşumuyla sonuçlanabilir.

2. Allojen transplantasyondan sonra farklılaşmış kök hücreler alıcı immün sistemi tarafından kendinden olarak tanımadığı zaman immünolojik cevap, verici hücrelerin alıcıya dahil olmasını engelleyebilir.

3. Bazı mezankimal hücre serilerini başlatan ajan ve faktörler bilinmesine rağmen serilerin gelişimini düzenleyen moleküllerin detaylarının araştırılması gereklidir. Doku mühendisliği uygulamaları, hastaya özel serileri uyarıcı ve serileri düzenleyici faktör dozları gerektirebilir.

4. Kök hücre çalışmaları, alıcıya hücre türevlerinin nasıl, nereye ve ne zaman verileceğini ortaya koymalıdır. Aynı zamanda bu hücrelerin potansiyellerinin değişip değişmeyeceği, istenen forma ulaşabilmek için yapısal çatıya ihtiyaç olup olmadığı ve genetik olarak nasıl değişeceğinin net bir şekilde tartışılmalıdır (56).

2.6. Silikon İmplantlara Bağlı Kapsüler Kontraktür

2.6.1. Nedenleri

Kapsüler kontraktür silikon implant ile meme rekonstruksiyonunda en yaygın komplikasyondur (58,59). Kapsül yapısındaki değişiklikler ile kapsüler kontraktür gelişmesi arasında direkt ilişki vardır. Kontraktür gelişmiş kapsül yapıları histolojik olarak incelenmiş, kontraktür gelişmemiş kapsül yapısıyla karşılaştırılmış ve şu sonuçlara ulaşılmıştır:

1. Kontrakte kapsül daha kalındır. Fibröz kapsül kalınlığı, kapsüler sertlikle bağlantılıdır. Ancak kapsüler kalınlık ile klinik olarak meme formunun bozulması arasında doğru orantı bulunmamıştır (60).

2. Kontrakte kapsülde başta fibroblastlar olmak üzere hücresel yoğunluk artmıştır. Myofibroblastlar olarak bilinen, düz kas hücreleri benzeri davranış gösteren kontraktil fibroblastların yara kontraksiyonunun aktif elementleri olduğu düşünülmektedir. Myofibroblastlar; yanık skarı, siroz, Dupuytren kontraktüründe olduğu gibi vücudun diğer bölümlerindeki patolojik dokularda da kontraksiyona neden olmaktadır. Ryan tarafından silikon meme implantı çevresindeki dokudan myofibroblastlar identifiye edilmiştir (61). Silikon meme implantı çevresindeki kapsülün kontraksiyonundan da vücudun diğer bölümlerinde olduğu gibi myofibroblastların sorumlu olduğu düşünülmüştür. Ancak yarı ömürlerinin uzun olmaması ve yara yerinden kısa süre içinde uzaklaşmaları, myofibroblastların geç dönemde oluşan kapsül kontraktüründen tek başlarına etken olamayacaklarını göstermektedir (60,61). Histiositler, polimorf nüveli lökositler, lenfosit ve plazma hücreleri diğer kapsül hücrelerindedir. Hücresel zenginlik, implant yüzeyine bakan kapsül tarafında daha belirgindir (34).

3. Silikon jel dolu implantların kapsül yapısında, dış tabakada daha fazla olmak üzere silikon damlacıkları bulunabilir. Bu durum, klinik olarak memenin sertliği ve şekil bozukluğu ile ilişkili değildir.

4. Kapsül yapısında plazma hücrelerinin bulunması, B cell ilişkili immün cevabı düşündürmektedir. Reaksiyonun derecesi ile klinik bulgular arasında orantı yoktur (60). Kapsülün histolojik özelliklerinin yanı sıra, kapsüler kontraktür gelişimi iki önemli teoriyle açıklanmaya çalışılmıştır. Bunlardan biri non-infeksiyöz teoridir. Teorinin dayandığı temel noktalar; silikon implant materyeli yüzey özellikleri, hematoma, implantın içini dolduran maddeye ait özellikler, implantın yerleştirildiği bölge olarak özetlenebilir. Ersek, kollajen liflerin düzensiz yerleşmesine yol açan pürüklü yüzeyin kapsüler kontraktürü azalttığını vurgularken Fagrell, yüzey özelliklerindeki farklılığın, kapsüler kontraktür gelişimi üzerinde önemli etkisinin olmadığını ileri sürmüştür (31,35) . Barnsley, yapmış olduğu randomize kontrollü çalışma ile kapsüler kontraktür oranını azaltma yönünden, pürüklü yüzeyli implantların düz yüzeyli implantlardan daha üstün olduğunu göstermiştir (63). Deney hayvanlarında, operasyon sırasında gelişen ve boşaltılmayan hematoma implant çevresinde sert bir kapsüle neden olduğunu bildiren Williams, salin ile dolu implantların jel dolu olanlara oranla daha az kontraktüre neden olduğunu gösteren Buchardt' in çalışmaları da bu alanda yer alan diğer araştırmalardır. Puckett ve arkadaşları ise implant kas altına yerleştirildiğinde kontraktürün daha az görüleceğini belirtmişlerdir (5). Kapsüler kontraktür gelişiminde bahsedilen diğer teori, infeksiyöz teoridir. Meme duktuslarında Stafilokokus Epidermidis in izole edilmesi ile ortaya atılmıştır (64). Pajkos A. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; 27 hastadan çıkardıkları (19'nda Baker grade III-IV kapsüler kontraktür tespit edilmiş) kapsül yapısını mikrobiyolojik kültür, elektron mikroskopi ile incelemişler ve 17 hastada başlıca Stafilokokus Epidermidis olmak üzere koagülaz negatif Stafilokokları içeren pozitif kültür sonucu elde etmişlerdir. Kapsül yapısında S. Epidermidis biofilm tabakası oluştuğunu ve kapsüler kontraktürlü hastalarda araştırılması gereken önemli unsurlardan olduğunu belirtmişlerdir (65). Sonuçta oluşan kapsüler kontraktürün derecesini etkene maruz kalma süresi, sayısı ve derecesi belirlemektedir (8).

2.6.2. Kapsüler Kontraktür Ölçüm Yöntemleri

Kapsül kontraktürünün derecesinin belirlenmesinde ideal yöntem intraprotetik basıncın direkt olarak ölçülmesidir. Bunun pratikte imkansız olması indirekt yöntemlerin ön plana

geçmesini zorunlu hale getirmiştir (8). İndirekt yöntemler subjektif ve objektif yöntemler olmak üzere iki grupta incelenebilir:

2.6.2.1. Subjektif Yöntemler

İnspeksiyon ve palpasyon olmak üzere iki parametre üzerine kurulu Baker klasifikasyonu bu gruba girmektedir (8,65). Uygulamadaki kolaylık açısından günümüzde en sık kullanılan klasifikasyondur:

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

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

III. derece: İnspeksiyonda hafif deformite mevcut, palpasyonda belirgin sertlik ele geliyor.

IV. derece: İnspeksiyonda sferik, deforme meme görülmekte. Palpasyona aşırı sertlik mevcut, memeler soğuk ve hassas.

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

2.6.2.2. Objektif Yöntemler

Rutin görüntüleme teknikleri dışında (Mamografi, USG, MRI, BT, Histolojik değerlendirme) diğer önemli değerlendirme yöntemleri memenin kompresyona direnci ve Laplace kanunlarına göre ne kadar sferik şekil aldığıdır (8,66). Bu amaçla kullanılan metodlar:

1. Kompresometri: Dinamometre cihazı yardımıyla memenin kompresyon kabiliyetini ölçer.

2. Aplanometri: Memenin kompresyon kabiliyetini ölçmede kullanılır. Bu amaçla, üzerinde özel bir skalası olan, saydam ve yeterli ağırlıkta cam veya pleksiglass levha hazırlanmıştır. Ölçüm meme bu levha üzerine yerleştirildikten sonra kompresyon kabiliyetinin değerlendirilmesi esasına dayanır.

3. Tonometri: Birbiri içinde hareket eden ve ilerleyen iki silindirin memeye bastırılması ile memenin direncini ölçen bir yöntemdir.

4. Görüntüleme metodları: Ultrasonografi(USG), Mamografi, Bilgisayarlı Tomografi(BT), Magnetik Rezonans Image (MRI).

2.6.2.3. Kapsül Oluşumu ve Kontraktürünün Önlenmesine Yönelik Çalışmalar

Kapsüller kontraktürü önlemede, non-infeksiyöz kapsüller kontraktür teorisinden yola çıkılarak steroidler uygulanmıştır. Başlangıçta uzun etki süreli preparatlar, cerrahi işlem sırasında oluşturulan alana uygulanmış ancak yapılan çalışmalar etkisiz olduğunu göstermiştir (67). Çift lümenli implantlara intralüminal olarak, gecikmiş intrakapsüler enjeksiyon yöntemleri denenmiş; intraluminal steroid etkili bulunmuş, gecikmiş intrakapsüler enjeksiyon deney hayvanlarında çok etkili sonuç verirken insanlarda orta derecede etkili bulunmuştur (63). Caffee'nin çalışmasında, Baker klasifikasyonuna göre III ve IV derece kapsüller kontraktürü olan 86 hastanın, implantları çıkarılıp kapsülektomi uygulanmış, subpektoral, jel dolu implant yerleştirilmiştir (68). Cerrahiden 4-6 hafta sonra triamsinolon solusyonu (20 mg triamsinolon+ 10 ml salin) kapsüle enjekte edilmiş takiplerinde rekürren kapsüler kontraktür oranının azaldığını göstermiştir (68). Steroid uygulamasında yan etkilerin doza bağlı olduğu total dozun 20 mg' ı geçmemesi durumunda yan etkilerin daha az görüldüğü tespit edilmiştir (5). Kapsüller kontraktürün engellenmesinde vitamin A ve vitamin E enjeksiyonları denenmiştir.

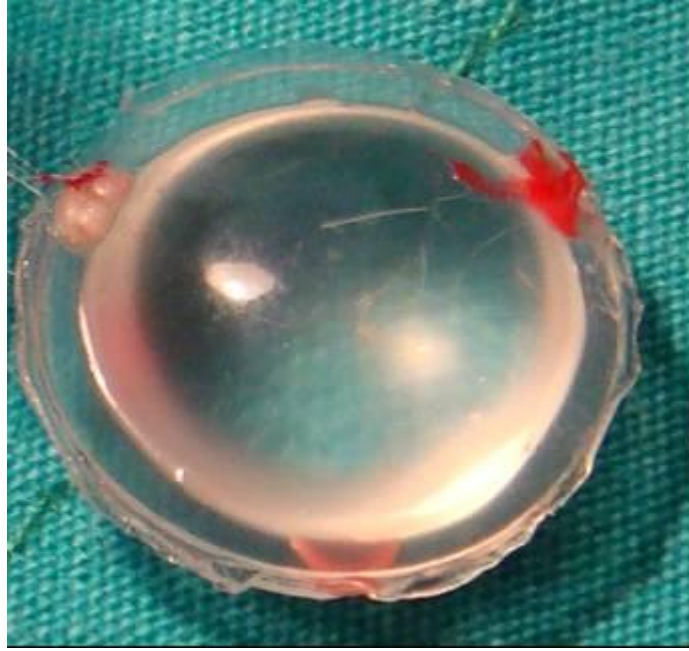
Vitamin E için tavsiye edilen dozaj, 1000 IU, günde iki kez, cerrahiden 1 hafta önce başlanması ve iki yıl boyunca devam edilmesidir (69). Uzun süreli yüksek doz kullanım gerektirdiğinden ve etkilerinin kanıtlanmamış olması nedeniyle uygulamaları kısıtlanmıştır (64). Deney hayvanlarında, implantın yerleştirileceği cebe, topikal Mitomisin-C uygulanmasının, kapsül yapısındaki fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezini azaltarak, kapsüler kontraktür gelişimini önlediği rapor edilmiştir (9). Yine deneysel olarak topikal kullanılan ibuprofenin de kapsül kalınlığını azaltıp, daha yumuşak bir kapsül elde edilebileceği belirtilmiştir (8). Hyaluronik asitin mononükleer fagosit ve lenfositlerin aktivitesini inhibe etmesi ve insan amniotik sıvısında hyaluronik asit içeriğinin yüksek konsantrasyonda bulunmasından yola çıkılarak, deney hayvanlarında silikon implant etrafına insan amnion sıvısı enjeksiyonu uygulanmış, kapsül kalınlığının ve hücresel içeriğin azaldığı gösterilmiştir (10,11). Bir diğer deneysel çalışmada, transforming growth factor- beta1 inhibitör peptid kullanılarak, silikon implantlar tetragliserol dipalmitat solusyonu içinde bekletilerek deneysel model oluşturulmuş, kapsüller kalınlık ve hücresel içeriğin azaldığı gösterilmiştir (70). Periprostetik bakteriel kontaminasyonun kapsüller kontraktüre neden olduğu görüşünden yola çıkarak Shah Z intraluminal sefalosporin kullanmış, Burkhardt ve ark. subglanduler cebi % 5'lik povidon-iyodin solusyonu ile irrige etmiş ve her iki çalışmada da

kapsüler kontraktürde azalma gözlenmiştir (6,7). Vinnik tarafından, hastaların post-operatif dönemde günde iki kez, 15 saniye süreli üç masaj hareketinin (kapsül ekspansiyon egzersizleri) yapılmasıyla kapsülün minimalizasyonunun sağlanabileceği ortaya konulmuştur (59). Ancak bu tip zorlayıcı hareketlerin, silikon jel dolu implantlarda jel sızıntısını artırabileceği ve rüptürlere yol açabileceği için sınırlı kullanım alanı bulmuştur (59). Kapsülde kontraktür geliştikten sonra tek etkili tedavi yöntemi kapsül bütünlüğünün bozulmasıdır. Kapalı ve açık kapsülotomi uygulanır (71). Açık kapsülotomi internal kapsüler skoring, parsiyel kapsülektomi, total kapsülektomi olmak üzere üç ayrı şekilde uygulanabilir (5,8).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Denekler

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıbbi Araştırma Enstitüsü (DETAE), İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD. ve Yeditepe Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji AD. Bölümlerinin fiziki mekanlarında BVÜ BAP birimi desteği ile DETAE etik kurul onayı alındıktan sonra gerçekleşti. Çalışmada ağırlıkları 270-310 gr arasında değişen (ortalama 295 gr), 16 adet yetişkin, Wistar-Albino cinsi, dişi sıçan kullanıldı. Denekler için özel üretilmiş içi sıvı silikonla dolu implantlar kullanıldı (Nagor®, Şekil 11) Denekler, deney ve kontrol grubu olmak üzere eşit sayıda iki gruba ayrıldı:



Şekil 11. Sıçanlar için kullanılan Nagor® silikon implant

Grup I, Kontrol grubu; deneklerin pektoral bölgelerinde 1,5x2 cm poş oluşturularak ciltaltı cebe implantın yerleştirildiği grup,

Grup II, Deney grubu: deneklerin pektoral bölgelerinde 1,5x2cm poş oluşturularak ciltaltı cebe implant yerleştirildikten sonra etrafına yağ doku kaynaklı 40 milyon/cc mezenkimal kök hücrenin enjekte edildiği gruptur. Tüm deneklerin temini ve beslenmesi DETAE tarafından sağlandı, denekler standart yem ile beslendi. Çalışma esnasında hiçbir denek sakrifiye edilmedi, deneklere Helsinki Nihai Senedi kurallarına uygun davranıldı.

3.2. Kök Hücrenin Hazırlanışı

Grup II deki her bir sıçanın sağ inguinal bölgesinden alınan yağ doku (standart 1mgr ağırlığında) İTF Histoloji ve Embriyoloji A.D. steril olarak kök hücre üretilmesi için gönderildi. Laminair altında steril petrielerde bistüri ile doğranan bu dokular CMF-PBS (Kalsiyum magnezyum free-Phosphate Buffer saline) içinde %1 kollagenaz içeren falcon tüplere konarak 37 C°su banyosu içinde 1 saat süreyle çalkalandı. Daha sonra 40 µm naylon meshten (BD Falcon Cell Strainer) süzülerek süzüntü 300 g'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı dökülerek pellet DMEM-F12 1:1 + %10 FCS (Fetal Calf Serum) medyum ile süspanse edildi. Her flask içinde 2 milyon hücre olmak üzere hücre kültür şişelerine ekildi. % 5 CO'lu hava karışımı içeren inkübatörlerde kültüre edilen hücrelerin zemine tutundukları görüldükten sonra 3 günde bir medyum değişimi yapılarak flaskların zemini 3/2 konfluent oluncaya kadar kültüre devam edildi. Konfluent olan flasklar EDTA (Etilen Diamino Tetra Asetikasit) içeren % 0,5 tripsin çözeltisi ile muamele edilerek hücreler toplandı. Sayma kamarasında toplanan hücre sayısı belirlenerek, içinde 40 milyon/ml hücre içeren enjektörler hazırlandı. 37 °C'de inkübatörde muhafaza edildi. Kullanıma hazır hale geldi.

3.3. Histopatoloji Değerlendirmenin Yapılması

3.3.1. Morfometrik Değerlendirme

Alınan kapsül , 5 mm aralıklı fiziksel parçalama aleti ile örneklendi. Her kapsül yapısı 0.1 M fosfat tamponda hazırlanmış %10'luk Nötral formaldehit ile daldırma tekniği ile fikse edilerek rutin histolojik takip işlemine alındı. Her denekten 4-5 doku bloğu elde edildi. Bloklar ½ oranında örneklenerek 10 µm kalınlığında seri kesit alındı. İlk kesit sistemik rastgele örnekleme metoduna göre seçildi ve 1/50 oranında örneklendi (Sterio DC, 1984). Örneklenen kesitler Masson Trikrom tekniğine göre boyandı.

Boyanan kesitler, stereolojik iş istasyonu ile incelendi. Bu sistem, analizlerin ve görüntülerin incelendiği CCD dijital kamera (Optronics Microfire 1600x1200P, Goleta, CA, USA), görüntü kartı (ATI FireGL Advance Micro Device, Camberly, UK), bilgisayar kontrollü motorize stage, (Bioprecision, Howtrone, NY, USA), Mikroskop (Heidenhein, Traunreut, Germany) ve ışık mikroskopundan (Leica DM 4000B, Wetzlar, Germany) oluşuyordu. Ölçümler yukarıda belirtilen düzenekte Sterioinvestigator 7.0.5 (Microbrightfield, Williston, VT, USA) programı kullanılarak yapıldı. Hücreler sayılırken Leica C plan x10 objektif (NA=0,22) kullanıldı.

Hacim ölçümleri için kesitlere Cavalieri sondası uygulandı, iki nokta arası mesafesi 200 µm'den oluşan noktalı sayım cetveli kullanıldı.

3.3.2. İmmunhistokimya

İşaretlenmiş poliklonal antikolar kullanılarak prokollajen I liflerini buldukları yerde göstermek amacıyla Streptavidin-Biyotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal boyama uygulandı.

Rutin formol-parafin takibinden geçmiş bloklardan hazırlanan 2µm kalınlığındaki kesitler pozitif yüklü elektrostatik lamlara alındı, etüvde 56 °C'de bir gece bekletildikten sonra sırasıyla 30 dakika ksilol'de, 5 dakika aseton'da, 15 dakika etil alkolde bekletilerek parafinden kurtarıldı ve distile suya indirildi. Antijen iyileştirme işlemi için sitrat tamponu (pH:6) içerisinde mikrodalga fırına yerleştirildi. Lamlar fırında üç kez beşer dakika süreyle ışınladı. Işınlama işleminden sonra 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı. Sonra distile suya alındı. Dokuların etrafı hidrofobik kalemle sınırlandı ve tekrar distile suya alındı. Daha sonra dokuların üzerine proteaz (Dako Proteinase K RTU Code No: S3020) beş dakika süreyle oda ısısında uygulandı. Tekrar distile suya alındı ve lamlar tamponlanmış fosfat tuzuna (PBS) (pH:7,6) alınarak immunhistokimya aşaması başlatılmış oldu. Sonra endojen peroksidaz aktivitesini baskılamak için peroksidaz blok (peroxidase block Immunocruz Staining System sc-2053) damlatıldı ve 15 dakika bekletildi. Lamlar tekrar distile suya alındı. Hemen ardından serum blok (Immunocruz Staining System sc-2053) damlatıldı ve 20 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda lamların üzerinden serum blok aspire edildi ve antikor (Procollagen Type I (A-17) sc-25973, Lot # cod no: J 0405 clon: goat polyclonal Ig G Santa Cruz Biotechnology) damlatıldı. 90 dakika bekletildi. Bu süre sonunda lamlar 5 dakika PBS ile yıkandı ve lamlara biyotin bağlı antikor (Immunocruz Staining System Donkey anti-goat IgG: sc-2053) damlatıldı ve 30 dakika bekletildi. Lamlar tekrar PBS'ye alındı ve yıkandı.

Lamlara bu kez HRP-Streptavidin (İmmunocruz Staining System sc-2053) damlatıldı ve 30 dakika bekletildi. Lamlar tekrar PBS'ye alındı. Ardından DAB kromojen 1,6 ml distile suya kitin içinde bulunan substrat bufferdan 5 damla, DAB kromojenden 1 damla, peroksidaz substrattan 1 damla eklendi. Pipetaj yapılarak kullanıldı. Lamlar distile suya alındı. Buradan karşıt boyama için Mayer hematoksilene alındı ve 10 saniye bekletildi. Distile su ile tekrar yıkandı. Su bazlı kapatma sıvısı ile kapatıldı (Aqueous Mount Ref: AML 060).

İmmünohistokimya ile boyanan preparatların boyanma yoğunlukları iki ayrı araştırmacı tarafından değerlendirilerek derecelendirildi.

3.4. Cerrahi Teknik

1. Silikon İmplant
2. Preoperatif hazırlık

Tüm cerrahi işlemler DETAE ameliyathanesinde, steril koşullarda ve aynı araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir. Deneklerin anestezisi Xylazine hidroklorür (Rompun- BAYER, 5 mg/kg İM) ve Ketamin Hidroklorür (35 mg/ kg İM) uygulanması ile sağlanmıştır. Deneklerin pektoral bölgelerindeki tüyler traş edilmiş, saha %10 polyvinilpyrolidon iyotlu solusyon (Polyod, Drogsan-Türkiye) ile temizlendikten sonra steril olarak örtülmüştür. Operasyonlardan 15 dakika önce ve postoperatif birinci günde antibiyotik (Genta ampul, İE Türkiye; 3 mg/kg İM) uygulanmıştır.

3.4.1. Kullanılan Cerrahi Araç-Gereç

Operasyonlar sırasında böbrek küvet, portegü, disseksiyon makası, tek dişli (Adson) penset, No:15 bistüri, No: 3 bistüri sapı, değişik boylarda pensler ve hook kullanılmıştır. Kullanmadan önce tüm cerrahi set elemanları otoklavda sterilize edilmişlerdir.

3.4.2. İmplantların Yerleştirilmesi

Deneklerin pektoral bölgelerinde, horizontal 1.5 cm'lik insizyonun ardından, disseksiyonla cilt altında 1,5 x 2 cm boyutlarında cep oluşturuldu (Resim 1).



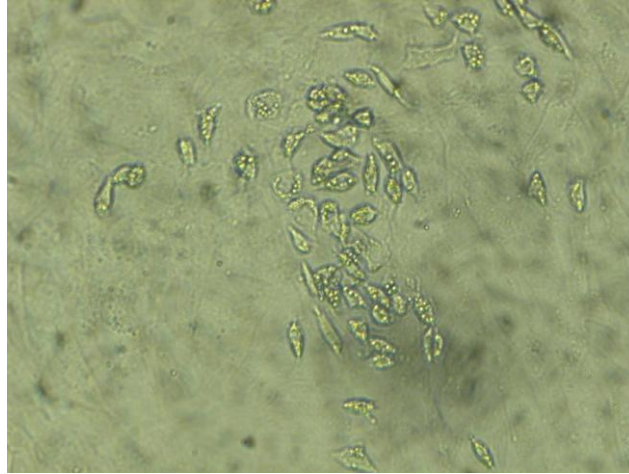
Resim 1. Silikon implant için hazırlanan poş

3.4.3. İmplantlar Yerleştirildikten Sonra Kök Hücrenin Uygulanması

Grup II ye silikon implantlar yerleştirildikten sonra sütür aralığından 1 cc yaklaşık 40 milyon kök hücre enjekte edildi (Resim 2,3).



Resim 2. Tüp içerisinde ASC görünümü



Resim 3. ASC'lerin mikroskobik görünümü

3.4.4. İmplantların Çıkarılması

Tüm deney hayvanları postoperatif 12. haftada aynı koşullar altında tekrar opere edildiler ve yerleştirilen implantlar çıkarıldı. Deneklerin pektoral bölgelerinde, palpasyonla yerleştirilen implantlar bulundu. 1.5 cm'lik horizontal insizyonla girilerek, cilt altı dokusuna ulaşıldı ve implant çevresindeki kapsüle zarar vermemeye özen göstererek dikkatlice çıkarıldı. İnsizyon 4/0 prolenele kapatıldı. Çıkarılan dokuların hepsi % 10'luk formaldehit solüsyonunda 24 saat fiske edildi. Preparatlar oluşan kapsül ve implant birlikte olacak şekilde transvers olarak 3 mm kalınlığında kesilip rutin doku takibine tabi tutuldu.

3.5. İstatistiksel Yöntem

Çalışmanın istatistiksel analizleri Statistical Package For The Social Sciences (SPSS) 16.0 sürümü kullanılarak yapıldı. İstatistik anlamlılık değeri $p < 0.05$ olarak alındı. Tanımlayıcı istatistik verileri için ortalama ve standart hata kullanıldı.

Gruplar, bağımsız örneklem, t testi ile karşılaştırıldı.

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

Deney ve kontrol gruplarından çıkarılan implant materyellerine ait makroskopik bulgular her grup için ayrı ayrı tanımlandı (Resim 4). Buna göre;



Resim 4. Makroskopik olarak Grup I ve Grup II kapsülle sarılı silikon implantlar

1. Grup I (Kontrol grubu):

Silikon implantların çıplak olarak pektoral bölge cilt altı dokusunda hazırlanan cebe yerleştirilmesini takiben, standart kapsül oluşumu başlangıç dönemi olan 12. haftada implantlar kolaylıkla palpasyonla tespit edildi. Mobilizasyonları sınırlı bulundu. İmplantlar çıkarıldıktan sonra makroskopik olarak incelendi ve deney grubu ile karşılaştırıldı. Grup I implantlar çevresinde fasyaya benzer kapsül yapısı belirgin gözlemlendi (Resim 5).



Resim 5. Grup I makroskobik kapsül görünümü

2. Grup II (Deney grubu):

Kök hücre uygulanan silikon implantların deneklerin pektoral bölge ciltaltı dokusunda oluşturulan cebe yerleştirilmesini takiben, 12. haftada palpasyonla, Grup I implantlara göre, daha zor tespit edilebildi. Mobil olmalarından yararlanılarak yerleri belirlendi. İmplantlar çevresinde belirgin kapsül yumuşak kıvamlı bir kapsül yapısı olduğu görüldü. Bu yumuşak kıvamlı yapı içerisinde damar oluşumu gözlemlendi (Resim 6).



Resim 6. Grup II makroskobik kapsül ve yeni damar oluşumu görünümü

4.2. Mikroskopik Bulgular

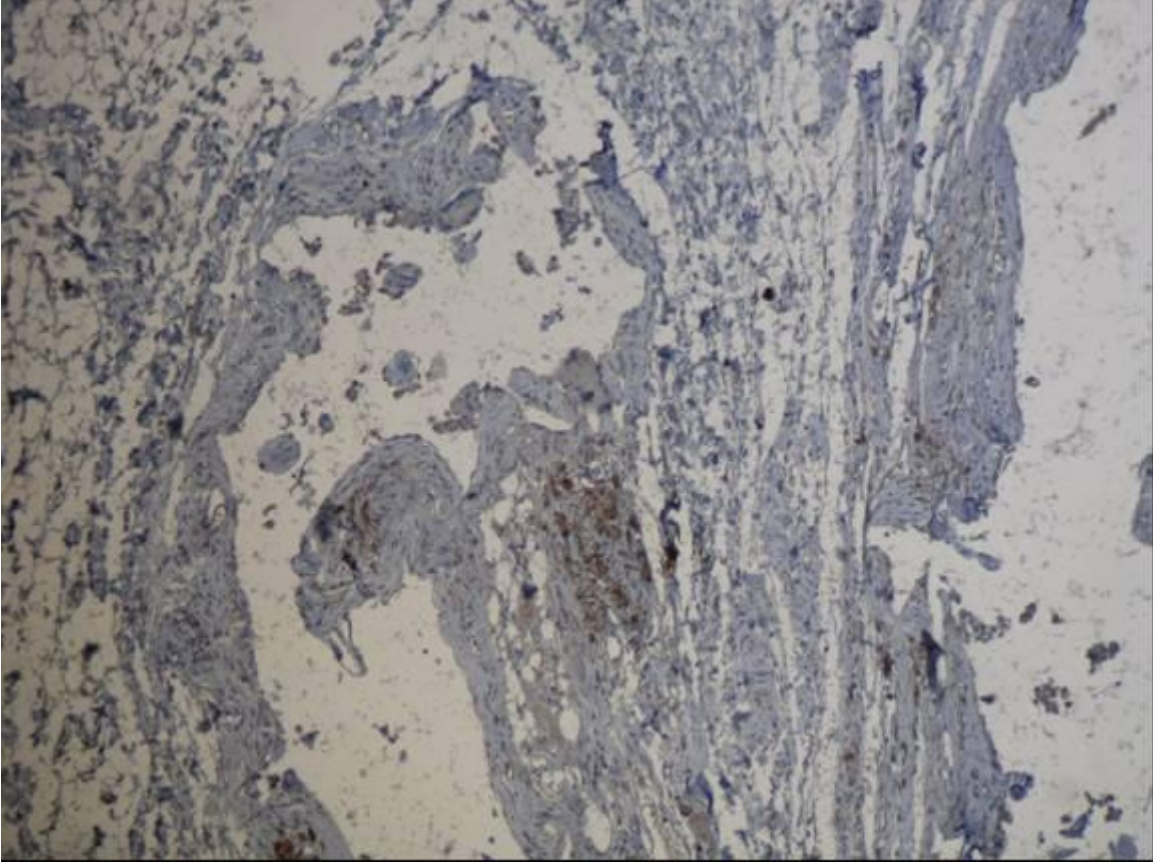
1. Grup I (Kontrol grubu):

Işık mikroskopu ile kontrol grubundaki deneklerden çıkarılan implantlardan hazırlanan preparatlardaki damar oluşumu ve kapsül yapısı incelendi. Kapsül yapısının grup I de sıkı bağ dokusundan zengin olduğu bulundu. Kapsül Hacmi $67,58 \text{ cm}^3$ olarak saptandı. Masson Trikrom ile yapılan boyamada ise kapsül yapısının organize ve daha kalın olduğu bulundu (Resim 7). İmmunohistokimyasal olarak yapılan boyamada prokollajen oluşumu yüksek miktarda olduğu gözlemlendi (Resim 8).



Resim 7. Masson trikrom tekniği ile boyanmış Grup I kapsül örneği. Büyük resimde kas tarafı, epidermis tarafı ve poş boşluğu görülmektedir. Beyaz ok kapsül duvarını (sıkı bağ dokusu) ve beyaz yıldız poş içini göstermektedir.

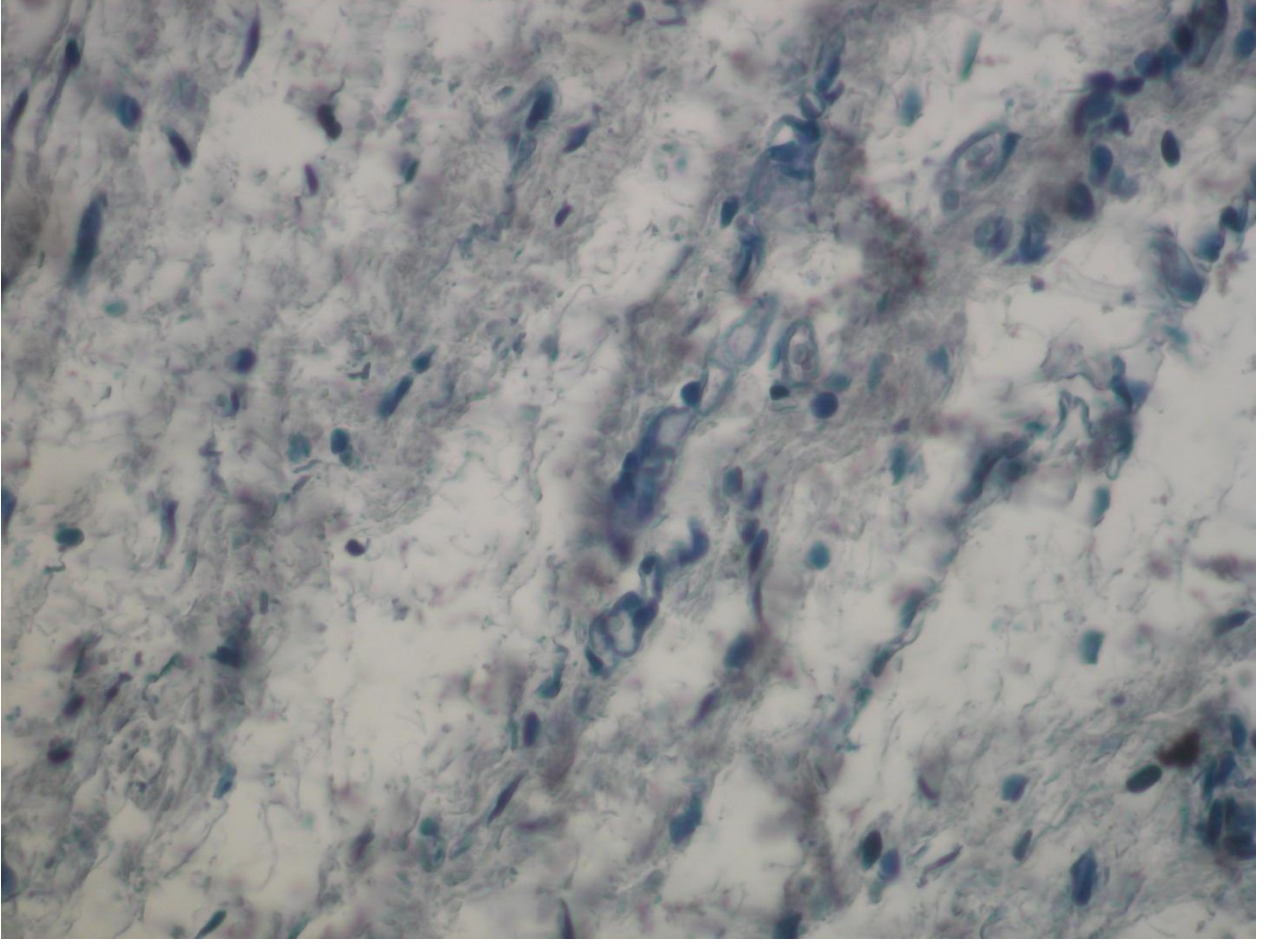
(Büyük resimde bar: 20 µm, küçük resimde bar: 100 µm)



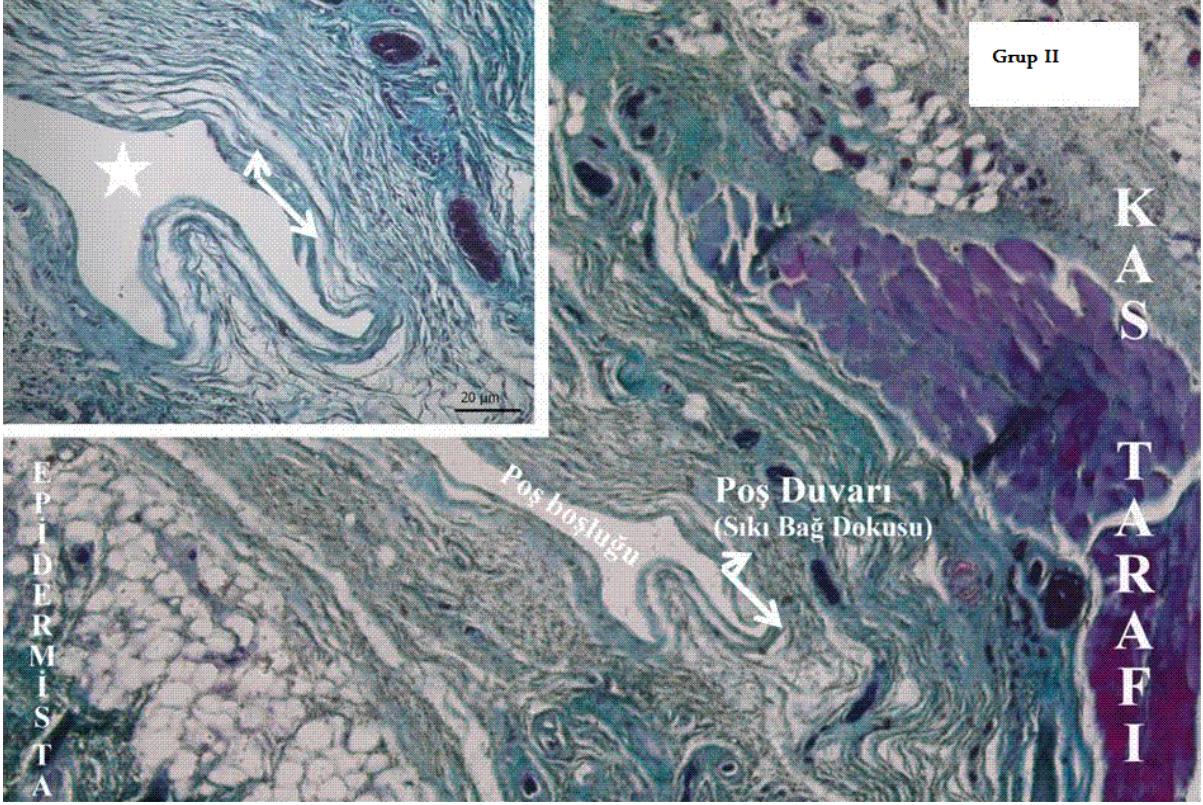
Resim 8. Grup I poş çeperinde yoğun kolajen demetlerinin oluşturduğu kalın fibröz kapsül ve periferde immünohistokimyasal olarak diaminobenzidin ile renklendirilmiş olduğu için kahverengi izlenen belirgin prokollajen varlığı dikkat çekmektedir.

2. Grup II (Deney grubu):

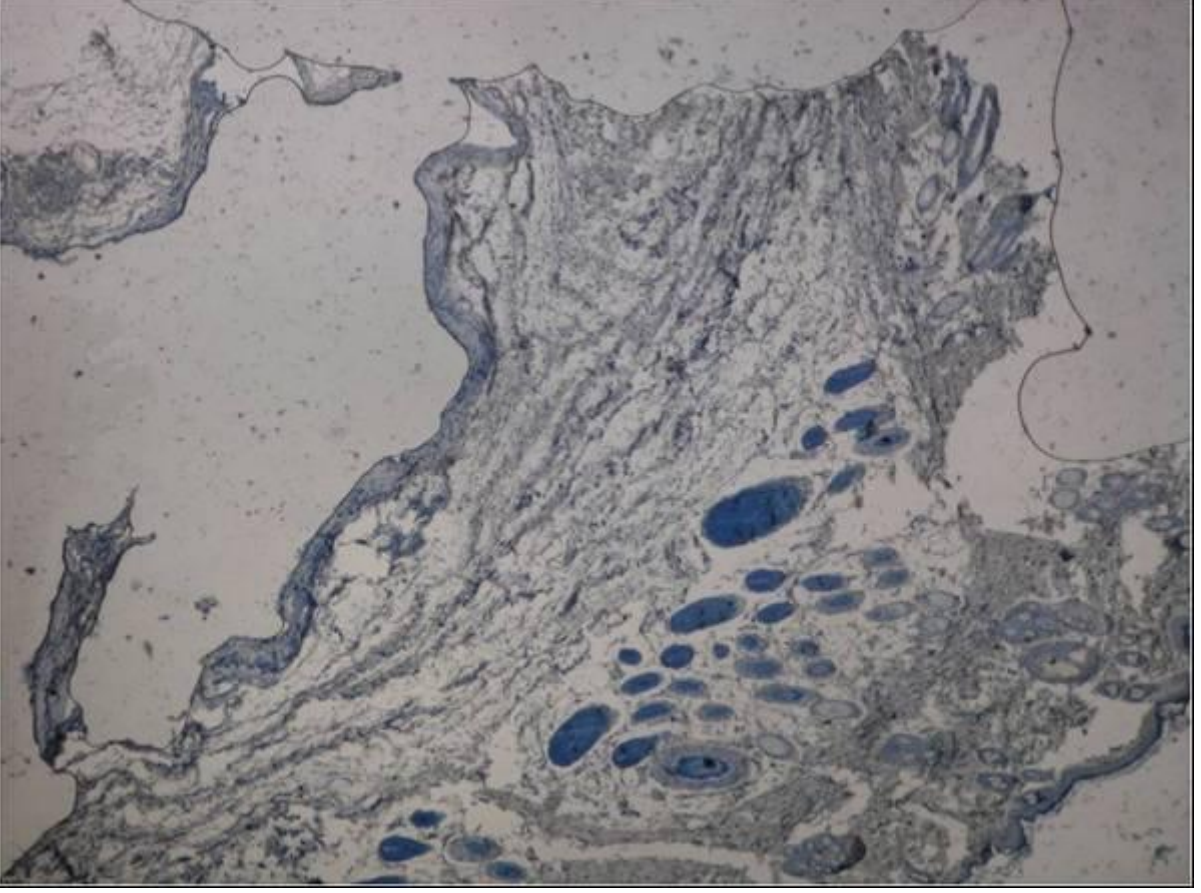
Deney grubu implantlarının kapsül yapısının ışık mikroskopu ile incelenmesi sonucunda; kapsül yapısının müköz olduğu ve bol miktarda damar yapısı olduğu görüldü (Resim 9). Masson Trikrom ile boyamada kapsül yapısının kontrol grubuna göre ince ve düzensiz olduğu görüldü (Resim 10). Hacimsel değerlendirmede istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,032$) (grafik 1). Kapsül hacmi $35,88 \text{ cm}^3$ olarak saptandı (Tablo1). Prokollojen oluşumun Grup I e göre daha az olduğu bulundu (Resim 11).



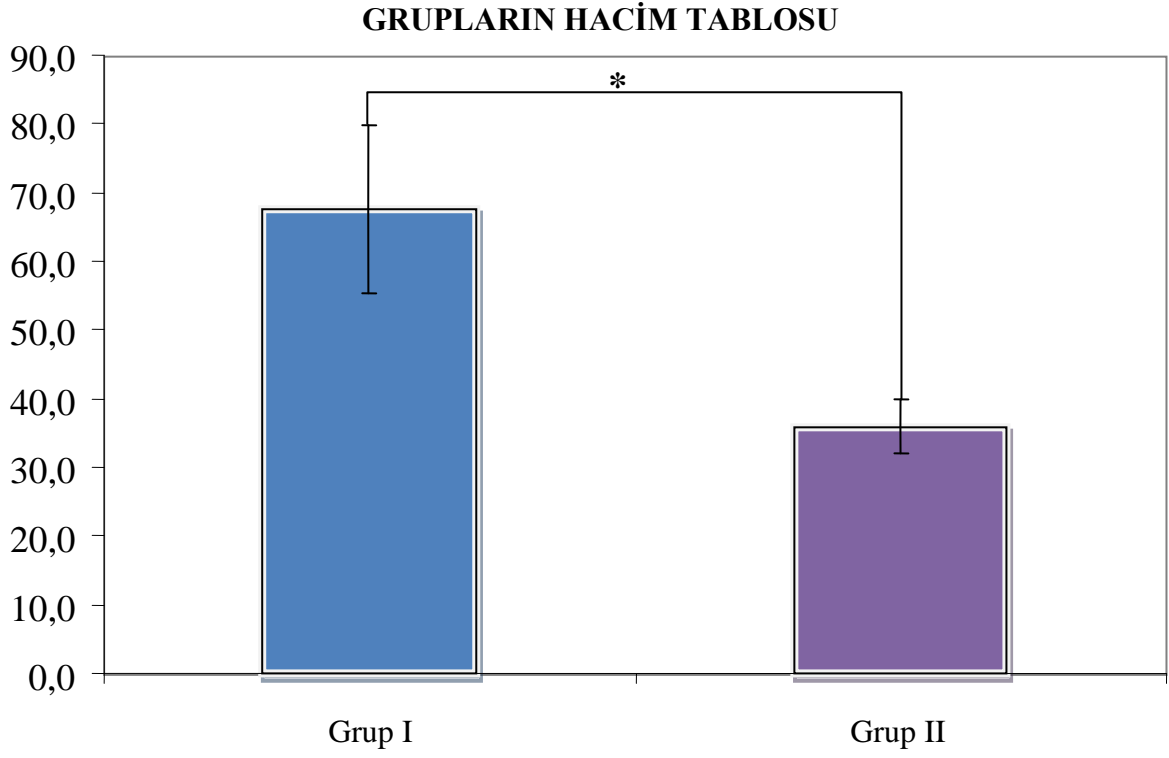
Resim 9. Grup II , müköz bağ dokusu görünümü taşıyan periferik bölgede çok sayıda fibroblast ve yer yer mezenkim hücre morfolojisi sergileyen hücrelerin yanı sıra yeni damar oluşumları izlenmektedir.



Resim 10. Masson trikrom tekniği ile boyanmış Grup II kapsül örneği. Büyük resimde kas tarafı, epidermis tarafı ve poş boşluğu görülmektedir. Beyaz ok kapsül duvarını (sıkı bağ dokusu) ve beyaz yıldız poş içini göstermektedir (Büyük resimde bar: 20 µm, küçük resimde bar: 100 µm)



Resim 11. Kök hücre implante edilen grupta (Grup II) poş çevresindeki kapsülün ince olduğu ve hemen dışındaki kollajen liflerinin gevşek bağ dokusu görünümünde organize olduğu izlenmektedir. Prokollajen boyanması daha hafif ve dağınık olarak izlenmektedir.



Grafik 1. Grup I ve Grup II kapsül hacmi değerlendirme grafiği

Tablo 1. Grup I ve Grup II kapsül hacmi değerlendirme tablosu

KAPSÜL HACİM	G1	G2	p
ORTALAMA	67,58	35,88	0,032
SEM	12,12	3,89	

5. TARTIŞMA

Günümüzde implant materyellerinin kullanım alanlarının genişlemesi, beraberinde bu materyellerin oluşturabilecekleri komplikasyonların önlenmesine yönelik çalışmalarında hızlandırmıştır. Biyolojik olarak inert sayılsa da silikon implantların çevresinde kapsül olarak tanımlanan, kontraksiyon özelliğine sahip değişen derecelerde skar dokusu oluşmaktadır (4). Kapsüller kontraktürün, absorbe olmayan tüm implant materyellerinin etrafında oluşan kapsül yapısında bulunan fibroblast ve myofibroblastların aktivasyonu sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (61). Kapsül kontraksiyonu ile değişen yüzey alanı/ hacim oranı sonucu implant mümkün olan en küçük yüzey alanını kaplamaya yani küresel şekil almaya zorlanır. Sonuçta asimetriler ve deformasyon gelişebilir.

Son zamanlarda kök hücre çalışmaları birçok hastalık için popüler olarak uygulanmaktadır. Mezenkimal kök hücrelerle, Baker'a göre grade 3-4 kapsül kontraktürünün giderilmesi için yapılan deneysel ve klinik çalışmalardan başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yağ doku kaynaklı kök hücrelerin çeşitli büyüme faktörleri salgılayarak, hangi sinyal yoluyla olduğu net olarak anlaşılmasına rağmen travmatik dokuda fibroblastların genel davranış modelini değiştirerek engellediği gösterilmiştir. Bizde çalışmamızda da fibroblast davranışının mezenkimal kök hücreler tarafından değiştirerek kapsül oluşumunu azalttığını morfolometrik olarak gözlemledik.

Kapsül kontraktürü, meme protezi yerleştirilirken oluşan travmaya sonrası hematoma bağlı olarak gelişebilir (5). Bizim çalışmamızda yağ doku kaynaklı kök hücrelerden salınan faktörler, bölgedeki fibroblastların bilinen davranışını değiştirerek kapsül kontraktürü oluşumunu azalttığını yada kök hücrelerin protezi bir örtü gibi sararak endotelial hücrelere differansiye olup neoangiogenez ile protezin otojen bir dolgu olarak algılamasını sağlayarak kapsül oluşumunu azalttığını düşünmekteyiz.

Meme büyütme tekniklerinden biri otojen yağ doku naklidir. Otojen yağ doku ve ASC kombine edilerek yumuşak doku agumentasyonunun uygulandığı klinik çalışmalar yapılmıştır (72). Bu yöntem yeterli yağ dokusu olmayan hastalar için uygun değildir. Ancak uygulamada güven uyandıran yöntem bizim çalışmamızla yakından ilişkilidir. Çünkü otojen yağ dokuda bulunan adipositlerin ürettiği VEGF (vasküler endotelial growth faktör) sayesinde yağ hücrelerinin o bölgedeki dokuları taklit ederek canlılığının devam etmesi ve biyolojik uyumu sağlaması temeline dayanmaktadır (73).

Hyalüronik asitin hücresel fonksiyonları üzerine bilinen etkileri; granulosit, makrofaj ve periferik lenfositlerin göçünde azalma, makrofajların ve granulositlerin fagositik aktivitesinde

azalma, periferik lenfositlerin oluşumunda ve prostoglandin salınımında azalmadır. Hyaluronik asit fibroblastlardan sentezlenen tip 3 kollojen miktarını artırır. Fetal dokuda tip 3 kollajen erişkine göre daha fazladır. Tip 1/3 oranı kollojen fibrillerin çapını gösterir. Bu oran küçüldükçe fibrillerin çapıda küçülür (74). Fibroplazi, kollajen depolanması ve neovaskularizasyonu azaltır. Bu etkilerinden yola çıkılarak kapsül oluşumunu engellemek için çalışmalar yapılmış ve kapsül yapısını azalttığını göstermiştir (75). Bizim çalışmamızda ışık mikroskopisinde gördüğümüz müköz bağ dokusu yapısı, normalde erişkinde bulunmamakla birlikte (göbek kordonunda) hyalüronik asitin yüksek miktarda olduğunu göstermektedir. Mezankimal kök hücrenin kapsülü azaltmasının yanında ,daha yumuşak hale getirmesi müköz bağ doku oluşumuyla (hyalüronik asitten zengin doku) sağlamaktadır.

İnvivo yapılan bir çalışmada; kapsül kontraktürü oluşmuş 15 hastada implantı çıkarıp acil olarak yeniden yerleştirerek oluşmuş olan kapsülün etrafına ASC içeren lipoaspirat uygulaması yapılmış olup, 15 hastanın 8 inde kapsülü azalttıklarını ve uygun yumuşak doku kontürü oluştuğunu göstermişlerdir. ASC değişik yollarla bu çalışmada ki başarılı sonuca yol açmış olabileceği ön görülmüştür(17). Bu mekanizmalar;

1. Adipositlerin rejenerasyonu

2. Adipositlerin ekstraselüler matriks aracılığıyla vasküler endotelyal hücrelere dönüşmesi

3. Anjiogenik büyüme faktörlerinin serbestlenmesi gibi nedenlerle açıklanmaktadır

Bizim hipotezimizin bu çalışma sonrası başarılı olmasının nedenin yukarıda bahsettiğimiz tüm mekanizmaları içererek gerçekleştiğini düşünmekteyiz.

SONUÇ

Bu çalışmada, otojen yağ dokudan elde edilen mezenkimal kök hücreler ile silikon implant etrafında kapsül oluşumunu engellemek amaçlandı. İki gruba ayrılan sıçanlardan Grup II'de (ASC uygulanan grup) makroskopik ve mikroskopik olarak yeni damar oluşumu gözlemlendi. Bunun nedeninin kök hücre ile sarılı olan silikonun bulunduğu alanda yara iyileşmesini arttırması ile açıklamaktayız. Diğer taraftan prokollajen oluşumunun azalması yara iyileşmesinin son basamağı olan reorganizasyonunun azalması ile açıklanabilir. Diğer bir deyişle tıkHz bağ dokusu yerine göbek kordonundaki dokuya benzer müköz bağ doku oluşmasıdır. Sonuç olarak kapsül hacmi her iki grup arasında karşılaştırıldığında Grup II' de oluşan kapsülün hacmi Grup I'e göre daha az olduğu saptandı. Temel mekanizmanın ASC'nin endotelyal hücrelere dönüşerek ekstraselüler matriks aracılığıyla kapsül oluşumundan sorumlu fibroblastların davranış paternini değiştirmesi olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Breitbart A.S., Ablaza V.J. İmplant Materials. In: Grabb and Smith (Ed.) Plastic Surgery. General, Chapter 4, 1997; 39-46 Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia, PA.
2. Flood J., Hobar P.C., Implantation: Bone, cartilage and alloplastics. Selected Readings in Plastic Surgery 1995; 8: 31-33.
3. Holmes R.E. Alloplastic Implants. In: Mc Carthy JG (Ed.) Plastic Surgery. Vol: 1, General Principles, Chapter 20, 1990; 698-732 W.B Saunders Company, Philadelphia, PA.
4. Skillman J.M., Ahmed O., Rowsell AR. Incidental improvement of breast capsular contracture following treatment of arthritis with glucosamine and chondroitin. Br J Plast Surg 2002; 56: 454.
5. Gregory S. La Trenta. Breast Augmentation. In: T.D Rees (Ed) Aesthetic Plastic Surgery. Vol: 2, Chapter 35, 1994; 1003-1058 W.B Saunders Company.
6. Shah Z., Capsular contracture around silicone implants: The role of intraluminal antibiotics, Plast Reconstr Surg 1982, 69(5): 809-14.
7. Burchardt BR., Capsular contracture: a prospective study of the effect of local antibacterial agents, Plast Reconstr Surg 1986; 77(6): 919-32.
8. O. Oymak. Meme protezleri ve silikon. Giriş, silikonun kimyası, protez çeşitleri, kapsül. 1992;9-11, 15-23, 31-47, 65-77 OPC, İstanbul.

9. Frangou J., Kanellaki M., The effect of local application of Mitomycin-C on the development of capsule around silicone implants in the breast: An experimental study in mice. *Aesthetic Plastic Surgery* 2001; 25: 118-128.
10. Çek D.İ., Perk C., Özcan G., Histologic changes in capsule formation around silicone implants after a single dose injection of amniotic fluid. *Eur J Plast Surg* 1992; 15: 289-291.
11. Naci Karacal., Effect of amniotic fluid on peri-implant capsular formation. *Aesth Plast Surg* 2005, 29(3): 174-80
12. Evans GR, Schusterman MA, Kroll SS, Reconstruction and the radiated breast: is there a role for implants?; *Plast Reconstr Surg.* 1995, 96(5): 1111-5.
13. Spear S.L., Onyewu C. Satged breast reconstruction with saline-filled implants in the irradiated breast: Recent trends and therapeutic implications. *Plast Reconstr Surg.* 2000; 105: 930.
14. Vandeweyer E., Deraemaeker R. Radiation therapy after immediate breast reconstruction with implants. *Plast Reconstr. Surg* 2000; 106: 56.
15. Forman D., Chiu J., Restifo R.J., Ward B.A., Haffty B. And Ariyan S. Breast reconstruction in previously irradiated patients using tissue expanders and implants: A potentially unfavorable result. *Ann. Plast. Surg.* 1995; 96: 1119

16. Kök Hücrelerin Kullanım Alanları, Kök hücre araştırmalarında güncel kavramlar. Türkiye Bilimler Akademisi Raporları 2006; Sayı: 7 s:14–21

17. K.Yoshimura, Y.Asano, N.Aoi, M. Kurita, Y. Oshima, K. Sato, K. Inoue, H. Suga, H.Eto, H.Kato, and K. Harii. Progenitor-Enriched Adipose Tissue Transplantation as Rescue for Breast Implant Complications. *The Breast Journal*, Volume 16 Number 2, 2010;169–175, 86.

18. Award HA, Butler DL, Haris MT, Ibrahim RE. In vitro characterization of mesenchymal stem cell- seeded collagen scaffold for tendon repair. *J. Biomed Mater. Res.* 2000; 51: 23–32.

19. Carlson BM: Integumentary, skeletal and muscular systems. *Human Embryology and Developmental Biology* 1994; 1st edition.

20. Rudolph R., Ballantyne D.L., Skin grafts. In: Mc Carty JG (Ed.) *Plastic Surgery. Vol 1, General Principles*, Chapter 8, 1990; 224-254 WB. Saunders Company, Philadelphia, PA.

21. Bayramiçli M. *Deneysel Mikrocerrahi*.2005;127 Argos iletişim,1.baskı İstanbul.1.

22. Mary H. Mc Grath. Biomaterials in Plastic Surgery. In: Gregory S. Georgiade (Ed.) *Textbook of Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery. Vol:1, Basic Principles*, Chapter 12, 1992; 93-103 Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland.

23. Julie S. Mitnick., Madeline Vazquez. Fine needle aspiration biopsy in patients with augmentation prostheses and a palpable mass. *Annals of Plastic Surgery* 1993; 31: 241-244

24. Spear SL, Elmaraghy M., Hess C. Textured surface saline- filled silicone breast implants for augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105:1542.
25. Yager JS, Chaglassian T. Polyester as a bioimplantable material. *Ann Plast Surg* 1998;40:502-505.
26. Cronin TD, Gerow FJ. Augmentation mammoplasty, a new “natural feel” prostheses. *Transactions of the third international Congress of Plastic Surgery*, 1963;Oct. 13-18. Amsterdam.
27. Hester TR , Ford NF, Gale J. Measurement of 2,4-touenediamine in urine and serum samples from women with Meme or replicon breast implants *Plast Reconst Surg* 100;1291-1298, 1997
28. Ersek RA, Glaes KL, Navarro JA. Results of reaugmentation with MISTI prostheses after failure of smooth silicone prostheses. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 83
29. Spear SL, Elmaraghy M. Textured surface saline filled silicone breast implants for augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105: 1542.
30. Rohrich RJ, Hollier LH, Robinson JB. Determining the safety of silicone envelope: In search of a silicone antibody. *Plast Reconst Surg* 1997 Apr;99(5):1472.
31. Ersek RA., Salisbury A.V. Textured surface, nonsilicone gel breast implants: Four years clinical outcome. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100: 1729-1739.

32. Ginsbach G., Busch L.C., Kühnel W., The nature of the collagenous capsules around breast implants. *Plast Reconstr Surg* 1979; 64: 456-464
33. Siggelkow W., Faridi A., Spiritus K. histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture. *Biomaterials* 2003; 24: 1101-1109
34. Smahel J. Histology of the capsules causing constrictive fibrosis around breast implant. *Br J Plast Surg* 1977; 30: 324-329
35. Van Rappard J.H.A. Capsule formation in controlled tissue expansion In: *Controlled tissue expansion in reconstructive surgery. Part II, Experiments in tissue expansion, Chapter 5*, 1991; 52-57 SSN
36. Pittinger MF, Mackay AM, Beck SC. Multilineage Potential Of Human Mesenchymal Stem Cells. *Science* 1999; 284: 318
37. Jacobson LO, Marks EK, Robson MJ. Effect Of Spleen Protection On Mortality Following X- _radiation. *J. Lab. Clin. Med.* 1949;34: 1538
38. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR. Modification Of _radiation _injury _n Mice And Guinea Pigs By Bone Marrow _njections. *J Natl. Cancer Inst.* 1951 12;197
39. Fortier LA. Stem Cells: Classifications, controversies and clinical applications. *Vet Surg* 2005; 415: 23

40. Sahin F, Saydam G, Omay SB. Kök Hücre Plastisitesi ve Klinik Pratikte Kök Hücre Tedavisi. *Türk Hematoloji- Onkoloji Dergisi* 2005;15: 48–54
41. Weissman IL. Translating Stem And Progenitor Cell Biology To The Clinic: Barriers And Opportunities. *Science* 2000; 287: 1442- 1446
42. Sandmaier BM, Storb R, Kinley J. Evidence Of Allogeneic Stromal Engraftment in The Bone Marrow Using Canine Mesenchymal Stem Cells. *Blood* 1998; 116: 85
43. Verfaillie CM. Adult Stem Cells: Assessing The Case For Pluripotency. *Trends in Cell Biology* 2002; 12: 502–508
44. Kök Hücrelerin Kullanım Alanları, Kök hücre araştırmalarında güncel kavramlar. *Türkiye Bilimler Akademisi Raporları* 2006; Sayı: 7 s:14–21
45. Cario MS, Wagner JE. Placental And/ Or Umbilical Cord Blood: An Alternative Source Of Hematopoietic Stem Cells For Transplantation. *Blood* 1997; (90) 4665: 55
46. Pedro C, Fernando C, Manuel D, Garcia-Gomez I. Peripheral nerve regeneration by bone marrow stromal cells. *Neurol Res* 2002; 24: 634-641
47. Kon E, Muraglia A, Corsi A. Autologous Bone Marrow Stromal Cells Loaded On To Porous Hydroxyapatite Ceramic Accelerate Bone Repair in Critical- Size Defects Of Sheep Long Bones. *J. Biomed. Mater. Res.* 2000;49: 328

48. Grzesik WJ, Cheng H, Oh JS, Kuznetsov SA, Mankani MH, Uzawo K. Cementum-Forming Cells Are Phenotypically Distinct From Bone-Forming Cells. *J. Bone Miner. Res.* 2000;15: 52–61
49. Kraus KH, Kirker Head C. Mesenchymal Stem Cells and Bone Regeneration. *Vet. Surg.* 2006 35(3): 232
50. Wakitani S, Goto T, Pineda SJ. Mesenchymal Cell Based Repair Of Large, Full Thickness Defects Of Articular Cartilage. *J. Bone Joint Surg. Amr.* 1994; 76: 579
51. Kokai LE, Rubin JP, Marra KG. The Potential Of Adipose Derived Adult Stem Cells As A Source Of Neuronal Progenitor Cells. *Plast. Rec. Surg.* 2005;116: 1453
52. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem Cells For Myocardial Regeneration. *Circ Res.* 2002; 91: 1092- 1102
53. Strauer BE, Brehm M, Zeus T. Stem Cell Therapy _n Acute Myocardial _nfarcction. *Med. Clin. Suppl.* 2003; 2: 14–18
54. Broxmeyer HE, Gluckman E, Auerbach AD. Human umbilical cord blood: A Clinically useful source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Int. J. Cell Cloning* 1980; 8: 76–88
55. Sandmaier BM, Storb R, Kinley J. Evidence Of Allogeneic Stromal Engraftment _n The Bone Marrow Using Canine Mesenchymal Stem Cells. *Blood* 1998; 116: 85

56. Pittinger MF, Mackay AM, Beck SC. Multilineage Potential Of Human Mesenchymal Stem Cells. *Science* 1999; 284: 318
57. Pfendler KC, Kawase E. The Potential of Stem Cells. *Obstet. Gynecol Surg.* 2003; 58,3: 197
58. Peterson HD and Burt GB. The role of steroids in prevention of circumferential capsular scarring in augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg* 1974; 54-28
59. Vinnik C.A. Spherical contracture of fibrous capsules around breast implants. *Plast Reconstr Surg* 1976; 58: 555-560
60. Gayou R.M. A histological comparison of contracted and non contracted capsules around silicone breast implants. *Plast Reconstr Surg* 1979; 63:700-707
61. Rudolph R., Abraham J., Woodward M. Myofibroblasts and free silicone around breast implants. *Plast Reconstr Surg* 1978; 62: 185-195
62. Fagrell D., Berggren A. Capsular contracture around saline filled fine textured and smooth mammary implants: a prospective 7,5 year follow up. *Plast Reconstr Surg* 2001; 108: 2108-2112.
63. Caffee H., Rotatori D.S., Intracapsular injection of triamcinolone for prevention of contracture *Plast Reconstr Surg* 1993; 92: 1073

64. Barton F.E., Augmentation Mammoplasty. Selected Readings in Plastic Surgery 1994; 7: 9-10

65. Sumner A. Slavin. Augmentation Mammoplasty and Its complications. In: Grabb and Smith (Ed.) Plastic Surgery. Breast, Chapter 58, 1997; 713-725 Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia, PA

66. Hakelius L., Ohlsen L. Tendency to capsular contracture around smooth and textured gel filled silicone mammary implant: A 5 year follow-up. Plast Reconstr Surg 1997; 100: 1566-1569

67. Peterson HD and Burt GB. The role of steroids in prevention of circumferential capsular scarring in augmentation mammoplasty. Plast Reconstr Surg 1974; 54-28

68. Caffee H.H. Capsule injection for the prevention of contracture. Plast Reconstr Surg 2002;110: 1325-1328

69. Baker J.L. The effectiveness of alpha-tocopherol (vitamin E) in reducing the incidence of spherical contracture around breast implants, Plast Reconstr Surg 1981; 68(5): 696-9

70. ErenchunR. Use of the transforming growth factor-beta 1 inhibitor peptide in periprosthetic capsular fibrosis: experimental model with tetraglycerol dipalmitate. Plast Reconstr Surg 2005 ; 116(5): 1370-8)

71. Nelson GD. Complications from the treatment of fibrous capsular contracture of the breast. *Plast Reconstr Surg* 1980; 66: 969-970.
72. Yoshimura, K., Matsumoto, D., Gonda, K. A clinical trial of soft tissue augmentation by lipoinjection with adipose-derived stromal cells (ASCs). Presented at the International Fat Applied Technology Society (IFATS) Annual Meeting, The Role of Adipose Tissue in Regenerative Medicine: Opportunities for Clinical Therapy, Charlottesville, Va., September 11, 2005
73. Masuda T, Furue M, And Matsuda T. Novel Strategy for Soft Tissue Augmentation Based on Transplantation of Fragmented Omentum and Preadipocytes. *Tissue Engineering Volume* 10, Number 11/12, 2004
74. Fowble B., Glick J. and Goodman R. Radiotherapy for the prevention of local-regional recurrence in high risk patients post mastectomy receiving adjuvant chemotherapy. *Int. J. Oncol. Biol. Phys.* 1988; 15:627.
75. Toksoy S, Mehmet İlker Bilgiç, Hüseyin Karanfil, Mithat Akan, Tayfun Aköz. Hyaluronik asidin sıçan modelinde kapsül kontraktürü gelişiminde etkisi. *Turk Plast Surg* 2009;17(3);118-121.