



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA HYALÜRONİK ASİT DOLGUSUNA BAĞLI
ARTER OKLÜZYONUN ÇÖZÜLMESİNDE
HYALÜRONİDAZ-ENOKSAPARİN KOMBİNE
TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet Mesut İNAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR/2023



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA HYALÜRONİK ASİT DOLGUSUNA BAĞLI
ARTER OKLÜZYONUN ÇÖZÜLMESİNDE
HYALÜRONİDAZ-ENOKSAPARİN KOMBİNE
TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet Mesut İNAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Caferi Tayyar SELÇUK

DİYARBAKIR-2023

ÖNSÖZ

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi kliniğinde uzmanlık eğitimine başladığım günden bu yana değerli bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, cerrahi alanda gerekli yetkinliğe ulaşmam için büyük katkıları olan, kalifiye bir uzman olabilmem için bana her türlü imkanı sağlayan ve asistanların haklarını her koşulda gözetten Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih Akkoç'a ve saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Serkan Erbatur'a,

Uzmanlık tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, tez konusunu belirlememde bana fikirler veren, mesleki gelişimimde büyük katkıları olan, korkusuzca her vakayı alarak bize vaka alma konusunda cesaret veren, çalışkanlığıyla bize örnek olan tez danışman hocam Prof. Dr. Caferi Tayyar Selçuk'a,

Tez çalışmamda preparatların histopatolojik incelenmesinde özveriyle çalışıp analizlerini benimle paylaşan Prof. Dr. Selver Özşener Özekinci ve Dr. Cihat Akşahin'e

Uzmanlık eğitimim süresince birçok anı biriktirdiğim, güzellikleri ve sıkıntıları paylaştığım, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma, hemşire ve sağlık personellerine,

Beni yetiştiren ve bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, hayatımın her anında yanımda olan annem, babam ve kardeşlerime,

Uzun ve meşakkatli uzmanlık eğitimim süresince hep yanımda olan, benden desteğini hiç esirgemeyen, beni motive eden hayat arkadaşım, sevgili eşim Derya İnan'a ve her koşulda beni neşelendirip bana huzur veren biricik kızım Asya İnan'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
TABLolar.....	x
ŞEKİLLER	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tarihçe.....	5
2.1.1. Dolguların tarihçesi.....	7
2.2. Dolgu Materyalleri	8
2.2.1. Otolog biyolojik dolgular.....	14
2.2.1.1. Otolog fibroblast	14
2.2.1.2. İnsan doku matriks kollajeni	15
2.2.2. Sentetik dolgular	15
2.2.2.1. Kalsiyum hidroksiapatit (CaHA)	15
2.2.2.2. Poli Metil Metakrilat (PMMA)	16
2.2.2.3. Poli-L-Laktik asit (PLLA)	17
2.2.2.4. Poliakrilamid hidrojel (PAAG)	19
2.2.2.5. Silikon	19

2.2.2.6. Gore-Tex.....	20
2.2.3. Otolog olmayan biyolojik dolgular	21
2.2.3.1. Kollajen	21
2.2.3.1.1. Sığır kollajeni	22
2.2.3.1.2. İnsan kollajeni	23
2.2.3.1.3. Kombine kollajen	24
2.2.3.2. Asellüler Dermal Matriks (ADM)	24
2.2.3.3. Hyalüronik asit	25
2.2.3.3.1. Hyaluronik asit molekül yapısı	26
2.2.3.3.2. Hyalüronik asit biyolojik özellikleri	28
2.2.3.3.3. Hyalüronik asit biyosentezi.....	30
2.2.3.3.4. Hyalüronik asit eliminasyonu	32
2.2.3.3.5. Hyalüronik asit klinik kullanım alanları	33
2.2.3.3.5.1. Ortopedik uygulamalar.....	34
2.2.3.3.5.2. Oftalmoloji uygulamaları	34
2.2.3.3.5.3. Nöral ve glial uygulamalar	35
2.2.3.3.5.4. Antiadezyon uygulamaları	35
2.2.3.3.5.5. Kardiyovasküler uygulamalar	35
2.2.3.3.5.6. Plastik cerrahi ve dermatoloji uygulamaları	36
2.2.3.3.6. Dolgu maddesi olarak hyalüronik asit.....	37
2.2.3.3.6.1 Hyalüronik asit çapraz bağlanması	39
2.2.3.3.6.2. Çapraz bağlanma derecesi.....	40
2.2.3.3.6.3. Jel sertliği (G')	40
2.2.3.3.6.4. Jel kararlılığı.....	41

2.2.3.3.6.5. Viskozite, elastisite ve püskürme kuvveti	41
2.2.3.3.6.6. Kohezivite	42
2.2.3.3.6.7. Konsantrasyon ve su tutma kapasitesi	42
2.2.3.3.6.8. Bifazik-monofazik dolgular	43
2.3. Dolgu Uygulama Önerileri.....	43
2.4. Dolgu Enjeksiyon Teknikleri	45
2.5. Dolgu Komplikasyonları.....	46
2.5.1. Ani ve erken başlangıçlı komplikasyonlar	46
2.5.1.1. Minör komplikasyonlar	46
2.5.1.2. Major komplikasyonlar	47
2.5.2. Geç başlayan komplikasyonlar	50
2.5.2.1. Minör komplikasyonlar	50
2.5.2.2. Majör komplikasyonlar	50
2.6. Dolgu Komplikasyon Tedavisi.....	51
2.6.1. Hyalüronidaz	51
2.6.2. Enoxaparin	54
3. GEREÇ VE YÖNTEM	56
3.1. Genel Hazırlıklar	56
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	56
3.3. Deneyde Kullanılacak Malzemeler	57
3.3.1. HA içerikli dolgu maddesi	57
3.3.2. Hyal Enzimi	57
3.3.3. Enoxaparin	58
3.4. Cerrahi İşlemler.....	59

3.5. Gruplara Göre Uygulanan İşlemler	63
3.5.1. Grup 1 (Sham grubu)	63
3.5.2. Grup 2 (Kontrol grubu)	64
3.5.3. Grup 3 (Hyal grubu)	64
3.5.4. Grup 4 (Hyal + Enoxaparin grubu)	66
3.6. Doku Örneklerin Alınması	67
3.7. Değerlendirme Yöntemleri	68
3.7.1. Makroskopik değerlendirme	68
3.7.2. Histopatolojik değerlendirme	69
3.7.3. İstatiksel değerlendirme	69
4. BULGULAR.....	70
4.1. Makroskopik Bulgular	70
4.2. Histopatolojik Bulgular	73
5. TARTIŞMA	82
6. SONUÇ	92
7. KAYNAKLAR	94

ÖZET

Ratlarda Hyalüronik Asit Dolgusuna Bağlı Arter Oklüzyonun Çözülmesinde Hyalüronidaz-Enoksaparin Kombine Tedavisinin Etkinliğinin Araştırılması

Ameliyatsız yüz gençleştirme işlemleri son yıllarda giderek yaygınlaşmaktadır. Bu işlemler arasında en sık başvurulanan yöntemlerden biri hyaluronik asit(HA) dolgu uygulamasıdır. Bu uygulamaların giderek yaygınlaşmasıyla birlikte nekroz, körlük gibi korkutucu vasküler komplikasyonlar da daha çok görülmeye başlamıştır. Çalışmamızda bu komplikasyonların tedavisine yönelik hyalüronidaz(hyal) ve enoksaparin kombine tedavisinin etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda ratlarda hyaluronik asit vasküler oklüzyon modeli kullanılmıştır. 18 adet rat 6 ratlık 3 gruba ayrılmıştır. İlk gruptaki ratlardan bilateral oblik kasık flebi kaldırılmıştır. Bu 6 ratın sol tarafındaki flepler Grup 1(Sham grubu) olarak, sağ tarafındaki flepler Grup 2(Kontrol grubu) olarak isimlendirildi. Grup 1’de flepler kaldırıldı. Ek bir işlem yapılmadan yerine iade edilip sütüre edildi. Grup 2’de flepler kaldırıldıktan sonra flebi besleyen supeficial epigastrik artere HA dolgusu verildi. Grup 3’e dolgu ile birlikte hyal enzimi verildi. Grup 4’e dolgu ile birlikte hyal enzimi ve enoksaparin verildi. 1 hafta sonra ratlar sakrifiye edilip bulgular makroskopik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Makroskopik olarak yapılan nekroz yüzdesi karşılaştırmasına göre grup 3 ile karşılaştırıldığında grup 4’te nekroz yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az bulundu. Ayrıca dolgu verilmeyen grup 1 ile hyal ve enoksaparin’i birlikte verdiğimiz grup 4 arasında nekroz yüzdesi açısından anlamlı fark yoktu.

Bu deneysel çalışma ile HA dolgu vasküler komplikasyonlarında intravasküler hyal ile kombine edilen subkutan enoksaparin tedavisinin etkinliği gösterilmiş oldu.

Anahtar kelimeler: Hyalüronik asit, dolgu komplikasyonları, hyalüronidaz, enoksaparin

ABSTRACT

Investigation of the Efficacy of Hyaluronidase-Enoxaparin Combined Therapy in Resolving Artery Occlusion Due to Hyaluronic Acid Filling in Rats

Non-surgical facial rejuvenation procedures have become increasingly common in recent years. One of the most frequently used methods among these procedures is hyaluronic acid (HA) filler application. With the increasing prevalence of these applications, frightening vascular complications such as necrosis and blindness have begun to be seen more frequently. In our study, it was aimed to investigate the efficacy of hyaluronidase (hyal) and enoxaparin combined therapy for the treatment of these complications.

In our study, hyaluronic acid vascular occlusion model was used on rats. 18 rats were divided into 3 groups of 6 rats. Bilateral oblique groin flap was elevated from the rats in the first group. The flaps on the left side of these 6 rats were named Group 1 (Sham group) and the flaps on the right side were named Group 2 (Control group). In group 1, flaps were elevated. They were inserted to their place and sutured without any additional operation. After the flaps were elevated in group 2, HA filler was given to the superficial epigastric artery feeding the flap. Group 3 was given hyal enzyme together with the filler. Group 4 was given hyal enzyme and enoxaparin together with the filler. After 1 week, the rats were sacrificed and the findings were evaluated macroscopically and histopathologically. According to the macroscopic comparison of the percentage of necrosis, the percentage of necrosis was found to be statistically significantly lower in group 4 compared to group 3. In addition, there was no significant difference in the percentage of necrosis between group 1, which did not receive fillers, and group 4, where hyal and enoxaparin were given together.

This experimental study demonstrated the efficacy of subcutaneous enoxaparin therapy combined with intravascular hyaluronidase in vascular complications of HA filler.

Keywords: Hyaluronic acid, filler complications, hyaluronidase, enoxaparin

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADM : Asellüler dermal matriks

Ark. : Arkadaşları

BDDE : 1,4 butanediol diglisidil eter

CaHA: Kalsiyum hidroksi apatit

DGA : D-glukuronik asit

DMAH : Düşük molekül ağırlıklı heparin

ECM: Ekstra sellüler matriks

FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

GAG : Glukoz amino glukan

GPI : Glikozil fosfatidil inozitol

HA: Hyalüronik asit

HAS : Hyaluronan sentaz

Hyal : Hyalüronidaz

HIV : Human immunodeficiency virüs (HIV)

ISAPS : Uluslararası Estetik Plastik Cerrahi Derneği

kDA : kilo Dalton

MHC : Majör histokompatibilite kompleksi

NADG : N-asetil-D-glukozamin

NASHA : Non Animal Stabilized Hyalüronik Asit

NSAİD : Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç

PAAG : Poliakrilamid hidrojel

PLLA : Poli-L-Laktik asit

PMMA: Poli metil metakrilat

PTFE : Politetrafloroetilen

RHAMM : Hyalüronik asit aracılı motilite reseptörü

SRA : Santral retinal arter



TABLÖLAR

Sayfa Numarası

Tablo 2-1 İdeal dolgu maddesinde olması gereken özellikler	10
Tablo 2-2 Yumuşak doku dolgularının fizikokimyasal özellikleri	11
Tablo 2-3 Yumuşak doku dolgu sınıflaması	13
Tablo 2-4 FDA onay tarihine göre enjektabl dolguların listesi	38
Tablo 4-1: Gruplar arasında nekroz yüzdesinin karşılaştırılması.....	73
Tablo 4-2 : Gruplar arasında histopatolojik sonuçların karşılaştırılması	78

ŞEKİLLER

Sayfa Numarası

Şekil 2-1 : Francesco Colonna'nın La Hypnerotomachia di Polihilo isimli kitabında resmettiği Gençlik Çeşmesi.....	6
Şekil 2-2 : Hyalüronik asit kimyasal yapısı	27
Şekil 2-3 : Hyalüronik asit sentezinin şematik hali	31
Şekil 3-1 : Deneyde kullanılan HA içerikli dolgu maddesi	58
Şekil 3-2 : Deneyde kullanılan rekombinant hyal enzimi	59
Şekil 3-3 : Deneyde kullanılan enoxaparin etken maddeli ilaç	59
Şekil 3-4 : Bilateral Oblik Kasık Flebi Çizimi	60
Şekil 3-5 : Grup 3 ve 4'te kaldırılan fleplerin çizimi.....	61
Şekil 3-6 : Eleve edilmiş flebin görüntüsü	62
Şekil 3-7 : HA dolgusunun uygulanması	63
Şekil 3-8 : Eski yerine suture edilmiş flep	65
Şekil 3-9 : Kuyruk veninden hyal enzimi verme	65
Şekil 3-10 : Enoxaparin uygulama	67
Şekil 3-11 : Ötenazi sonrası fotoğraflama	68
Şekil 4-1 : Grup3-Rat2.....	70
Şekil 4-2 : Grup3-Rat5.....	71
Şekil 4-3 : Grup4-Rat2.....	71
Şekil 4-4 : Grup4-Rat4.....	72
Şekil 4-5 : Gruplar arasında nekroz yüzdesinin dağılımının grafiksel gösterimi	73
Şekil 4-6 : Grup 2 Damar lümenini doldurmuş, organize olmuş trombüs.....	74
Şekil 4-7 : CD31 pozitif boyanan organize trombüs	75
Şekil 4-8 : Grup 1 normal arter görünümü	75
Şekil 4-9 : Grup 3 Konjesyone damar	76
Şekil 4-10 : Grup 2 Yoğun inflamasyon alanı ve beraberinde ödem varlığı.....	76
Şekil 4-11 : Grup 4 Kanama alanı.....	77
Şekil 4-12 : Gruplar arasında konjesyon düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi	79

Şekil 4-13 : Gruplar arasında ödem düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi.....	79
Şekil 4-14 : Gruplar arasında inflamasyon düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi.	80
Şekil 4-15 : Gruplar arasında kanama düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi	80
Şekil 4-16 : Gruplar arasında trombüs düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi	81



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ameliyatsız yüz gençleştirme işlemleri, komplikasyon riskinin nispeten düşük olması, işlem sürelerinin kısa olması, poliklinik şartlarında yapılabilmesi ve uygulama sonrası hastanede yatış gerektirmemesi nedeniyle giderek yaygınlaşmaktadır. Yaşlanan yüzün restorasyonu ve hacim kaybının giderilmesi için dolgu enjeksiyonları bu işlemler arasında çok önemli bir yere sahiptir. 1981 yılında sığır kollajeninin Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA:Food And Drug Administration) tarafından onaylanmasıyla dolgu uygulamaları yapılmaya başlanmıştır(1). Bu dolguların antijenitesi yüksek olduğu için allerjen potansiyeli taşımaktaydı ve uygulama öncesi deri testi yapıp allerjik reaksiyon göstermediği doğrulanmalıydı(1). Süreç içerisinde otolog yağ enjeksiyonu, sıvı silikon, poli-L laktik asit, kalsiyum hidroksiapatit, polimetil metakrilat, poliakrilamid jel gibi birçok dolgu türü kullanılmıştır(2).

HA D-glukuronik asit ve N-asetilglukozaminden oluşan, birbirine β 1,3 ve β 1,4 glikozidik bağlarıyla bağlı ve yaklaşık 25.000 defa tekrarlayan disakkarit ünitelerinden meydana gelen glikozaminoglikan(GAG) grubuna ait bir polisakkarittir(3,4). Sinovial sıvıda, göz içi vitröz sıvıda ve nöral dokularda bol miktarda bulunur(5). Dermis ve birçok dokunun ekstrasellüler matriksinin yapıtaşlarındandır. Dokuların büyümesi, gelişmesi ve yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır(5,6). HA içerikli dolgular ilk olarak 2003 yılında FDA onayı (Restylane[®]) almıştır(7). Sentetik HA esaslı dolgular; immün reaksiyon oluşturmama, farklı viskozitelere sahip olma, biyouyumluluk, hyal enzimi ile çözülebilde, overenjeksiyon durumunda kolay düzeltilebilme, granülom riskinin düşük olması, vücut tarafından yıkılabilde ve etkilerinin geri dönüşümlü olması gibi pekçok nedenden dolayı en çok tercih edilen dolgu türleri arasındadır(1,8–10). Uluslararası Estetik Plastik Cerrahi Derneği (ISAPS) istatistiklerine göre HA dolgu enjeksiyonu, kozmetik işlemlerde botulinum toksinden sonra en çok uygulanan ikinci işlemdir (11). Ayrıca yüz hatlarını belirginleştirme, akne skarlarını düzeltme, el gençleştirme, vücut

şekillendirme gibi pek çok alanda yaygın olarak HA dolguları kullanılmaktadır(12). HA enjeksiyonlarının kolay uygulanması, güvenilir kabul edilmesi, anında sonuç alınması, dolgunun kolay ulaşılabilir olması gibi birçok sebeple kullanımı hızla artmakta ve özellikle yasa dışı uygulamalara bağlı komplikasyonların insidansı da artmaktadır(13). HA dolguları kullanımı sonrası lokalize ödem, allerjik reaksiyon, eritem, nodül, granülom, enfeksiyon, abse gibi minör komplikasyonlar görülebilmektedir(14). Ayrıca uygulama hatalarına bağlı olarak dolgunun palpasyonla hissedilmesi, gözle görünür olması, tyndall etkisi gibi komplikasyonlar da gelişebilir(15). Daha nadir olarak nekroz ve körlüğe kadar giden pekçok komplikasyon görülebilmektedir(12). Doku iskemisi ve nekrozu gibi komplikasyonlar genellikle dolgunun intravasküler enjeksiyonuna bağlı gelişmekte iken, dolgunun ekstrasvasküler kompresyonuna bağlı da gelişebildiği düşünülmektedir. Çoğu zaman güvenilir işlemler olmasına rağmen uygulanmasının artışı ile en korkulan komplikasyon olan arteriyel emboli son zamanlarda daha sık karşımıza çıkmaktadır.

Yüz bölgesinde zengin arteriyel kanlanma olması, periorbital bölgede supraorbital arter, supratroklear arter, anguler arter, dorsal nazal arter, orbital arterle dış ve iç karotis sistemi arasında yaygın bağlantılar olması nedeniyle bu bölge uygulamalarında arteriyel emboli görülebilir. (16,17). Dolgu maddesi bu vasküler ağ vasıtasıyla retrograd yoldan ilerleyip oftalmik arter ve santral retinal arteri tıkayabilir. Santral retinal arterde emboliye bağlı retinal iskemi oluşabilir, eğer durum düzeltilmezse retinal nekroz ve buna bağlı olarak en korkulan komplikasyonlardan biri olan kalıcı körlük gelişebilir(17,18). Santral retinal arterin HA ile oklüzyonu sonrasında, emboli etrafında fibrin trombüs oluşup retinadaki nekrozu arttırabilir(19). Bu durumda enjeksiyonun hemen sonrasında aniden başlayan, tek taraflı, dayanılmaz göz ağrısı ve körlük bulguları görülebilir. Bu bulgular meydana gelirse retinal iskemi henüz geri dönüşlü iken, biran önce tedaviye başlanmalıdır(17).

Literatürde bu komplikasyonların tedavi edilmesine yönelik pek çok çalışma yapılmasına rağmen tedavi yöntemi üzerine fikir birliğine varılamamıştır. Arteriyel oklüzyonun çözülmesi amacıyla bu dolguyu parçalayıcı enzim olan hyal enzimi sık

kullanılmakla birlikte genellikle tedavide tek başına yeterli olmamaktadır. Yüz bölgesinin kanlanması pekçok varyasyon vardır ve çok sayıda kollateral damar mevcuttur. Bundan dolayı arteryel oklüzyonun lokalizasyonunu kestirmek güçtür. Bu durum genellikle lokalize hyal uygulamasının yetersiz olmasına neden olmakta ve sistemik tedavi verilmesini gerekli kılmaktadır. Dolayısıyla bu komplikasyonların tedavisinde ek ilaçlar kullanılmasına ihtiyaç duyulmuştur. Bu komplikasyonları tedavi etmek için etkilenen bölgeye masaj uygulanması, sıcak uygulama önerilirken; hyalüronidaza ek olarak prostoglandin E1, alteplaz , streptokinaz, ürokinaz , nitrogliserin, aspirin, asetozalamid, mannitol gibi pekçok ilaç denenmiştir(9,20–22). Yapılan çalışmalarda arteryel oklüzyonun nedeninin sadece HA olmadığı, buna kırmızı trombüsün eşlik ettiği görülmüş(19). Bundan dolayı bu komplikasyonları gidermek için trombüsü direkt eriten trombolitik ajanlar veya pıhtılaşma yolağına etki ederek trombüs oluşumunu engelleyen antikoagülan ve antiagregan ajanlar da kullanılmaktadır. Çalışmamızda amaç; düşük molekül ağırlıklı heparin grubundan Enoxaparin adlı ilacı hyal ile birlikte vererek arterde yer alan oklüzyonu çözmek ve buna bağlı nekroz, körlük gibi komplikasyonların azaltılmasına etkisini araştırmaktır. Enoxaparin pıhtılaşma yolağındaki Faktör Xa'yı inhibe ederek antikoagülan etki göstermektedir(23). Enoxaparin adlı ilaç serebral iskemi, pulmoner emboli, derin ven trombozu gibi pek çok damar pıhtılaşma hastalığı durumunda damar içindeki pıhtıyı çözme amaçlı kullanılmıştır(23). Fakat enoxaparin adlı ilacın hyalüronik asit dolgularına bağlı komplikasyonların tedavisinde kullanımına yönelik yapılmış bir deneysel çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda enoxaparinin pıhtılaşma engelleyici özelliğinden faydalananarak hyalüronik asit dolgusunun damarda yaptığı tıkanıklığı açmaya etkisini araştırma planlanmaktadır.

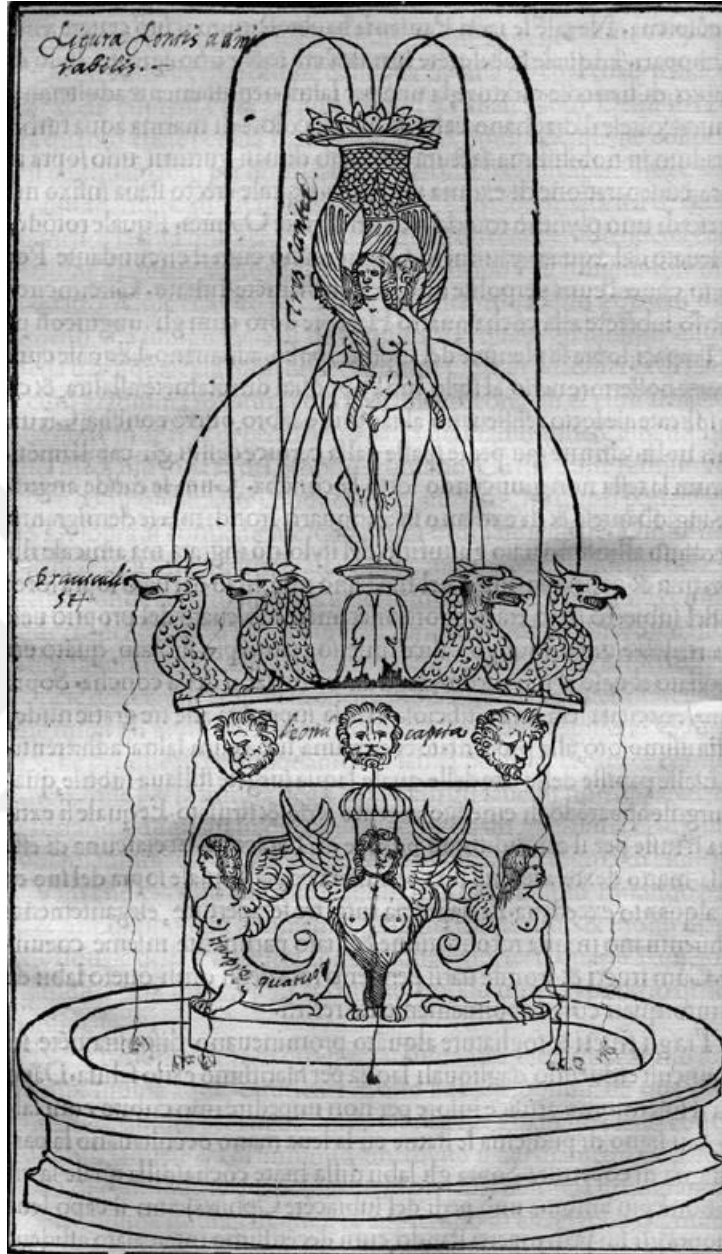
2. GENEL BİLGİLER

Deri, diğer tüm organlarda olduğu gibi yaşla birlikte fizyolojik bir gerilemeye uğrar. Deri yaşlanması, derinin tüm katmanlarında doğuştan itibaren başlar. Bu durum, yapısal ve moleküler bozulma sonucunda meydana gelen kompleks ve progresif bir süreçtir(24). Bu kompleks süreç için birçok mekanizma öne sürülmüş fakat patogenezi tam anlaşılamamıştır. Bunların içerisinde en önemlisi intrinsik ve ekstrinsik yaşlanma mekanizmalarıdır. İntrinsik yaşlanma zamana bağlı tüm organlarda meydana gelen spontan, doğal ve kronolojik bir süreçtir. İntrinsik yaşlanmada primer sorumlu olay hücre replasmanında, bariyer fonksiyonunda, yara iyileşmesinde, immünolojik yanıtlarda, termoregülasyonda, D vitamini üretim kapasitesinde azalma ve yavaşlamadır(25). Ekstrinsik yaşlanma ise başta kronik güneş maruziyeti olmak üzere, sigara, alkol kullanımı, yetersiz beslenme, yoğun stres ve olumsuz çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır(24). Bununla birlikte epidermisteki stratum korneum tabakası yaşlılarda yeteri kadar bariyer görevi görmeyebilir. Buna bağlı olarak birtakım zararlı maddeler deriye penetre olup birikebilir. Hücresel turnover ve onarım yaşla birlikte yavaşladığı için deride meydana gelen hasarların geri dönüşümü uzamaktadır(26).

Yaşlanma sürecinde dermis başta olmak üzere tüm deri katmanlarında dejeneratif değişiklikler meydana gelir. Dermisin büyük çoğunluğunu fibroblastlar tarafından üretilen ekstrasellüler matriks (ECM) oluşturur. ECM hücresel olmayan 3 boyutlu makromoleküler bir ağdır. ECM'nin içeriğinde kollajenler, proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar, elastin, fibronektin, laminin, histiosit, mast hücreleri, dermal dendrositler ve fibroblastlar yer alır(27,28). Yaşla birlikte dermisin ana komponentlerinden biri olan kollajenin yapım ve yıkımı arasında bir dengesizlik oluşur. Bu yaşlanmanın temel sebeplerinden biridir(9). Bundan dolayı cilt gençleştirme için kullanılan birçok yöntem yaşla birlikte ortaya çıkan bu kollajen dengesizliğini geri çevirmeye yöneliktir.

2.1. Tarihçe

Hayatın kaçınılmaz sonları olan yaşlanma ve ölüm tarih boyunca insanoğlunun ilgi alanına girmiştir. Yaşlandıkça canlılığımızı, mental kapasitemizi ve güzelliğimizi kaybederiz. İnsanlar sürekli bu durumdan muzdarip olmuş ve tarih boyunca yaşlanmayı durdurmaya veya geri döndürmeye yönelik çözümler icat etmiştir. Efsaneler M.Ö. 5. yüzyıla kadar dayanmaktadır. Yunan tarihçi Herodot, Makrobiyenlerin ülkesinde olağanüstü uzun ömürler veren bir çeşmenin varlığından bahsetmiştir(29). Yine efsaneye göre; İspanyol kaşif Juan Ponce de León (1474-1521) yaşlanma sürecini tersine çevirebilen ve hastalığı iyileştirebilen büyümlü bir su kaynağı olan Gençlik Çeşmesi'ni ararken Florida'yı keşfetmiştir(29). Francesco Colonna, La Hypnerotomachia di Polihilo isimli kitabında Gençlik Çeşmesini resmetmiştir.(Şekil 2-1). Yüzyıllar boyunca süregelen sayısız arayışlar ve çözüm yolları, insanların antiaging teknikler olarak adlandırılan yüz gençleşmesini sürdürmelerine ve hatta iyileştirmelerine yardımcı olmuştur. Antik mısır döneminde moringa yağı, sığla sakızı, Kıbrıs otu ve fermente bitki suları içeren mum bazlı bir karışımın, yüzyıllar boyunca kozmetik amaçlı kullanımı hakkında çok şey yazılmıştır. Bal, kırmızı natron, kuzey tuzu gibi maddeler öğütölerek bir karışım oluşturulmuş. Bu karışımla cildin üst tabakası sıyrılmış. Böylece yüzün ve dudakların daha pürüzsüz bir görüntüye kavuşması sağlanmış.16. yy'da İtalyan doktor Giovanni Marinelli, kadınların güzelliğinin merhemler ve diğer ilaçlarla nasıl korunacağına dair bir ders kitabı yayınlamıştır. Marinelli, yüz kırışıklarını gidermek için geyik boynuzu tozu ile karıştırılmış bakla kullanımını önermiştir. Padua Üniversitesi Uygulamalı Tıp bölümünden Prof. Girolamo Mercuriale (1530-1606), görünüm ve vücut güzelliğinin nasıl mümkün olacağını anlattığı De Decoratione isimli kitabını yazmıştır(30).



Şekil 2-1 : Francesco Colonna'nın La Hypnerotomachia di Polihilo isimli kitabında resmettiği Gençlik Çeşmesi

2.1.1. Dolguların tarihçesi

Prusia Bilim Akademisi'nde çalışan Alman kimyager Baron Carl von Reichenbach (1788-1869) tarafından 1830 yılında üretilen parafin dolgu, modern zamanlarda kullanılan ilk enjektabl materyaldir(29). Viyanalı doktor Robert Gersuny (1844-1924) parafini, sfilize sekonder kırıkta resorbsiyonunda meydana gelen semer burun deformitesini düzeltmek için kullanmıştır. Ayrıca alın çizgilerinin, boyun kırışıklıklarının ve nazolabial kıvrımların düzeltilmesinde de kullanılmıştır. Balmumu, yağ ve vazelinle kombine edilerek yapılan parafin uygulamaları sonrası dokularda yabancı cisim reaksiyonu gelişmiş ve bu durum parafinoma olarak isimlendirilmiştir. Bunun yanında parafine bağlı pulmoner emboli, enfeksiyonlar, granülatöz reaksiyonlar ve doku nekrozları da görülmüştür. Ortaya çıkan bu komplikasyonlardan sonra 1960'lı yıllarda parafinin dolgu olarak kullanımı popülaritesini yitirmiştir(29).

İlk kozmetik cerrahlardan Charles C. Miller (1880-1950) 1926 yılında yüz noksanlarını modifiye etmeye yönelik Kanüllü İmplantlar adlı kitabını yayınladı. Kauçuk sünger, selüloit ve gutta-percha adı verilen ürünleri değirmenden geçirip ısıtmış. Ardından yüzdeki çöküntüler, nazolabial oluklar, kaz ayakları ve semer burun deformitesinin düzeltilmesinde kullanmış. Malzemeleri deri altına enjekte etmek içinse özel bir şırınga kullanmıştır(29).

James Franklin Hyde (1903-1909) adındaki Amerikan kimyager 1930'larda silikon endüstrisinin başlamasına öncülük etmiştir. Bundan dolayı kendisi 'Silikonların Babası' olarak isimlendirilmiştir. Saf silikon, düşük toksisite ve düşük biyolojik risk taşıması nedeniyle tıp alanında popülarite kazandı ve kullanımı yaygınlaştı. 1960'larda üreticiler silikonu; 'Yaşlı yüzleri gençleştiren, kırışıklıkları gideren, hipoplastik memeleri problemsiz bir şekilde C cup'a dönüştüren harika ürün' şeklinde pazarladılar. Kolayca sterilize edilebilen inert bir malzeme olan likit silikon, dudak büyütme, nazolabial kıvrımları düzeltme ve meme büyütme gibi pekçok alanda kullanıldı. Uygulama o kadar hızlı yaygınlaştı ki silikon tedarikinde ciddi sıkıntılar yaşandı. İyi giden bir balayı

sürecinden sonra enfeksiyonlar, migrasyonlar, renk değişiklikleri, dokularda sertleşme, silikonoma olarak adlandırılan granülom formasyonları gibi dramatik komplikasyonlar gelişmeye başladı. Sıvı silikon enjeksiyonuna bağlı pekçok yan etkinin belgelenmesi sonucu 1992 yılında FDA tarafından kullanımı durdurulmuştur(29).

Kollajen, yüz skarları, kırışıklıkları ve çizgilerine uygulama için FDA tarafından onay alan ilk enjekte edilebilir dolgudur(31). 1981 yılında kollajen bazlı dolgulardan sığır kollajeni FDA tarafından onay almıştır. İçeriğinde %95 oranında tip 1 kollajen, %5 oranında da tip 3 kollajen mevcuttu. Sığır kollajeninin antijenitesi yüksek olduğu için allerji önemli bir sorun teşkil etmekteydi(31). Dolayısıyla dolgu uygulama öncesinde 2 aşamalı deri testi uygulanıyordu. Bu durum hem hasta hem uygulayıcı için zahmetli bir durumdu. Ayrıca uygulama sürecinin uzamasına neden oluyordu. İki aşamalı deri testinin negatif gelmesi bile alerjik reaksiyon ve ciddi yan etkilerin gelişmeyeceğini garanti etmiyordu(31). Sığır kollajeni bazlı dolgular; kalıcı renk değişikliği, kalıcı skarlar, granümatöz inflamasyon, vasküler oklüzyon, anafilaksi, gecikmiş hipersensitivite, nodül, granülom gibi yan etkilerin çokluğu nedeniyle popülaritesini yitirmiştir(31).

2.2. Dolgu Materyalleri

Cerrahi olmayan yüz gençleştirme yöntemleri günümüzde giderek artan sıklıkta tercih edilmeye başlanmıştır. Bu işlemlerin önemli bir kısmını hacim kazandırmak, lifting etkisi, kırışıklıkların giderilmesi gibi pekçok amaçla kullanılan yumuşak doku dolguları oluşturmaktadır. Dolgu uygulamaları kısa uygulama süreleri, poliklinik şartlarında yapılabilmesi, yatış gerektirmemesi gibi pekçok neden dolayı giderek yaygınlaşmaktadır. Çok fazla sayıda dolgu çeşidi olmasına rağmen ideal dolgu maddesinin hangisi olduğuna dair görüş birliği bulunmamaktadır. İdeal dolgu maddesi tanımı tartışmalı olmasına rağmen ortak görüş bazı temel özelliklere sahip olması gerektiği yönündedir. İdeal bir dolgu malzemesi 3 temel özelliğe sahip olmalıdır: Güvenli olmalıdır; nonimmünojenik, nonkarsinojenik, nonaterojenik, fizyolojik olmalı, enfeksiyon, ekstrüzyon, migrasyon ve granümatöz formasyon açısından düşük risk

içermelidir. Etkili olmalıdır; uzun ömürlü olmalı, fasyal kontürleri ve çizgileri doğal şekilde düzeltip augmente edebilmeli ve tekrarlanabilir olmalı. Pratik olmalıdır; maliyet etkin olmalı, kolay uygulanabilmeli, gerektiğinde çıkarılabilmeli, uzun raf ömrü olmalı hızlı uygulanabilip işgücü kaybı yapmamalıdır(31,32).

Dolguların fizikokimyasal özelliklerini tanınması, uygulayıcıya dolgunun performansı, immünojenitesi, etkinliği, dağılıbilirliği ve dayanıklılığını doğru değerlendirebilme olanağı verir. Yumuşak doku dolgularının temel davranışı, bazı bilimsel değişkenlerin işleyişine bağlıdır. Biyouyumluluk, biyofilm formasyonu, viskozite, jel/sıvı oranı, HA konsantrasyonu, kaynak çapraz bağlayıcı maddenin derecesi ile çapraz bağlanma yüzdesi, partikül boyutu, esneklik katsayısı (G'), kompleks akışkanlık ve ekstrüzyon bu bilimsel değişkenlerden bazılarıdır(33). Özellikle kritik olan davranış mekanizmaları kaldırma gücü, elastikiyet ve akışkanlıktır. HA ve kalsiyum hidroksi apatit (CaHA) bazlı dolguların fizikokimyasal özellikleri ile performansları arasındaki ilişki birtakım reolojik(akış biçimi) testlerle değerlendirildi. Sıvıların akışkanlığının ölçümü, basınç altında katıların fiziksel değişiminin değerlendirilmesi gibi testler bu testlerden bazılarıdır(33).

Bir yumuşak doku dolgusunun kullanılabilirliği, bir ürünün reolijisini oluşturan etkenlerden akışkanlık, esneklik ve yoğrulabilirliğine bağlıdır. Reolojik testler yer çekiminin fasyal dokular üzerinde hareket ettirici etkisini taklit eder. Bunu HA ve CaHA üzerine kesme kuvveti uygulayarak yapar. Yapılan bir çalışma CaHA'in yüksek G' değerine sahip olduğu için yapısal bütünlüğünü, akışkanlığını ve esnekliğini koruduğunu göstermiştir(34). Klinik uygulamalarda G' değeri daha yüksek olan sert dolguları cilde vermek uygulayıcı için daha zor olacaktır. Düşük G' değerine sahip dolgular yüzeyel kırışıklıkları düzeltmede, dudak ve çevresi uygulamalarda daha etkilidir. Dinamik kuvvete dirençli (Yüksek G' değeri olan) jeller, elmacık bölgesi, çene ucu, şakak bölgesi gibi derin uygulama gerektiren bölgelerde daha kullanışlıdır.

İdeal dolgu maddesinde olması gereken özellikler aşağıda yer alan tablodaki gibi özetlenebilir(Tablo 2-1)(35).

Tablo 2-1 İdeal dolgu maddesinde olması gereken özellikler(35)

	İdeal Özellik
Materyal	Biyouyumluluk
	Antijenik olmama
	Toksik olmama
	Karsinojen olmama
	Teratojen olmama
Performans	Tekrarlanabilme
	Kalıcı sonuç
	Hacim süresinin yeterli olması
	Şekil verilebilirlik
	Yüksek güvenilirlik
	Minimal yabancı cisim reaksiyonu
	Enjeksiyon bölgesinden minimal migrasyon
Teknik	Kolay uygulanabilirlik
	Yeterli harekete olanak sağlayacak formda olma
	İşlemeyi kolaylaştıracak formda olma
Subjektif Tatmin	Sonuçların öngörülebilmesi
	Minimal yan etkiler
	Minimal işgücü kaybı
Diğer Özellikler	Profesyonel topluluk ve hükümetlerce onaylanma
	Çok yönlü uygulanabilme
	Makul ve ucuz fiyatlı olma
	Geri dönüşümlü olma

Moleküler çapraz bağlama, HA dolgulara vücut tarafından metabolize edilene kadar kuvvet ve yapısal bütünlük verir. Bu şekilde şekillerini daha uzun süre muhafaza edebilirler. Çapraz bağlama, etkili biyomekanik özellikler sağlarken, biyouyumluluk ve doku etkileşimini sürdürme açısından da hassas bir denge sağlar. Dolgunun kalıcılık süresini HA konsantrasyonu yanında çapraz bağlanmanın miktarı ve derecesi belirler. Yüksek çapraz bağlanma oranına sahip dolgular eşit konsantrasyonda olsalar bile daha stabil ve uzun ömürlü olacaktır(33). Yumuşak doku dolgularının fizikokimyasal özellikleri Tablo 2-2’de gösterilmiştir(33).

Tablo 2-2 Yumuşak doku dolgularının fizikokimyasal özellikleri(33)

Biyouyumluluk / biyofilm
Akışkanlık
Jel/sıvı oranı
Konsantrasyon
Çapraz bağlanma yüzdesi / çapraz bağlayıcı kaynak
Partikül, sıvı, fibriler yapı oranları
G' (Esneklik katsayısı)
Ekstrüzyon kuvveti
Partikül boyutu
Partikül şekli
Yüzey biçimi
Temas açısı
Yüzey gerilimi
Yüzey yüklemesi

Partikül boyutu, şekli ve dağılımı morarma potansiyelini etkilemektedir. Eğer partiküller büyük parçalar halinde kalıp birbirine yakın şekilde dağıtılsa bu durum

dolgunun pürüzsüz akışına engel olur ve morarmaya neden olabilir. Bu doğal biyokimyasal özellikler, bir ajanı enjekte etmek için uygulanması gereken güç miktarını etkiler. Genelde yüksek G' değeri, optimum kaldırma ve şekil verme etkisini stabilleştirmeye yarar. Yüksek akışkanlık değeri ise dolgular enjekte edilirken uygulanan tazyik gücüne dayanmasını sağlar.

Partikül boyutu ise göz önünde bulundurulması gereken başka bir etkidir. Partikül boyutunun fagositoz üzerine etkisine dair yapılan bir çalışma yapılmış. Bu çalışmaya göre <20 mikron boyutunda poli metil metakrilat (PMMA) mikrokürecikleri fagositozu tetikler, cilt reaksiyonları gibi yan etkilere neden olur(36). Başka bir çalışmaya göre ise >40,2 mikron boyutundaki PMMA mikroküreciklerinin fagositoza uğramadığı görülmüş(37). İnflamatuvar yanıt, partikül boyutunun yanında partikül şekli, temas açısı, çarpışma faktörleri, yüzey gerilimi, yüzey yüklenmesinden de etkilenmektedir(33).

Uygulamada olan çok sayıda dolgu materyali mevcuttur. Hepsinin kendine has avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Gün geçtikçe uygulanabilir dolgu materyali sayısı artmaktadır. Dolgu materyalleri otolog biyolojik, sentetik ve otolog olmayan biyolojik dolgular olmak üzere kabaca 3 ana gruba ayrılabilir. Yumuşak doku dolgu sınıflaması tablo 2-3'te gösterilmiştir.

Tablo 2-3 Yumuşak doku dolgu sınıflaması (35)

Dolgu Türü	Kalıcılık Süresi	Avantaj	Dezavantaj
Otolog yağ	Birkaç aydan 10 yıla kadar	Allerji testi gerekmez Anında etki Bol miktarda kaynak Kolay ulaşılabilir Ucuz, Güvenli	Öngörülemeyen sonuçlar Donör alan morbiditesi
Kollajen	2-6 aydan 12 aya kadar	Anında etki Kolay uygulama Güvenli	Kısa kalıcılık süresi Alerji testi gerekliliği
Hyalüronik asit	4-6 aydan 18 aya kadar	Allerji testi gerekmez Anında etki Hyalüronidazla eritilebilir Güvenli	Doku büyümesini uyarmaz Mavimtirak renk değişikliği
Silikon	Kalıcı	Uzun kalıcılık süresi Uzun klinik deneyim Alerji testi gerektirmez	Güvenlik hakkında kaygılar Çıkarılması teknik olarak zor
PLLA	1-2 yıldan 3 yıla kadar	Allerji testi gerektirmez Doku büyümesini uyarır	Anında etki etmez Birçok seans gerektirir Geri dönüşümlü değil Radyoopak özellikte
PMMA	Kalıcı olabilir	Uzun kalıcılık süresi	Sığır kollajeni içerdiği için allerji testi gerektirir
CaHA	10-18 aydan 3 yıla kadar	Allerji testi gerektirmez Anında etki Doku büyümesini uyarır	Geri dönüşlü değil Radyoopak özellikte
PAAG	Kalıcı olabilir	Uzun kalıcılık süresi Allerji testi gerektirmez	Granülom formasyonu kaygıları Enfeksiyon kaygıları

2.2.1. Otolog biyolojik dolgular

Otolog dokular, yüz ve vücudun farklı bölgelerinde yumuşak doku augmentasyonu için kullanılmaya devam etmektedir. Yumuşak doku volüm augmentasyonu için halihazırda yağ, dermiş, fasya ve kıkırdak gibi dokular kullanılmaktadır. İlk tanımlanan otolog dolgu olmasına rağmen, yağ dolguları volüm augmentasyonu için hala popülerliğini korumaktadır. Otolog yağ dolguları yüzde derin kırışıklıkları giderme, yumuşak doku çöküntülerini düzeltme, yağ atrofisi olan bölgelerin augmentasyonu gibi sebeplerle kullanılır. Ayrıca bu teknik dudak volümü artırma amaçlı da kullanılmaktadır(38). Yağ enjeksiyonunun en önemli avantajları, yabancı materyallerde görülen doku reddi riskinin olmaması ve alerjik reaksiyon göstermemesidir(33). Bunun yanında yağ dolguları yumuşak doku büyütmede, yabancı materyallerden daha uzun ömürlü olmaya eğilimlidir.

Dermis ve fasya, yumuşak doku büyütmede kullanılan alternatif otolog dokulardır. Her ikisi de yağ dokusu ile benzer kalıcılık süreleri ve tutma oranlarına sahiptir(39,40). Dermis ve fasya greftleri hazırlık aşamasından eksizyon gerektirmektedirler. Bunun yanında nonotolog dolgu materyalleri ve lipofilling teknikleri geliştiği için dermis ve fasya dolgularının kullanımı azalmıştır(41).

2.2.1.1. Otolog fibroblast

Isolagen teknolojisi olarak bilinir. Kulak arkasından punch biyopsi yöntemiyle doku alınır. Fibroblast hücresi üretimi için bu dokuya kültür uygulanır. Doku otolog olduğu için biyouyumludur ve hipersensitivite reaksiyonu insidansı düşüktür(42). 1999 yılında yapılan bir pilot çalışmada yüz kırışıklıkları için 2 hafta arayla 3 seans intradermal fibroblast enjeksiyonu yapılmış. 6 ay sonra yapılan histolojik çalışmada, hastaların %90'ında dermal kollajen dansitesi ve kalınlığının %60-100 oranında artmış olduğu bulunmuş(43). 2011 yılında FDA orta ve derin nazolabial fold kırışıklıklarını gidermek için Isolagen ile benzer yöntemle çalışan LaViv adlı ürüne onay verdi.

2.2.1.2. İnsan doku matriks kollajeni

Dermal yumuşak doku augmentasyonu insan doku matriksi ile yapılabilir. Yapılan çalışmalara göre güvenli ve etkili olduğu bulunmuş(44). Autologen(Collagenesis) insanın kendi cildinden büyük parçalar kullanılarak formülize edilmiştir. Dokuya kültür uygulanması ve işlenmesi için 6-8 haftalık süreye ihtiyaç vardır. 1 ml Autologen için 2x2 inç boyutunda donör cilt gerekmektedir. Tedavinin tamamlanması ortalama 18 ayı bulabilmektedir. Allerji riski yoktu fakat uygulama ücretleri pahalıydı. Donör alan morbiditesi, tedavi sürecinin uzun olması gibi dezavantajlarından dolayı ürün tedarigi devam etmemiştir(31).

2.2.2. Sentetik dolgular

2.2.2.1. Kalsiyum hidroksiapatit (CaHA)

CaHA antijenik, toksik ve rahatsız edici olmayan, biyouyumlu, yan etki profili düşük uzun ömürlü bir dolgu maddesidir. FDA tarafından dermal dolgu kullanım onayı verilmeden önce vokal fold augmentasyonu, oromaksillofasial defekt onarımı ve radyolojik yumuşak doku markerı olarak FDA onayı mevcuttu. 2006 yılında CaHA, orta ve ileri nazolabial çukurların doldurulması için FDA tarafından onay aldı (Radiesse/Merz Estetik)(42). Ürün 25-45 mikronluk mikrokürecikler şeklindedir ve steril su ve gliserin içeren taşıyıcı karboksimetilsellüloz jel ile kombine edilmiştir. Jel formu ilave olarak az miktarda karboksimetilsellüloz da içerir(45). Radiesse dolgusu, %65 jel taşıyıcıya asılı halde %35 oranında CaHA mikrokürecikleri içermektedir(46). Enjeksiyondan birkaç hafta sonra taşıyıcı jel absorbe olur. HA'ten farklı olarak Radiesse, mikrokürecikler vasıtasıyla yeni kollajen fibrillerin iskelesini kurmasına hizmet ederek neokollajenezi uyarır(42). Dermis gibi yumuşak dokuların içinde CaHA artıkları, kalsifikasyon yapmadan fibroblast desteği ve yeni kollajen formasyonunu sağlar. CaHA, kemik kırıkları sonrası gelişen artıkların ortadan kaldırılmasıyla aynı yoldan yıkılır. 2-3 ay sonra karboksimetilsellüloz emilir ve kollajenle yer değiştirir. Sonunda tamamen fagosite edilene kadar aşamalı çökeltiler oluşur(47). Radiesse'de bulunan CaHA mikrokürecikleri

kemik ve dişlerde bulunan inorganik kimyasal bileşenlerle benzerdir ve bundan dolayı yaygın bir güvenli profil sunar(48). Bu ürün immünojen değildir ve cilt testi gerektirmez. CaHA ile ilgili yapılan biyoçözünürlük çalışmalarında inflamatuvar yanıt, yabancı cisim reaksiyonu, lokal ve sistemik toksisite bulgularına rastlanmamış. Ayrıca osseoz infiltrasyon ve enjeksiyon bölgesinden migrasyon bulgusuna rastlanmamış(49). Sonunda CaHA partikülleri kalsiyum ve fosfat iyonlarına parçalanır ve vücuttan atılır. 2007 konsensus önerileri CaHA'nın orta ve alt yüzdeki hacim kayıplarını gidermede etkili olduğunu onayladı. Ayrıca çökük oral komissürlerin, pre jowl bölgesinin, labiomenta çizgi, çene ucu ve orta yüzdeki marionette çizgilerindeki hacim kaybını iyi bir şekilde gidermeye hizmet eder(50). Fakat nodül formasyonu ve nekroz riskinden dolayı dudak ve glabellaya enjeksiyonu kontrendikedir(42). Kısa ömürlü ve kalıcı dolgularla kıyaslandığından Radiesse uzun ömürlü fakat kalıcı olmayan bir dolgudur(45).

2.2.2.2. Poli Metil Metakrilat (PMMA)

PMMA 2006 yılında orta ve şiddetli yüz skarları için 21 yaş üstü hastalarda FDA onayı aldı. Piyasa ismi Artefill'dir(Suneva Medikal). Öncesinde Artecoll ve Arteplast isimlerle kullanılmaktadır. Fakat orijinal formülasyonu beklenmedik derecede yüksek oranlarda granüloma sebep olmaktaydı. Partiküllerdeki negatif yükler kaldırılarak daha pürüzsüz bir yüzey elde edilmiş. Bu şekilde granülom insidansı sorunu çözülmüş oldu. Yapılan bir çalışmaya göre ürün içeriğinde yapılan bu modifikasyonlar sayesinde granülom formasyonu oranı Arteplast'ta %2,5 iken Artefill'de %0,01'in altına düşmüş(51).

Artefill, kollajen jel matrikse asılı halde polimer mikrokürecik yapısında olup içeriğine lidokain de kombine edilmiştir. Mikrokürecik çapları 30-45 mikron arasındadır, yuvarlak ve pürüzsüz yüzeylidir(52). Sığır kollajeni içeriğinden dolayı en az 1 ay önce cilt testi yapılması gerekmektedir. 20 mikrondan küçük boyuttaki partiküller %1'den az orana düşürülmüş. FDA ile koopere şekilde yapılan bu değişikliğin ürünün tolerabilitesini

arttırdığına inanılıyor. Çünkü küçük boyutlu partiküller, fagositozu uyarır ve dolgu materyallerine bağlı yan etkilerin artmasına neden olur(53).

Artefill kullanıma kadar buzdolabında muhafaza edilir. Enjeksiyonunu kolaylaştırmak için kullanımdan önce oda sıcaklığına gelmesi beklenmelidir. Enjeksiyondan sonra 1-3 ay arasında eriyen kollajen içeriği nedeniyle düzeltmeler yapılabilir. Bu süreçte PMMA bağ dokusu vasıtasıyla kapsüllü hale gelir, bundan dolayı hacim artışı olur. Kalıcı mikrokürecikler eritilemez ve fagosit edilemez. Böylece sonuç geri dönüştürülemez olur. Dudağa ve göz çevresine uygulandığında topaklanma ve nodül oluşabildiği için bu bölgelerde kullanımı önerilmez(42).

PMMA kemik cerrahileri ve çimentosu, diş girişimleri ve kardiyak cihazlar gibi alanlarda da kullanılmaktadır(33).

2.2.2.3. Poli-L-Laktik asit (PLLA)

PLLA, alfa hidroxy asit ailesinden sentetik polimer türevi biyoçözünür ve biyouyumlu bir dolgudur(54). Laktik asit yıllardır plak ve vida gibi medikal cihazlarda yaygın olarak kullanılmaktaydı. Emilebilen dikiş materyalleri gibi sentetik bir polimerdir(55). 2004 yılında human immunodeficiency virüslü (HIV) hastaların yüzündeki lipoatrofinin düzeltilmesi için onay aldı. 2009 yılında ise kollajen stimülatörü olan Sculptra(Valeant Farma), kozmetik amaçlarla estetik hacim replasmanı için onay aldı. Hidrojel oluşturmak üzere steril su ve amelişellüloz taşıyıcı ile kombine edilerek yeniden üretildi. Örgü desen tekniği ile kontür düzensizlikleri, yüz çizgileri ve kırışıklıkları, sığdan derine nazolabial çizgileri düzeltmek için onay almıştır(42).

HA'nın tersine PLLA hidrofobik bileşenli olduğu için uygulamadan 3 saat önce bakteriyostatik su ile sulandırılmalıdır. PLLA enjeksiyondan aylar sonra vücutta karbondioksit, su ve glukoz metabolize edilir. Bu durum bu dolgunun karakteristiği olarak beklenen sonucu gecikmeli olarak vermesini sağlar. PLLA dolguların etki mekanizması, mikrokürecik partiküllerin inflamatuvar doku yanıtı ile elimine edilmesi ve

bunun sonucunda poly laktik asit etrafında fibröz kapsül oluşmasıdır. Bu şekilde dolgu, yabancı cisim reaksiyonu ve dermal fibrozise neden olarak kollajen formasyonunu uyarır(55,56). Bu dermal fibroplazi dermal kalınlığı artırır ve arzulanan kozmetik sonucu sağlar(57). PLLA, esas etkisini tip 1 kollajen oluşması ve fibroblast stimülasyonu ile oluşturduğu için kazandırdığı hacim 18-24 ay boyunca korunmaktadır(58). PLLA biyoçözünürdür ve kalıcı sonuçlar vermez. Ürünün kalıcılığı değişkendir. Birkaç yıl kalıcı olması için periyodik tekrarlama prosedürü uygulanmalıdır(42).

HIV'e bağlı fasya lipoatrofinin düzeltilmesi sırasında tedavi planı kişiye özel olmalıdır. Optimal fasyal volüm restorasyonu için birkaç seans uygulama gerektirmektedir, buna bağlı aşamalı sonuç alınmaktadır(42,54). Uygulanacak seans sayısı fasyal lipoatrofinin şiddetine bağlı olarak kişiden kişiye değişmektedir. Bu hastalarda sloganımız 'tedavi et, bekle ve değerlendir' kuralı olmalıdır. Çoğu hastada 2-6 hafta arayla 3-5 seans uygulanması gerekmektedir(54).

PLLA, superfisial subkutanöz ve preperiosteal dokulara havalandırma, örgü tarama ve depolama teknikleri kullanılarak en iyi şekilde uygulanabilir. Ardından ürünü parçalama pahasına da olsa günlerce masaj uygulanmalıdır(59). Ürünle ilgili ilk uygulamalarda nodül formasyonu görüldü. Bunu gidermeye yönelik partikül boyutu daha uniform hale getirildi ve yüksek dilüsyon oranları uygulandı. Bu durum yan etkilerin sıklığının azalmasına neden oldu(42). Bazı çalışmalar HIV'e bağlı lipoatrofisi olan hastalara PLLA uygulama sonrası uzun süreli dermal kalınlaşma artışı olduğunu ve yaşam kalitesinin arttığını göstermiş(60).

Dolgunun perioral ve periorbital bölgelerde kullanımı dermal papül ve subkutan nodül açısından yüksek risk içerir. Bundan dolayı bu bölgelere uygulama dikkatli yapılmalı mümkünse uygulamadan kaçınılmalıdır(61). Başka bir çalışmaya göre bu bölgelerde gelişen nodüllerin çoğu spontan şekilde çözünmüş. Ürünle ilgili klinik pratiklere göre ürün daha çok dilüe edildiğinde ve dermisten daha derin planlara uygulandığında subkutan papül görülme insidansı azalmış(54).

2.2.2.4. Poliakrilamid hidrojel (PAAG)

Poliakrilamid moleküler biyolojide protein ayırma amaçlı kullanılmaktadır(62). PAAG klinik kullanımı 1983'te Ukrayna'da başlamıştır. Az miktarlarda vücut tarafından iyi tolere edilmiş ve yavaşça absorbe edilmiştir. Tüm formları poliakrilamid jel ve suyun kombinasyonları olduğu halde farklı preparatların hepsinin benzersiz özellikleri vardır(63). Çapraz bağlı poliakrilamid hidrojel (PAAG) içeriğinde %2,5 oranında absorbe edilemeyen sentetik polimer ve taşıyıcı olarak %97,5 oranında su içermektedir(64). Avrupada Aquamid(Contura) jenerik ismiyle kullanımı onaylanmıştır. 2001'den beri kozmetik amaçlarla ve antiretroviral tedavi alan HIV pozitif hastaların yüzündeki lipoatrofinin tedavisi için kullanılmaktadır. Bazı çalışmalara göre insan bedenine kalıcı doku genişletici olarak doğrudan enjekte edilebilen toksik ve immünojen olmayan bir materyal olduğuna inanılıyor(65,66). Yapılan bazı çalışmalar bu dolgunun 36-48 aya kadar stabil estetik sonuçlar verdiği ve ciddi yan etki yapmadığını göstermiştir(67). PAAG yumuşak doku augmentasyonunda ideal bir materyal gibi görünse de, biyoçözünür olmadığı için yabancı cisim reaksiyonu ve migrasyon yoluyla tipik komplikasyonlara neden olabilir. Komplikasyon gelişmesi durumunda tedavisi ileri derecede zor olmaktadır(64). PAAG dolguların komplikasyon riskini arttıran faktörler ve güvenilirliği üzerine ileri çalışmalar yapılmalıdır. Bu dolgular özellikle deneyimli cerrahlar tarafından uygulanmalıdır. Uygulama öncesinde hastalar ayrıntılı şekilde bilgilendirilmeli ve onamları eksiksiz alınmalıdır.

2.2.2.5. Silikon

Enjekte edilebilir silikon silikadan üretilir. Steril, temiz, renksiz ve inert bir maddedir. Kalıcı bir dolgudur. Antikor içermediği için cilt testi gerektirmez. Koruyucu madde içermez. Ucuzdur ve uzun raf ömrü vardır(68). 10 ml'lik flakonlara 8,5 ml mineral yağı eklenerek oda sıcaklığında saklanabilir hale getirilir. Birçok farklı vizkozitede farklı formları mevcuttur. Bu kalıcı dolgu formunun kozmetik amaçlarla kullanımının ruhsatı yoktur. Enjektabl silikon bir süre yumuşak doku augmentasyonu için kullanılmış olsa da

granülom, yumuşak doku enfeksiyonu ve ekstrüzyon gibi ciddi yan etkilerinden dolayı kullanımı sonlandırılmıştır(69). Geçmişte görülen problemlerin büyük bir kısmı yüksek volümlerde uygulama ve mineral yağı gibi katkılarla niteliğinin bozulmuş olmasıdır. Eski silikon malzemelerinin içeriğinde katkı bulunmasına bağlı pekçok komplikasyon görülmüş. Modern saflaştırılmış silikonlar sıkı protokoller takip edilerek enjektabl dolgu olarak uygulandığında komplikasyonlar minimize edilebilir. Seri mikrodamlacık tekniği ile, seanslara bölerek ve seanslar arasında yeterince zaman bırakarak, sınırlı miktarlarda enjeksiyon uygulanırsa komplikasyonlar azaltılabilir(68). 4-6 haftalık aralıklarla çoklu seanslar halinde uygulanmalı ve 2-3 seanstan önce belirgin sonuç görülmemelidir. Buna bağlı FDA tarafından onay alan bazı silikon formları da mevcuttur(70). Bu formlar retina detaşmanı ve HIV'e bağlı lipoatrofi için FDA onayı almıştır(68). Kullanımı üzerine birçok ihtilaf olsa da HIV'e bağlı fasyal lipoatrofi gibi kontur defektleri ve skarları düzeltmede uzun ömürlü sonuç verebilen etkili bir ajandır. Enjektabl silikonların rutin kozmetik prosedür olarak kabul görmesi için uzun süreli sıkı çalışmalar yapılmalıdır(70).

2.2.2.6. Gore-Tex

Gore-tex, teflonun işlenmesiyle ortaya çıkan genişletilmiş Politetrafloroetilenden(PTFE) üretilir. Kalıcı bir dolgu çeşididir. yumuşak doku augmentasyonu için kullanılan kalıcı bir dolgu çeşididir. Silikonla kıyaslandığında daha fazla doku iç büyümesi sağlar. Silikona benzer şekilde granülom, enfeksiyon, ekstrüzyon ve düzensizliklere neden olabilir. Çok yönlü fibriler bir polimer yapısında olduğu için uygulama sonrası nodül oluşabilir. Bu yumuşak ve bükülebilir polimerler kağıt, tüp ve birçok farklı şekil alabilir. 1971 yılında abdominal duvar ve herni onarımlarında, 1991 yılında cilt augmentasyonunda kullanılmaya başlanmıştır. Düşük doku reaktivitesi ve minimal kapsül formasyonu yapan inert ve alerjik olmayan bir üründür. 20-30 mikron boyutundaki porları, dokunun materyal içine doğru büyümesini sağlar ve ortadan kaldırılmasını zorlaştırır(68). Yumuşak ve tübüler formu bir trokarın içine paketlenir ve nazolabial fold ve dudagın vermilion yapısını düzeltmek için kullanılır. Uygulama sonrası

6 ay içinde bu tüplerin içine doğru fibroblastik doku büyümesi olur ve onları uygulandıkları yere sabitler. Uygulayıcı lokal anestezi uyguladıktan sonra için oyuk bir trokar vasıtasıyla foldun en derin yerini tünelize eder. Trokar dışarı çekilirken gore-tex implant yerleştirilir ve fazlalıklar düzeltilir. 3-5 mm'lik insizyon bölgeleri sütüre edilir. Eğer daha fazla düzeltme gerekliyse bu materyalin üzerine kollajen ilave edilebilir. Avantajlarından biri oda sıcaklığında muhafaza edilebilmesidir. Dezavantajlarından biri, imlantasyonun insizyon ve sütürasyon gibi cerrahi prosedür gerektirmesidir. Materyal ele gelebilir, bu durum hastaları rahatsız edebilir. İmplantın pozisyon değişikliği veya çıkarılması zorlu bir işlemdir(68).

2.2.3. Otolog olmayan biyolojik dolgular

2.2.3.1. Kollajen

Kollajen, yüz skarları, kırışıklıkları ve çizgileri için FDA onayı alan ilk enjekteabl dolgu materyalidir. 1981 yılında sığır kollajeni (%95 tip1 ve %5 tip3 kollajen) ticari formları Zyderm 1, Zyderm 2 ve Zyplast arka arkaya FDA onayı aldı. HA ürünlerinin doğuşu ile birlikte kollajen, riskleri ve sınırlı faydaları nedeniyle piyasada popülaritesini yitirdi. Histopatolojik değerlendirmeler kollajenin ömrünün 9 ay olduğunu göstermesine rağmen klinik etkinliği genelde daha kısadır(31).

Dermisin büyük bir kısmını ve vücudun yapısal proteinlerinin üçte birini kollajen teşkil eder. Tip 1 kollajen dermal matriksin %80-85'ini oluştururken tip 3 kollajen %10-15ini oluşturur(71). İlk kollajen dolguların kaynağı sığır bazlıydı fakat sonraki geliştirilen ürünler hastaların kendi cildi veya kadavradan elde ediliyordu. 1960 yılında nonhelikal amino ve karboksi terminal telopeptid segmentlerinin seçici olarak ortadan kaldırılması ile kollajen moleküllerinin antijenitesi ciddi anlamda azalmıştır(31).

2.2.3.1.1. Sığır kollajeni

Sığır kollajen çalışmaları 1977 yılında başladı. Amaç daha uygun bir materyal üretmektir. Kollajenin destabilizasyonu durumunda dolgunun etkinliği, hastanın amorf jele yanıtına göre 3 ay veya daha az olmaktaydı. Bunun yerine helikal parçadan uç telopeptid fragmanının kaldırılmasının materyali nonimmünojenik yapabileceği düşünüldü.(72) . Kısa süreli etki nedeniyle tekrarlayan uygulamalar dolguya tolerans gelişmesini sağlıyordu. Histolojik çalışmalar, Zyderm enjekte edilen hastalarda gelişen hafif lenfositik perivasküler infiltrasyonun 3 ayda çözüldüğünü gösteriyor(31).

Salin solüsyonu ve %0,3 lidokain ile birlikte 35mg/ml sığır kollajeni içeren formu Zyderm 1, 65 mg /ml sığır kollajeni içeren formu ise Zyderm 2 ismiyle piyasada bulunmaktadır. Tüm sığır kollajen dolguları uygulama öncesi deri testi gerektirir. Zyderm ürünleri güvenli ve etkilidir fakat hastanın arzu ettiğinden daha hızlı erimeye eğilimlidir. Zyderm'den farklı olarak Zyplast sığır kollajeni ile birlikte çapraz bağlı glütaraldehit içerir. Bunun sonucunda, Zyplast'ın derin kırışıklıklarda daha uzun ömürlü ve daha az immünojen olduğu bulundu. Yaklaşık maliyeti Zyderme benzer olduğu için bu ürünün tüketici memnuniyeti daha yüksek bulunmuş(73). Zyderm yüzeysel çizgilerde daha güzel etki ederken iken zyplast derin çizgilerde daha etkilidir(68). Ürünler genelde nazolabial foldda 4-5 ay kalıcı iken dudaklarda 2-3 ay kalıcıdır. Uygulanan dolgu miktarına göre bu süre değişebilir.

Zyderm 1 30-32 gauge enjektörle yüzeysel papiller dermise enjekte edilip yüzeysel kırışıklıkları giderirken, Zyplast 30 gauge enjektörle derin dermise uygulanıp daha derin kırışıklıkları düzeltir. Bu dolgular kibarca masaj yapılarak dokuya pürüzsüz şekilde yayılmalıdır. Zyderm, 24 saat sonunda emilen salin ile dilüe edildiği için overcorrection yapılmalıdır. Eğer dolgu çok yüzeysel plana verilirse ciltte düz, sarı renkli bir görünüme neden olur. Zyplast filtruma, vermillion hattına ve dudak kaslarına enjekte edilerek Paris dudağı görünümü verilebilir. Glabellada, botulinum toksini ile kombine edilerek Zyderm uygulandığında uzun ömürlü ve iyi bir sonuç verir. Nazolabial ve melolabial derin çizgilerde Zyplast ve Zyderm tabakalı şekilde birlikte uygulanarak en iyi sonuç elde edilebilir. Buzdolabında muhafaza gerekliliği, alerjik reaksiyon riskine karşı cilt testi

gerekliliği, kısa etki süresi, yaşlılarda bol miktarda kullanım gerekliliğine bağlı pahalı olması gibi dezavantajları mevcuttur. Bazı hastalarda 1-9 ay arasında süren eritem, ödem, endürasyon, ürtiker gibi duyarlılık reaksiyonları gelişebilir(68).

Sığır kollajeni uygulanan hastaların ortalama %3-10'unda lokalize hipersensitivite reaksiyonu gelişebilmektedir. Bu riski dışlamak için dolgu uygulama öncesinde cilt testi yapılmaktadır. Unutulmamalıdır ki önkol iç yüzüne uygulanan 1 seans cilt testine rağmen yüze dolgu uygulama sonrasında %1-5 oranında reaksiyon gelişme riski vardır. Reaksiyonlar genelde antikor aracılı olurken daha az oranda hücresel aracılı olur. Bir negatif cilt testi sonraki cilt testlerinin negatif olacağını garanti etmez. Allerjik yanıt oranının <%1 olması için:

- 1)Cilt testi güvenilir bir üreticiden temin edilmeli
- 2)0,1 ml subdermal enjeksiyon yapılmalı
- 3)Uygulama bölgesi 72. Saat ve 4. Hafta kontrol edilmeli
- 4)Eritem ve ödem pozitif yanıt olarak yorumlanmalı
- 5)2. test 2-4 hafta sonra yüzün görünmeyen bir bölgesine uygulanmalı

6)Eğer test üzerinden 12 aydan fazla zaman geçmiş ve dolgu uygulaması düşünülüyorsa test tekrar edilmelidir.

Cilt testi en az bir kere uygulanmalı ama eğer 2 kere uygulanırsa beklenmeyen allerjik reaksiyon riskinin azalacağı hastaya anlatılmalıdır.

2.2.3.1.2. İnsan kollajeni

Cosmoderm ve cosmoplast hücre kültürleri ve insan fibrositinden elde edilen arıtılmış kollajen içerir. Bunlar, ticari tedariği olan ve FDA onaylı insan kollajen formlarıdır. İnsan deri hücreleri bir matriks ve kültürün için yerleştirilir. Bu insan vücudunu taklit eden bir biyoreaktörün içine yerleştirilir. Böylece kollajen ve ekstrasellüler matriks proteini üretilir. Cosmoderm I, fosfat bazlı salin solüsyonuna dağılmış 35mg/ml kollajen ve %,3 lidokain içerir. Cosmoderm II, Cosmoderm I'in iki katı kadar kollajen içerir. Cosmoplast içeriği Cosmoderm I'e benzer fakat içeriğindeki kollajen glutraldehit ile çapraz bağlı

formdadır(31). Bu ürünler, antijenik parçalarından arındırılmış temel insan kollajeni içerdiği için cilt testi gerektirmez. Cosmoderm yüzeysel dermise verilirken cosmoplast orta ve derin retiküler dermise verilir. 24 saatte emilen salinle dilue edildiği için overcorrection yapılması gerekmektedir. İnce derili göz ve ağız çevresi gibi bölgelerde dikkatli kullanılmalıdır. Cosmoderm genelde daha iyi sonuç için cosmoplast ile tabakalı olarak kullanılabilir. Zyderm ve Zyplasta göre avantajı, cilt testi gerektirmediği için ilk başvuruda uygulanabilmesidir. Dezavantajları zyderm ve zyplasta benzerdir(68).

2.2.3.1.3. Kombine kollajen

Artecol (Rofil medikal), sığır kollajeni ile inert PMMA damlacıklarının kombinasyonu ile üretilmiştir. Allerjik reaksiyon riskinden dolayı uygulama öncesi deri testi esastır. Artefill (Artes Medikal) sığır kollajeni, inert PMMA damlacıkları ve %0,3 lidokain kombinasyonu ile üretilmiştir. Cilt testi gerektirir. Çalışmalara göre 5 yıl kalıcılığı olduğu için en uzun ömürlü kollajen içerikli dolgudur(31).

2.2.3.2. Asellüler Dermal Matriks (ADM)

Subdermal yerleştirilen ADM materyalleri yumuşak doku augmentasyonu için tanımlanmıştır.

Alloderm (Life Cell Corporation) üretimi için kadavra cildi kullanılmaktadır. Birtakım dondurma ve kurutma süreçleri kullanılarak tüm epidermis ve tüm dermal hücreler ortadan kaldırılır. Geriye matriksle birlikte Kollajen tip IV ve tip VII, laminin ve elastin kalır. Bu süreçte majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf I ve II antijenler de ortadan kaldırılır. Bu şekilde viral hastalıklarının bulaşması tamamen engellenmiş ve güvenli hale gelmiştir. Alloderm çevre doku ile bağlantı kurup hızlı revaskülarizasyona neden olur böylece enfeksiyon ve rejeksiyon riski azaltılır. Levha veya şırınga formları bulunmaktadır. Tam kat yanık yaraları, cerrah defektler ve akne skarlarında da kullanılabilir(73). Üç boyutlu bir kalıp fibroblastik ve endotelial hücreleri dokuya tanıtır

ve rejeksiyona uğramayan kalıcı bir greft oluşturulur. Alloderm immünolojik reaksiyonla ortadan kaldırılabilir. Allerjik reaksiyon gelişme riski de vardır.

Sclafani ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada erişkinlerin postauriküler bölgesinde Alloderm, sığır kollajeni Zyplast ile kıyaslanmış. Alloderm'in kalıcılığı Zyplast'tan daha fazla bulunmuş. Bundan dolayı cilt testi gerektirmeyen alternatif bir dolgu olduğu düşünülmüş(74,75).

Cymetra (Life Cell Corporation) Alloderm'in enjektabl formudur. Üst dudak hacmi ve alt dudak projeksiyonunu lokal ve sistemik komplikasyon olmadan arttırmak için üretilmiştir(76). Mikronize kadavra bazlı kolajenden üretilir. Toz kullanımdan önce uygun şekilde karıştırılıp kullanılmalı. Bu tür kadavra ürünleri, uygulama bölgesinde enfeksiyon, gentamisin allerjisi ve kollajen vasküler hastalığı olanlarda kontraendikedir(71).

2.2.3.3. Hyalüronik asit

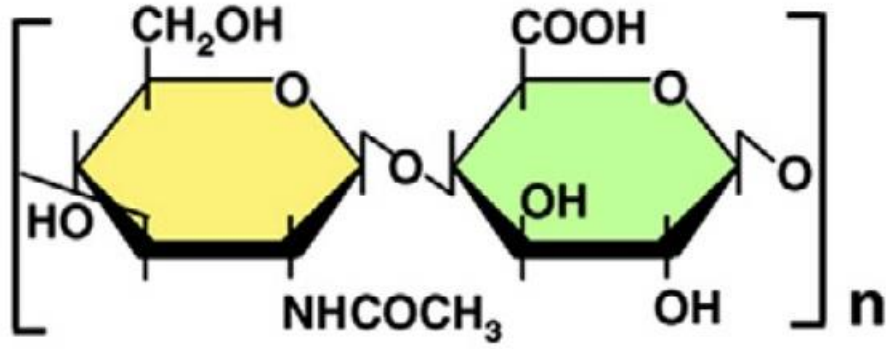
Hyalüronik asit, diğer adıyla hyaluronan omurgalıların tüm dokularında, vücut sıvılarında ve bazı bakterilerde bulunan bir polisakkarittir. İlk olarak K. Mayer tarafından 1934 yılında sığır gözünün vitröz cisiminden izole edilmiştir. 2 adet üronik asit yapıda şeker molekülü içerdiğini buldular(3). Suda şiştiği zaman camsı görünümde olduğu için Yunanca'da cam anlamına gelen hyalos kelimesinden türetilerek; hyalos + üronik asit yani hyalüronik asit adı verilmiştir(4). Hücre yüzeyi, ECM ve gevşek bağ dokuda bol miktarda bulunan lineer bir polimerdir. En çok bağ dokuda bulunur. Konsantre olarak sinovial sıvı, gözün vitröz sıvısı ve umbilikal kordda bulunur(3). Basit bir polisakkarit olmasına rağmen şaşılabilecek derecede fazla görevi vardır. HA hücre plazma membranında üretilir. Hyaladherin adı verilen birtakım proteinler ile HA arasındaki bağlantılar sayesinde tanıma ve düzenleme gibi hücresel aktiviteler gerçekleştirilir. (77). HA eklemlerde kayganlaştırma, kırıkta yüzeylerini koruma, serbest radikalleri temizleme, eklem kavitesini açık tutma gibi pekçok görev alır. HA ile proteoglikanlar arasındaki bağlantı, matriksin yapısını stabilize eder. HA şaşırtıcı yapıdaki fizikokimyasal özellikleri sayesinde kayganlaştırma, su homeostazı, filtreleme, plazma proteinlerinin dağılımının

düzenlenmesi, hücre adezyonu, reseptör aracılı hücre tutunması, hücre göçü, mitozu, tümör büyümesi ve metastazı ve inflamasyon gibi görevler alır(77–80). Hayvanlarda ve insanlarda HA yarı ömrü birkaç gündür. Reseptör aracılı endositoz ve lizozomal yıkım yoluyla lokal olarak katabolize edilir. Ayrıca lenf nodları arasında taşınarak da yıkıma uğrayabilir. Kalan kısmı dolaşıma katılır ve karaciğer sinüzoidlerinde ortadan kaldırılır(78).

İntrasellüler HA'nın inflamasyonda önemli rol oynadığı bilinse de intrasellüler fonksiyonlarının büyük kısmı bilinmezliğini koruyor(81). Hyalüronik asit basit kimyasal bir yapıda olmasına rağmen dokuların yapısal ve fizyolojik karakteristikleri dışında hücre davranış mediatörü, doku remodelingi, inflamasyon ve hastalıklar gibi pekçok yerde görev alır(79). Eşsiz biyofiziksel özellikleri sayesinde HA doğrudan doku homeostazına katkıda bulunur. Proteoglikan ve link proteinleriyle etkileşimleri sayesinde, HA ekstrasellüler ve perisellüler matrikslerin yapısal bütünlüğünü devam ettirir. HA bir sinyal molekülü olarak hücre yüzey reseptörleri ve HA bağlayıcı proteinle etkileşime girerek intrasellüler olayları ve hücre fonksiyonlarını düzenler(82).

2.2.3.3.1. Hyaluronik asit molekül yapısı

HA, D-glukuronik asit (DGA) ve N-asetil-D-glukozamin(NADG) disakkarit tekrarlarından oluşan dallanmamış tek zincirli lineer bir polisakkarittir(79). NADG β 1-4 bağları ile, DGA ise β 1-3 bağları ile HA'ya bağlanır(80). HA kimyasal yapısı şekil 2-2'de şematize edilmiştir(79). Fizyolojik koşullarda sodyum katyonları içerdiği için Sodyum hyaluronat diye isimlendirilmiş(83). HA dışındaki tüm glukoz amino glukanlar (GAG) sülfat grupları içerir ve HA'ya göre daha kısa polisakkarit zincir içerirler (<50 kilodalton(kDa)). GAG'ler Endoplazmik retikulum ve golgi cisimciğinde sentezlenirler. Sakartilerle beraber peptidlerin çekirdeklerine yerleşir ve proteoglikanları oluştururlar. Çoğu proteoglikan bir veya daha fazla güçlü bağlantıyla matriks yapısına sabitlenir ve nispeten immobildir. HA diğer GAG'lerden farklı olarak primer yapısında peptid içermez ve golgi yerine plazma membranında sentezlenir(78).



GlcNAc(β 1, 4)GlcA(β 1, 3)

Şekil 2-2 : Hyalüronik asit kimyasal yapısı (79)

HA bazı hücrelerin etrafında perisellüler şeker kılıf olarak yer alır. Bu hücrenin farklılaşma ve morfogenezinde görev alır. Öncesinde ekstrasellüler bir molekül olarak nitelendirilse de 1970'lerin başında sitoplazma ve çekirdekte bulunduğu öne sürüldü(84), 1990'larda ise kanıtlanmış oldu(85).

Fizyolojik koşullarda HA omurgası, disakkarid ve internal hidrojen bağının kimyasal yapısı tarafından güçlendirilmektedir. Aksiyal hidrojen atomu nonpolar hidrofobik bir yapıda iken, ekvatora yerleşmiş zincir daha polar hidrofilik bir yapıdadır. Bu kimyasal yapı sayesinde bükülü kurdela şeklinde bir yapı oluşur(3). HA çözeltileri olağan dışı akım özellikleri sayesinde olağanüstü kaygan ve hidrofilik yapıdadır. HA polimer zinciri, çözeltiler içerisinde genişletilmiş gelişigüzel sarmal formunda yer alır. Bu zincirler çok düşük konsantrasyonlarda birbirleriyle dolanır. Bu sayede anormal akım özellikleri gösterirler. Daha yüksek konsantrasyonlarda çözeltiler aşırı yüksek ve kesme bağımlı viskoziteye sahiptirler. Normalde %1 yoğunluklu çözelti jel gibidir fakat basınca maruz kaldığı zaman kolaylıkla hareket eder ve iğne deliğinden geçebilecek yapıya gelir. Bundan dolayı psödoplastik materyal olarak adlandırılır. Polimerler, zincir boyunca hidroksil

grupları arasında hidrojen bağları içerir. Bu sayede zincir yapısı tuzak formu oluşturur ve sudaki ağırlığının 1000 katına ulaşır(86).

2.2.3.3.2. Hyalüronik asit biyolojik özellikleri

1979 yılında HA'nın hücre yüzeylerine yüksek afinite ile bağlandığı gösterilmiş(87). 1980 yılında, HA'nın hücre yüzeylerindeki açık boşluklardan içeri girmesine gerek kalmadan hücre yüzeyleri ile etkileşerek motiliteyi arttırdığı kanıtlanmış(88). Bu 2 kanıt HA'nın hücre davranışını doğrudan etkileme potansiyeli olduğunu gösterdi. 1989 yılında protein tirozin fosforilasyon kaskadının organizasyonuna katkısı kanıtlanmış(89). O günden sonra çok düşük miktarlarda HA'nın protein tirozin, serin/treonin kinaz yollarını aktive ettiği gösterildi. Bunlardan bazıları non-reseptör protein tirozin kinaz Src, HER'/Neu reseptörü, fokal adezyon kinaz, protein kinaz c ve MAP1 kinazdır(90). Bu kinazları regüle etmesinin sonucu olarak HA ekstrasellüler matriks yeniden şekillenmesinde rol alan özel sitokin ve proteinlerin üretilmesine katkıda bulunur. Motiliteyi düzenlemek için HA'nın Ras aracılığıyla sinyal verdiğini ve eksojen HA reseptör etkileşimlerinin RAS sinyalini düzenlediğini gösteren çalışmalar vardır(91). HA'nın hücre içi sinyal yollarını aktive etme kabiliyeti için hücre aracılı hyaluronan bağlayıcı protein veya hyaladherinlerle etkileşime girmesi gerekmektedir(92).

Hücre yüzeyi formu CD168 olarak bilinen ilk hücre aracılı hyaladherin, RHAMM(hyalüronik asit aracılı motilite reseptörü) embriyonik kalp hücresinden izole edilmiştir(93). Daha sonra CD44 ilk bütünleyici hyaluronan reseptörü olarak tanımlandı. Hem RHAMM hem CD 44 HA sinyalini düzenler ve büyüme faktörü aracılı sinyale de katkıda bulunur. Bununla birlikte homolog proteinler olmadıkları, hücrede farklı bölümlere ayrıldıkları ve HA'ya bağlandıkları mekanizmalarda farklılık gösterdikleri için farklı mekanizmalarla sinyal göndermeyi düzenledikleri düşünülüyor(94,95).

HA, çok sayıda özel bağlayıcı proteinlerle etkileşime girer. Bu proteinlere hyaladherin adı verilir. En karakteristik hyaladherinler ekstrasellüler matriksin yapısal

HA bağlayıcı proteinleridir. Bunlar arasında link proteinleri ve agregan, versikan, brevikan, nörokan gibi birleştirici proteoglikanlar ve hücre yüzey HA reseptörü olan CD44 yer alır(96). Bu hyaladherinler yapısal olarak benzer HA bağlayıcı parçalar içerir. Fakat hepsinin karakteristik disülfid bağı halkaları bulunur.

CD44 yaygın şekilde alternatif splicing ile oluşturulan bir integral proteindir(97,98). Tüm CD44 izoformları, ekstrasellüler parçalarındaki HA bağlayıcı bölgelerinde link modülleri içerir. HA'nın CD44 izoformlarına bağlanma hücrenin ECM komponentine adezyonuna, agregasyonun uyarılmasına, proliferasyon, migrasyon ve anjiyogenezise neden olur(97-99). CD44 izoformlarının intrasellüler parçası seçici olarak hücre iskeletiyle ilişkili proteinlerle etkileşir ve spesifik sinyalleri düzenler(100). Bu yüzden CD44 izoformları HA ile hücre iskeleti arasında doğrudan bağlantı kurmayı sağlar.

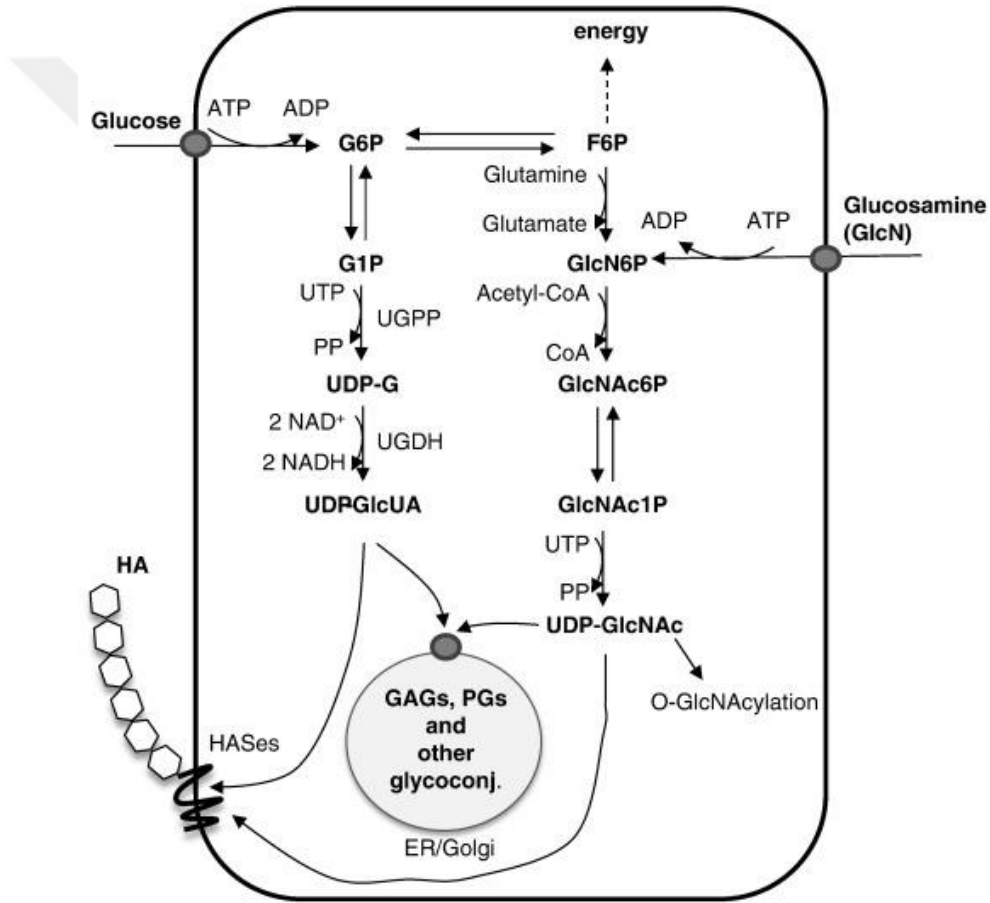
RHAMM da CD44'e benzer olarak alternatif splicing ile üretilir. Kesilmiş RHAMM formları da yaralanma sonrasında, tümörlerde, bazı mutant aktif Ras dönüştürülmüş hücre çizgilerinde açığa çıkarılır(101,102). RHAMM hücre yüzeyi, hücre iskeleti, mitokondri ve hücre nükleusu gibi birçok kompartmanda bulunur(103,104). RHAMM geni, golgi ve endoplazmik retikulum aktarma yolağından salgılanmaya izin veren geleneksel kılavuz sekans kodlamaz. Bu durum bFGF, HIV Tat protein, homeobox protein, ısı şok proteinleri ve epimorfine benzer(105,106). RHAMM eksojen HA'yı hücre yüzeyine bağlayarak sinyal yollarını aktive etmede integral membran proteinlerine co-reseptör olarak anahtar rol alır. İntrasellüler RHAMM proteinlerinin görevi tam olarak bilinmese de kinazlar, kalmodulin ve hücre iskeleti ile bağlantılı olması hücre iskeleti kurulumunda anahtar rol aldığını düşündürüyor(104,107,108). RHAMM tarafından simgelenen intrasellüler hyaladherinlerin varlığı, intrasellüler HA'nın sinyal iletiminde önemli bir rol aldığını gösterir(109). Böylece hücre yüzey RHAMM proteinlerini intrasellüler RHAMM proteinlerinden ayırma, HA ile hücre iskeleti, sinyal kompleksi ve hücre çekirdeği arasında modüler bağ kurma potansiyeli oluşturur(90).

2.2.3.3.3. Hyalüronik asit biyosentezi

HA hücre içi sentezi eşsiz ve yüksek düzey kontrol gerektiren bir süreçtir. GAG'lerin çoğu golgi cisimciğinde üretilir. HA, hyaluronan sentaz(HAS) adı verilen birtakım integral membran proteini tarafından üretilir. İnsan genomu birbirinin izoenzimi olan HAS1, HAS2 ve HAS3 olmak üzere 3 çeşit enzim kodlamaktadır(110). Her bir HAS izoenziminin farklı biyolojik süreçlerde aldığı görevler hala araştırma aşamasındadır. Fakat HAS2'nin birçok sebepten dolayı en önemli HAS proteini olduğu düşünülmektedir: 1)HAS2 kodlanamayan fareler ciddi kardiyak malformasyon bulunduğu için yaşayamazlar. 2) HAS2 birçok dokuda ve hücre çizgilerinde bol miktarda kodlanmaktadır. 3)HAS2'nin katalitik özellikleri çok etkili HA sentezine müsaade etmektedir(111–113). Plazma membranında HAS2 HAS3 ile birlikte homo ve heterodimer şeklinde aktif olarak bulunur. Ayrıca kolesterol zengin mikroçevresi aktivitesini artırır(114,115). HAS enzimleri doğrudan ATP kullanmazlar. Yüksek enerji bağı içeren iki sitozolik şeker nükleotidi olan NADG ve DGA kullanırlar(116). HAS2 enzimi çalışması farklı büyüme faktörleri ve sitokinlerin etkisi ile regüle edilir. Bunlar içinde TGF- β , insülin benzeri büyüme faktörü(IGF) , fibroblast büyüme faktörü(FGF), prostaglandinler vb. yer alır(117).

İntegral membran proteinleri, periferel membran proteinlerinin aksine ilişkili olduğu biyolojik membranın üzerinden geçebilir veya biyokimyasal saflaştırma süreçlerinde membrana gömülü kalabilir. HAS enzimi UDP-N-asetil glukozamin ve UDP-glukronik asit substratlarını arka arkaya ekleyerek tekrarlayan disakkarid yapılarından oluşan büyük lineer bir polimer üretir(3). Polisakkarit, indirgeyici ucunda UDP kalıntısı içeren bir enzim tarafından sentezlenir. Bu UDP uzama sırasında serbestlenir. HA zinciri indirgeyici uçtan uzarken diğer bağ doku polisakkaritleri indirgeyici olmayan uçtan uzarlar(118). Yapılan çalışmalar HA sentez yerinin plazma membranı olduğunu göstermiş(119,120). Bu durum golgide sentezlenen diğer bağ doku polisakkaritlerinin zıttıdır. HA sentez işleyişi NADG ve DGA'nın UDP türevlerinin bulunduğu plazma membranının iç yüzüyle

bağlantılıdır(119). Zincir, bir yarıktan perisellüler boşluğa doğru indirgeyici olmayan terminal uca doğru uzar. Her bir disakkaritin molekül ağırlığı 400 Da ve uzunluğu yaklaşık 1 nanometredir. Bu disakkaritler 10bin kere yan yana dizilerek molekül ağırlığı 4 milyon daltona ve uzunluğu 10 mikrometreye ulaşabilir(3,86). HA üretimi şekil 2-3'te şematize edilmiştir.



Şekil 2-3 : Hyalüronik asit sentezinin şematik hali. Glukoz ve glokozamin hücreye GLUT taşıyıcıları aracılığıyla alınır. UDP glukoz fosforilaz(UDPP) ve dehidrojenaz(UGDH) glukoz-1 fosfatı kullanarak UDP-glukoz ve UDP-glukuronik asit üretir. NADG ve DGA plazma membranında bulunan HAS enzimleri vasıtasıyla HA üretiminde kullanılabilir veya endoplazmik retikulum ve golginin içerisine alınarak diğer proteoglikanların üretiminde kullanılırlar(116).

2.2.3.3.4. Hyalüronik asit eliminasyonu

HA eliminasyonu birbirini takip eden bir takım enzimatik ve non enzimatik yollarla yapılır. Memelilerde HA enzimatik yıkılımı 3 enzimin işlevine bağlıdır: Bunlar Hyalüronidaz(Hyal), β -D- glukuronidaz ve β -N-asetil heksozaminidazdır. Bu enzimler vücudun her yerinde hücre içinde ve serumda farklı formlarda bulunur. Hyal genelde yüksek molekül ağırlıklı HA'yı daha küçük oligosakkaritlere parçalar. Diğer 2 enzim indirgeyici olmayan terminaldeki şekerleri ortadan kaldırır(3).

HA'nın parçalanmasıyla ortaya çıkan oligosakkaritler ve çok düşük molekül ağırlıklı HA, proanjiojenik özellikler sergiler(121). Hyal, interstisyel sıvının ana bileşeni olan HA hidrolizini katalize ederek viskoziteyi azaltır ve doku geçirgenliğini artırır. Bu özellikten ilaçların dağılım ve dağıtımını hızlandırma amaçlı faydalanılır. Oftalmik cerrahilerde lokal anesteziklerle kombine hali sık kullanılır(3). Bazı bakteriler hyal üreterek dokular arasındaki hareketini arttırabilir. Böylece antijenik maskelenme ile immün sistem tarafından tanınmazlar ve fagosit edilmekten kurtulurlar(122).

HA'nın omurgalı dokularında olağandışı hızlı dönüşümü yapılmaktadır. Özellikle ECM'nin önemli bir kısmında bu durum gerçekleşmektedir. 70 kilogramlık bir insanın vücudunda ortalama 15 gr kuru ağırlıkta HA bulunur(123). Vücutta bulunan HA'ların neredeyse üçte biri her gün yıkılır ve yenilenir(124). Kan dolaşımında HA ortalama yarılanma ömrü 2-5 dk arasındadır(125). HA katabolizması sürekli devam eden hızlı bir süreçtir. Genellikle Hyal enzimleri bu sürecin baskın katabolik öncülüdür. Reaktif oksijen radikalleri ise HA'yı non-enzimatik yolla parçalar. Her iki mekanizma eş zamanlı çalışır fakat birbirlerine ne oranda katkı yaptıklarına dair literatürde bilgi bulunmamaktadır. Bu durum, olağan dışı HA molekülünün eliminasyonun ve geri dönüşümünün tamamen anlaşılmasına engel olan faktörlerden biridir. Beyin, akciğer ve ince bağırsak gibi bazı dokularda bu enzimler son derece düşük miktarlarda salgılanır. Eklem sinovyal sıvısında ölçülemeyecek hyal aktivitesi bulunur. Fakat ölçülemeyecek derecede düşük hyal aktivitesine rağmen sinovyal sıvıda Hyal yarı ömrü ortalama 12 saattir ve yüksek

miktarlarda geri dönüşüm yapılmaktadır. Bu durumun kimyasal katabolizma yoluyla olduğu düşünülmektedir(125). Ayrıca sıcaklık ve gerilme kuvveti gibi non-enzimatik yollarla da HA yıkılımı gerçekleşir. Isı artışı sonucu HA elimine olur ve viskozite azalır(126).

HA enzimatik yıkımında rol alan ana enzimler Hyal1 ve Hyal 2' dir. Hyal 2 ECM HA'sını ortalama 20kDa ağırlığında 50 disakkaritlik parçalar haline ayırır. Ardından görece aktivitesi azalır. Hyal 1 asit-aktif lizozomal enzimdir. Bu enzim HA'ı herhangi boyutta alıp daha küçük fragmanlara ayırır. Nihai parçalama ürünü tetrasakkarittir. Bu enzimlerin işlevi birbirinden bağımsız 2 yolak şeklinde olabilirken birbiriyle koordineli şekilde de ilerleyebilir. Her iki enzim ekstra ve intrasellüler alanda yer alan ana HA reseptörü olan CD44 ile ilişkilidir(127). Hyal 1 veHyal2'nin ürünü olan tetrasakkaritler β glukuronidaz ve β -N asetil hegzominidaz yardımıyla parçalanır ve eliminasyon tamamlanır(126).

2.2.3.3.5. Hyalüronik asit klinik kullanım alanları

HA bakteri, kuşlar ve memelilerde spesifik biyolojik ve fiziksel yapılarla sahiptirler. Bu özelliklerden faydalanılarak bakteriler veya diğer hayvanlardan insanlarda kullanılmak üzere HA bazlı biomateriyaller veya medikal cihazlar üretilebilir. HA viskoelastik ve hidrodinamik özelliklerinden dolayı eşsizdir. Ekstrasellüler ve perisellüler alanda yerleşir fakat hücre sinyaline etki eder. Fiziksel özellikleri ve viskoelastik davranışları sayesinde uzun süredir biomateriyal olarak kullanımı üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Başlangıçta HA biyolojik özellikleri uzun süreler görmezden gelindi. Yapılan çalışmalar sayesinde HA moleküler yapısı daha iyi anlaşılmış ve medikal cihazların üretiminde biyolojik özellikleri önem kazanmıştır. HA bu materyaller için kıkırdak ve bakterilerden yüksek miktarlarda saflaştırılmıştır(128).

HA saflaştırıldıktan sonra, bir viskoelastik polimer olarak reolojik özellikleri önem kazanmaya başlamıştır. HA'nın dokulardaki ekstrasellüler ve perisellüler matrikste aldığı rolde fiziksel özellikleri önem taşır. HA'nın solüsyonlar içinde viskoelastik ve reolojik

özellikleri konsantrasyon, iyonik güç, pH ve moleküler ağırlığa bağlıdır(129,130). Bu reolojik özelliklerden bazı biyomedikal uygulamalarda faydalanılmıştır. Yüksek molekül ağırlıklı HA solüsyonları viskoz, koheziv, lubrikan ve hidrofiliktir(128). Bu özelliklerden oftalmik cerrahilerde viskoelastik bağlantı, eklemlerdeki sinovyum için kayganlaştırıcı sıvı enjeksiyonu, medikal cihazlar, stentler ve kataterler için kovalent bağlı kaygan hidrofilik kılıf olarak faydalanılmıştır(131,132). Medikal uygulamalarda daha uzun kalıcılık süresi sağlamak için HA çeşitli kimyasal metodlarla çapraz bağlanabilir. HA'yı çapraz bağlamak elastik içeriğini artırır. Bunun sonucun viskoz sıvıdan daha çok elastik bir sıvı gibi davranmaya başlar. Çapraz bağlı HA ürünleri cerrahi adezyon bariyerleri, sinovyal enjeksiyon sıvıları ve dermis augmentasyonu amacıyla kullanılmıştır(133–135).

2.2.3.3.5.1. Ortopedik uygulamalar

HA kıkırdakların gelişimi, sinovyal sıvı idamesi ve tendon rejenerasyonunda hayati rol alır(96). Erişkin eklem dokularının dış tabakasında ve sinovyal sıvıda bol miktarda HA bulunur. HA matriksleri yüksek düzeyde sulandırabildiğinden ve viskoelastik özelliklerinden dolayı eklemlerde kayganlaştırıcı ve şok emici rol alır(136). Osteoartrit gibi hastalıklarda eklemlerde bulunan HA konsantrasyonu ve moleküler ağırlığı azalır. Buna bağlı eklemde sertlik ve ağrı olur. Bu durumların tedavisinde eklem içi enjeksiyon tedavileri ve HA materyalleri klinik terapi olarak kullanılmaktadır(136,137). Araştırmacılar çapraz bağlı HA'yı kıkırdak ve kemik doku mühendisliğinde hücre teslim iskelesi olarak kullanmışlardır. Esterleştirilmiş HA kondrositlerin büyümesini destekler ve kemik iliği kaynaklı mezenkimal projenitör hücrelerin kondrosit ve osteoblastlara dönüşümünü sağlar(138,139).

2.2.3.3.5.2. Oftalmoloji uygulamaları

HA, gözdeki vitröz humor sıvısının doğal komponentidir. Oftalmolojik cerrahilerde birçok başarılı uygulaması yapılmıştır. Viskoelastik yapıda olduğu ve yüksek oranda sulandırılmış matriksler oluşturabildiği için gözde boşluk doldurma amaçlı kullanılabilir.

Cerrahi sırasında anterior kamarayı şekillendirme amacıyla intraoküler enjeksiyon yapılabilir. Ayrıca HA solüsyonları göz yaşının viskozitesini arttırarak doku onarımını kolaylaştırmasını sağlar(140).

2.2.3.3.5.3. Nöral ve glial uygulamalar

HA tedavileri periferik sinir rejenerasyonun geliştirilmesiyle ilişkilendirilmiştir(128). Modifiye edilmemiş HA'nın sinir kılıfı içerisine enjeksiyonu artmış düzeyde fizyolojik ve fonksiyonel rejenerasyon ile ilişkilendirilmiştir(141). Polilisin kaplı çapraz bağlı HA uygulandığında Schwann hücreleri bu materyallerle ilişki kurup üzerinde büyüeyebilir(142). HA varlığı glial hücre migrasyonunu arttırabilir, daha hızlı nörit çıkıntısı oluşabilir ve ECM sinir kökleri arasında daha yüksek düzeyde organize olabilir(143). Fakat HA'nın bu sürece nasıl katkıda bulunduğı kesin olarak anlaşılamamıştır.

2.2.3.3.5.4. Antiadezyon uygulamaları

HA yüksek düzeyde hidrofilik yapıda olduğı için minimal hücre adezyonu gerektiren uygulamalarda kullanıma uygundur. Cerrahi sonrası birbirine yakın dokularda gelişen adezyonlar yara iyileşmesini engellemekte ve genellikle ilave cerrahi prosedürleri gerektirmektedir. Çapraz bağlı HA'dan üretilen bariyerler bu tarz adezyonların oluşumunu önlemede etkin olarak kullanılmaktadır(144). Bakterilerin biyomateryallere adezyonu enfeksiyonları arttırıp hastalar için büyük risk teşkil edebilir. Buna yönelik esterleştirilmiş HA kullanımı dental implant, intraoküler lens ve kataterlere bakterilerin adezyonunu önlemektedir(145).

2.2.3.3.5.5. Kardiyovasküler uygulamalar

HA'nın antiadeziv özelliklerinden dolayı, vasküler greft ve stentler gibi kardiyovasküler implantların kan uyumluluğunun arttırılmasında etkili olduğı

kanıtlanmıştır. Örneğin yüzeyine çapraz bağlı HA uygulanmış biyomateryallerde trombosit adezyonu ve trombüs formasyonunun azaldığı görülmüş(143,146). Sülfatlı HA türevleri heparini taklit edebilir. HA türevlerinin daha yüksek oranlarda sülfatlanması durumunda koagülasyonu önleme kabiliyeti artmaktadır(147,148). Çapraz bağlı HA biyomateryalleri, kardiyak doku mühendisliğinde gelecek vaat etmektedir. Embriyolarda kalpteki kapakların ve haznelerin gelişiminde HA gerekmektedir. Bu bilgiden yola çıkılarak yapılan çalışmalarda fotopolimerize HA hidrojellerinin doku mühendisliği ile kalp kapakları üretiminde uygun materyaller olduğu bulunmuş(143).

2.2.3.3.5.6. Plastik cerrahi ve dermatoloji uygulamaları

HA cilt ve yumuşak bağ dokuda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bundan dolayı dermal rejenerasyon ve augmentasyon için HA uygun seçimdir. Yapılan çalışmalarda çapraz bağlı HA hidrojel filmlerin tam kat yaraların iyileşmesinde etkili olduğu bulunmuş. Yüksek miktar hidrate edildiği ve non-immünojen çevre oluşturduğu için doku onarımına yardımcı olmaktadır(149). Hyaff scaffold materyallerinin invitro olarak keratinosit ve fibroblastlarla kültüre edilmesi sonucu epidermis ve dermiş benzeri 2 tabaka içeren cilt benzeri materyaller üretilmiş(139). Hidrate genişletilmiş matriksleri şekillendirebildiği için yumuşak doku augmentasyonu amaçlı kozmetik uygulamalarda kullanılabilmektedir(150).

Plastik cerrahi ve dermatoloji kliniklerinde yumuşak doku augmentasyonu ve yaşlanma karşıtı uygulamalarda HA içerikli dolgu ürünleri sıklıkla kullanılmaktadır. Su tutma özelliği sayesinde dudak, burun, nazolabial bölge, çene, elmacık, şakak bölgesi gibi pekçok alanda hacim eksiklikleri ve kaybını giderme amaçlı kullanılmaktadır. Çapraz bağlı olmayan HA'ların vitamin, mineral ve aminoasitlerle kombine formları cilt yenileme, sıkılaştırma ve kırışıklık azaltma amacıyla kullanılmaktadır.

2.2.3.3.6. Dolgu maddesi olarak hyalüronik asit

HA yüksek miktarda su tutması, cildin doğal yapısında bulunması düşük yan etki profili içermesi nedeniyle dolgu maddeleri amacıyla kullanımda cazip bir madde olmuştur. Çalışmalar sırasında kollajen bazlı dolgulara göre daha uzun kalıcılık potansiyeli olması ve allerji testi gerektirmemesi nedeniyle ilk HA içerikli dolgular kullanıma konulmuştur. HA'nın dermal dolgu olarak kullanımı 2003 yılında FDA tarafından onay almıştır. FDA onayı alan dolguların listesi tablo 2-3'te gösterilmiştir. Bu dolgular benzer yapılara sahip olmalarına karşın tamamen aynı özelliklerde değildir. Kullanılan çapraz bağın çeşidine, çapraz bağın derecesine, jel sertliğine, viskoziteye, ekstrüzyon kuvvetine, jel yoğunluğuna, total HA konsantrasyonuna ve ciltte kalıcılık süresine göre farklı özellikler içermektedirler. HA dermal dolgularının performansında anahtar nokta enjeksiyonun kolay olması, uzun ömürlülük ve etkinliktir(151). HA dolgularının hastaya etkisini öngörebilmek için uygulayıcının dolgunun kimyasal ve fiziksel özelliklerini iyi anlaması gerekmektedir. Bu dolguların altında yatan bilimi anlaması durumda uygulayıcı yüz güzelleştirme, iyileştirme ve gençleştirmede doğru dolgu maddesini seçebilecektir.

Doğal bir ürün cilde enjekte edildiğinde hızlıca parçalanacaktır. Daha uzun ömürlü HA üretebilmek için daha dirençli olmalı ve çapraz bağlarla stabil edilmelidir. Doğal HA'nın çapraz bağlı jellerle kombine edilmesi sonucu kalıcılığı 4-12 ayı bulabilmektedir(152).

HA geleneksel kullanımı 2 kaynaktan köken almaktadır; hayvansal kökenli, hayvansal olmayan kökenli(NASHA: Non Animal Stabilized Hyalüronik Asit). Hayvansal olmayan kökenli ve stabil HA ürünleri genelde bakterilerden üretilmektedir. Streptokok türlerinin biyofermantasyonunun biyoteknolojik süreçlerden geçirilmesi ile bu dolgular üretilir. Bu dolgular daha saf olup hayvansal protein içermedikleri için hipersensitivite reaksiyonlarına neden olmamaktadır(153). DGA ve NADG saflaştırıldıktan sonra polisakkarit zincirler stabilize için çapraz bağlanır. HA dolgularda çapraz bağlayıcı ajan olarak genelde 1,4 butanediol diglisidil eter (BDDE) ve divinil

sülfon kullanılır(151,154). Farklı dolgularda yüzdelik ve teknik olarak çeşitli çapraz bağlar kullanılır. Ayrıca dolgular arasında kullanılan HA miktarı ve formülü farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar dolguların klinik karakteristiklerinin farklı olmasına neden olmaktadır.

Tablo 2-4 FDA onay tarihine göre enjektabl dolguların listesi(42)

FDA Onay Tarihi	Ürün Ticari İsmi (Üretici)	Ürün İçeriği
1981	Zyderm1(Inamed/Allergan)	Sığır kollajeni (35mg/ml)
1983	Zyderm2(Inamed/Allergan)	Sığır kollajeni (65 mg/ml)
1985	Zyplast (Inamed/Allergan)	Sığır kollajeni (35 mg/ml glutraldehit ile çapraz bağlı kollajen)
2003	Cosmoderm (Inamed/Allergan)	İnsan kollajeni
	Cosmoplast (Inamed/Allergan)	İnsan kollajeni
	Restylane (Medicis Aesthetics)	HA
2004	Hylaform (Inamed Corp)	Hayvan kaynaklı HA
	Captique (Genzyme Corp)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
	Sculptra (Valeant Pharmaceuticals)	PLLA
2005	Cosmoderm 2 (Inamed/Allergan)	İnsan Kollajeni
2006	Juvéderm Ultra (Allergan)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
	Juvéderm Ultra Plus (Allergan)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
	Artefill (Suneva Medical)	PMMA
	Radiesse (Merz Aesthetics)	CaHA
2007	Perlane (Medicis Aesthetics)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
	Elevers (Anika Therapeutics)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
2008	Prevelle silk (Mentor Corp)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
	Evolence (ColBar LifeScience)	Domuz kollajeni
2009	Hydrelle (formerly Elevers) (Anika Therapeutics)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
	Sculptra Aesthetic (Valeant Pharmaceuticals)	PLLA
2010	Juvéderm XC (Allergan)	Hayvan kaynaklı olmayan HA + lidokain
	Restylane-L (Medicis Aesthetics)	Hayvan kaynaklı olmayan HA + lidokain

	Perlane-L (Medicis Aesthetics)	Hayvan kaynaklı olmayan HA + lidokain
2011	Belotero (Merz Pharmaceuticals)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
	LaViv (Fibrocell Technologies)	Otolog fibroblast
2013	Juveolerm Voluma (Allergan)	Hayvan kaynaklı olmayan HA
	Juvederm Voluma-XD (Allergan)	Hayvan kaynaklı olmayan HA + lidokain

NOT: Koyu harfle yazılı ürünler şuan kullanımda olan ürünleri göstermektedir.

2.2.3.3.6.1 Hyalüronik asit çapraz bağlanması

HA'nın dermal dolgu olarak kalıcı formülasyonlarının geliştirilebilmesi için bir takım kimyasal modifikasyonlar ve işleme basamaklarından geçmesi gerekmektedir. Ham HA polimerleri ilk üretildiğinde kuru toz formundadır. Bu tozun suyla karıştırılması sonucu yumurta akı benzeri visköz bir sıvı oluşur. Aynı miktar suya daha yüksek miktarlarda HA tozu eklenmesi durumunda daha visköz bir solüsyon elde edilecektir. Bu solüsyon serbest, çapraz bağırsız ve modifiye edilmemiş HA solüsyonu olarak bilinir. Eğer bu solüsyon dermal dolgu olarak kullanılırsa vücut tarafından, 1 haftadan daha kısa sürede enjekte edildiği bölgeden elimine edilecektir. Çapraz bağırsız HA polimerleri enjekte edildiğinde dokudaki yarı ömrü 1-2 gün olup karaciğerde enzimatik degradasyonla karbondioksit ve suya parçalanır(7). Bu yüzden çapraz bağırsız HA solüsyonları dermal dolgu olarak kalıcı sonuçlar vermemektedir.

Çapraz bağırsız HA dolgularındaki kalıcılık yetersizliğinin üstesinden gelebilmek için üreticiler çapraz bağları kullanmışlardır. Çapraz bağlar HA polimer zincirlerini birbirine bağlayıp polimer ağı oluşturur. Bu şekilde visköz sıvı jel formuna dönüşür(151). HA jelin bir bütün halinde etki etmesi sonucu enzimatik ve serbest radikal yıkıma karşı fiziksel ve kimyasal bariyer görevi görür. Çünkü jel ağı birçok bağlantıya sahip olduğu için enzimler ve serbest radikaller bu ağdan sadece küçük parçalar ayırır. Ayrıca daha büyük boyutlarda olduğu için enzimler jel ağına daha zor penetre olur ve bunun sonucunda yıkılım yavaşlar. Sonuç olarak HA dolgusunun ciltte kalıcılığı artar.

HA çapraz bağlama için 1,4 butanediol diglisidil eter (BDDE) ve divinil sülfon kullanılır. Her ikisi de HA zincirleri üzerinde hidroksil bölgeleri olarak etki eder ve dolgunun enzimatik ve serbest radikal yıkımını yavaşlatır. Çapraz bağlama sonrası vücut tarafından yıkılmış dolgudan geriye çapraz bağ atıkları kalır. Atık çapraz bağlar diğer moleküllere bağlanmadığında ve yüksek konsantrasyonlara ulaştığında toksik olabilir. Bu durum istenmeyen bir etkidir ve üreticilerin bu çapraz bağ atıklarını ortadan kaldırması için özel işlemler gerektirmektedir. Dermal dolguların güvenli olarak kullanılması için FDA tarafından bu çapraz bağ atıklarının belli bir miktarın altında olması koşulu istenmiştir(151).

2.2.3.3.6.2. Çapraz bağlanma derecesi

Çapraz bağlanma derecesi çapraz bağlayıcı moleküle bağlanan disakkarit monomer yüzdesini gösterir. Örneğin çapraz bağlanma yüzdesi 4% olan bir dolguda her 100 HA disakkarit monomeri için 4 çapraz bağlayıcı kullanıldığını gösterir. Diğer tüm parametreler eşitken daha yüksek derecede çapraz bağ olması jelin daha sert ve ciltte daha kalıcı olmasına neden olur(151). Çapraz bağlanma derecesi için bir eşik sınır vardır. Çünkü çok yüksek derecelerde çapraz bağlama dolgunun hidrofilitesini ve kaldırma kapasitesini azaltır. Ayrıca eşik sınırı geçmek dolgunun biyouyumluluğunu etkileyip immün reaksiyon riskini arttırabilir. Daha da ötesi vücut tarafından rejeksiyona uğrayıp kapsül formasyonu, granül ve steril apse gibi istenmeyen durumlar gelişebilir. Bundan dolayı dolgu üreticileri kalıcılığı arttırırken rejeksiyon gibi istenmeyen komplikasyonların gelişmesine karşı çapraz bağ miktarının dengeli olmasına özen gösterirler.

2.2.3.3.6.3. Jel sertliği (G')

Jel sertliği HA jel formülünün deformasyona karşı direncini ve dayanıklılığını gösterir. Polimer bilimcileri jel sertliğini ölçmek için çeşitli G', elastik veya depolama katsayısı kullanırlar(155). HA konsantrasyonu, çapraz bağ derecesi, çapraz bağlı olmayan HA miktarı ve üretim süreçleri jel sertliği olarak tanımlanan G' yi etkiler. HA jel üstteki küçük mesafelerde hızlıca hareket eden alttaki ise hareketsiz 2 tabaka arasında

bulunduğunda, üstteki tabakayı hareket ettirmesi için gereken kuvvet jel sertliği (G') olarak tanımlanmaktadır(151).

Bir jelde çapraz bağ derecesi düşükse HA polimer zincirleri birbirine gevşek olarak bağlıdır. Bu durumda yer değişikliği için gereken güç düşüktür böylece jel sertliği ve G' düşüktür. Bir dolgunun iğne içinden enjekte edilebilmesi için jel kitlesinin küçük jel partiküllerine bölünmesi gerekmektedir. Yüksek G' değeri içeren dolguların, jel partikülleri küçük boyutlarda olsa bile enjeksiyonu daha zordur. Bu zorluğun üstesinden gelebilmek için bazı üreticiler kayganlaştırıcı olarak çapraz bağlı olmayan HA ilave ederler ve böylece enjeksiyon kolaylaşır(151).

2.2.3.3.6.4. Jel kararlılığı

HA jeller ilk üretildiğinde birleşik büyük bir kitle halindedir. Bunun enjekte edilebilmesi için bir takım eleklerden geçirilerek küçük parçalara ayrılması gerekmektedir. Büyük partiküller enzimlerin parçalayabilmesi için daha küçük total yüzey alanına sahiptir. Küçük HA partikülleri enzimlerin parçalayabilmesi için daha büyük yüzey alanı sağlarlar. Buna karşın HA jellerin serbest radikallerle yıkımı partikül boyutundan bağımsızdır. Çünkü radikallerin çoğu boyut olarak küçüktür ve partiküllerin içine kolayca penetre olabilirler. Sonuç olarak diğer tüm özellikler aynı olduğunda daha küçük jel partiküllerinden oluşan dolgular vücutta daha hızlı parçalanıp ortadan kaybolur(151).

Büyük jel kitlesini bölmenin farklı bir yolu homojenizasyon süreçleridir. Pürüzsüz kararlılık, partikülleri eleklerle bölmeye göre daha geniş yayılım sağlar. Bu teknoloji ile üretilen ürünler düşük G' değerine sahip olan daha yumuşak dolgulardır ve maksimum partikül boyutunun görüntülenip sınırlandırılmasına ihtiyaç duymazlar(151).

2.2.3.3.6.5. Viskozite, elastisite ve püskürme kuvveti

HA dolgularının içinde bulunan enjektörün iğnesinden uygulama bölgesine verilmesi için uygulanması gereken kuvveti göstermektedir. Dolgunun ne kadar rahat enjekte

edilebildiğini gösteren bir belirteçtir. Dolgunun viskozitesi ve iğneden enjekte edilebilmesi için gereken kuvvet çapraz bağ derecesi, çapraz bağlı olan ve çapraz bağlı olmayan HA miktarı, boyutlandırma metodu, ortalama jel partikül boyutu, boyut dağılımı, üretim süreçleri gibi pekçok faktörden etkilenir. Diğer tüm özellikler eşit olduğunda çapraz bağ derecesi arttığında jel sertleşir, viskozitesi ve püskürme kuvveti artar(151).

Küçük çaplı enjektör veya kanülle uygulama yapıldığında dolguyu vermek için daha yüksek güç uygulamak gerekir. Bu yüksek basınç ciddi damar hasarlarıyla sonuçlanabilir. Küçük çaplı enjektörün damar duvarına denk gelip damarı yaralama riski daha düşük olmasına karşın damarı yaralaması durumunda yüksek basınçtan dolayı emboli riski de yüksektir. Buna karşın büyük çaplı enjektörleri damara denk gelip yaralama riski daha yüksek olsa da basınç dağılıp düşeceği için emboli riski de düşmektedir(156).

2.2.3.3.6.6. Kohezivite

Dolgunun enjekte edildiği dokuya ve birbirine tutunmasını ifade etmektedir. Monofazik dolgular bifazik dolgulara göre daha koheziv olup tekrarlayan uygulamalarla daha az yer değiştirir(157).

2.2.3.3.6.7. Konsantrasyon ve su tutma kapasitesi

HA dolguların performanslarıyla ilgili en önemli özellikleri polianyonik ve hidrojen bağlayıcı karakterlerinden dolayı yüksek miktarlarda su tutabilmeleridir. HA jeller şişmeye neden olmayan dengeli bir su tutma sağlar. Bu ürünler uygulandığında ödeme neden olmazlar çünkü su ile doyurulmuşlardır. Dolgular hazırlanırken bağlama kapasitesine göre konsantrasyonu ayarlanır. Yüksek konsantrasyonlardaki dolgular uygulandığı zaman etrafından su çekerek bir miktar şişliğe neden olabilir(151).

2.2.3.3.6.8. Bifazik-monofazik dolgular

Bir maddenin kimyasal içerik ve fiziksel durum açısından uniform yapıda olması faz olarak tanımlanır(158). Bu tanımdan yola çıkarak bifazik materyallerin kimyasal içerik ve fiziksel durum açısından homojen yapıda olmaması anlamı çıkmaktadır. Bifazik bir materyalin farklı bölgelerinde 2 veya daha fazla sayıda kimyasal yapı içeren madde bulunmaktadır. Bu duruma salata suyunu örnek verebiliriz. Yağ ve su birbiri içinde çözünmediği için karışımın içinde sürekli farklı bölgelerde yer alırlar. Bifazik sıvı-sıvı karışımı emülsiyon olarak isimlendirilir. Bifazik sıvı-katı karışımı süspansiyon olarak isimlendirilir. Bifazik bir materyalde, aynı kimyasal bileşenin farklı fiziksel halleri de bulunabilir. Buna örnek olarak buzlu su verilebilir. Monofazik bir materyalde iki veya daha fazla maddenin karışımı ile oluşan tek bir materyal de bulunabilir. Buna örnek olarak tuzlu su verilir. Tuz suyun içinde uniform şekilde dağılıp karışımın her yerinde aynı yapıda olduğu için monofazik olarak isimlendirilir.

Bazı dolgularda hafif çapraz bağlı ve çapraz bağlı olmayan HA zincirleri beraber kullanılır. Bunun nedeni uygulama sırasında akışı kolaylaştırırken uygulama bölgesinde de kırıxıklığı kalıcı olarak giderebilmesidir. Bu bilgilerden yola çıkılarak tümüyle çapraz bağlı yüksek ve düşük molekül ağırlıklı HA polimeri içeren dolgular ‘Monofazik’ (Juvéderm®), çapraz bağlı olan ve olmayan HA moleküllerini birlikte içeren dolgular ise ‘Bifazik’ (Restylane®) olarak isimlendirilir.

2.3. Dolgu Uygulama Önerileri

Çoğu enjektabl dolgu iğne veya kanülle uygulanır. İğne seçimi dolgunun viskozitesine göre yapılır. Bazı visküz ürünler ince uçlu iğnelerle verilemezler. Çoğu tecrübeli uygulayıcı, iğne ya da kanül seçimini uygulama bölgesindeki kendi pratik tecrübelerine göre yapmaktadır. Genel bir kural olarak ağrıyı azaltmak için, dolgunun sorunsuz şekilde gidebileceği en ince iğne ya da kanül tercih edilmelidir(32).

Yüzeyel defekt veya kırıxıklıkların onarımında dolgu yüzeyel dermise, derin defekt ve kırıxıklıkların onarımında ise derin dermis veya subkutan dokuya enjekte edilmelidir.

Yüzeyel defektler onarılırken iğne cilde neredeyse paralel olacak şekilde yerleştirilip sık enjeksiyon yapılmalıdır. Bunu uygularken iğne genelde eğilir ve iğne ucu cildi zor geçer. Uygulama sırasında cilt rengi açılabilir ve ciltte kabarcıklar görülebilir. Bu durumda uygulama sonrası kibarca masaj yapılması bu görünümü düzeltebilir. Fakat masaj sırasında dolgunun istenmeyen yerlere gitmesine karşı agresif uygulamadan kaçınılmalıdır. Visköz ürünler çok yüzeyel uygulanmamalı aksi takdirde yumru ve nodül oluşabilir ve dolgu cilt üzerinde ele gelebilir. Eğer iğnenin orta dermise gitmesini istiyorsak iğnemiz cilde 30-45 derece açıyla girmelidir(32).

Yüzeyel defektlere düşük viskoziteli dolgular, derin defektlere yüksek viskoziteli dolgular kullanılmalıdır(159). Orta derinlikteki çizgiler düşük viskoziteli ürünlerle onarılamaz veya yüksek hacimde uygulama gerektirir. Derin dermis bölgesine düzeltme yaparken yüksek viskoziteli ürünlerle onarılmalı çünkü düşük viskoziteli ürünler yağ dokusunun içinde kaybolabilir belirgin düzeltme sağlayamazlar. Bu derinliklerde uygulama yaparken iğnenin cilde göre giriş açısı 45-90 derece olmalıdır.

Dolgunun doğru plan ve derinlikte uygulanmasına özen gösterilmelidir. Eğer dolgu doğru derinlikte uygulanmazsa deri renginde değişiklik, yumrulanma, dolgunun ele gelmesi, dolgunun istenmeyen yere kayması gibi sorunlarla karşılaşılabilir. Bunun yanında doğru hacimlerde uygulanmazsa ele gelen nodüllere ve kontür deformitelerine neden olabilir.

Dolgu kalıcılık süresi dolgunun yüzdeki uygulama alanına göre değişebilir. Örneğin, dudak ve nazolabial bölgeler gibi hareketli uygulama alanlarında dolgu hızlı absorbe olduğu için kalıcılığı daha kısa sürmektedir. Ayrıca hastanın yaşam biçimi, yaşı, beslenme şekli gibi faktörlere bağlı olarak hastadan hastaya dolgu kalıcılık süresi değişmektedir.

Uygulama öncesi ve sonrası 24-48 saatlik sürede antiagregan, antikoagülan, nonsteroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİD) veya bitkisel ilaçların kullanılmaması önerilmelidir. Ayrıca dolgu uygulama sırasında antisepsi kuralları özenle uygulanmalıdır. Enfeksiyon riskine karşı cilt alkol veya klorheksidin gibi antiseptik maddelerle temizlenmeli(159).

Uygulamadan 30 dk önce lokal anestezi pomad uygulama ağrısı azaltıp hasta konforunu arttırabilir. Ayrıca uygulama sonrasında 20-30 dk buz uygulama ödem, morluk gibi istenmeyen etkilerin oluşumunu önleyebilir. Uygulamadan hemen sonra ağır egzersiz yapmaktan kaçınılmalıdır. Eritem gelişmemesi için aşırı güneş maruziyetinden kaçınılmalıdır.

2.4. Dolgu Enjeksiyon Teknikleri

Dolgu uygulamalarında farklı enjeksiyon teknikleri uygulanabilmektedir. Teknik seçiminde belirli bir algoritma bulunmamaktadır. Dolgu maddesinin türüne, defektin büyüklüğüne ve derinliğine, hekimin seçimine göre teknikler değişmektedir(159).

Seri ponksiyon tekniği genellikle dudak augmentasyonu ve ince çizgilerin onarımı sırasında kullanılır. Cilt sıkıca tutulur ve iğne uygun derinlik ve açıda yerleştirilir. Dolgu küçük boluslar şeklinde verilir ve sonrasında iğne geri çekilir. Daha sonra iğne defektin başka yerine tekrar inserte edilip yeni bir küçük bolus verilebilir. Defektin uzunluğu boyunca tekrarlayan enjeksiyonlar yapılır. Sonrasında masaj yapılarak dolgunun yayılması sağlanabilir(32).

Depo tekniğinde dolgu maddesi enjeksiyon yapılacak bölgeye tek noktadan ve bolus şeklinde verilir. Uygulama derin planda yapılır. Ardından masaj yapılarak dolgunun yayılması sağlanır.

Işınsal yayılım tekniğinde dolgu tek bir uygulama noktasından verilir. Lineer geri çekme veya yelpaze şeklinde uygulama yapılabilir. İğne defekt boyunca uygun derinlikte bir tünel içinden ilerletilir. Dolgu uygulanacağı bölge boyunca geri çekilerek yavaş ve devamlı şekilde uygulama yapılır. Bu teknik genelde dudak augmentasyonu ve nazolabial fold düzeltmede kullanılır. Yelpaze tekniği için tek noktadan girilir ve ışınsal olarak farklı açılarda tüneller açılır. Derin malar enjeksiyon için kullanılabilir(159).

Çapraz tarama yönteminde birden fazla noktadan farklı yönlerde yelpaze şeklinde enjeksiyon uygulanır. Yelpaze ve çapraz tarama teknikleri genellikle geniş defektler için kullanılır(160). Sıklıkla çene, malar bölge ve yanaklarda kullanılır.

2.5. Dolgu Komplikasyonları

Dermal dolgular son 3 dekaddır yumuşak doku augmentasyonu için artan sıklıkta kullanılmaktadır. Başta HA içerikli olmak üzere dermal dolguların kullanımının artması etkinliği, çok yönlülüğü ve uygun güvenlik profili olmasıyla açıklanabilir. Komplikasyonların insidansı ve büyüklüğü düşük olsa da artan miktarda uygulamaya bağlı olarak komplikasyon sayısı artmaktadır. Ciddi komplikasyonlar nadir görülse de belki bunun sebebi raporlamanın yeterli olmamasıdır. Ürünün doğru seçimi ve doğru plana uygulanması genelde komplikasyonlardan korunmamızı sağlar(161). Dolgu komplikasyon sınıflaması şiddetine (hafif, orta, şiddetli), doğasına (iskemik, iskemik olmayan) ve başlangıç zamanına (erken, geç) göre yapılabilmektedir(162). Altta yatan etyoloji ile ilişki içerisinde olduğu için başlangıç zamanına göre sınıflama genelde daha çok tercih edilir. Komplikasyonların başlama zamanı 24 saatten önceyse ani başlangıçlı, 1gün ile 14 gün arasındaysa erken, 14 gün ile 1 yıl arasındaysa geç, 1 yıldan daha uzun süreyse gecikmiş komplikasyon olarak sınıflandırılır(9).

2.5.1. Ani ve erken başlangıçlı komplikasyonlar

2.5.1.1. Minör komplikasyonlar

HA dolgu uygulamalarında en doğru ve en özenli uygulamaya rağmen morarma, şişlik, hassasiyet ve renk değişikliği gibi yan etkiler görülebilmektedir. Morarma aniden ortaya çıkabileceği gibi birkaç saat sonra da oluşmaya başlayabilir. Bazen ertesi gün sabahı bile kendini gösterebilir. Ekimoz genelde az miktarlarda olur ve enjeksiyon bölgesine sınırlı kalır. Eğer hastada kan sulandırıcı, vitamin E, ginseng, sarımsak, zencefil gibi takviye gıda kullanım alışkanlığı varsa ekimoz daha da artabilir(163). Bazı

durumlarda ekimoz yüzün büyük bir kısmını kaplayabilir ve çözülmesi birkaç hafta sürebilir. Ekinezya gibi bazı homeopatik ilaçların ekimozu azalttığı tavsiye niteliğinde kullanılabilir. Fakat bunun etkinliğini kanıtlayan çalışma bulunmamaktadır. Sonuç olarak doğru teknikle uygulama yapılarak morarma riski azaltılabilir. Çoğu uygulayıcı tarafından tercih edilen ışınsal şekilde uygulama ile kanama ve ekimoz riskini arttırabilir. Çünkü bu teknik körlemesine uygulama yapılan bir tekniktir. Tecrübeli olanlar bile uygulama sırasında küçük damarları delebilir ve ekimoza neden olabilir.

Yabancı cismin verdiği irritasyona ve uygun olmayan tekniklere bağlı olarak geçici süreli ekimoz görülebilir. Bu ekimoz genellikle 24-72 saat sonra sonlanır. İğnenin yarattığı travmaya ve dolgunun yanlış plana enjeksiyonuna bağlı olarak geçici hassasiyet görülebilir. Genelde şişlik ve hassasiyet kısa etkili dolgulara kıyasla yarı kalıcı dolgularda daha çok görülür. Enjeksiyon sonrası ağrı genelde dolgunun yer değiştirerek kutanöz sinirleri germesine bağlı oluşur. Enjeksiyon bölgesinde eritem gibi renk değişikliği genelde HA ve CaHA içerikli dolgu uygulamalarında görülür(164,165). Hipersensitivite reaksiyonuna benzememesine rağmen renk değişikliği mast hücre salınımına bağlı gelişiyor olabilir. Fakat çoğu hastada eritem 2-3 gün içinde çözülmetedir.

2.5.1.2. Major komplikasyonlar

Dolgu uygulamaları hastanın görüntüsünü iyileştirmeyi amaçlayan kozmetik uygulamalardır. Kozmetik amaçla uygulanan herhangi bir işlemde görüntüyü bozacak ve sekel bırakabilecek bir durum ciddi bir komplikasyona dönüşebilir. Çoğu hasta uygulama öncesi asimetrilere sahiptir. Konsültasyon sırasında bu hastaya belirtilmeli ve dolgu uygulanmasına rağmen asimetrinin devam edebileceği anlatılmalıdır. Uygulama öncesinde ve sonrasında hastanın fotoğrafları çekilmelidir. Uygulama sonrası ciddi düzensizlik kabul edilebilir bir durum değildir. Küçük düzensizlikler masajla düzelebilir. Fakat buna rağmen yarı kalıcı dolu çok yüzeyel verilmişse bu düzensizlik aylar boyunca kalıcı olabilir.

Uygulayıcının tamamen düzeltmeyi amaçlasa bile bazen uzun süre kalıcı dolgularda fazla düzeltme problem teşkil edebilir. Bu durum aylarca devam edebilir ve maskelemek

çok zor olabilir. Küçük fasyal damarlarda istenmeyerek laserasyon oluşması durumunda yaygın olmayan bir komplikasyon olan hematoma gelişebilir. Kaş arası bölgesinde supratrokleer arter ve anastomozları bulunduğu için bu bölgenin uygulamaları hematoma açısından yüksek risk teşkil eder. Ani gelişen hipersensitivite reaksiyonu nadir görülebilen bir komplikasyondur fakat genelde sıgır kollajeni ile ilişkilidir. Anaflaksi nadir görülen komplikasyonlardan biridir. Nadir olarak HSV enfeksiyonu görülebilir fakat gelişmesi durumunda uzun dönem kalıcı olan pigmentasyon ve skarlar görülebilir(163).

Dolgu uygulama sırasında yanlışlıkla arter içine intravasküler uygulama durumunda arterin besleme bölgesinde emboli ve ani başlangıçlı majör bir komplikasyon görülebilir. İntravasküler enjeksiyon insidansı bizim düşündüğümüzden daha sık olabilir. Vasküler komplikasyon tanısı konar konmaz geri dönüşümsüz komplikasyonlardan korunmak için çok hızlı ve agresif tedavi verilmelidir(166,167). Vasküler oklüzyonun iki diagnostik semptomu ağrı ve renk değişikliğidir. Arteriyel oklüzyonda ani, şiddetli, orantısız bir ağrı ve beyaz nokta şeklinde renk değişikliği olur. Venöz oklüzyonda ise daha hafif daha geç başlayan bir ağrı olur hatta bazı vakalarda ağrı olmaz. İntravasküler oklüzyonlar nadir olaylar olduğu için önleme ve tedaviye yönelik öneriler daha çok uzman görüşü ve görüş birliği raporları şeklindedir(162,168). Yine de vasküler oklüzyondan şüphelenildiğinde enjeksiyon anında durdurulmalı ve hızlıca tedaviye başlanmalıdır(9). Tedavi stratejileri arasında hyal, sıcak kompres, bölgeye masaj uygulama ve vazodilatatör ajanlar yer alır(169,170). Semptom ve bulgular görüldükten sonra kullanılan dolgu türüne bakılmaksızın yüksek dozlarda hyal anında ve günlük olarak uygulanmalıdır(162,171–173). Vasküler oklüzyon durumunda yüksek doz hyal (200-300ÎU) tedavisi önerilmektedir(171–173). Akut iskemi amaçlı hyal uygulandığında ortak görüş sadece enjeksiyon bölgesinin değil tüm iskemik alana hyal uygulanması yönünde. Eğer düzelme görülmemişse prosedür klinik düzelme görülene kadar saat başı tekrar uygulanmalıdır. Klinik düzelme için 1500IU'ye kadar hyal enzimi gerekebilir(171–173). Aşağıda belirtilen önerilerin uygulanmasıyla intravasküler enjeksiyon riski azaltılabilir(9):

- Enjeksiyon öncesi aspirasyon
- Yüksek riskli bölgelerde birkaç seans şeklinde düşük volümlerde birkaç uygulama yapmak
- Aynı zamanda bir tarafı uygulama
- Ana arterlerin olduğu bölgelerde pinç yaparak uygulama
- Supratroklear arterin çıktığı bölgenin non dominant el ile bastırılarak kapatılması
- Künt kanüller kullanmak riski azaltabilir fakat sıfırlamaz

Yumuşak doku dolgu uygulamaları sonrasında santral retinal arter (SRA) veya bazı dallarının tıkanması nadir fakat yıkıcı bir durum olan görsel komplikasyonlara neden olabilir. SRA tıkanıklığı açısından yüksek risk içeren bölgeler sırasıyla glabella, nazal bölge, nazolabial fold ve alın bölgesidir. Ayrıca en fazla risk içeren dolgu tipi otolog yağ ardından HA dolgularıdır(174). Görme kaybının meydana gelmesi retrograd akıştan kaynaklanmaktadır. Eğer iğne ucu oftalmik arterin distal dallarından birinin duvarını delerse enjeksiyon arteryolu genişletebilir ve bu da retrograd akışa neden olabilir(174,175). Bu oklüzyonun hakim olan teorilerinden biri olsa da bazı durumlarda damarın dışardan basıya uğraması da bu duruma neden olabilir(176). Ana semptom enjeksiyondan saniyeler sonrasında etkilenen gözde ağrısız körlük gelişmesidir. Diğer ilişkili semptomlar enjeksiyon bölgesinde ağrı ve baş ağrısıdır(17,175). Eğer görme kaybı gelişirse terapötik uygulamalar anında uygulanmalıdır çünkü 60-90 dakikadan daha uzun SRA tıkanıklığı geri dönüşümsüz körlüğe neden olabilir(177). Komplikasyonun ciddiyetinden dolayı yüzdeki vasküler anatomisinin ve enjeksiyon tekniklerinin iyi bilinmesi çok önemlidir.

2.5.2. Geç başlayan komplikasyonlar

2.5.2.1. Minör komplikasyonlar

Uzun dönemde nadiren küçük yumrular gelişebilmektedir. Bu komplikasyon tüm dolgularda görülebilse de genellikle middermis veya daha derin bölgelere yapılan CaHA, HA veya PLLA sonrasında görülür. Etiyolojisi net olarak bilinmemektedir. Aşırı yüzeysel uygulamalar sonrasında da sıklıkla görülebilir. Bu dolguların yüzeysel planda uygulanması sonucu Tyndall etkisi denen mavimsi tonda görünüm gelişebilir(160). Gecikmiş hipersensitivite reaksiyonları genelde hayvansal kaynaklı dolgularda görölse de nadiren hayvansal kaynaklı olmayan dolgularda da görülebilir. Başlangıçta üretilen HA dolgularında katkı maddesi içeriğinden dolayı yüksek immünijenite görölmekteydi. Fakat teknolojinin gelişmesiyle birlikte bu katkı maddeleri saflaştırma teknikleriyle temizlenmiş ve bu komplikasyonun önüne geçilmiş.

2.5.2.2. Majör komplikasyonlar

Granülomlar çok nadir görülen majör komplikasyonlardandır(178). Büyük bir kısmı yarı kalıcı ve kalıcı dolgular sonrasında gelişmektedir. Granülomlar genelde dermal nodül ve hafif bir eritem şeklinde görülüp vücudun yabancı materyallere yanıtı sonucu oluşur. Aynı ayrı veya küçük kümeler şeklinde görülebilir. Genellikle enjeksiyon sonrası ilk 6 ay sonra görölse de PMMA dolgularının enjeksiyonundan 14 ay sonra gecikmiş granülom geliştiğini bildiren yayınlar da bulunmaktadır(179). Çoğu hastada belirgin olarak görünür ve ciddi anksiyeteye sebep olur. Enfeksiyonlar genelde erken görünür cilt patojenlerinden stafilokokus aureustan kaynaklanır. Eğer enfeksiyon geç dönemde ortaya çıkıyorsa daha nadir bir bakteriden kaynaklanmaktadır. Granülomların zıttına eritem, ısı artışı ve hassasiyetin eşlik ettiği fluktuasyon veren görünümde dirler. Ayrıca hastanın ateşi de

olabilir. Gecikmiş dolgu enfeksiyonlarında mikobakteriler enfeksiyon kaynağı olabilir. Bakteri bulunmadan steril apseler de görülebilir.

Genişletilmiş PTFE gibi kalıcı dolgulardan sonra yer değiştirme görülebilir(180). Yarı kalıcı ve kalıcı CaHA ve silikon dolguları da yer değiştirme açısından yüksek risk taşımaktadır. Bu durum geçici dolgularda daha nadir görülür. CaHA dolgusunun dudaklara yüzeysel verilmesi sonucu dudakta patlamış mısır görünümü gelişebilir. Yer değiştirme, enjeksiyondan yıllar sonra gelişebilir. Enfeksiyon veya gecikmiş granülomatöz reaksiyon yer değiştirmeyi tetikleyebilir. Yaşlanma sonucu yüzde gelişen gevşeklik ve sarkmaya bağlı olarak anatomi değiştiği için dolgularda yer değişikliği görülebilir.

2.6. Dolgu Komplikasyon Tedavisi

2.6.1. Hyalüronidaz

Hyal enzimleri HA'yı parçalayan enzimlerdir. Hyal, uygun olmayan HA enjeksiyonlarına bağlı gelişen nodül, fazla uygulama gibi durumların tedavisinde estetik tıpta sık kullanılan bir enzimdir. Hyal, subkutan dokuya enjekte edilen maddelerin difüzyonunu engelleme, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonunda kumulus korona oosit kompleksin oluşumunu engelleme, çeşitli maddelerin ekstrasvazasyonu durumunda doku hasarını önleme, ödem azaltma ve vitröz hemoraji tedavisi gibi pek çok durumda kullanılır(181).

Hyal dokularda üretilen HA'yı depolimerize eden bir endoglikozidazdır. HA'yı parçalayarak viskoziteyi ve HA'nın kayganlaştırıcı etkisini azaltır. Ayrıca subkutan dokuya enjekte edilen boya ve antiviral aşılarda difüzyonunu kolaylaştırır(182). Meyer hyal'ları memeli hyal'ı, parazit/solucan hyal'ı ve mikrobiyal hyal olmak üzere 3 gruba ayırmış(183). Memeli glikozidazları β -N-asetil heksozaminidazdır. Bu enzim β 1-4 glikozidik bağlarını parçalar ve tetrasakkaritler üretir. Bu enzim memeli spermatozoası, lizozom, yılanların venomu, sürüngenler ve zar kanatlılarda bulunur. HA, kondroitin, kondroitin 4-6 sülfat ve dermatan sülfatı parçalar(184). İkinci grup endo- β -D-

glukronidazı kapsar. Bu enzim β 1-3 glikozidik bağıyı parçalar. Bunun sonucunda tetra ve hekzasakkaritler oluşur. Bu enzim memeli glikozidazlarından farklı olarak sadece HA'yı parçalar ve diğer GAG'lara karşı inert kalır. Bu enzim parazit ve solucanların tükürük bezlerinde bulunur(185). Mikrobiyal Hyal'ler hyaluronat lyaz olarak sınıflandırılır. Diğer Hyal'lerden hidroliz yapmamasıyla ayrılır. β eliminasyon reaksiyonu ile β 1-4 glikozidik bağlarını elimine eder ve unsature disakkaritler üretir. Clostridium, mikrokok, streptokok ve streptomyces gibi çeşitli organizmalardan izole edilirler(186). Bazı bakteriler insan dokularında daha büyük bakteriyel mobiliteye sahip olmak için Hyal üretirler. Bu şekilde antijenik maskelenme ile bakterinin fagositler tarafından tanınmasını önlerler(187).

İnsan vücudunda Hyal testis, dalak, cilt, göz, karaciğer, böbrek, uterus, plasenta gibi dokularda; göz yaşı, kan ve sperm gibi vücut sıvılarında bulunur(188). İnsanlarda hyal1-4, PH-20 ve HYALP1 adı verilen 6 çeşit hyal bulunur. Hyal1 geni karaciğer, dalak, böbrek ve kalp gibi majör parankimal organlarda bulunan hyal enzimlerini kodlar. Ayrıca serum ve idrarda da bulunur(187). Bu enzim plazmadaki majör hyal'dir. Asidik pH'ta aktiftir ve HA'yı intrasellüler olarak parçalar. Hyal 2'nin başta lizozomal enzim olduğu düşünülüyordu. Daha sonra beyin dışındaki tüm fare doku çeşitlerinde glikozil fosfatidil inozitol bağlı hücre yüzey reseptörü olarak tanımlandı. Hyal 2 Hyal1'e göre çok düşük aktivitesi vardır ve işlev görmesi için pH 4'ün altında olmalıdır. Hyal 1'in zıttına hyal2 yüksek molekül ağırlıklı HA'yı hidrolize eder. Orta boyutlu zayıf 20 kDa ağırlığındaki fragmanlar daha küçük oligosakkaritlere PH-20 tarafından hidrolize edilir. Hyal2 jaagsiekte koyun retrovirüsü için reseptör olarak da hizmet eder(189). Hyal3 testis ve kemik iliğinde güçlü diğer organlarda zayıf eksprese edilir. Hyal 3'ün HA yıkılımındaki etkisi net olarak bilinmiyor. Testiküler PH-20 enzimi SPAM1 geni tarafından kodlanır. GPI bağlı bu enzim insan sperm yüzeyinde ve akrozom membranının iç yüzünde yerleşiktir. Çoğu memeli fertilizasyon sürecinde sperm hücresi oosite ulaştıktan sonra akrozom tarafından salgılanır. Sperm yumurta ile bağlantı kurduktan sonra PH 20 HA'dan zengin kumulus tabakasını ve zona pellisudadaki HA'yı hidrolize eder, bu kavramaya olanak sağlar. PH20 hyal nötral pH'ta aktiftir(190).

Hyal başta sığır ve koyun testis dokusundan elde edilmekteydi. Bu hyal içerdği allerjenler nedeniyle immün ve allerjik reaksiyona neden olmaktaydı. Bunun önüne geçmek için saflaştırma basamağı eklenmesi, mikrobiyal hyal kullanma, rekombinant insan hyal'ı kullanma gibi yöntemler denenmiştir(191).

Hyal'ın HA'yı yıkabilmesi için molekül içi bağlara ulaşması gerekmektedir. HA konsantrasyonu ve moleküller arasındaki çapraz bağ sayısı bu durumu etkilemektedir. Çapraz bağ sayısı fazla olan dolgularda hyal 'ın bağlara ulaşması zorlaşır ve dolgunun yıkılımı uzun sürer. Aynı şekilde HA konsantrasyonu yüksek olunca da yıkılımı daha yavaş olur(192).

Hyal dolgu komplikasyonlarında şişlik, düzensizlikler ve aşırı düzeltme gibi istenmeyen durumlarda kullanılabilir. Bu amaçlarda 3-70 ünite arasında değişen dozlarda kullanılabilir(181). HA dolgularının en korkulan komplikasyonu olan nekroz ve körlük damar içi enjeksiyona bağlı gelişebildiği gibi aşırı enjeksiyona bağlı vasküler oklüzyona bağlı da gelişebilir. DeLorenzi Hyal'ın damar duvarını aşp HA embolisine ulaşabileceğini bundan dolayı vasküler oklüzyon tedavisinde subkutan yolla kullanılabileceğini göstermiştir(13). Hyal'ın damar içindeki dolguyu eritebilmesi için subkutan yolla belli bir miktarın üzerinde uygulanması gerekmektedir. Yapılan bir hayvan çalışmasında bir noktaya en az 30-50 ünite, net sonuç almak için en az 100 ü hyal uygulanması gerektiği öne sürülmüştür(193).

Lokal hyal uygulama sonrasında enjeksiyon bölgesinde kaşıntı, allerjik reaksiyon, ürtiker, anjiyoödem gibi yan etkiler görülebilir(181,194). Allerjik reaksiyon gelişme riskinin 100bin IU'den yüksek dozlarda ve intravenöz yolla uygulamalarda iyice arttığı görülmüş(181). Hyal uygulama öncesinde 3IU hyal ile cilt testi yapılması önerilmektedir(194).

2.6.2. Enoxaparin

Enoxaparin nonfraksiyone heparinin depolimerizasyonu ile elde edilen, molekül ağırlığı 4000-6000 dalton aralığında değişen düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) fragmanlarıdır. Bu heparin yüksek kapasite ile faktör Xa'yı, zayıf olarak anti-IIa veya antitrombin aktivitesini inhibe eder. Plazmatik ve vasküler proteinlere, endotel hücrelere, makrofaj ve trombositlere ilgisi düşüktür. Plazmatik yarı ömrü düşüktür ve yüksek miktarlarda bulunur. Non fraksiyone heparine kıyasla trombositopeni ile ilişkili yan etkileri ve kanama riski daha düşüktür(195,196). Heparinin antikoagülan etkisinin yanında antiinflamatuvar etki, immünolojik düzenleme, büyüme faktörlerinin aktivasyonu gibi birçok biyolojik etkisi vardır(197,198). Heparin insan hücre kültürlerinde büyüme faktör aktivitesini artırarak endotel hücrelerine kemotaktik etki yapar ve vasküler neoformasyon yaparak anjiyogenezi düzenler(199). Diğer yandan steroidal ve non steroidal ajanlar gibi kapanmış yaraların gerim gücünü, epitelizeasyonu ve yara kontraksiyonunu azaltarak antiinflamatuvar etki gösterir(198,200). Lokal koagülasyon süreçleri iyileşme için önemli fibrin matriks üretirken sistemik disfibrinojenasyon germe gücünün gelişimini geciktirir(201). Heparin güçlü bir antikoagülan olduğu için yaralardaki fibrin birikimlerini teorik olarak azaltır ve yara iyileşmesini geciktirir. Heparin farklı iyileşme fazlarına çeşitli etkilerde bulunur fakat hangi etkinin hakim olduğunu belirlemek kolay değildir. Bu yüzden heparin ve fragmanlarının cerrahi travma ve yara iyileşmesine potansiyel etkisi çok önemlidir(198).

Heparinin DMAH ile paylaştığı farmakolojik limitleri vardır. Bu limitlerden dolayı heparin sadece hastane şartlarında yapılabilir. Çünkü etkisi monitörize edilmeli ve dozajı sık ayarlanmalıdır. Buna karşın DMAH hastanede de hastane dışında da uygulanabilir. Çünkü subkutan uygulanır ve monitörizasyon gerektirmez. Uzun dönemli antikoagülan tedavi gerektiğinde heparin ve DMAH genelde oral antikoagülanlardan sonra kullanılır. Gebelik ve tekrarlayan venöz tromboemboli gibi durumlarda ise oral antikoagülanlara karşın uzun dönem heparin ve DMAH tedavisi gerekebilir(202).

Heparin antikoagölan etkisini ATIII üzerinden yapar. Heparin ATIII'e bağlanarak trombin ve FXa ile etkileşime girmesini hızlandırır. DMAH koagölasyon kaskadının başlangıç basamaklarındaki pıhtılaşma faktörlerini inaktive eder, ileri basamaklara dokunmaz. Bu nedenle pıhtılaşma zamanını çok az değıştirerek kanamaya neden

olmaksızın trombüs oluşumunu önler. Bu durum DMAH'ın heparine üstünlüğüdür. DMAH FXa etkinliğini selektif olarak hızlandırır. DMAH antitrombin etkinliği düşük anti FXa etkinliği güçlüdür(203). Enoxaparin DMAH grubundan bir ilaçtır. Dolgu komplikasyon tedavilerinde klinik tecrübe olarak denenmiş ve ilaçtan fayda görölmüşür(204,205). Çalışmamızda amaç enoxaparinin antikoagölan etkisinden yararlanarak HA dolgularına bağlı vasküler komplikasyonları gidermesinde etkinliğini araştırmaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Genel Hazırlıklar

Bu tez çalışması için Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu ‘nın (DÜHADEK) 30/06/2022 tarihli ve 2022/39 protokol numaralı onayı alındı. Çalışma Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM) bünyesinde gerçekleştirildi. Deney sonunda ratlardan alınan örneklerin histopatolojik incelenmesi Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmada 18 adet Sprague-Dawley türünde ortalama 250-350 gr ağırlığında 16-20 haftalık dişi ratlar kullanıldı. Deney hayvanları $22 \pm ^\circ\text{C}$ ’de, %60-70 nem oranında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyotlarına uyularak, uygun hava akımı koşullarında tutuldu. Pelet şeklinde yem ve suyla beslendi.

Deneyler başlanmadan önce laboratuvar veteriner hekimi ratları değerlendirdi. Ratlarda beslenme yetersizliği, enfeksiyon ve açık yara gibi bulguların yanı sıra başka bir sağlık problemini işaret edecek herhangi bir bulguya rastlanmadığı doğrulandı. Tüm deney hayvanlarında cerrahi işlemler genel anestezi altında, veteriner hekim gözetiminde yapıldı.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneyde 18 rat kullanıldı. Ratlar randomize şekilde 3 gruba ayrıldı. Kullanılacak rat sayısını azaltmak amacıyla Sham ve Kontrol grubu aynı ratlarda oluşturuldu. 6 ratın hem sağ hem sol tarafından superficial epigastrik arter tabanlı oblik kasık flebi eleve edildi(Şekil 3-1). Sol taraftan eleve edilen flepler Sham grubu olarak adlandırılırken sağ taraftan eleve edilen flepler ise kontrol grubu olarak adlandırıldı.

Grup 1 (Sham grubu) : İlk 6 ratın sol tarafından oblik kasık flebi eleve edildi. Eleve edilen flebe herhangi bir ek işlem uygulanmadan flep yerine iade edildi.

Grup 2 (Kontrol Grubu) : İlk 6 ratın sağ tarafından oblik kasık flebi eleve edildi. Eleve edilen flebi besleyen superficial epigastrik artere 0,02 ml HA dolgusu verildi(20).

Grup 3 (Deney Grubu) : 6 ratın sağ tarafından oblik kasık flebi eleve edildi(Şekil 3-2). Eleve edilen flebi besleyen superficial epigastrik artere 0,02 ml HA dolgusu verildi. 45 dakika sonra rat kuyruk veninden 2500IU/kg rekombinant hyal enzimi verildi(20).

Grup 4 (Deney Grubu) : 6 ratın sağ tarafından oblik kasık flebi eleve edildi. Eleve edilen flebi besleyen superficial epigastrik artere 0,02 ml HA dolgusu verildi. 45 dakika sonra rat kuyruk veninden 2500IU/kg rekombinant hyal enzimi verildi. İlave olarak ratın sırtına subkutan yoldan 1 mg/kg Enoxaparin verildi(198).

3.3. Deneyde Kullanılacak Malzemeler

3.3.1. HA içerikli dolgu maddesi

Çalışmamızda HA içerikli dolguların vasküler komplikasyonlarının tedavisine yönelik araştırma planlanmıştır. Çalışmamızda bu amaçla Restylane® Kysse™ (Galderma, ABD) (Şekil 3-1) isimli bifazik dolgu kullanılmıştır. Bakteriyel orijinli, steril, şeffaf, biyouyumlu, viskoelastik ve homojen bir jeldir. Dolguda BDDE çapraz bağı kullanılmıştır. Bu dolgunun HA konsantrasyonu 20 mg/ml'dir. İçeriğinde %0,3 oranında lidokain mevcuttur. Kaldırma kapasitesi ortadır.

3.3.2. Hyal Enzimi

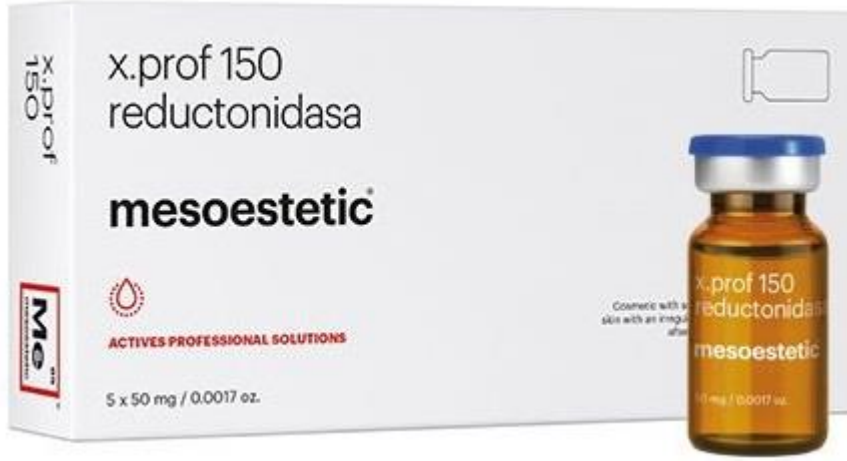
Çalışmada HA dolgusunu eritme amacıyla rekombinant teknoloji ile üretilen X. Prof. 150 Reductonidase (Mesoestetic®, İspanya) (Şekil 3-2) isimli insan hyal enzimi kullanılmıştır. Bu ürün flakonda sulandırmaya hazır toz şeklinde 1500 Ü rekombinant hyal içerir.

3.3.3. Enoxaparin

Çalışmamızda HA vasküler komplikasyonlarının tedavisinde etkisini araştırmak üzere Clexane 6000 anti-Xa/0,6 mL (Sanofi) (Şekil 3-5) isimli ilaç kullanılmıştır. İçeriğinde 60 mg enoxaparin sodyum bulunur. DMAH grubundan bir ilaçtır. Domuz intestinal mukozasından türetilen heparin benzil esterinin alkalik depolimerizasyonu ile elde edilmektedir.



Şekil 3-1 : Deneyde kullanılan HA içerikli dolgu maddesi



Şekil 3-2 : Deneyde kullanılan rekombinant hyal enzimi



Şekil 3-3 : Deneyde kullanılan enoxaparin etken maddeli ilaç

3.4. Cerrahi İşlemler

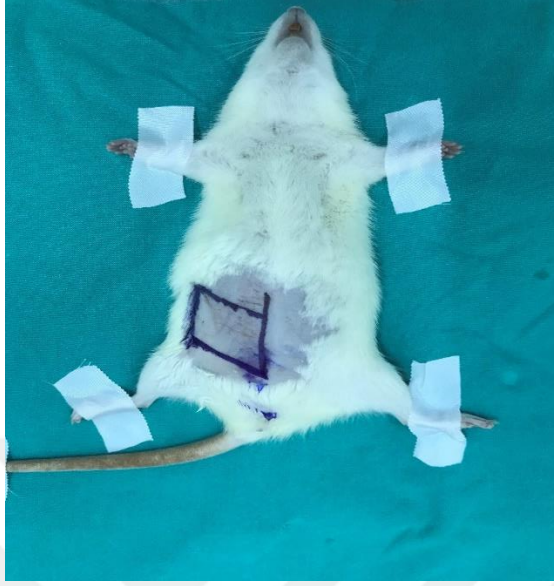
Çalışmamızda HA vasküler komplikasyonlarının tedavisine yönelik benzer çalışmalarda gibi, ratlarda oblik kasık flebinde HA embolisine bağlı cilt nekrozu modeli kullanıldı(20).Tüm ratlara aseptik şartlarda intramüsküler yolla 50mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun®, Bayer, İstanbul, Türkiye) im yoldan verilerek tüm cerrahi işlemler genel

anestezi altında yapıldı. Anestezi derinliği kornea refleksi, parmak kısıtırma, ekstremitte yanıtı gibi yöntemlerle kontrol edildi, gereği durumunda ek ilaç dozu verildi.

Genel anestezi sonrası ratların kasık bölgeleri tıraş edildi. Ardından povidon iyot çözeltisi ile boyandı ve alkol ile temizlendi. Ratların kasık bölgelerinde 2,5x5 cm boyutlarında oblik kasık flebi tasarlandı. İlk 6 ratın hem sağ hem solundan kaldırılacak şekilde bilateral flep çizimi yapıldı(Şekil 3-4). Geriye kalan 12 ratın sadece sağ tarafından kaldırılacak şekilde oblik kasık flebi çizimi yapıldı(Şekil 3-5).



Şekil 3-4 :Bilateral Oblik Kasık Flebi Çizimi



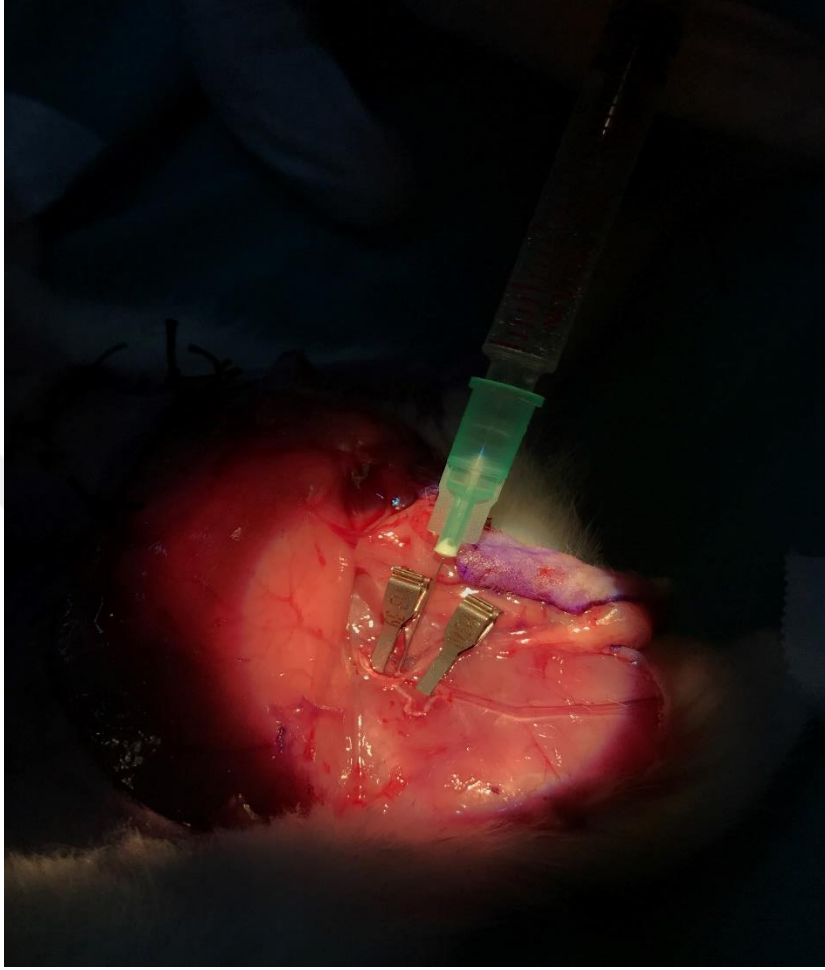
Şekil 3-5 : Grup 3 ve 4'te kaldırılan fleplerin çizimi

Çizim sonrası 15 numara bistüri ile flebin sırası ile medial, superior ve lateral sınırları çizildi. Ardından gevşek bağ doku üzerinden künt disseksiyon yapılarak inferiora doğru ilerlendi. Superficial epigastrik arter ve venin flebe verdiği dallar görüldü. İnguinal yağ yastıkçığı da flebe dahil edildi. İnguinal ligamanın altında superficial epigastrik arter ve venin femoral arter ve venden çıktığı yer tespit edildi, pedikülün güvene alındığından emin olduktan sonra flebin alt sınırı da insize edilerek kasık flebi, ada flebi şeklinde eleve edilmiş oldu(Şekil 3-6).



Şekil 3-6 : Eleve edilmiş flebin görüntüsü

Flep eleve edildikten sonra mikroskop altında femoral arter, superficial epigastrik arter dalını verdiği bölgede disseke edilip femoral venden serbestlendi. Ardından superficial epigastrik arterin femoral arterden çıktığı yerin proksimal ve distali bulldog klempleri ile dışardan tıkandı. Bu şekilde flebin kan dolaşımı durdurulmuş oldu. Bulldoglar arasında kalan bölgede superficial epigastrik arterin femoral arterden çıktığı yerin karşı duvarından mikromakas yardımıyla küçük bir insizyon açıldı. 32 gauge iğne ucu bu insizyondan geçirilerek 0,02 ml Restylane® Kysse™ (Galderma, ABD) isimli HA dolgusu verildi(Şekil 3-7).



Şekil 3-7 : HA dolgusunun uygulanması

3.5. Gruplara Göre Uygulanan İşlemler

3.5.1. Grup 1 (Sham grubu)

Bu grup bilateral oblik kasık flebi eleve edilen ratların sol tarafındaki fleplerdir. Bu flepler bölüm 3.4’te anlatıldığı şekilde eleve edildikten dolgu veya başka herhangi bir uygulama yapılmadan yerine iade edildi. Fleplerin insizyon hatları 4.0 İpek sütürlerle sütüre edildi. Yara yerlerine pansuman yapıldı. Flepleri korumak amacıyla ratlara koruyucu giysi giydirildi. 7 gün boyunca günlük yara bakımı ve pansumanı yapıldı.

3.5.2. Grup 2 (Kontrol grubu)

Bu grup bilateral oblik kasık flebi eleve edilen ratların sağ tarafındaki fleplerdir. Bu flepler bölüm 3.4'te anlatıldığı şekilde eleve edildi. Ardından anlatıldığı şekilde 0,02 ml HA dolgusu verildi. Dolgu verildikten sonra damar duvarına açılan insizyon 10/0 prolene (Propilen Doğsan®) suture ile onarıldı. Flep yerine iade edildi. İnsizyon hatları 4/0 ipek (Silk, Doğsan®) suture ile onarıldı. Bulldog klempleri çıkarılıp femoral arterdeki akım gözlendi. Yara yerlerine pansuman yapıldı. Flepleri korumak amacıyla ratlara koruyucu giysi giydirildi. 7 gün boyunca günlük yara bakımı ve pansumanı yapıldı.

3.5.3. Grup 3 (Hyal grubu)

Bu grupta flepler ratların sağ tarından bölüm 3.4'te anlatıldığı şekilde eleve edildi. Ardından anlatıldığı şekilde 0,02 ml HA dolgusu verildi. Dolgu verildikten sonra damar duvarına açılan insizyon 10/0 prolene (Propilen Doğsan®) suture ile onarıldı. Flep yerine iade edildi. Bulldog klempleri çıkarılıp femoral arterdeki akım gözlendi. İnsizyon hatları 4/0 ipek (Silk, Doğsan®) suture ile onarıldı(Şekil 3-8).

X. Prof. 150 Reductonidase (Mesoestetic®, İspanya) isimli rekombinant hyal enzimi 2 cc ile sulandırıldı. Ratların ağırlığı tartı aleti ile tartıldı. Dolgu verildikten 45 dakika sonra bu gruptaki ratların kuyruk venine mor angiocath ile damar yolu açıldı. Bu damaryolundan ratların ağırlığına göre 2500 IU/kg dozunda hazırlanan rekombinant hyal enziminden verildi(Şekil 3-9). Yara yerlerine pansuman yapıldı. Flepleri korumak amacıyla ratlara koruyucu giysi giydirildi. 7 gün boyunca günlük yara bakımı ve pansumanı yapıldı.



Şekil 3-8 : Eski yerine suture edilmiş flep



Şekil 3-9 : Kuyruk veninden hyal enzimi verme

3.5.4. Grup 4 (Hyal + Enoxaparin grubu)

Bu grupta flepler ratların sağ tarından bölüm 3.4'te anlatıldığı şekilde eleve edildi. Ardından anlatıldığı şekilde 0,02 ml HA dolgusu verildi. Dolgu verildikten sonra damar duvarına açılan insizyon 10/0 prolene (Propilen Doğsan®) suture ile onarıldı. Flep yerine iade edildi. Bulldog klempleri çıkarılıp femoral arterdeki akım gözlemlendi. İnsizyon hatları 4/0 ipek (Silk, Doğsan®) suture ile onarıldı.

X. Prof. 150 Reductonidase (Mesoestetic®, İspanya) isimli rekombinant hyal enzimi 2 cc ile sulandırıldı. Ratların ağırlığı tartı aleti ile tartıldı. Dolgu verildikten 45 dakika sonra bu gruptaki ratların kuyruk venine mor angiocath ile damar yolu açıldı. Bu damaryolundan ratların ağırlığına göre 2500 IU/kg dozunda hazırlanan rekombinant hyal enziminden verildi.

Clexane 6000 anti-Xa/0,6 mL (Sanofi) isimli Enoxaparin etken maddeli ilaç izotonik sodyum klorür çözeltisi ile 100 ml'ye sulandırılarak hazırlandı. Hyal enzimi verildikten sonra ratların ağırlığına göre 1mg/kg dozunda sırt bölgesindeki deriye subkutan yoldan uygulandı. Ardından 6 gün boyunca günde bir kere 1mg/kg dozunda Enoxaparin uygulanmaya devam edildi. Toplamda 7 doz enoxaparin uygulanmış oldu.

Yara yerlerine pansuman yapıldı. Flepleri korumak amacıyla ratlara koruyucu giysi giydirildi. 7 gün boyunca günlük yara bakımı ve pansumanı yapıldı (Şekil 3-10).



Şekil 3-10 : Enoxaparin uygulama

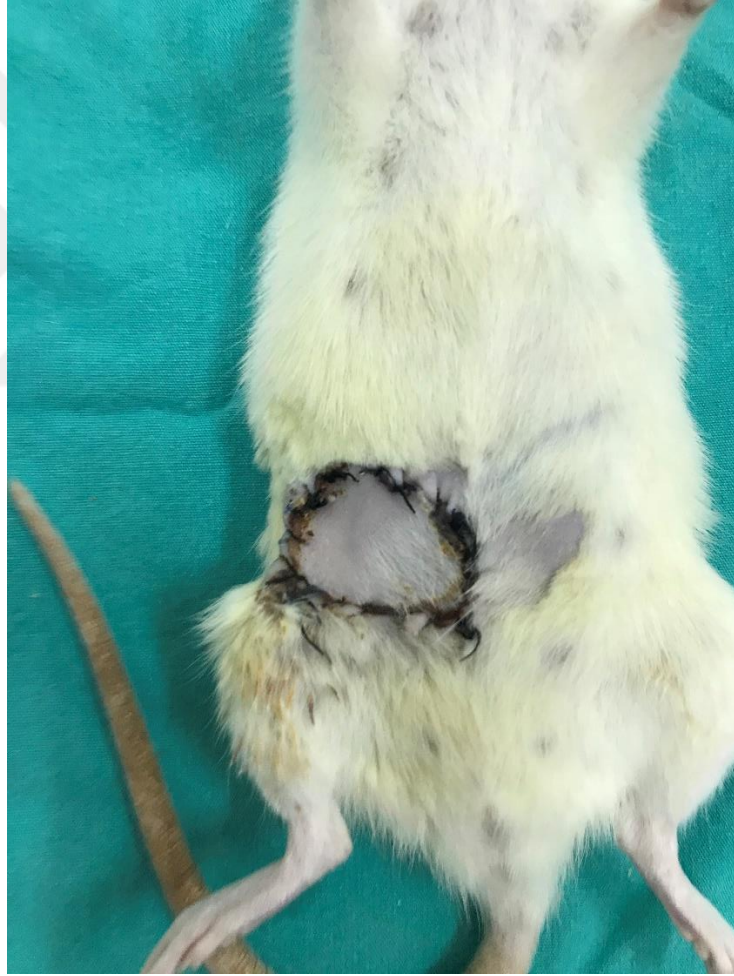
3.6. Doku Örneklerin Alınması

Ratlar ilk cerrahi girişimden 7 gün sonra 100mg/kg ketamin im yoldan verilerek ötenazi uygulandı. Ardından tüm ratların flepleri makroskobik değerlendirme için fotoğraflandı. Ardından sütürler açılarak flepler eski insizyon yerlerinden tekrar kaldırıldı. Flepleri besleyen superficial epigastrik arterler çevre dokulardan disseke edildi, femoral arterden dallanma noktasından kesildi. Superficial epigastrik arter flebe birleşik şekilde alınıp içinde %10'luk formaldehit solüsyonu olan patoloji kaplarının içine yerleştirildi. Kaplar başta grup ikinci sırada rat numarası olacak şekilde (G2-R1 gibi) numaralandırıldı. Ardından dokular Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına teslim edildi.

3.7. Değerlendirme Yöntemleri

3.7.1. Makroskopik değerlendirme

Ratlara ötenazi uygulandıktan sonra tüm fleplerin fotoğrafları çekildi(Şekil 3-11) Fotoğraflar başta grup ikinci sırada rat numarası olacak şekilde (G2-R1 gibi) isimlendirildi. Ardından fotoğraflar Autocad iPad versiyon 6.6.0 ile değerlendirildi ve nekroz yüzdeleri hesaplandı.



Şekil 3-11 : Ötenazi sonrası fotoğraflama

3.7.2. Histopatolojik değerlendirme

Flepler %10'luk nötral formalin ile 24 saat tespit edildi. Superficial epigastrik arterlerin fleplere girdiği bölgeden örnekler alındı. Örnekler 18 saatlik doku takibi sonrasında parafine gömüldü. Mikrotomla 4 mikron kalınlığında enine kesitler alınarak Hematoksilen & Eozin (H&E) ile boyandı. Ayrıca immünohistokimyasal değerlendirme için CD31 ile değerlendirme yapıldı. Ardından ışık mikroskobu (Eclipse 50i, Nikon, Japonya) ile histopatolojik inceleme yapıldı. Histopatolojik incelemede konjesyon, inflamasyon, ödem, tromboz ve kanama parametreleri kullanıldı. İki farklı araştırmacı tarafından bağımsız olarak değerlendirme yapıldı. Değerlendirme kriterleri 0:Yok, 1:Hafif, 2:Orta, 3:Şiddetli olacak şekilde derecelendirildi.

3.7.3. İstatistiksel değerlendirme

Çalışmanın analizleri SPSS 25.0 paket programında yapılmıştır. Kategorik değişkenler sayı, yüzde, sürekli sayısal değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma, median (minimum – maksimum) değerleri ile özetlenmiştir. Kategorik değişkenlerin gruplar arasında karşılaştırmasında Ki-kare testi kullanılmıştır. Sürekli sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile kontrol edilmiştir. Gruplar arasında sayısal verilerin normal dağılmadığı belirlenmiştir. Sürekli sayısal değişkenlerin iki grup arasında karşılaştırmasında Mann Whitney U testi, ikiden fazla grup arasında karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılığın kaynaklandığı grupların belirlenmesinde Bonferroni düzeltmesi yapılarak p değerleri sunulmuştur. İstatistiksel olarak p değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

Tüm ratlar cerrahiden 2 saat sonra anestezi etkisinden çıkıp normal aktivite ve diyetlerine devam ettiler. Tüm ratların yara yerine günlük yara bakımı ve povidon iyot ile pansuman yapıldı. Hiçbir flepte yara ayrışması veya enfeksiyon görülmedi. Grup1'deki (Sham grubu) tüm flepler sağlıklıydı ve fleplerde nekroz görülmedi. Fleplerde ilk günlerde konjesyon ve ödem gözlemlendi. Grup 2'deki (Kontrol grubu) fleplerin tamamına yakını nekroza gitmişti. Grup 3 (Hyal Grubu) ve Grup 4'teki (Hyal + Enoxaparin grubu) fleplerde değişen oranlarda nekroz görülmüştü.

Tüm fleplerin nekroz yüzdeleri bağımsız bir araştırmacı tarafından Autocad iPad versiyon 6.6.0 programı ile hesaplandı . Autocad programı mimarlık ve inşaat mühendisliği gibi alanlarda teknik resim çizmek için kullanılan bilgisayar destekli tasarım programıdır. Hesaplanan nekroz yüzdelерinden örnekler aşağıda yer almaktadır (Şekil 4-1,2,3,4)



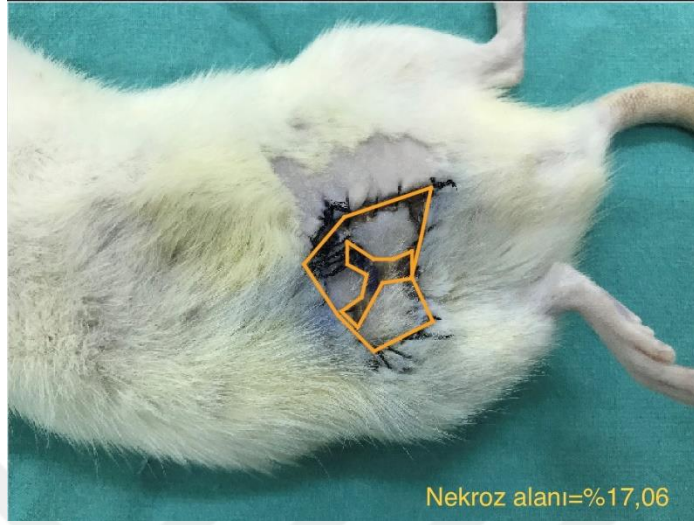
Şekil 4-1 : Grup3-Rat2



Şekil 4-2 : Grup3-Rat5



Şekil 4-3 : Grup4-Rat2



Şekil 4-4 : Grup4-Rat4

Deney grupları arasında nekroz yüzdesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı ($p < 0,001$). Grup 1 ile karşılaştırıldığında grup 2 ($p = 0,033$) ve grup 3'te ($p < 0,001$) nekroz yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlayken, grup 1 ile grup 4 arasında anlamlı fark yoktu ($p = 1,0$). Bu durum enoxaparin ve hyal verilen grubun dolgu verilmeyen sağlıklı fleplerin bulunduğu Sham grubu ile en benzer grup olduğunu ve hyal ile kombine enoxaparin verilmesinin komplikasyon tedavisindeki etkinliğini gösterir.

Grup 4 ile karşılaştırıldığında grup 2'de nekroz yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlayken ($p = 0,015$), grup 3 ile grup 4 arasında anlamlı düzeyde fark yoktu ($p = 0,883$). Grup 2 ile grup 3 arasında nekroz yüzdesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark yoktu ($p = 0,693$).

Grup 1 ve grup 2'yi analizlere dahil etmeden yapılan, grup 3 ve grup 4 arası karşılaştırma sonucuna göre, grup 3 ile karşılaştırıldığında grup 4'te nekroz yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha azdı ($p = 0,002$). Bu durum HA vasküler komplikasyonlarında enoxaparin ile kombine edilen sistemik tedavinin yalnızca hyal verilen tedaviye göre daha etkili olduğunu göstermektedir.

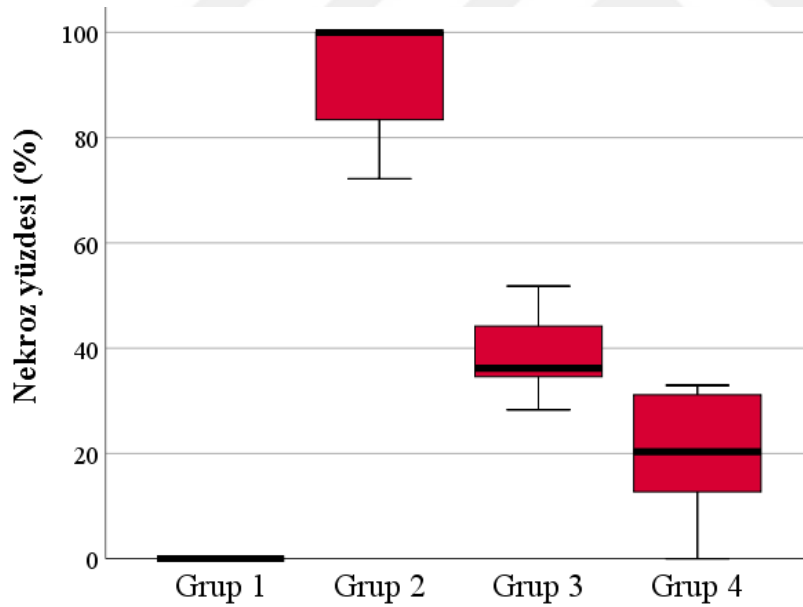
Tablo 4-1: Gruplar arasında nekroz yüzdesinin karşılaştırılması

	Grup 1 (n = 6)	Grup 2 (n = 6)	Grup 3 (n = 6)	Grup 4 (n = 6)	<i>p</i>
Nekroz	0,0 ± 0,0	92,60 ± 12,01 ^{a,b}	38,53 ± 8,28 ^a	19,59 ± 12,37	<0,001
Yüzdesi	0,0 (0,0 - 0,0)	100,0 (72,18 - 100,0)	36,14 (28,29 - 51,80)	20,35 (0,00, - 32,94)	

Veriler ortalama ± standard sapma ve median (minimum – maksimum) değerleri ile özetlenmiştir.

Karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. İkili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

^a: Grup 1'den anlamlı düzeyde daha fazla, ^b: Grup 4'ten anlamlı düzeyde daha fazla

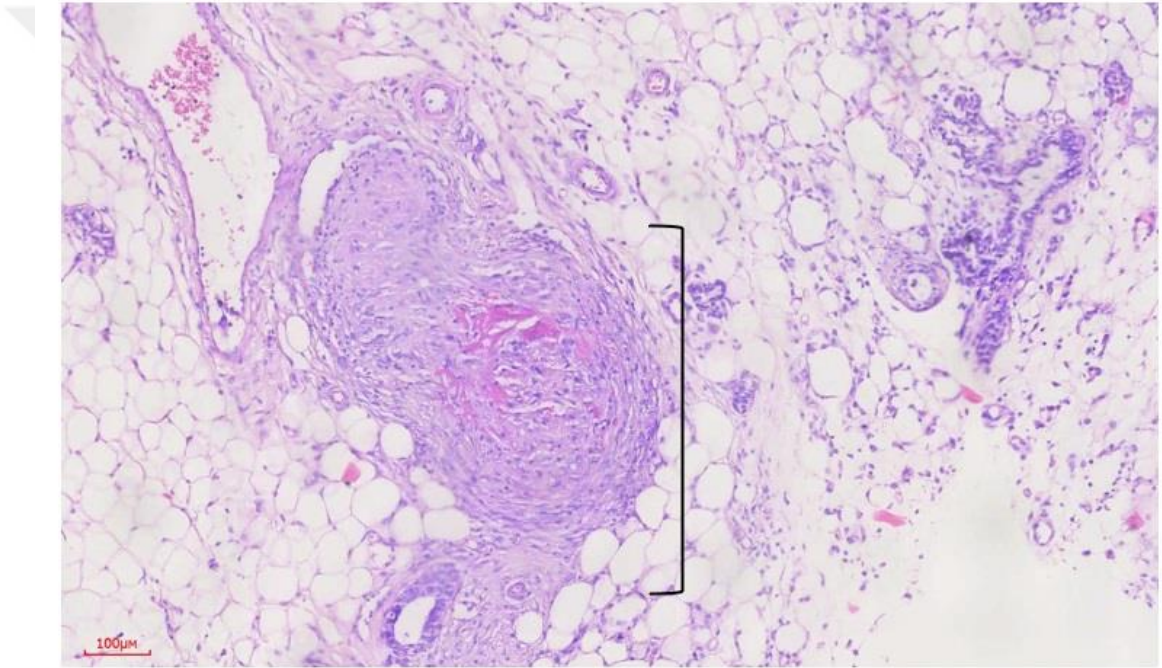


Şekil 4-5 : Gruplar arasında nekroz yüzdesinin dağılımının grafiksel gösterimi

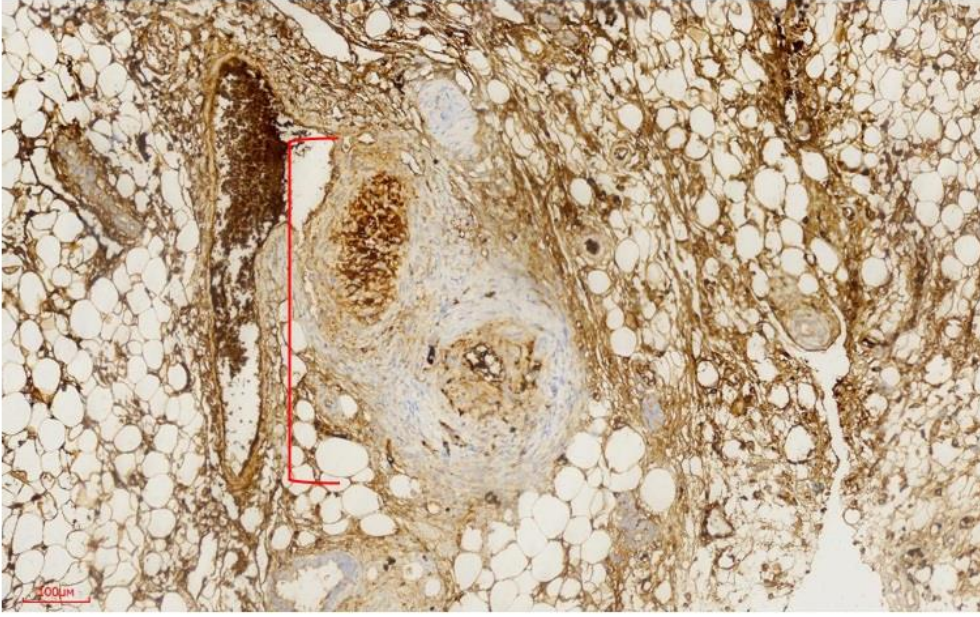
4.2. Histopatolojik Bulgular

Fleplerden alınan örnekler Hematoksilen Eozin ile boyama yapıldı. Bu boyama ile gruplar arasındaki konjesyon, inflamasyon, ödem, tromboz ve kanama düzeyleri değerlendirildi. 0:Yok, 1:Hafif, 2:Orta, 3:Şiddetli olacak şekilde parametreler

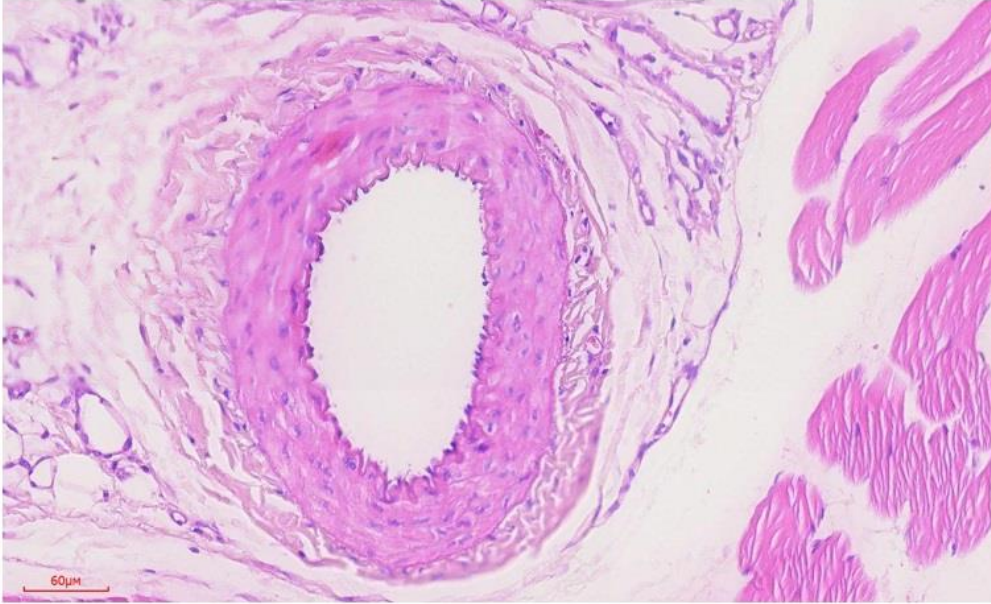
derecelendirildi. Konjesyon, inflamasyon, ödem ve kanama düzeylerinin gruplar arasında benzer olduğu izlendi. Fakat Sham grubu olan grup 1’de trombüs saptanmazken diğer gruplarda değişen oranlarda trombüs saptandığı izlendi. Özellikle kontrol grubu olan Grup 2’de trombüs düzeylerinin görece diğer gruplara göre daha fazla olduğu izlendi(Şekil 4-6). Ayrıca immünohistokimyasal değerlendirme için örneklerle CD31 boyama yapıldı. Bu boyama ile bazı örneklerde organize trombüs izlendi(Şekil 4-7).



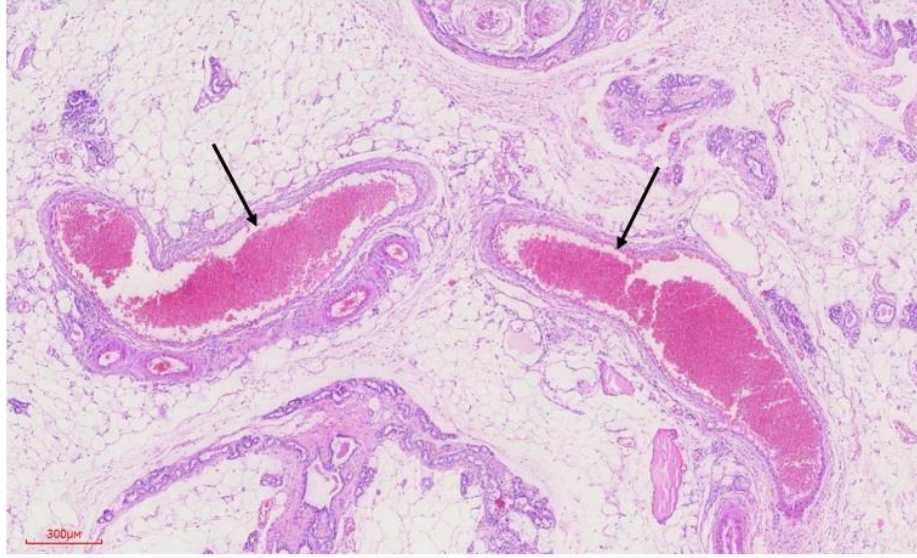
Şekil 4-6 : Grup 2 Damar lümenini doldurmuş, organize olmuş trombüs (x100 H&E)



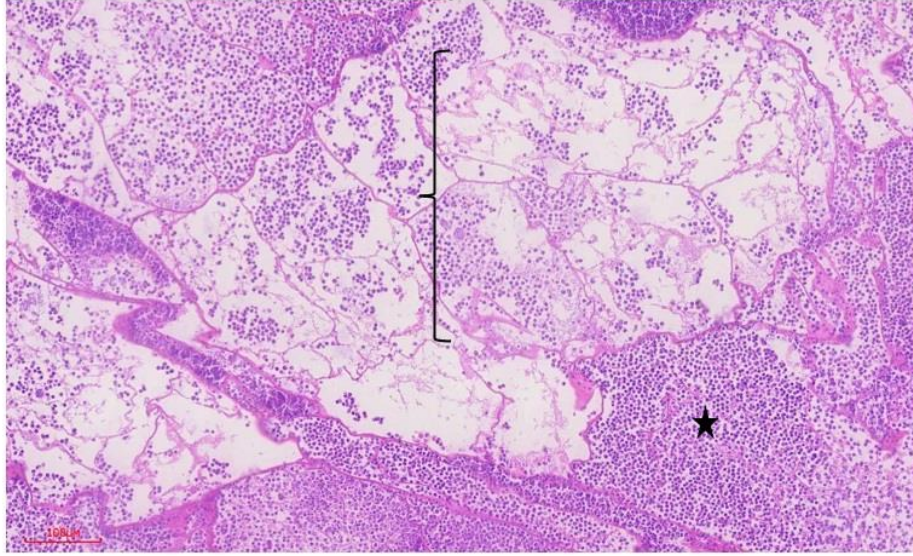
Şekil 4-7 : CD31 pozitif boyanan organize trombüs



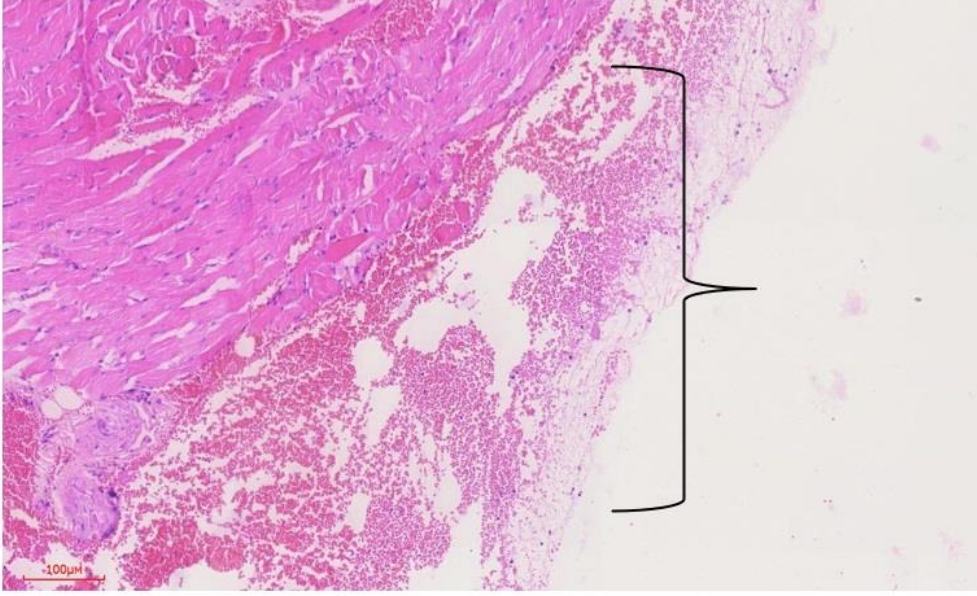
Şekil 4-8 : Grup 1 normal arter görünümü (x200 H&E)



Şekil 4-9 : Grup 3 (x40 H&E) (Siyah ok ile işaretli konjesyone damar)



Şekil 4-10 : Grup 2 (x100 H&E) Yıldız: Yoğun inflamasyon alanı ve beraberinde ödem varlığı



Şekil 4-11 : Grup 4 kanama alanı (x100 H&E)

Çalışmaya dahil edilen dört grup arasında karşılaştırma yapıldığında gruplar arasında konjesyon ($p = 0,579$), ödem ($p = 0,078$), inflamasyon ($p = 0,146$) ve kanama ($p = 0,058$) düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup 1 ile karşılaştırıldığında diğer gruplarda trombüs düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($p < 0,001$). Bu durum HA dolgularına bağlı vasküler oklüzyon modelinde dolgunun etrafına biriken trombüsün dolaşım bozukluğunu arttırmada etkili olduğunu göstermektedir. Buna bağlı bu trombüsün oluşumuna yönelik antikoagülan ilaç kullanımının gerekliliğini ispatlar niteliktedir.

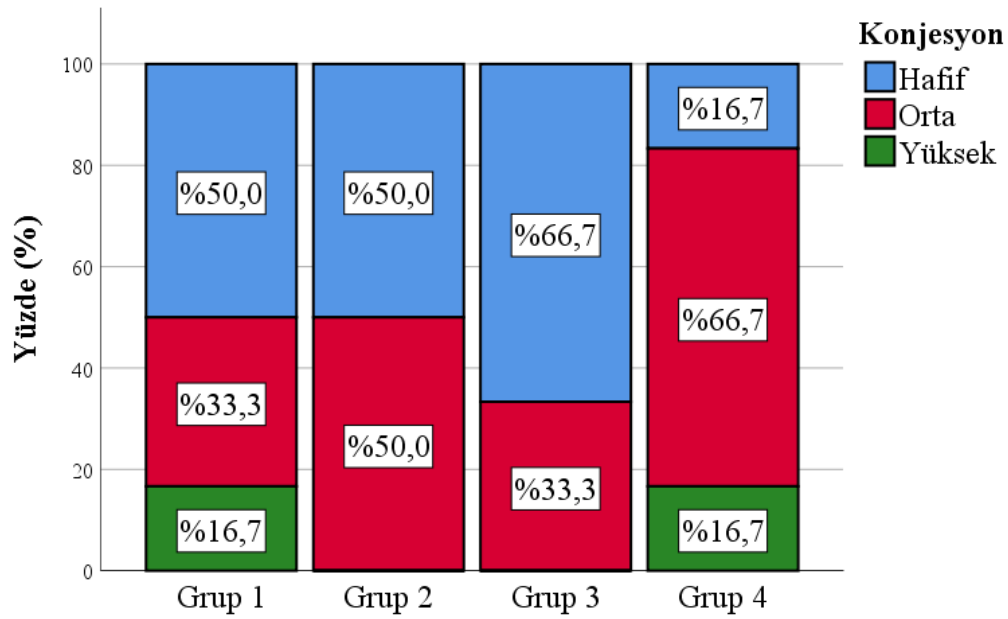
Grup 1 çalışmadan çıkarılarak yapılan üç gruplu analiz sonuçlarına göre ise sadece ödem düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu görüldü. Buna göre grup 4 ile karşılaştırıldığında grup 2 ve 3'te ödem düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($p = 0,027$). Bu üç grup arasında yapılan diğer karşılaştırmalar olan konjesyon ($p = 0,353$), inflamasyon ($p = 0,434$), kanama ($p = 0,199$) ve trombüs ($p = 0,116$) düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4-2 : Gruplar arasında histopatolojik sonuçların karşılaştırılması

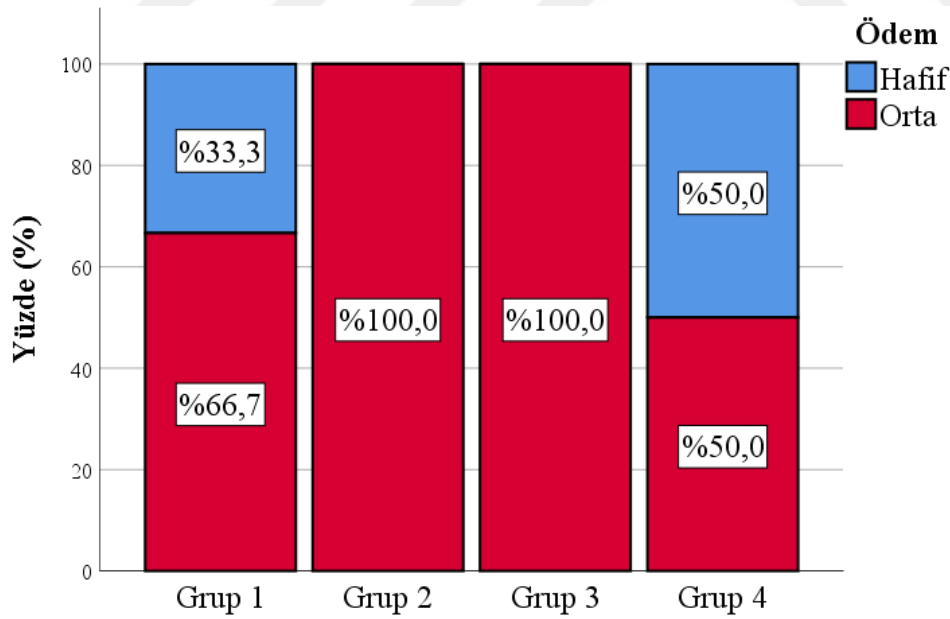
Bulgu	Grup 1 (n = 6)		Grup 2 (n = 6)		Grup 3 (n = 6)		Grup 4 (n = 6)		p
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
Konjesyon									
Hafif	3	50,0	3	50,0	4	66,7	1	16,7	0,579
Orta	2	33,3	3	50,0	2	33,3	4	66,7	
Yüksek	1	16,7	0	0,0	0	0,0	1	16,7	
Ödem									
Hafif	2	33,3	0	0,0	0	0,0	3	50,0	0,078
Orta	4	66,7	6	100,0	6	100,0	3	50,0	
İnflamasyon									
Hafif	0	0,0	3	50,0	2	33,3	5	83,3	0,146
Orta	3	50,0	2	33,3	2	33,3	1	16,7	
Yüksek	3	50,0	1	16,7	2	33,3	0	0,0	
Kanama									
Yok	4	66,7	0	0,0	0	0,0	2	33,3	0,058
Hafif	2	33,3	4	66,7	4	66,7	4	66,7	
Orta	0	0,0	2	33,3	2	33,3	0	0,0	
Trombüs									
Yok	6	100,0 ^a	0	0,0 ^b	0	0,0 ^b	1	16,7 ^b	<0,001
Hafif	0	0,0	0	0,0	3	50,0	4	66,7	
Orta	0	0,0	3	50,0	2	33,3	1	16,7	
Yüksek	0	0,0	3	50,0	1	16,7	0	0,0	

Karşılaştırmalarda Ki-kare testi kullanılmıştır. İkili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

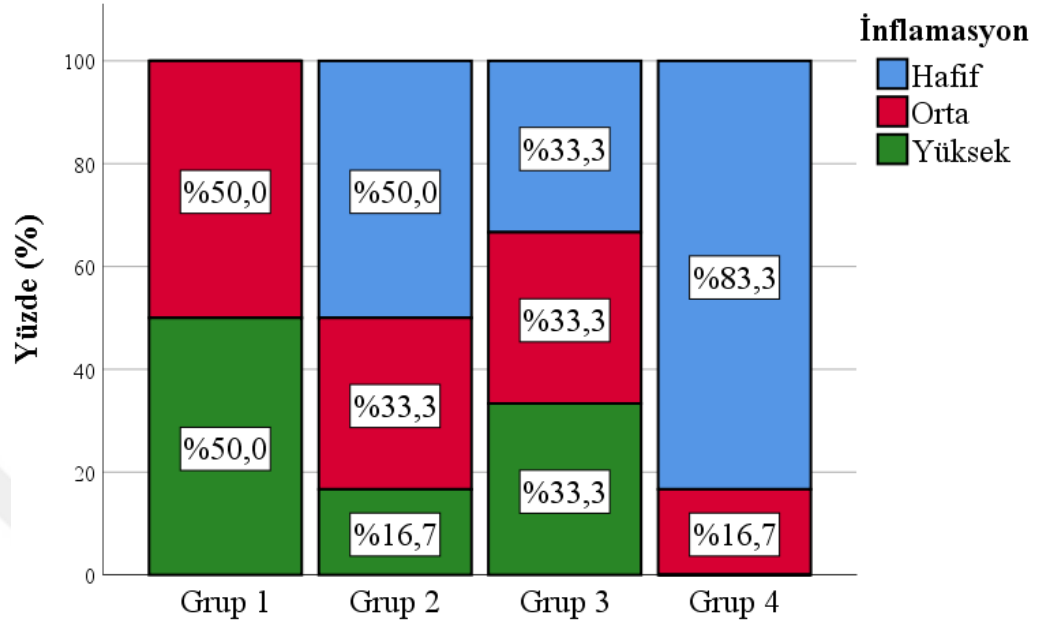
^{a,b}: Farklı harfle gösterilen kategoriler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.



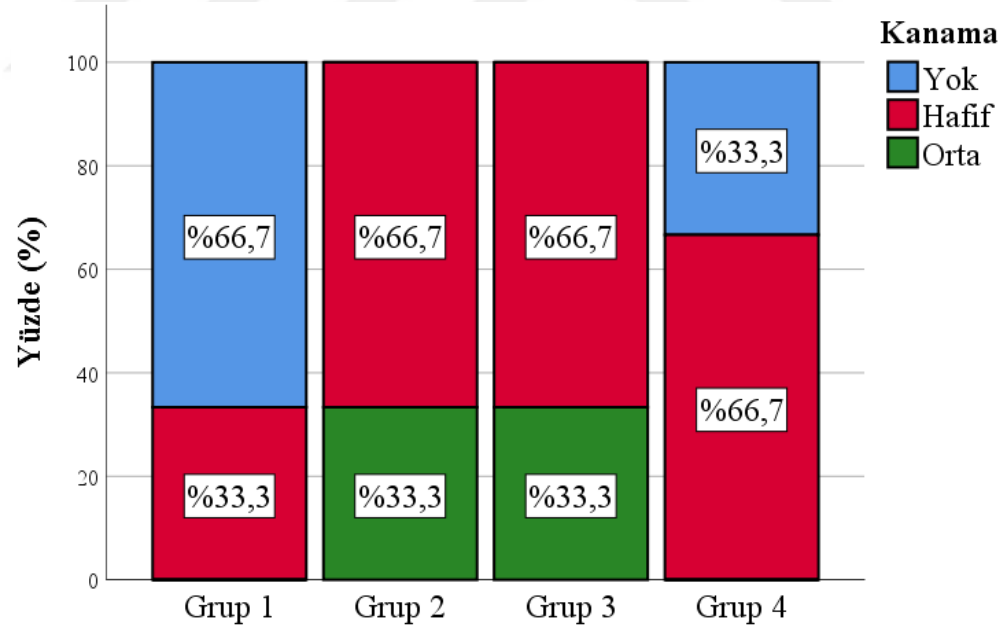
Şekil 4-12 : Gruplar arasında konjesyon düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi



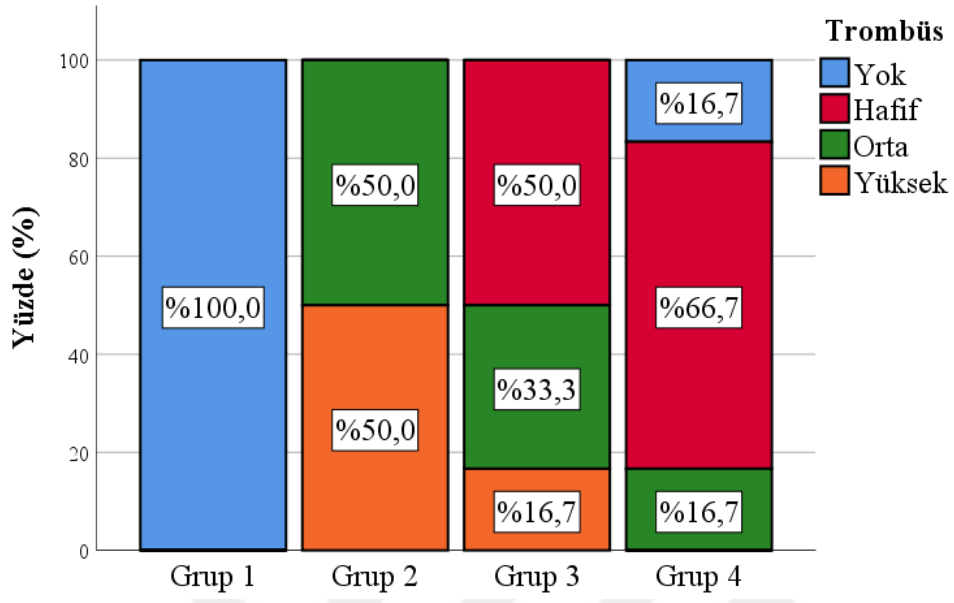
Şekil 4-13 : Gruplar arasında ödem düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi



Şekil 4-14 : Gruplar arasında inflamasyon düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi



Şekil 4-15 : Gruplar arasında kanama düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi



Şekil 4-16 : Gruplar arasında trombüs düzeyi dağılımının grafiksel gösterimi

5. TARTIŞMA

Dolgu uygulamaları yüz gençleştirme uygulamaları içerisinde giderek artan sıklıkta başvurulanan yöntemlerden biri olmaktadır. Bunun sebepleri arasında poliklinik şartlarında yapılabilmesi, kolay uygulanabilir olması ve estetik işlemlere ilginin artması yer alır. Dolgu uygulamaları uzmanlık gerektiren işlemler olduğu halde dolgulara kolay ulaşılabilirlik sayesinde dermatoloji ve plastik cerrahi uzmanları dışında medikal ve medikal olmayan uygulayıcılar arasında da kullanımı yaygınlaşmaktadır. Dolgu uygulamalarının uzmanlar tarafından yapılması durumunda komplikasyon riski nispeten düşük olduğu halde uzman olmayan ve yetkisiz kişilerce merdiven altı koşullarda yapılması sonucu komplikasyonlar giderek yaygınlaşmaktadır.

Dolgu uygulamaları sonrasında meydana gelebilecek komplikasyonlara karşı uygulama öncesinde mutlaka hastaya bilgi verilmelidir. Meydana gelebilecek komplikasyonlar ayrıntılı şekilde anlatılmalı ve aydınlatılmış onam formu imzalatılmalıdır. Bu komplikasyonların gelişmesi durumunda doktorların hukuki sorumluluklarını hafifletecek faktörlerden biridir. Dolgu komplikasyonlarını gelişmeden önlemek geliştikten sonra tedavi etmekten daha çok önem arz etmektedir. Dolgu uygulayıcılarının uygulama yapılacak bölgenin anatomisine çok iyi hakim olması gerekmektedir. Aksi takdirde dolgu vasküler yapıların içine verilebilir ve nekroz ve körlük gibi korkutucu sonuçlar gelişebilir. Literatürde yüze dolgu uygulaması sırasında tehlike arzeden bölgeler gösterilmiştir(206). Bu bölgeler iyi öğrenilmeli ve dolgu materyalleri doğru noktalara doğru derinlikte ve doğru miktarlarda yapılmalıdır. Ayrıca dolgu enjekte edilmeden önce enjektör pistonu geri çekilerek damar içinde olunmadığı doğrulanmalıdır.

Dolgu uygulamaları 1981 yılında sığır kollajeni kullanımının FDA tarafından onaylanmasıyla başlamıştır(1). Süreç içerisinde otolog yağ enjeksiyonu, sıvı silikon, poli-L laktik asit, kalsiyum hidroksiapatit, polimetil metakrilat, poliakrilamid jel gibi birçok dolgu türü kullanılmıştır(2).

Hyalüronik asit ECM'nin temel yapıtaşlarından olan bir GAG'dır. Sinovyal sıvılarda, göz içi vitröz sıvıda ve kıkırdaklarda bol miktarlarda bulunurlar(5). Dokuların büyümesi, gelişmesi, yara iyileşmesi ve eklem yüzlerini kayganlaştırma gibi görevleri bulunmaktadır(5,6). Sentetik hyalüronik asit esaslı dolgular; immün reaksiyon oluşturmama, farklı viskozitelere sahip olma, biyouyumluluk, hyalüronidaz enzimi ile çözülebilmek, overeneksiyon durumunda kolay düzeltilebilme, granülom riskinin düşük olması, vücut tarafından yıkılabilmek ve etkilerinin geri dönüşümlü olması gibi pekçok nedenden dolayı en çok tercih edilen dolgu türleri arasındadır(1,8–10). HA dolgularının bu tarz avantajlı yönleri bulunduğu halde uygulama sonrasında lokalize ödem, allerjik reaksiyon, eritem, nodül, granülom, enfeksiyon, apse gibi minör komplikasyonlar görülebilmektedir(14). Daha nadir olarak nekroz ve körlüğe sebep olan korkutucu vasküler komplikasyonlar görülebilir(2). Vasküler komplikasyonlar dolgunun doğrudan damar içine verilmesine bağlı gelişebildiği gibi, damara dışardan basısına bağlı olarak da gelişebildiği düşünülmektedir. HA dolgularının kullanımının artışı ile birlikte vasküler komplikasyonların görülme sıklığı da artmaktadır.

Yüz bölgesinde zengin bir vasküler ağ ve bu vasküler ağlar arasında da yaygın bağlantılar bulunmaktadır. Dolgu uygulama sırasında yanlışlıkla damar içine enjekte edilirse retrograd yoldan ilerleyip oftalmik arter ve santral retinal arteri tıkayabilir. Buna bağlı en korkutucu dolgu komplikasyonu olan körlük gelişebilir(18). Won Lee ve arkadaşlarının yaptığı bir tavşan çalışmasında HA dolgusu verilerek retinal arter oklüzyonu oluşturulmuş. Bunun tedavisinde retrobulber hyal enjeksiyonunun etkisi araştırılmış(207). Çalışmada bulgular elektroretinogram ile incelenmiş ve retrobulber enjeksiyonun etkili olduğu gösterilmiş. HA dolgularının retrograd olarak retinal arteri tıkaması sonrası perivasküler hyal uygulama yöntemi olarak retrobulber uygulama yapılabilir. Bu uygulama sonrası dolgu hızlıca eriyebilir, retinal arter tekrar revaskülarize olabilir. Retinal arter tarafından beslenen retina iskemiğe son derece duyarlı bir dokudur. Ayrıca retinal arter bir uç arter olup oklüzyonu durumunda acil müdahale edilmesi gerekmektedir. Yüz bölgesine HA dolgu uygulamalarından sonra özellikle burun gibi

kompozit dokularda cilt ve yumuşak doku nekrozu görülebilir. Bu vasküler komplikasyonların önlenmesi ve gelişmesi durumunda erken ve etkin tedavi uygulanması son derece önem arz etmektedir.

Literatürde bu komplikasyonların tedavi edilmesine yönelik pek çok çalışma yapılmasına rağmen ortak uygulanan bir algoritma yöntemi bulunmamaktadır. Dolguyu eriten hyal enzimi sıklıkla kullanılmasına rağmen tıkanıklığın lokalizasyonu tespit edilemediği için sistemik ilaçlar da denenmek zorunda kalınmıştır. Bu komplikasyonların tedavisinde hyal enzimi yanında prostoglandin E1, alteplaz , streptokinaz, ürokinaz , nitrogliserin, aspirin gibi pekçok ilaç denenmiştir(9,20–22).

Tedavi amaçlı hyal enzimleri başta koyun ve sığır testisinden elde edilerek kullanılmaktaydı. Bu hyal enzimlerinin yüksek alerjik yan etkileri olması nedeniyle bakteriyel hyal enzimleri denenmiştir(208). Son olarak alerjik reaksiyon riski çok daha düşük olan insan rekombinant hyal enzimleri üretilmiştir. Bu düşük yan etki profili nedeniyle bizim çalışmamızda rekombinant insan hyal enzimi kullanıldı. Yabancı kaynaklı bir hyal enziminin insanda alerjik yan etki gösterebildiği gibi insan hyal enziminin ratlarda allerji geliştirme riski mevcuttur. Fakat  alışmamızda hyal enzimi verilen hiçbir ratta uygulama sonrası alerjik reaksiyon görülmemiştir.

Hyal dolgusu ilk olarak 2007 yılında Hirsch ve ark. tarafından HA dolgusuna bağlı gelişen nekrozun tedavisinde subkutan yoldan kullanılmıştır(209). Arter içerisinde bulunan dolgunun neden olduğu direnç sebebiyle damar içine verilen hyal'ın tıklalı bölgeye ulaşamadığını gösteren çalışmalar bu durumu desteklemiştir(210,211). DeLorenzi ve ark. yine aynı çalışmada subkutan yoldan verilen hyal enziminin damar duvarını penetre edip damar içinde bulunan HA'yı eritebildiğini göstermişlerdir(210). Kim ve arkadaşlarının yaptıkları hayvan çalışmaları da bu bulguları destekler nitelikteydi. Hyal enziminin subkutan yoldan verildiğinde damar içindeki dolguyu eriterek kan akımını yeniden sağladığını ve nekrozu önlediğini göstermişlerdir. Ayrıca hyal enziminin damar içine verilmesi durumunda endotel hasarına neden olabileceğini, bundan dolayı subkutan yoldan kullanımının daha etkili olabileceğini öne sürmüşlerdir(212). Buna karşın bazı

araştırmacılar Hyal'in sadece direkt olarak etkilenen damarın içine enjekte edilmesiyle HA'nın eritilebileceğini öne sürmüştür(205). Deneylerden farklı olarak, gerçek klinik vakalarda dolgu maddeleri, bilinen bir kan damarının belirli bir bölümüne kontrollü hacimle bilinçli bir şekilde enjekte edilmez. Dolgunun enjeksiyon sırasında hangi damara verildiği çoğu zaman kestirilememektedir. Ayrıca yüzde yer alan vasküler yapılar arasında çok sayıda varyasyon ve bağlantılar bulunmaktadır. Bu durum vasküler oklüzyonun lokalizasyonunu anlayabilmemizi çoğu zaman imkansız hale getirmektedir. Emboli gelişen damarların tam yeri belirlenebilse bile, bazı durumlarda lokal hyalüronidaz enjeksiyonu zordur. Hyalüronik asit retinal arter tıkanıklığını tedavi etmek için hyalüronidazın retrobulber enjeksiyonu önerilmiş olsa da, retinanın iskemi toleransının (60-90 dakika) kısa olması, bu süre içinde hastanın acil anjiyografik girişime alınamaması veya bu işlem için deneyimli bir girişimsel radyoloğun bulunmaması başlıca sorunlar arasındadır(18,213). Ayrıca özellikle küçük atardamarlarda yapılacak damar içi müdahalelere bağlı olası damar hasarı da bir başka endişe kaynağıdır. Bununla birlikte, bu prosedür hala vitreus kanaması ve optik sinir perforasyonu gibi potansiyel riskler taşımaktadır(214). Nadir durumlarda, dolgu maddesi dış karotid artere geri dönebilir ve ardından serebral dolaşıma ilerleyerek felce neden olabilir(215). Bu durumda hyalüronidazın lokal enjeksiyonu imkansızdır. Acil durumlarda damar tıkanıklığının yeri ve derinliği ne olursa olsun damar tıkanıklığını çözmek için intravenöz hyaluronidaz kullanımı tek çözüm olabilir. Hyalüronidazın intravenöz enjeksiyonu, çeşitli avantajlarla birlikte, hyaluronik asitle indüklenen vasküler tıkanıklığı çözmede potansiyel olarak geniş uygulama alanına sahip pratik bir çözümdür. Hyalüronidazın kan dolaşımına girdikten sonra yarı ömrünün insanlarda yaklaşık 3,2 dakika olduğu literatürde belirtilmektedir(216). Hyal enziminin sistemik dolaşımda düşük yarı ömre sahip olmasına karşın hyalüronidazın sabit bir hızda sürekli infüzyonu, hyalüronidazın kan konsantrasyonunu ve aktivitesini sağlayabilir. Hem çocuklarda hem de yetişkinlerde beyin tümörü tedavisi için kemoterapi ve yüksek doz hyalüronidazın kombine kullanımı 1990'ların başlarında bildirildi(217). 2.400.000 ünite hyalüronidaz gibi yüksek bir kümülatif doz kullanılmış, ancak olası alerjik reaksiyonlara rağmen belirgin bir hayati

organ hasarı bildirilmemiş(217). Hollandalı uzmanlar tarafından 4 haftalık uzun süreli kronik hyaluronidaz infüzyonunu içeren bir çalışma yürütölmüş. Çalışmanın sonunda deneklerde hepatik ve renal hasar kanıtı bulunmamıştır(218). Hyaluronidaz değişken şiddette alerjik reaksiyonlara neden olabilse de, hyalüronidazın intravenöz olarak uygulanması durumunda normal doku veya majör organ hasarı olduğunu gösteren hiçbir literatür bulunamadı. Damar tıkanıklığı oluşması durumunda dakikalar içeresinde hyaluronidaz solüsyonu hazırlanıp infüzyon yerleşimi yapılabilmektedir. Çözelti, konumu ve derinliği ne olursa olsun hyaluronik asit embolisini çözerek dolaşım sistemi boyunca herhangi bir yere dağılabilir. Bu bilgilerle birlikte etkilenen damarın içine enzim enjeksiyonu sırasında damarda endotel hasarı gelişebileceği ve buna bağlı pıhtılaşma yolağının daha da tetiklenip oklüzyonu arttırabileceği düşünöldü. Ek olarak Hyal enzimi ile birlikte verilen enoxaparinin damar içindeki dolgu çevresinde trombüs oluşumunu azaltarak hyal enziminin dolguya daha kolay ulaşmasını sağlayabileceği düşünöldü. Bundan dolayı çalışmamızda hyal enzimi intravasküler yoldan verilmiştir.

Hwang ve ark. yaptıkları çalışmada kullanılan HA dolgu materyalinin miktarı ile verilmesi gereken hyal enzim miktarı arasında kantitatif bir korelasyon olduğunu göstermiş(219). Biz de çalışmamızda hyal enzim dozunu literatürdeki rat vasküler oklüzyon modelinde kullanılan miktara göre belirledik(20). Ratlar yüksek miktarlarda sıvı enjeksiyonlarını tolere edemedikleri için 1500U toz halinde enzim içeren flakon 2 cc izotonik NaCl solüsyonuyla sulandırıldı. Ardından her bir rat ayrı ayrı tartılarak 2500 IU/kg dozunda enzim verildi.

HA uygulamasına bağlı vasküler komplikasyonlar genelde uygulamadan hemen sonra solukluk, renk değişikliği ve ağrı gibi bulgular verir. Kim ve ark. HA uygulama sonrası tıklalı olan arterin açılmasında erken ve geç dönemde uygulanan hyal tedavilerinin sonuçlarını karşılaştırmış.(212). Bu çalışmada kulak modelinde santral auriküler artere HA dolgusu verilen tavşanların bir grubuna salin, bir grubuna 4 saat diğer bir grubuna ise 24 saat sonra hyal enzimi verilmiş. Bir süre sonra fleplerde gelişen nekroz oranları analiz edilmiş. Salin solüsyonu enjekte edilen kulaklarda yaygın cilt nekrozları görölmüş. 24 saat

sonra hyal enjekte edile grupta yaygın nekroz gelişirken 4 saat sonra hyal enjekte edilen grupta kulaklarda nekroz görülmemiş. Yine başka çalışmalarda gecikmiş tedavilerin, vasküler komplikasyonların tedavisinde etkinliğinin düşük olduğu gösterilmiş(220,221). Bu bilgilerden yola çıkarak ratlara hyal enzimi ve enoxaparin ilacının ilk dozu uygulamadan 45 dk sonra verilmiş ve etkinliğinin yüksek olması amaçlanmıştır.

Literatürde dolgu intravasküler bölgeye verilmediği halde ciltte nekroz gelişen vakalar olduğu bildirilmiştir. Bu durum gecikmiş tip nekroz olarak isimlendirilir. Damar çevresine verilen fazla miktarda dolgunun damar duvarına uzun süre boyunca basması sonucu dokunun dolaşımını bozup nekroza götürdüğü düşünülmektedir. Bu durumlarda hastalarda anında bulgu görülmeyebilir. Hastada enjeksiyon bölgesinde uzun süre geçmeyen ağrı ve kızarıklık şikayetinin olması gecikmiş tip nekrozu aklımıza getirmelidir(222). Fakat ratların cilt dokuları gevşek olup eksternal kompresyona bağlı vasküler oklüzyon oluşturmak için ne kadar dolgu verilmesi gerektiğini kestirmek güç olacaktır. Dolayısıyla dolgu ile vasküler bölgeye bası oluşturup nekroz modeli oluşturmanın deneysel koşullarda kolay olmayacağı düşünüldü. Buna bağlı çalışmamızda dolguyu doğrudan damar içine vererek vasküler komplikasyon modelini kullandık.

Çalışmada Restylane® Kysse™ (Galderma, ABD) isimli dolgu kullanılmıştır. Bu dolgu bifazik yapıdadır ve BDDE çapraz bağı içerir. İçerdiği partiküllerin boyutu 80-1000 mikron arasında değişmekte olup ortalama partikül boyutu 250 mikrondur. Bu değer subdermal pleksusta yer alan arteriollerin çapı (100-400mikron) ile benzerlik göstermektedir (14). Bu durum dolgunun arteryollere kadar ilerleyip onları tıkamasına, sonuç olarak iskemi ve nekroz bulgularının görülmesine neden olur(211). Partikül boyut ortalaması 500-750 mikron ve daha büyük olan dolgular da mevcuttur(14). Fakat deneyde bu dolguları kullanmamız durumunda arteryollere ulaşamayacaktı ve buna bağlı olarak beklediğimiz komplikasyonu elde edemeyebilirdik. Bundan dolayı pratikte karşılaştığımız vasküler komplikasyonlara benzer bir model elde edebilmek amacıyla küçük partikül boyutlu Restylane® Kysse™ (Galderma, ABD) dolgusunu deneyimizde kullandık.

Zhuang ve ark. (223) HA dolgularının intravasküler komplikasyonlarına yönelik tavşan kulağında ada flebi modelini kullanmışlardır. Bu modelin avantajı flebi besleyen santral auriküler arterin çapının büyük olup uygulamasının kolay olmasıdır. Fakat tavşan yetiştirmenin zorluğu nedeniyle çoğu deney hayvanı laboratuvarında yetiştirilmemekte ve bu durum araştırmacıların deney hayvanına ulaşımını zorlaştırmaktadır. Bunun yerine Hurkal ve ark. (20) ratlarda superficial epigastrik arter tarafından beslenen oblik kasık flebi modelini kullanmıştır. Superficial epigastrik arterin ortalama çapı tavşan auriküler arterinden küçük olup HA partiküllerinin ortalama partikül boyutuna daha yakındır. Bundan dolayı vasküler komplikasyonları daha iyi modelleyeceği düşünülmektedir. Ayrıca ratların kolay ulaşılabilir olması araştırmacılara kolaylık sağlamaktadır. Bundan dolayı çalışmamızda ratlarda oblik kasık flebi modeli kullanılmıştır. Fakat ratlardaki superficial epigastrik arter çapının küçük olması kullanıcıların dolguyu artere vermesini zorlaştırmakta olup deneyin uygulanmasını zorlaştıran faktörlerden biridir.

Çalışmamızda dolgu maddesi olarak sadece Restylane kullanılmıştır. Fakat kullanımda olan konsantrasyonu, çapraz bağlanma oranı, G' parametresi gibi özellikleri farklı olan pekçok dolgu ürünü bulunmaktadır. Bu dolgular hyal ile yıkılmaya farklı şekilde yanıt verirler. Bununla birlikte HA dolgularını farklı süreler ve oranlarda çözen çeşitli hyal enzim preparatları da bulunmaktadır(224). Bu deneyde elde edilen bulgular sadece rekombinant insan hyal enziminin Restylane dolgusu üzerine çözücü etkisini göstermektedir.

HA enjeksiyonu sonucu gelişen vasküler oklüzyonun patofizyolojisi üzerine bazı tezler öne sürülmüştür. HA'nın intravasküler bölgeye enjeksiyonu sonucu endotel hücreleri hasar görür ve subendotelyal kollajen açığa çıkar. Doku faktörü kan ile temas eder ve FVII'yi aktiveleştirir. Bunun sonucunda ekstrinsik pıhtılaşma yolağı aktive olur. Aynı zamanda FXII'nin aktivasyonu ile intrinsik koagülasyon kaskadı başlatılır(203). Bunlarla birlikte lümenin dolgu ile dolması da kan akımını yavaşlatır. Bu bölgelerde trombosit agregasyonu sürece eklenir ve dolguyla karışık trombüs oluşur. Trombüs büyüdükçe eritrositler de bu bölgede birikir ve damar trombüs ile tamamen oklüde olabilir.

Bundan dolayı hastaya hyal enzimi verilse bile bu oklüzyonu aşp HA'yı eritemeyebilir. Bundan dolayı komplikasyonları gidermede hyalüronidaz yanında trombüs direkt eriten trombolitik ajanlar veya trombüs oluşumunu engelleyen antikoagülan ve antiagregan ajanlar da denenmektedir. Çalışmamızda bu bilgilerle paralel olarak özellikle sadece HA dolgusu verilen Grup 2'de trombüs düzeylerinin görece diğer gruplara göre daha fazla olduğu izlendi fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Bu bilgilere paralel olarak yaptığımız çalışmamızda dolgu verilmeyen grup 1 (Sham grubu) ile hyal ve enoxaparin'i birlikte verdiğimiz grup 4 arasında nekroz yüzdesi açısından anlamlı fark yoktu ($p = 1,0$). Bu durum hyal ile kombine enoxaparin verilmesinin komplikasyon tedavisindeki etkinliğini gösterdi. Ayrıca Grup 1 ile karşılaştırıldığında diğer gruplarda trombüs düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($p<0,001$). Hiç trombüs görülmeyen Grup 1 de nekroz görülmezken diğer gruplarda değişen oranlarda nekroz görülmesinde bu trombüsün etkili olduğu düşünülmektedir. Bu durum HA dolgularına bağlı vasküler oklüzyon modelinde dolgunun etrafına biriken trombüsün dolaşım bozukluğunu arttırmada etkili olduğunu göstermektedir. Buna bağlı bu trombüsün oluşumuna yönelik antikoagülan ilaç kullanımının gerekliliğini ispatlar niteliktedir.

Enoxaparin ilacı HA dolgu vasküler komplikasyonlarını gidermede birçok kişi tarafından klinik tecrübe olarak kullanılmaktadır. Bu kullanımlarını vaka raporu olarak gösteren yayınlar bulunmaktadır(204,205). Fakat enoxaparinin HA vasküler komplikasyonlarını tedavi etmede etkinliğini gösteren deneysel çalışma bulunmamaktadır. Bundan dolayı çalışmamızda uygulanacak enoxaparin dozu literatürde ratlar üzerinde başka amaçlarla yapılan çalışmalar örnek alınarak belirlendi(198). Clexane 6000 anti-Xa/0,6 mL (Sanofi) isimli Enoxaparin etken maddeli ilaç izotonik sodyum klorür çözeltisi ile 100 ml'ye sulandırılarak hazırlandı. Hyal enzimi verildikten sonra ratların ağırlığına göre 1mg/kg dozunda sırt bölgesindeki deriye subkutan yoldan uygulandı. Ardından 6 gün boyunca günde bir kere 1mg/kg dozunda Enoxaparin uygulanmaya devam edildi. Toplamda 7 doz enoxaparin uygulanmış oldu.

Enoxaparin pıhtılaşma yolağındaki Faktör Xa'yı inhibe ederek antikoagülan etki göstermektedir(23). Enoxaparin adlı ilaç serebral iskemi, pulmoner emboli, derin ven trombozu gibi pek çok damar pıhtılaşma hastalığı durumunda damar içindeki pıhtıyı çözme amaçlı kullanılmıştır(23). HA intravasküler komplikasyonları sonrası bazı uygulayıcılar DMAH grubundan Enoxaparin adlı ilacı antikoagülan etkisinden faydalanma amaçlı kullanmış ve fayda görmüşlerdir.(204,205). Fakat bu ilacın HA'nın intravasküler komplikasyonlarını giderdiğine dair kanıtlanmış bir çalışma bulunmamaktadır. Enoxaparin adlı ilacın hyal ile birlikte verilmesi durumunda damar içinde trombüs oluşumunu engelleyeceği, buna bağlı olarak hyal'ın dolguya ulaşımı kolaylaşıp dolguyu daha kolay eritebileceği ve nekroz, körlük gibi komplikasyonları giderebileceği hipoteziyle bu çalışma planlanmıştı. Çalışmamızda grup 1 ve grup 2'yi analizlere dahil etmeden yapılan, grup 3 ve grup 4 arası karşılaştırma sonucuna göre, grup 3 ile karşılaştırıldığında grup 4'te nekroz yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az bulundu ($p = 0,002$). Yani yalnızca hyal verilen grup 3'e göre, hyal ile birlikte enoxaparin verilen grup 4'te nekroz yüzdesinin daha düşük olduğu görüldü. Bu durum HA vasküler komplikasyonlarında enoxaparin ile kombine edilen sistemik tedavinin yalnızca hyal verilen tedaviye göre daha etkili olduğunu göstermiştir.

Grup 1 çalışmadan çıkarılarak yapılan üç gruplu analiz sonuçlarına göre ödem düzeyinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu görüldü. Buna göre grup 4 ile karşılaştırıldığında grup 2 ve 3'te ödem düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($p = 0,027$). Bu durum grup 2 ve 3'te damar içinde biriken trombüsün flepte dönüşü azaltarak ödeme neden olduğunu, grup 4'te ise damarda oklüzyona neden olan trombüs açıldığı için fleplerde ödemin azaldığını göstermektedir.

Chiang ve ark. (19) yaptıkları çalışmalarında çalışmamızda olduğu gibi ratlarda oblik kasık flebini kullanmışlar. Çalışmalarında bir gruba hyal bir gruba hyal ile birlikte trombolitik ilaçlardan ürokinaz diğer bir gruba ise sadece ürokinaz vermişler ve nekroz yüzdelerini karşılaştırmışlar. Çalışmalarında bizim çalışmamıza paralel şekilde hyal + ürokinaz verilen grubun nekroz yüzdesi en düşük çıkmıştır. Yine benzer şekilde Hyal +

ürokinaz kombinasyonunun arteriyel oklüzyonu açmada tek başına hyal tedavisine göre daha etkili olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular HA dolgu vasküler komplikasyonlarında hyal enzimi ile birlikte trombolitik veya antikoagülan bir ilacın kombine kullanımının gerekliliğini destekler niteliktedir.

Trombolitik ilaçların intravasküler komplikasyonları gidermede başarılı olduğunu gösteren çalışmalar (19,20,22,225,226) olsa da bunların kullanımını kısıtlayan birtakım yan etkiler vardır. Bu ilaçlar sistemik olarak kullanıldığında vücudun herhangi bir yerinde kanamaya neden olabilir. En korkulan yan etkileri beyin kanamasıdır(227). Bu gruptaki ilaçlardan streptokinaz beta hemolitik streptokoklardan üretilmektedir. Buna bağlı olarak febril reaksiyon, ateş ve doza bağlı hipotansiyona neden olabilmektedir. Bu yan etkilerden dolayı ucuz olmasına rağmen kullanımı kısıtlıdır(228). Ayrıca bu gruptaki ilaçlar genel olarak pahalıdır ve tedariklerinde yaşanan sıkıntılardan dolayı ulaşılması güçtür. Ayrıca ulaşılması durumunda hastane koşullarında uzman gözetiminde kullanılması gerekmektedir. Doğru dozlarda kullanılmaması durumunda kanamayı arttırabileceği için monitörizasyonunun iyi yapılması gerekmektedir. Bu sıkıntılar bu gruptaki ilaçların kullanımını zorlaştırmaktadır. Fakat enoxaparin adlı ilaç hem kolay ulaşılabilir, hem ucuz hem de kolay uygulanabilir bir ilaçtır. Uzman gözetiminde uygulama gerektirmez. Kanamayı arttırıcı etkisi olmadığı için monitörizasyon gerektirmez. Kullanımı kolay olduğu için hastalar uygulamayı kolaylıkla tolere edebilmektedir. Kolaylıkla evde uygulanabildiği için yatış maliyetinin olmaması da avantajlarından biridir. Bu klinik öncesi araştırma, intraarteriyel hyaluronik asit tıkanıklığını çözmek için hyalüronidaz ve enoxaparin kombine tedavisinin sistemik yoldan kullanımının uygulanabilirliğini göstermiştir. Kombinasyonun optimal dozajını belirlemek ve muhtemelen hyaluronidaz kaynaklı alerjik reaksiyonu en aza indirmek için daha büyük bir örneklem büyüklüğü ile daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Bu araştırmaların sonucunda enoxaparinin kullanımı trombolitik ajanların önüne geçebilir. Ayrıca hyalüronidaz ve enoxaparin kombinasyonunun kullanımı tedavi protokolleri arasında kalıcı olarak yerini alabilir.

6. SONUÇ

HA dolgularının son dönemlerde giderek artan sıklıkta kullanılmasına bağlı olarak nadir görülen nekroz ve körlük gibi komplikasyonların sıklığı artmaya başlamıştır. Literatürde bu komplikasyonların tedavi edilmesine yönelik pek çok çalışma yapılmasına rağmen ortak uygulanan bir algoritma yöntemi bulunmamaktadır. Dolguyu eriten hyal enzimi sıklıkla kullanılmasına rağmen tıkanıklığın lokalizasyonu tespit edilemediği için sistemik ilaçlar da denenmek zorunda kalınmıştır.

Literatürde enoxaparin ilacını olgu raporlarında kullandığını bildiren uygulayıcılar olsa da çoğu zaman bu ilaç uzman görüşü niteliğinde önerilmekte olup bu ilacın etkinliğini kanıtlayacak deneysel çalışma bulunmamaktaydı. Enoxaparin adlı ilacın hyal ile birlikte verilmesi durumunda damar içinde trombüs oluşumunu engelleyeceği, buna bağlı olarak hyal'ın dolguyu daha kolay eritebileceği ve nekroz, körlük gibi komplikasyonları giderebileceği hipoteziyle bu çalışma planlanmıştır.

Çalışmamızda grup 1 ve grup 2'yi analizlere dahil etmeden yapılan, grup 3 ve grup 4 arası karşılaştırma sonucuna göre, grup 3 ile karşılaştırıldığında grup 4'te nekroz yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az bulundu ($p = 0,002$). Yani yalnızca hyal verilen grup 3'e göre, hyal ile birlikte enoxaparin verilen grup 4'te nekroz yüzdesinin daha düşük olduğu görüldü. Bu durum HA vasküler komplikasyonlarında enoxaparin ile kombine edilen sistemik tedavinin yalnızca hyal verilen tedaviye göre daha etkili olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda sadece HA dolgusu verilen Grup 2'de trombüs düzeylerinin görece diğer gruplara göre daha fazla olduğu izlendi fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Ayrıca dolgu verilmeyen grup 1 (Sham grubu) ile hyal ve enoxaparin'i birlikte verdiğimiz grup 4 arasında nekroz yüzdesi açısından anlamlı fark yoktu ($p = 1,0$). Bu durum hyal ile kombine enoxaparin verilmesinin komplikasyon tedavisindeki etkinliğini gösterdi. Ayrıca Grup 1 ile karşılaştırıldığında diğer gruplarda trombüs düzeyi istatistiksel

olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($p<0,001$). Hiç trombüs görülmeyen Grup 1 de nekroz görölmezken diğler gruplarda değışen oranlarda nekroz görölmesinde bu trombüsün etkili olduğu düşünölmektedir. Bu durum HA dolgularına bağı vasküler oklüzyon modelinde dolgunun etrafına biriken trombüsün dolaşım bozukluğunu arttırmada etkili olduğunu göstermektedir. Buna bağı bu trombüsün oluşumuna yönelik antikoagöl ilaç kullanımının gerekliliğini ispatlar niteliktedir.

Enoxaparin adlı ilaç hem kolay ulaşılabilir, hem ucuz hem de kolay uygulanabilir bir ilaçtır. Uzman gözetiminde uygulama gerektirmez. Kanamayı arttırıcı etkisi olmadığı için monitörizasyon gerektirmez. Kullanımı kolay olduğu için hastalar uygulamayı kolaylıkla tolere edebilmektedir. Kolaylıkla evde uygulanabildiğı için yatış maliyetinin olmaması da avantajlarından biridir. Bu klinik öncesi araştırma, intraarteriyel hyaluronik asit tıkanıklığını çözmek için sistemik hyalüronidaz ile kombine enoxaparin tedavisinin kullanımının uygulanabilirliğini göstermiştir. Daha büyük bir örneklem büyüklüğü ile daha fazla araştırma yapılması durumunda bu kombinasyon tedavi protokolleri arasında kalıcı olarak yerini alabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Gold MH. Use of hyaluronic acid fillers for the treatment of the aging face. *Clin Interv Aging*. 2007;2(3):369-76.
2. Sánchez-Carpintero I, Candelas D, Ruiz-Rodríguez R. [Dermal fillers: types, indications, and complications]. *Actas Dermosifiliogr*. Haziran 2010;101(5):381-93.
3. Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinární Medicina*. 31 Ağustos 2008;53(8):397-411.
4. Meyer K, Palmer JW. The Polysaccharide of the vitreous humor. *J Biol Chem*. Aralık 1934;107(3):629-34.
5. Sudha PN, Rose MH. Beneficial effects of hyaluronic acid. *Adv Food Nutr Res*. 2014;72:137-76.
6. Litwiniuk M, Krejner A, Speyrer MS, Gauto AR, Grzela T. Hyaluronic Acid in Inflammation and Tissue Regeneration. *Wounds Compend Clin Res Pract*. Mart 2016;28(3):78-88.
7. Monheit GD, Coleman KM. Hyaluronic acid fillers. *Dermatol Ther*. 2006;19(3):141-50.
8. Edsman K, Nord LI, Ohrlund A, Lärkner H, Kenne AH. Gel properties of hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Temmuz 2012;38(7 Pt 2):1170-9.
9. Urdiales-Gálvez F, Delgado NE, Figueiredo V, Lajo-Plaza JV, Mira M, Moreno A, vd. Treatment of Soft Tissue Filler Complications: Expert Consensus Recommendations. *Aesthetic Plast Surg*. Nisan 2018;42(2):498-510.
10. Soparkar CNS, Patrinely JR, Tschen J. Erasing restylane. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. Temmuz 2004;20(4):317-8.
11. isaps-global-survey_2021.pdf [İnternet]. [a.yer 13 Mart 2023]. Erişim adresi: https://www.isaps.org/media/vdpdanke/isaps-global-survey_2021.pdf
12. Sánchez-Carpintero I, Candelas D, Ruiz-Rodríguez R. [Dermal fillers: types, indications, and complications]. *Actas Dermosifiliogr*. Haziran 2010;101(5):381-93.
13. DeLorenzi C. Complications of injectable fillers, part I. *Aesthet Surg J*. Mayıs 2013;33(4):561-75.

14. Rohrich RJ, Ghavami A, Crosby MA. The role of hyaluronic acid fillers (Restylane) in facial cosmetic surgery: review and technical considerations. *Plast Reconstr Surg.* Kasım 2007;120(6 Suppl):41S-54S.
15. Requena L, Requena C, Christensen L, Zimmermann US, Kutzner H, Cerroni L. Adverse reactions to injectable soft tissue fillers. *J Am Acad Dermatol.* Ocak 2011;64(1):1-34; quiz 35-6.
16. Oelschlaeger C, Bossler F, Willenbacher N. Synthesis, Structural and Micromechanical Properties of 3D Hyaluronic Acid-Based Cryogel Scaffolds. *Biomacromolecules.* 08 Şubat 2016;17(2):580-9.
17. Jda C, S F, Rj R, S W, A C. Blindness caused by cosmetic filler injection: a review of cause and therapy. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. Aralık 2014 [a.yer 13 Mart 2023];134(6). Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25415089/>
18. Sahin I, Isik S. Blindness following cosmetic injections of the face. *Plast Reconstr Surg.* Kasım 2012;130(5):738e.
19. Chiang C, Zhou S, Liu K. Intravenous Hyaluronidase with Urokinase as Treatment for Arterial Hyaluronic Acid Embolism. *Plast Reconstr Surg.* Ocak 2016;137(1):114-21.
20. Hurkal O, Sibar S, Cenetoglu S, Tuncer S, Elmas C, Seymen CM. Arterial Occlusion After Hyaluronic Acid Injection: Treatment With Hyaluronidase and Streptokinase. *Ann Plast Surg.* 01 Aralık 2021;87(6):e137-44.
21. Baley-Spindel I, Villaseñor-Villalpando E, Márquez-Espriella C, Rivera-Salgado MI, Dávila-Díaz R. Perivascular Hyaluronidase With Alteplase as Treatment for Hyaluronic Acid Thrombosis. *Aesthet Surg J.* 14 Nisan 2020;40(5):551-9.
22. Pavlidis L, Spyropoulou GA, Deliligka A, Demiri E. Intravenous Hyaluronidase with Urokinase as Treatment for Arterial Hyaluronic Acid Embolism. *Plast Reconstr Surg.* Ağustos 2016;138(2):370e-1e.
23. Ząbczyk M, Natarska J, Malinowski KP, Undas A. Effect of enoxaparin on plasma fibrin clot properties and fibrin structure in patients with acute pulmonary embolism. *Vascul Pharmacol.* 2020;133-134:106783.
24. Yetkin H, Ceyhan AM, Yýldýrym M. Deri yaþlanmasý ve tedavisi.
25. Bulur I. YAŞLANMA VE DERİ / AGING AND SKIN. *Osman J Med* [Internet]. 2016 [a.yer 14 Mart 2023];38(0). Erişim adresi: <http://dergipark.gov.tr/doi/10.20515/otd.73899>

26. Grove GL. Physiologic changes in older skin. *Dermatol Clin*. Temmuz 1986;4(3):425-32.
27. Shin JW, Kwon SH, Choi JY, Na JI, Huh CH, Choi HR, vd. Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. *Int J Mol Sci*. 29 Nisan 2019;20(9):2126.
28. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev*. 01 Şubat 2016;97:4-27.
29. Mazzola RF, Mazzola IC. History of Facial Rejuvenation. İçinde: Scuderi N, Toth BA, editörler. *International Textbook of Aesthetic Surgery* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2016 [a.yer 14 Mart 2023]. s. 841-53. Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/978-3-662-46599-8_59
30. Gli ORNAMENTI delle DONNE scritti per m. Giovanni Marinello. Et divisi in quattro libri, con due tavole, una de' capitoli, e l'altra d'alcune cose particolari. Opera utile, & necessaria ad ogni gentile persona. by MARINELLO Giovanni (MARINELLI G.): (1574) | Libreria Le Colonne [Internet]. [a.yer 14 Mart 2023]. Erişim adresi: <https://www.abebooks.co.uk/ORNAMENTI-DONNE-scritti-Giovanni-Marinello-divisi/31199895934/bd>
31. Cockerham K, Hsu VJ. Collagen-based dermal fillers: past, present, future. *Facial Plast Surg FPS*. Mayıs 2009;25(2):106-13.
32. Murray CA, Zloty D, Warshawski L. The evolution of soft tissue fillers in clinical practice. *Dermatol Clin*. Nisan 2005;23(2):343-63.
33. Lorenc, ZP. Dermal and Soft-tissue Fillers: Principles, Materials and Techniques. *Grabb and Smith Plastic Surgery*. Lippincott Williams & Wilkins, 7th Edition. 2014. Chapter-42:458.
34. Sundaram H, Voigts B, Beer K, Meland M. Comparison of the rheological properties of viscosity and elasticity in two categories of soft tissue fillers: calcium hydroxylapatite and hyaluronic acid. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Kasım 2010;36 Suppl 3:1859-65.
35. Lee WK, Yang DY. Classification of Soft Tissue Filler. İçinde: Park NC, Kim SW, Moon DG, editörler. *Penile Augmentation* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2016 [a.yer 15 Mart 2023]. s. 71-82. Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/978-3-662-46753-4_10
36. Morhenn VB, Lemperle G, Gallo RL. Phagocytosis of different particulate dermal filler substances by human macrophages and skin cells. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Haziran 2002;28(6):484-90.

37. Laeschke K. Biocompatibility of microparticles into soft tissue fillers. *Semin Cutan Med Surg.* Aralık 2004;23(4):214-7.
38. Marten TJ, Elyassnia D. Fat grafting in facial rejuvenation. *Clin Plast Surg.* Nisan 2015;42(2):219-52.
39. Kempf KK, Seyfer AE. Facial defect augmentation with a dermal-fat graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* Nisan 1985;59(4):340-3.
40. Erol OO. Facial autologous soft-tissue contouring by adjunction of tissue cocktail injection (micrograft and minigraft mixture of dermis, fascia, and fat). *Plast Reconstr Surg.* Kasım 2000;106(6):1375-87; discussion 1388-1389.
41. Bassetto F, Turra G, Salmaso R, Lancerotto L, Del Vecchio DA. Autologous injectable dermis: a clinical and histological study. *Plast Reconstr Surg.* Nisan 2013;131(4):589e-96e.
42. Kontis TC. Contemporary review of injectable facial fillers. *JAMA Facial Plast Surg.* Ocak 2013;15(1):58-64.
43. Watson D, Keller GS, Lacombe V, Fodor PB, Rawnsley J, Lask GP. Autologous fibroblasts for treatment of facial rhytids and dermal depressions. A pilot study. *Arch Facial Plast Surg.* 1999;1(3):165-70.
44. Klein AW. Implantation technics for injectable collagen. Two and one-half years of personal clinical experience. *J Am Acad Dermatol.* Ağustos 1983;9(2):224-8.
45. Jacovella PF. Calcium hydroxylapatite facial filler (Radiesse): indications, technique, and results. *Clin Plast Surg.* Ekim 2006;33(4):511-23.
46. Ridenour B, Kontis TC. Injectable calcium hydroxylapatite microspheres (Radiesse). *Facial Plast Surg FPS.* Mayıs 2009;25(2):100-5.
47. Drobeck HP, Rothstein SS, Gumaer KI, Sherer AD, Slighter RG. Histologic observation of soft tissue responses to implanted, multifaceted particles and discs of hydroxylapatite. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg.* Mart 1984;42(3):143-9.
48. Havlik RJ, PSEF DATA Committee. Hydroxyapatite. *Plast Reconstr Surg.* 15 Eylül 2002;110(4):1176-9.
49. Flaharty P. Radiance. *Facial Plast Surg FPS.* Mayıs 2004;20(2):165-9.

50. Graivier MH, Bass LS, Busso M, Jasin ME, Narins RS, Tzikas TL. Calcium hydroxylapatite (Radiesse) for correction of the mid- and lower face: consensus recommendations. *Plast Reconstr Surg*. Kasım 2007;120(6 Suppl):55S-66S.
51. Lemperle G, Romano JJ, Busso M. Soft tissue augmentation with artecoll: 10-year history, indications, techniques, and complications. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Haziran 2003;29(6):573-87; discussion 587.
52. Lemperle G, Knapp TR, Sadick NS, Lemperle SM. ArteFill permanent injectable for soft tissue augmentation: I. Mechanism of action and injection techniques. *Aesthetic Plast Surg*. Haziran 2010;34(3):264-72.
53. Cohen SR, Berner CF, Busso M, Clopton P, Hamilton D, Romano JJ, vd. Five-year safety and efficacy of a novel polymethylmethacrylate aesthetic soft tissue filler for the correction of nasolabial folds. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Aralık 2007;33 Suppl 2:S222-230.
54. Kates LC, Fitzgerald R. Poly-L-lactic acid injection for HIV-associated facial lipoatrophy: treatment principles, case studies, and literature review. *Aesthet Surg J*. 2008;28(4):397-403.
55. Simamora P, Chern W. Poly-L-lactic acid: an overview. *J Drugs Dermatol JDD*. Mayıs 2006;5(5):436-40.
56. Rotunda AM, Narins RS. Poly-L-lactic acid: a new dimension in soft tissue augmentation. *Dermatol Ther*. 2006;19(3):151-8.
57. Vleggaar D. Facial volumetric correction with injectable poly-L-lactic acid. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Kasım 2005;31(11 Pt 2):1511-7; discussion 1517-1518.
58. Chung - Grabb and Smith's Plastic Surgery.pdf.
59. Fitzgerald R, Vleggaar D. Facial volume restoration of the aging face with poly-l-lactic acid. *Dermatol Ther*. 2011;24(1):2-27.
60. Valantin MA, Aubron-Olivier C, Ghosn J, Laglenne E, Pauchard M, Schoen H, vd. Polylactic acid implants (New-Fill) to correct facial lipoatrophy in HIV-infected patients: results of the open-label study VEGA. *AIDS Lond Engl*. 21 Kasım 2003;17(17):2471-7.
61. Lowe NJ, Maxwell CA, Lowe P, Shah A, Patnaik R. Injectable poly-l-lactic acid: 3 years of aesthetic experience. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Şubat 2009;35 Suppl 1:344-9.

62. Lemperle G, Morhenn V, Charrier U. Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast Surg.* 2003;27(5):354-66; discussion 367.
63. Lorenc ZP. Unacceptable results with an accepted soft tissue filler: polyacrylamide hydrogel. *Aesthetic Plast Surg.* Ağustos 2010;34(4):423.
64. Ono S, Ogawa R, Hyakusoku H. Complications after polyacrylamide hydrogel injection for soft-tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg.* Ekim 2010;126(4):1349-57.
65. Amended final report on the safety assessment of polyacrylamide and acrylamide residues in cosmetics. *Int J Toxicol.* 2005;24 Suppl 2:21-50.
66. King DJ, Noss RR. Toxicity of polyacrylamide and acrylamide monomer. *Rev Environ Health.* 1989;8(1-4):3-16.
67. Wolters M, Lampe H. Prospective multicenter study for evaluation of safety, efficacy, and esthetic results of cross-linked polyacrylamide hydrogel in 81 patients. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al.* Şubat 2009;35 Suppl 1:338-43.
68. Narins RS, Bowman PH. Injectable skin fillers. *Clin Plast Surg.* Nisan 2005;32(2):151-62.
69. Chung - 2020 - Grabb and Smith's plastic surgery.pdf.
70. Prather CL, Jones DH. Liquid injectable silicone for soft tissue augmentation. *Dermatol Ther.* 2006;19(3):159-68.
71. Baumann L, Kaufman J, Saghari S. Collagen fillers. *Dermatol Ther.* 2006;19(3):134-40.
72. Klein AW. Skin filling. Collagen and other injectables of the skin. *Dermatol Clin.* Temmuz 2001;19(3):491-508, ix.
73. Cheng JT, Perkins SW, Hamilton MM. Collagen and injectable fillers. *Otolaryngol Clin North Am.* Şubat 2002;35(1):73-85, vi.
74. Sclafani AP, Romo T, Jacono AA, McCormick SA, Cocker R, Parker A. Evaluation of acellular dermal graft (AlloDerm) sheet for soft tissue augmentation: a 1-year follow-up of clinical observations and histological findings. *Arch Facial Plast Surg.* 2001;3(2):101-3.
75. Sclafani AP, Romo T, Jacono AA, McCormick S, Cocker R, Parker A. Evaluation of acellular dermal graft in sheet (AlloDerm) and injectable (micronized AlloDerm)

- forms for soft tissue augmentation. Clinical observations and histological analysis. Arch Facial Plast Surg. 2000;2(2):130-6.
76. Sclafani AP, Romo T, Jacono AA. Rejuvenation of the aging lip with an injectable acellular dermal graft (Cymetra). Arch Facial Plast Surg. 2002;4(4):252-7.
 77. Laurent TC, Laurent UB, Fraser JR. The structure and function of hyaluronan: An overview. Immunol Cell Biol. Nisan 1996;74(2):A1-7.
 78. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. J Intern Med. Temmuz 1997;242(1):27-33.
 79. Dicker KT, Gurski LA, Pradhan-Bhatt S, Witt RL, Farach-Carson MC, Jia X. Hyaluronan: a simple polysaccharide with diverse biological functions. Acta Biomater. Nisan 2014;10(4):1558-70.
 80. Laurent TC. Biochemistry of hyaluronan. Acta Oto-Laryngol Suppl. 1987;442:7-24.
 81. Hascall VC, Majors AK, de la Motte CA, Evanko SP, Wang A, Drazba JA, vd. Intracellular hyaluronan: a new frontier for inflammation? Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj. 06 Temmuz 2004;1673(1):3-12.
 82. Garg HG, Hales CA. Chemistry and Biology of Hyaluronan. Elsevier; 2004. 625 s.
 83. Balazs EA, Laurent TC, Jeanloz RW. Nomenclature of hyaluronic acid. Biochem J. 01 Mayıs 1986;235(3):903.
 84. Zhuo L, Kimata K. Cumulus oophorus extracellular matrix: Its construction and regulation. Cell Struct Funct. 2001;26(4):189-96.
 85. Eggli PS, Graber W. Association of hyaluronan with rat vascular endothelial and smooth muscle cells. J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc. Temmuz 1995;43(7):689-97.
 86. Cowman MK, Matsuoka S. Experimental approaches to hyaluronan structure. Carbohydr Res. 11 Nisan 2005;340(5):791-809.
 87. Underhill CB, Toole BP. Binding of hyaluronate to the surface of cultured cells. J Cell Biol. 01 Ağustos 1979;82(2):475-84.
 88. Turley EA. The Control of Adrenocortical Cytodifferentiation by Extracellular Matrix* *In partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of

Philosophy from the University of British Columbia** **Dedicated to the memory of Dr. John W. Jull. Differentiation. 01 Aralık 1980;17(1):93-103.

89. Turley EA. Hyaluronic Acid Stimulates Protein Kinase Activity in Intact Cells and in an Isolated Protein Complex. J Biol Chem. 25 Mayıs 1989;264(15):8951-5.
90. Turley EA, Noble PW, Bourguignon LYW. Signaling properties of hyaluronan receptors. J Biol Chem. 15 Şubat 2002;277(7):4589-92.
91. Hall CL, Yang B, Yang X, Zhang S, Turley M, Samuel S, vd. Overexpression of the hyaluronan receptor RHAMM is transforming and is also required for H-ras transformation. Cell. 14 Temmuz 1995;82(1):19-26.
92. Toole BP. Hyaluronan and its binding proteins, the hyaladherins. Curr Opin Cell Biol. Ekim 1990;2(5):839-44.
93. Turley EA. Purification of a hyaluronate-binding protein fraction that modifies cell social behavior. Biochem Biophys Res Commun. 15 Ekim 1982;108(3):1016-24.
94. Ponta H, Wainwright D, Herrlich P. The CD44 protein family. Int J Biochem Cell Biol. Mart 1998;30(3):299-305.
95. Day AJ, Prestwich GD. Hyaluronan-binding proteins: tying up the giant. J Biol Chem. 15 Şubat 2002;277(7):4585-8.
96. Toole BP. Hyaluronan in morphogenesis. J Intern Med. Temmuz 1997;242(1):35-40.
97. Lesley J, Hyman R, Kincade PW. CD44 and its interaction with extracellular matrix. Adv Immunol. 1993;54:271-335.
98. Bourguignon LY, Lokeshwar VB, He J, Chen X, Bourguignon GJ. A CD44-like endothelial cell transmembrane glycoprotein (GP116) interacts with extracellular matrix and ankyrin. Mol Cell Biol. Ekim 1992;12(10):4464-71.
99. Screaton GR, Bell MV, Jackson DG, Cornelis FB, Gerth U, Bell JI. Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. Proc Natl Acad Sci U S A. 15 Aralık 1992;89(24):12160-4.
100. Bourguignon LY, Zhu D, Zhu H. CD44 isoform-cytoskeleton interaction in oncogenic signaling and tumor progression. Front Biosci J Virtual Libr. 01 Temmuz 1998;3:d637-649.

101. Savani RC, Wang C, Yang B, Zhang S, Kinsella MG, Wight TN, vd. Migration of bovine aortic smooth muscle cells after wounding injury. The role of hyaluronan and RHAMM. *J Clin Invest.* Mart 1995;95(3):1158-68.
102. Wang C, Thor AD, Moore DH, Zhao Y, Kerschmann R, Stern R, vd. The overexpression of RHAMM, a hyaluronan-binding protein that regulates ras signaling, correlates with overexpression of mitogen-activated protein kinase and is a significant parameter in breast cancer progression. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* Mart 1998;4(3):567-76.
103. Crainie M, Belch AR, Mant MJ, Pilarski LM. Overexpression of the receptor for hyaluronan-mediated motility (RHAMM) characterizes the malignant clone in multiple myeloma: identification of three distinct RHAMM variants. *Blood.* 01 Mart 1999;93(5):1684-96.
104. Assmann V, Jenkinson D, Marshall JF, Hart IR. The intracellular hyaluronan receptor RHAMM/IHABP interacts with microtubules and actin filaments. *J Cell Sci.* Kasım 1999;112 (Pt 22):3943-54.
105. Prochiantz A. Messenger proteins: homeoproteins, TAT and others. *Curr Opin Cell Biol.* Ağustos 2000;12(4):400-6.
106. Sondermann H, Becker T, Mayhew M, Wieland F, Hartl FU. Characterization of a receptor for heat shock protein 70 on macrophages and monocytes. *Biol Chem.* Aralık 2000;381(12):1165-74.
107. Lynn BD, Turley EA, Nagy JJ. Subcellular distribution, calmodulin interaction, and mitochondrial association of the hyaluronan-binding protein RHAMM in rat brain. *J Neurosci Res.* 01 Temmuz 2001;65(1):6-16.
108. Entwistle J, Hall CL, Turley EA. HA receptors: regulators of signalling to the cytoskeleton. *J Cell Biochem.* 15 Haziran 1996;61(4):569-77.
109. Collis L, Hall C, Lange L, Ziebell M, Prestwich R, Turley EA. Rapid hyaluronan uptake is associated with enhanced motility: implications for an intracellular mode of action. *FEBS Lett.* 04 Aralık 1998;440(3):444-9.
110. Itano N, Kimata K. Mammalian hyaluronan synthases. *IUBMB Life.* Ekim 2002;54(4):195-9.
111. Itano N, Sawai T, Yoshida M, Lenas P, Yamada Y, Imagawa M, vd. Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. *J Biol Chem.* 27 Ağustos 1999;274(35):25085-92.

112. Camenisch TD, Spicer AP, Brehm-Gibson T, Biesterfeldt J, Augustine ML, Calabro A, vd. Disruption of hyaluronan synthase-2 abrogates normal cardiac morphogenesis and hyaluronan-mediated transformation of epithelium to mesenchyme. *J Clin Invest.* Ağustos 2000;106(3):349-60.
113. Karamanos NK, Piperigkou Z, Theocharis AD, Watanabe H, Franchi M, Baud S, vd. Proteoglycan Chemical Diversity Drives Multifunctional Cell Regulation and Therapeutics. *Chem Rev.* 26 Eylül 2018;118(18):9152-232.
114. Karousou E, Kamiryo M, Skandalis SS, Ruusala A, Asteriou T, Passi A, vd. The activity of hyaluronan synthase 2 is regulated by dimerization and ubiquitination. *J Biol Chem.* 30 Temmuz 2010;285(31):23647-54.
115. Ontong P, Hatada Y, Taniguchi S, Kakizaki I, Itano N. Effect of a cholesterol-rich lipid environment on the enzymatic activity of reconstituted hyaluronan synthase. *Biochem Biophys Res Commun.* 10 Ocak 2014;443(2):666-71.
116. Vigetti D, Viola M, Karousou E, De Luca G, Passi A. Metabolic control of hyaluronan synthases. *Matrix Biol J Int Soc Matrix Biol.* Nisan 2014;35:8-13.
117. Tammi RH, Passi AG, Rilla K, Karousou E, Vigetti D, Makkonen K, vd. Transcriptional and post-translational regulation of hyaluronan synthesis. *FEBS J.* Mayıs 2011;278(9):1419-28.
118. Rodén L. Structure and Metabolism of Connective Tissue Proteoglycans. İçinde: Lennarz WJ, editör. *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans* [Internet]. Boston, MA: Springer US; 1980 [a.yer 26 Mart 2023]. s. 267-371. Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/978-1-4684-1006-8_7
119. Prehm P. Hyaluronate is synthesized at plasma membranes. *Biochem J.* 01 Haziran 1984;220(2):597-600.
120. Mian N. Characterization of a high-Mr plasma-membrane-bound protein and assessment of its role as a constituent of hyaluronate synthase complex. *Biochem J.* 15 Temmuz 1986;237(2):343-57.
121. Mio K, Stern R. Inhibitors of the hyaluronidases. *Matrix Biol J Int Soc Matrix Biol.* Ocak 2002;21(1):31-7.
122. Ponnuraj K, Jedrzejewski MJ. Mechanism of hyaluronan binding and degradation: structure of *Streptococcus pneumoniae* hyaluronate lyase in complex with hyaluronic acid disaccharide at 1.7 Å resolution. *J Mol Biol.* 16 Haziran 2000;299(4):885-95.

123. Stern R. Devising a pathway for hyaluronan catabolism: are we there yet? *Glycobiology*. Aralık 2003;13(12):105R-115R.
124. Reed RK, Laurent UB, Fraser JR, Laurent TC. Removal rate of [3H]hyaluronan injected subcutaneously in rabbits. *Am J Physiol*. Ağustos 1990;259(2 Pt 2):H532-535.
125. Volpi N, Schiller J, Stern R, Soltés L. Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan. *Curr Med Chem*. 2009;16(14):1718-45.
126. Stern R, Kogan G, Jedrzejewski MJ, Soltés L. The many ways to cleave hyaluronan. *Biotechnol Adv*. 2007;25(6):537-57.
127. Harada H, Takahashi M. CD44-dependent intracellular and extracellular catabolism of hyaluronic acid by hyaluronidase-1 and -2. *J Biol Chem*. 23 Şubat 2007;282(8):5597-607.
128. Marchessault RH, Ravenelle F, Zhu XX, editörler. Falcone S, Palmeri D, Berg R. Biomedical applications of hyaluronic acid. ACS Publications; 2006. pp. 155–74. [Internet]. Washington, DC: American Chemical Society; 2006 [a.yer 06 Nisan 2023]. (ACS Symposium Series; c. 934). Erişim adresi: <https://pubs.acs.org/doi/book/10.1021/bk-2006-0934>
129. Gibbs DA, Merrill EW, Smith KA, Balazs EA. Rheology of hyaluronic acid. *Biopolymers*. Haziran 1968;6(6):777-91.
130. Gatej I, Popa M, Rinaudo M. Role of the pH on hyaluronan behavior in aqueous solution. *Biomacromolecules*. 2005;6(1):61-7.
131. Verheye S, Markou CP, Salame MY, Wan B, King SB, Robinson KA, vd. Reduced thrombus formation by hyaluronic acid coating of endovascular devices. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Nisan 2000;20(4):1168-72.
132. Balazs EA, Denlinger JL. Clinical uses of hyaluronan. *Ciba Found Symp*. 1989;143:265-75; discussion 275-280, 281-5.
133. Belluco C, Meggiolaro F, Pressato D, Pavesio A, Bigon E, Donà M, vd. Prevention of postsurgical adhesions with an autocrosslinked hyaluronan derivative gel. *J Surg Res*. Ekim 2001;100(2):217-21.
134. Balazs EA. Viscosupplementation for treatment of osteoarthritis: from initial discovery to current status and results. *Surg Technol Int*. 2004;12:278-89.
135. Manna F, Dentini M, Desideri P, De Pità O, Mortilla E, Maras B. Comparative chemical evaluation of two commercially available derivatives of hyaluronic acid

- (hylaform from rooster combs and restylane from streptococcus) used for soft tissue augmentation. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. Kasım 1999;13(3):183-92.
136. Peyron JG. A new approach to the treatment of osteoarthritis: viscosupplementation. *Osteoarthritis Cartilage*. Nisan 1993;1(2):85-7.
 137. Pozo MA, Balazs EA, Belmonte C. Reduction of sensory responses to passive movements of inflamed knee joints by hylan, a hyaluronan derivative. *Exp Brain Res*. Ağustos 1997;116(1):3-9.
 138. Brun P, Abatangelo G, Radice M, Zacchi V, Guidolin D, Daga Gordini D, vd. Chondrocyte aggregation and reorganization into three-dimensional scaffolds. *J Biomed Mater Res*. 05 Eylül 1999;46(3):337-46.
 139. Solchaga LA, Dennis JE, Goldberg VM, Caplan AI. Hyaluronic acid-based polymers as cell carriers for tissue-engineered repair of bone and cartilage. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc*. Mart 1999;17(2):205-13.
 140. Pinto-Fraga J, López-de la Rosa A, Blázquez Arauzo F, Urbano Rodríguez R, González-García MJ. Efficacy and Safety of 0.2% Hyaluronic Acid in the Management of Dry Eye Disease. *Eye Contact Lens*. Ocak 2017;43(1):57-63.
 141. Seckel BR, Jones D, Hekimian KJ, Wang KK, Chakalis DP, Costas PD. Hyaluronic acid through a new injectable nerve guide delivery system enhances peripheral nerve regeneration in the rat. *J Neurosci Res*. 15 Şubat 1995;40(3):318-24.
 142. Hu M, Sabelman EE, Tsai C, Tan J, Hentz VR. Improvement of Schwann cell attachment and proliferation on modified hyaluronic acid strands by polylysine. *Tissue Eng*. Aralık 2000;6(6):585-93.
 143. Wnek GE, editör. Leach J.B., Schmidt C.E. Hyaluronan. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*. Marcel Dekker, New York.2004; 779–789. New York, NY: Informa Healthcare; 2008.
 144. Matsuda T, Moghaddam MJ, Miwa H, Sakurai K, Iida F. Photoinduced prevention of tissue adhesion. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 1992;38(3):M154-157.
 145. Pavesio A, Renier D, Cassinelli C, Morra M. Anti-adhesive surfaces through hyaluronan coatings. *Med Device Technol*. Eylül 1997;8(7):20-1, 24-7.
 146. Mockros LF, Leonard R. Compact cross-flow tubular oxygenators. *Trans - Am Soc Artif Intern Organs*. 1985;31:628-33.

147. Kamo J, Uchida M, Hirai T, Yosida H, Kamada K, Takemura T. A new multilayered composite hollow fiber membrane for artificial lung. *Artif Organs*. Ekim 1990;14(5):369-72.
148. Montoya JP, Shanley CJ, Merz SI, Bartlett RH. Plasma leakage through microporous membranes. Role of phospholipids. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 1992;38(3):M399-405.
149. Kirker KR, Luo Y, Nielson JH, Shelby J, Prestwich GD. Glycosaminoglycan hydrogel films as bio-interactive dressings for wound healing. *Biomaterials*. Eylül 2002;23(17):3661-71.
150. Duranti F, Salti G, Bovani B, Calandra M, Rosati ML. Injectable hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. A clinical and histological study. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Aralık 1998;24(12):1317-25.
151. Tezel A, Fredrickson GH. The science of hyaluronic acid dermal fillers. *J Cosmet Laser Ther Off Publ Eur Soc Laser Dermatol*. Mart 2008;10(1):35-42.
152. Carruthers A, Carruthers J. Non-animal-based hyaluronic acid fillers: scientific and technical considerations. *Plast Reconstr Surg*. Kasım 2007;120(6 Suppl):33S-40S.
153. Friedman PM, Mafong EA, Kauvar ANB, Geronemus RG. Safety data of injectable nonanimal stabilized hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Haziran 2002;28(6):491-4.
154. Flynn TC, Sarazin D, Bezzola A, Terrani C, Micheels P. Comparative histology of intradermal implantation of mono and biphasic hyaluronic acid fillers. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Mayıs 2011;37(5):637-43.
155. Ferry JD. Viscoelastic properties of polymers. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc; 1980. [Internet]. Wiley.com. [a.yer 09 Nisan 2023]. Erişim adresi: <https://www.wiley.com/en-au/Viscoelastic+Properties+of+Polymers%2C+3rd+Edition-p-9780471048947>
156. Koh IS, Lee W. Classification of Filler Complications. İçinde: Koh IS, Lee W, editörler. *Filler Complications: Filler-Induced Hypersensitivity Reactions, Granuloma, Necrosis, and Blindness* [Internet]. Singapore: Springer; 2019 [a.yer 10 Nisan 2023]. s. 1-26. Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/978-981-13-6639-0_1
157. Mansouri Y, Goldenberg G. Update on hyaluronic acid fillers for facial rejuvenation. *Cutis*. Ağustos 2015;96(2):85-8.

158. Clarke J, Hastie J, Kihlberg L, Metselaar R, Thackeray M. Definitions of terms relating to phase transitions of the solid state (IUPAC Recommendations 1994). *Pure Appl Chem*. 01 Ocak 1994;66.
159. Buck DW, Alam M, Kim JYS. Injectable fillers for facial rejuvenation: a review. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg JPRAS*. Ocak 2009;62(1):11-8.
160. Matarasso SL, Carruthers JD, Jewell ML, Restylane Consensus Group. Consensus recommendations for soft-tissue augmentation with nonanimal stabilized hyaluronic acid (Restylane). *Plast Reconstr Surg*. Mart 2006;117(3 Suppl):3S-34S.
161. Sundaram H, Cassuto D. Biophysical characteristics of hyaluronic acid soft-tissue fillers and their relevance to aesthetic applications. *Plast Reconstr Surg*. Ekim 2013;132(4 Suppl 2):5S-21S.
162. Funt D, Pavicic T. Dermal fillers in aesthetics: an overview of adverse events and treatment approaches. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 12 Aralık 2013;6:295-316.
163. Gladstone HB, Cohen JL. Adverse effects when injecting facial fillers. *Semin Cutan Med Surg*. Mart 2007;26(1):34-9.
164. McCracken MS, Khan JA, Wulc AE, Holds JB, Fante RG, Migliori ME, vd. Hyaluronic acid gel (Restylane) filler for facial rhytids: lessons learned from American Society of Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery member treatment of 286 patients. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2006;22(3):188-91.
165. Tzikas TL. Evaluation of the Radiance FN soft tissue filler for facial soft tissue augmentation. *Arch Facial Plast Surg*. 2004;6(4):234-9.
166. Goodman GJ, Roberts S, Callan P. Experience and Management of Intravascular Injection with Facial Fillers: Results of a Multinational Survey of Experienced Injectors. *Aesthetic Plast Surg*. Ağustos 2016;40(4):549-55.
167. Kim SN, Byun DS, Park JH, Han SW, Baik JS, Kim JY, vd. Panophthalmoplegia and vision loss after cosmetic nasal dorsum injection. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas*. Nisan 2014;21(4):678-80.
168. Rzany B, DeLorenzi C. Understanding, Avoiding, and Managing Severe Filler Complications. *Plast Reconstr Surg*. Kasım 2015;136(5 Suppl):196S-203S.
169. Sclafani AP, Fagien S. Treatment of injectable soft tissue filler complications. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Ekim 2009;35 Suppl 2:1672-80.

170. Bailey SH, Cohen JL, Kenkel JM. Etiology, prevention, and treatment of dermal filler complications. *Aesthet Surg J*. Ocak 2011;31(1):110-21.
171. Fitzgerald R, Bertucci V, Sykes JM, Duplechain JK. Adverse Reactions to Injectable Fillers. *Facial Plast Surg FPS*. Ekim 2016;32(5):532-55.
172. Signorini M, Liew S, Sundaram H, De Boulle KL, Goodman GJ, Monheit G, vd. Global Aesthetics Consensus: Avoidance and Management of Complications from Hyaluronic Acid Fillers-Evidence- and Opinion-Based Review and Consensus Recommendations. *Plast Reconstr Surg*. Haziran 2016;137(6):961e-71e.
173. Cohen JL, Biesman BS, Dayan SH, DeLorenzi C, Lambros VS, Nestor MS, vd. Treatment of Hyaluronic Acid Filler-Induced Impending Necrosis With Hyaluronidase: Consensus Recommendations. *Aesthet Surg J*. Eylül 2015;35(7):844-9.
174. Park SW, Woo SJ, Park KH, Huh JW, Jung C, Kwon OK. Iatrogenic retinal artery occlusion caused by cosmetic facial filler injections. *Am J Ophthalmol*. Ekim 2012;154(4):653-662.e1.
175. Belezney K, Carruthers JDA, Humphrey S, Carruthers A, Jones D. Update on Avoiding and Treating Blindness From Fillers: A Recent Review of the World Literature. *Aesthet Surg J*. 16 Mayıs 2019;39(6):662-74.
176. Loh KTD, Chua JJ, Lee HM, Lim JTE, Chuah G, Yim B, vd. Prevention and management of vision loss relating to facial filler injections. *Singapore Med J*. Ağustos 2016;57(8):438-43.
177. Hayreh SS, Zimmerman MB. Central retinal artery occlusion: visual outcome. *Am J Ophthalmol*. Eylül 2005;140(3):376-91.
178. Lowe NJ, Maxwell CA, Patnaik R. Adverse reactions to dermal fillers: review. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Kasım 2005;31(11 Pt 2):1616-25.
179. Alcalay J, Alcalay R, Gat A, Yorav S. Late-onset granulomatous reaction to Artecoll. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Ağustos 2003;29(8):859-62.
180. Brody HJ. Complications of expanded polytetrafluoroethylene (e-PTFE) facial implant. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. Eylül 2001;27(9):792-4.
181. Cavallini M, Gazzola R, Metalla M, Vaianti L. The role of hyaluronidase in the treatment of complications from hyaluronic acid dermal fillers. *Aesthet Surg J*. 01 Kasım 2013;33(8):1167-74.

182. Duran-Reynals F. Exaltation de l'activité du virus vaccinal par les extraits de certains organes. *Compt Rend Soc Biol.* 1928;9:6-7.
183. Meyer K. Hyaluronidases In: Boyer, PD (Ed.). *The enzymes.* New York: Academic press; 1971.
184. El-Safory NS, Fazary AE, Lee CK. Hyaluronidases, a group of glycosidases: Current and future perspectives. *Carbohydr Polym.* 11 Haziran 2010;81(2):165-81.
185. Hotez PJ, Narasimhan S, Haggerty J, Milstone L, Bhopale V, Schad GA, vd. Hyaluronidase from infective *Ancylostoma hookworm* larvae and its possible function as a virulence factor in tissue invasion and in cutaneous larva migrans. *Infect Immun.* Mart 1992;60(3):1018-23.
186. Kreil G. Hyaluronidases--a group of neglected enzymes. *Protein Sci Publ Protein Soc.* Eylül 1995;4(9):1666-9.
187. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23:435-61.
188. Menzel EJ, Farr C. Hyaluronidase and its substrate hyaluronan: biochemistry, biological activities and therapeutic uses. *Cancer Lett.* 11 Eylül 1998;131(1):3-11.
189. Rai SK, Duh FM, Vigdorovich V, Danilkovitch-Miagkova A, Lerman MI, Miller AD. Candidate tumor suppressor HYAL2 is a glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored cell-surface receptor for jaagsiekte sheep retrovirus, the envelope protein of which mediates oncogenic transformation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 10 Nisan 2001;98(8):4443-8.
190. Cherr GN, Meyers SA, Yudin AI, VandeVoort CA, Myles DG, Primakoff P, vd. The PH-20 protein in cynomolgus macaque spermatozoa: identification of two different forms exhibiting hyaluronidase activity. *Dev Biol.* 10 Nisan 1996;175(1):142-53.
191. Dunn AL, Heavner JE, Racz G, Day M. Hyaluronidase: a review of approved formulations, indications and off-label use in chronic pain management. *Expert Opin Biol Ther.* Ocak 2010;10(1):127-31.
192. MD D, PHD A, Borrell M. In Vitro Resistance to Degradation of Hyaluronic Acid Dermal Fillers by Ovine Testicular Hyaluronidase. *Dermatol Surg.* 20 Nisan 2010;36:804-9.
193. Lee W, Oh W, Oh SM, Yang EJ. Comparative Effectiveness of Different Interventions of Perivascular Hyaluronidase. *Plast Reconstr Surg.* Nisan 2020;145(4):957-64.

194. Kim MS, Youn S, Na CH, Shin BS. Allergic reaction to hyaluronidase use after hyaluronic acid filler injection. *J Cosmet Laser Ther Off Publ Eur Soc Laser Dermatol*. 2015;17(5):283-5.
195. SOCERJ - Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro [Internet]. [a.yer 11 Nisan 2023]. Erişim adresi: <http://sociedades.cardiol.br/socerj/area-cientifica/anticoagulantes.asp>
196. Pollack SV. Wound healing: a review. IV. Systemic medications affecting wound healing. *J Dermatol Surg Oncol*. Ağustos 1982;8(8):667-72.
197. Levine A, Kenet G, Bruck R, Avni Y, Avinoach I, Aeed H, vd. Effect of heparin on tissue binding activity of fibroblast growth factor and heparin-binding epidermal growth factor in experimental colitis in rats. *Pediatr Res*. Mayıs 2002;51(5):635-40.
198. Oliveira PG de, Sousa JB de, Reys LGCV, Magalhães AV de, Rabelo F de S, Muniz KC. Effects of enoxaparin on the healing of abdominal wall in rats: study on breaking strength and histopathology. *Acta Cir Bras*. 2006;21(4):247-51.
199. Folkman J. Regulation of angiogenesis: a new function of heparin. *Biochem Pharmacol*. 01 Nisan 1985;34(7):905-9.
200. de Sousa JB, Soares EG, Aprilli F. Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing. Experimental study on the small intestine of rabbits. *Dis Colon Rectum*. Temmuz 1991;34(7):613-7.
201. Brändstedt S, Rank F, Olson PS. Wound healing and formation of granulation tissue in normal and defibrinogenated rabbits. An experimental model and histological study. *Eur Surg Res Eur Chir Forsch Rech Chir Eur*. 1980;12(1):12-21.
202. Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, vd. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest*. Ocak 2001;119(1 Suppl):64S-94S.
203. Kayaalp O, Antikoagulan ilaçlar. Kayaalp O Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı Ankara; 2012, p: 509-536.
204. Schanz S, Schippert W, Ulmer A, Rassner G, Fierlbeck G. Arterial embolization caused by injection of hyaluronic acid (Restylane). *Br J Dermatol*. Mayıs 2002;146(5):928-9.
205. DeLorenzi C. Complications of injectable fillers, part 2: vascular complications. *Aesthet Surg J*. 01 Mayıs 2014;34(4):584-600.

206. Li X, Du L, Lu JJ. A Novel Hypothesis of Visual Loss Secondary to Cosmetic Facial Filler Injection. *Ann Plast Surg.* Eylül 2015;75(3):258-60.
207. Lee W, Oh W, Ko HS, Lee SY, Kim KW, Yang EJ. Effectiveness of Retrobulbar Hyaluronidase Injection in an Iatrogenic Blindness Rabbit Model Using Hyaluronic Acid Filler Injection. *Plast Reconstr Surg.* Temmuz 2019;144(1):137-43.
208. Meyer K, Chaffee E, Hobby GL, Dawson MH. HYALURONIDASES OF BACTERIAL AND ANIMAL ORIGIN. *J Exp Med.* 28 Şubat 1941;73(3):309-26.
209. Hirsch RJ, Cohen JL, Carruthers JDA. Successful management of an unusual presentation of impending necrosis following a hyaluronic acid injection embolus and a proposed algorithm for management with hyaluronidase. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al.* Mart 2007;33(3):357-60.
210. DeLorenzi C. Transarterial degradation of hyaluronic acid filler by hyaluronidase. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al.* Ağustos 2014;40(8):832-41.
211. Wang M, Li W, Zhang Y, Tian W, Wang H. Comparison of Intra-arterial and Subcutaneous Testicular Hyaluronidase Injection Treatments and the Vascular Complications of Hyaluronic Acid Filler. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al.* Şubat 2017;43(2):246-54.
212. Kim DW, Yoon ES, Ji YH, Park SH, Lee BI, Dhong ES. Vascular complications of hyaluronic acid fillers and the role of hyaluronidase in management. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg JPRAS.* Aralık 2011;64(12):1590-5.
213. Carruthers JDA, Fagien S, Rohrich RJ, Weinkle S, Carruthers A. Blindness caused by cosmetic filler injection: a review of cause and therapy. *Plast Reconstr Surg.* Aralık 2014;134(6):1197-201.
214. Tansatit T, Apinuntrum P, Phetudom T. A cadaveric feasibility study of the intraorbital cannula injections of hyaluronidase for initial salvation of the ophthalmic artery occlusion. *Aesthetic Plast Surg.* Nisan 2015;39(2):252-61.
215. Coleman SR. Avoidance of arterial occlusion from injection of soft tissue fillers. *Aesthet Surg J.* Kasım 2002;22(6):555-7.
216. Wolf RA, Chaung LY, O'Hara D, Smith TW, Muller JE. The serum kinetics of bovine testicular hyaluronidase in dogs, rats and humans. *J Pharmacol Exp Ther.* Ağustos 1982;222(2):331-7.

217. Szépfalusi Z, Nentwich I, Dobner M, Pillwein K, Urbanek R. IgE-mediated allergic reaction to hyaluronidase in paediatric oncological patients. *Eur J Pediatr.* Mart 1997;156(3):199-203.
218. Meuwese MC, Broekhuizen LN, Kuikhoven M, Heeneman S, Lutgens E, Gijbels MJJ, vd. Endothelial surface layer degradation by chronic hyaluronidase infusion induces proteinuria in apolipoprotein E-deficient mice. *PloS One.* 08 Aralık 2010;5(12):e14262.
219. Hwang E, Song YS. Quantitative Correlation Between Hyaluronic Acid Filler and Hyaluronidase. *J Craniofac Surg.* Mayıs 2017;28(3):838-41.
220. Chen Y, Zhang YL, Luo SK. Experimentally Induced Arterial Embolism by Hyaluronic Acid Injection: Clinicopathologic Observations and Treatment. *Plast Reconstr Surg.* Nisan 2019;143(4):1088-97.
221. Li J, Xu Y, Wang Y, Hsu Y, Wang P, Li J. The Role of Hyaluronidase for the Skin Necrosis Caused by Hyaluronic Acid Injection-Induced Embolism: A Rabbit Auricular Model Study. *Aesthetic Plast Surg.* Ekim 2019;43(5):1362-70.
222. Souza Felix Bravo B, Klotz De Almeida Balassiano L, Roos Mariano Da Rocha C, Barbosa De Sousa Padilha C, Martinez Torrado C, Teixeira Da Silva R, vd. Delayed-type Necrosis after Soft-tissue Augmentation with Hyaluronic Acid. *J Clin Aesthetic Dermatol.* Aralık 2015;8(12):42-7.
223. Zhuang Y, Yang M, Liu C. An Islanded Rabbit Auricular Skin Flap Model of Hyaluronic Acid Injection-Induced Embolism. *Aesthetic Plast Surg.* Haziran 2016;40(3):421-7.
224. Sall I, Férard G. Comparison of the sensitivity of 11 crosslinked hyaluronic acid gels to bovine testis hyaluronidase. *Polym Degrad Stab.* 01 Mayıs 2007;92:915-9.
225. Chiang C, Zhou S, Chen C, Ho DS, Zhang H, Liu K. Intravenous Hyaluronidase with Urokinase as Treatment for Rabbit Retinal Artery Hyaluronic Acid Embolism. *Plast Reconstr Surg.* Aralık 2016;138(6):1221-9.
226. Chiang C, Zhou S, Liu K. Reply: Intravenous Hyaluronidase with Urokinase as Treatment for Arterial Hyaluronic Acid Embolism. *Plast Reconstr Surg.* Eylül 2016;138(3):558e-9e.
227. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ, vd. Heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 21 Ocak 2014;129(3):e28-292.

228. Sikri N, Bardia A. A history of streptokinase use in acute myocardial infarction. *Tex Heart Inst J.* 2007;34(3):318-27.

