

T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM
DALI**

**Trombositten Zengin Plazmanın Hızlı ve Yavaş Doku Genişletme Üzerine
Etkilerinin İncelenmesi**

Dr. Şerif YAVUZ

Nisan-2014

T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM
DALI**

**Trombositten Zengin Plazmanın Hızlı ve Yavaş Doku Genişletme Üzerine
Etkilerinin İncelenmesi**

Hazırlayan

Dr. Şerif YAVUZ

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Furkan Erol Karabekmez

Nisan-2014

*Uzmanlık eğitimim sırasında klinik ve cerrahi deneyimi yanı sıra, plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi etik ve kültürünü bizlere yansıtan, Anabilim Dalı Başkanımız **Prof. Dr. Metin Görgü** 'ye,*

*İyi bir plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrah olabilmem için uzmanlık eğitimim sırasında bilgi, davranış ve tecrübeleri ile büyük emek veren hocalarım, **Yrd. Doç. Dr. Furkan E. Karabekmez, Doç. Dr. Kaan Gideroğlu, Doç. Dr. Şükrü Yazar** ve **Doç. Dr. Dilek Şenen** 'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.*

Tezimin deney kısımlarını gerçekleştirdiğim AİBÜ Deneysel Hayvan Araştırmaları Laboratuvarı, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı ve Embriyoloji ve Histoloji Anabilim Dalı hoca, asistan ve çalışanlarına teşekkür ederim.

ÖZET

Doku genişletme, primer olarak kapatılamayan doku defektlerinin, komşu dokunun balon yardımı ile genişletilerek renk ve doku uyumu bakımından benzer dokular ile onarılmasını sağlayan bir tekniktir. Doku genişletme yönteminin rekonstrüksiyon basamağındaki önemli avantajlarının yanında tedavi için uzun zaman gerektirmesi, güvenli şişirilebilmesi için sık doktor kontrolü hastanın konforunu bozmakta ve enfeksiyon gibi komplikasyonlara zemin hazırlamaktadır. Zaman kaybını azaltmak için yapılmak istenen hızlı doku genişletme işlemi sonucunda ise dolaşımın bozularak nekrozun oluşma sıklığı artmaktadır. Hızlı ve yavaş doku genişletme işlemlerinin her ikisinde de komplikasyonların azaltılması için yeni yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Plateletten zengin plazma içeriğindeki çok sayıda büyüme faktörü nedeni ile tıbbın her alanında olduğu gibi plastik cerrahide de giderek artan sıklıkta kullanılmaktadır. Bu çalışmada amacımız PRP'nin anjiogenez ve doku remodelingi üzerindeki olumlu etkilerinden faydalanarak hızlı ve yavaş doku genişletme işlemleri üzerlerindeki etkilerini gözlemlemektir.

Bu amaçla 42 adet 350-450 gr. Ağırlığındaki dişi sıçan rastgele 6 gruba ayrıldı. Donör olarak seçilen 7 adet başka sıçandan PRP hazırlanması amacı ile tüm vücut kanları alındı. Alınan kanın santrifüj edilmesi ile hazırlanan PRP, doku genişletme yapılması planlanan bölgeye, gruplarına göre farklı zamanlarda enjekte edildi ve doku genişleticiler hızlı ve yavaş şişirilme yöntemleri ile şişirildiler (Grup 1A: Hızlı doku genişletme uygulanan kontrol grubu, Grup 1B: Yavaş doku genişletme uygulanan kontrol grubu, Grup 2A: PRP uygulandıktan 1 hafta sonra hızlı doku genişletme yapılan grup, Grup 2B: PRP uygulandıktan 1 hafta sonra yavaş doku genişletme yapılan grup, Grup 3A: PRP uygulaması ile aynı gün hızlı doku genişletme yapılan grup, Grup 3B:

PRP uygulaması ile aynı gün yavaş doku genişletme yapılan grup). Değerlendirme amacı ile genişletme eylemi bittikten 7 gün sonra genişletilen dokunun tepe noktasından örnekler alınarak, histolojik değerlendirme için Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarına, ELISA değerlendirmesi için Tıbbi Farmakoloji laboratuvarına teslim edildi.

Grup 1A'daki 3 denekte, Grup 1B'deki 2 denekte, Grup 2A ve Grup 2B'deki 1'er denekte genişletme eylemi uygulanan bölgenin tepe noktasında % 50'den fazla nekrotik alan olduğu gözlemlendi. PRP uygulanan gruplarda nötrofil invazyonunda azalma tespit edildi. PRP'nin doku genişletme eyleminden 1 hafta önce verildiği gruplarda yeni oluşan damar sayısında, hızlı doku genişletme uygulanan ve PRP verilen bütün gruplarda ise eksprese edilen bFGF ve VEGF düzeylerinde anlamlı artışlar tespit edildi. Ayrıca PRP verilerek yavaş doku genişletme işlemi uygulanan gruplarda ve hızlı doku genişletme işlemi ile aynı gün PRP verilen gruplarda kapsül kalınlığında anlamlı derecede azalma olduğu gözlemlendi.

PRP kolay elde edilen, yan etki profili düşük otolog bir üründür. Etkisini içerdiği büyüme faktörleri ve proaktif hücreler yolu ile gösterir. Çalışmamızda, bu ürünün doku genişletme işlemi esnasında oluşabilecek majör komplikasyonlardan biri olan nekrozu azalttığını, genişletme eyleminin başarı ile sonuçlanabilmesini sağlayacak yeni damar oluşumunu artırdığını ve kapsül kalınlığını azalttığını gösterdik. Yapılacak daha ileri araştırmalar ile kolay elde edilen bu iki otolog ürünün doku genişletme işleminde daha güvenle kullanılabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Hızlı ve yavaş doku genişletme, Plateletten zengin plazma.

EFFECTS OF PLATELET RICH PLASMA ON FAST AND SLOW INVESTIGATION OF TISSUE EXPANSION

ABSTRACT

Tissue expansion, tissue defects that can not be closed primarily, with the help of neighbors Tap the balloon expanded in terms of color and texture match with tissue repair is a technique that is similar. Tissue expansion of the major advantages of the method of reconstruction next step requires a long time for treatment, frequent doctor's supervision in order to secure inflated to disrupt the patient's comfort and is preparing the ground to complications such as infection. Time to be made to reduce the loss as a result of rapid tissue expansion procedures may deteriorate if the circulation is increasing the frequency of occurrence of necrosis. In both fast and slow tissue expansion procedures for the reduction of complications is trying to develop new methods. Platelet- rich plasma content because of the numerous growth factors, as in every field of medicine in plastic surgery has been used with increasing frequency. The aim of this study PRP positive effects on angiogenesis and tissue remodeling advantage of fast and slow tissue expansion process is to observe the effects on them.

For this purpose, 42 g of 350-450. Weight in the female rats were randomly divided into 6 groups. 7 selected as a donor for the preparation of PRP from another rat blood was taken with the entire body. Preferably blood is centrifuged prepared with PRP , tissue expansion scheduled region , according to groups at different times was injected and the expanders fast and slow inflated methods raw they (Group 1 : Fast tissue expansion treated control group, Group 1B: Slow tissue expansion treated control group Group 2A: PRP 1 week after rapid tissue expansion done , Group 2B: PRP 1 week after slow tissue expansion the group , and Group 3 : PRP application on the same day rapid

tissue expansion done , Group 3B: PRP application with the same days with slow tissue expansion group) . Evaluation with the aim of expanding the action bits 7 days after taking samples from the peak of tissue expansion, Histology and Embryology laboratory for histological evaluation, ELISA was delivered to the laboratory for evaluation of Medical Pharmacology.

In 3 subjects in Group 1A, Group 1B in the second subject, Group 2A and Group 2B of the first expansion action in the subject application region formed at the peak was observed that more than 50% necrotic areas. PRP was a reduction in the invasion of neutrophils in the group. PRP was given 1 week before a tissue expander action groups in the number of newly formed vessels, rapid tissue expansion is applied, and in all the groups given PRP expressed significant increase in bFGF and VEGF were detected. Also given PRP slow tissue expansion process and rapid tissue expansion process in the groups treated with the same day capsule in the PRP group given that a significant reduction in thickness was observed.

PRP obtained easily, with low side effect profile product is autologous. Which include the effect of growth factors and pro-active cells shows through. In our study, the expansion of this product during the process of tissue necrosis, which reduces one of the major complications that can occur, that enables the expansion will result in the achievement of action increases the formation of new blood vessels and showed that it reduces the thickness of the capsule . Easy to obtain further research to be done with these two autologous tissue expansion process of the product can be safely used in the more we think.

Keywords: fast and slow tissue expansion, Platelet-rich plasma.

İçindekiler

ŞEKİLLER DİZİNİ	7
GRAFİK DİZİNİ	8
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	9
2. GENEL BİLGİLER	12
2.1. DERİ.....	12
2.1.1. Derinin Yapısı	12
2.1.2. Derinin Kanlanması.....	13
2.3. Trombositten Zengin Plazma	41
2.3.1. Trombositlerin Yapısı ve İçerikleri	41
2.3.2. Büyüme Faktörleri.....	43
2.3.3. Trombositten Zengin Plazma (PRP = TZP = trombosit jel = büyüme faktörlerinden zengin plazma).....	51
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	55
3.1. İşlemler:	56
3.1.1. PRP'nin Hazırlanması.....	56
3.1.2. Anestezi	50
3.1.3. Cerrahi	50
3.1.4. Enjeksiyonlar	51
3.2. Değerlendirme.....	53
3.2.1. Genel Değerlendirme	53
3.2.2. Histolojik Değerlendirme.....	54

3.2.3. VEGF ve bFGF Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	55
3.2.4. İstatistiki Değerlendirme.....	55
4. Bulgular(111).....	56
4.1. Genel Değerlendirme.....	56
4.2. Histolojik Değerlendirme.....	59
4.3. VEGF ve bFGF Ekspresyonunun ELİSA Yöntemi İle Değerlendirilmesi.....	70
4.3.1 VEGF Ekspresyonunun ELİSA Yöntemi İle Değerlendirilmesi.....	70
4.3.2 bFGF Ekspresyonunun ELİSA Yöntemi İle Değerlendirilmesi.....	72
5. Tartışma.....	73
6. Sonuç.....	84
KAYNAKLAR.....	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 2.1. Dermisin yapısı

ŞEKİL 2.2. Dermisin kanlanması

ŞEKİL 2.3. Trombosit yapısı

ŞEKİL 3.1. a) İlk santrifüj sonrası plazma b) İkinci santrifüj sonrası plazma

ŞEKİL 3.2. Operasyonun planlanması

ŞEKİL 3.3. Ekspande edilecek alana PRP uygulanması

ŞEKİL 4.1. Şişirilme sonrası nekroz alanlarının gösterilmesi

ŞEKİL 4.2. Grup 1A epidermis, dermis ve kapsül yapısı

ŞEKİL 4.3. Grup 1B epidermis, dermis ve kapsül yapısı

ŞEKİL 4.4. Grup 2A epidermis, dermis ve kapsül yapısı

ŞEKİL 4.5. Grup 2B epidermis, dermis ve kapsül yapısı

ŞEKİL 4.6. Grup 3A epidermis, dermis ve kapsül yapısı

ŞEKİL 4.7. Grup 3B epidermis, dermis ve kapsül yapısı

ŞEKİL 4.8. Grup 1A -2A-3A VEGF immünohistokimyasal boyaması

ŞEKİL 4.9. Grup 1B -2B-3B VEGF immünohistokimyasal boyaması

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 4.1: Yeni oluşan damarların gruplara göre dağılımı

Grafik 4.2: Oluşan kapsül kalınlığı

Grafik 4.3: VEGF düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Grafik 4.4: bFGF düzeylerinin gruplara göre dağılımı

TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.1: Hızlı ve yavaş şişirilen gruplardaki nekroz oluşun ve değerdendirme dışı bırakılan hayvan sayılarının karşılaştırılması

Tablo 4.2: PRP uygulanan ve kontrol gruplarındaki nekroz oluşun ve değerdendirme dışı bırakılan hayvan sayılarının karşılaştırılması

Tablo 4.3: Kapsül kalınlığının gruplar arası karşılaştırılması

Tablo 4.4: Yeni oluşun damar sayısının gruplar arası karşılaştırılması

Tablo 4.5: VEGF ELISA ölçümünün gruplar arası karşılaştırılması

Tablo 4.6: bFGF ELISA ölçümünün gruplar arası karşılaştırılması

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Plastik ve rekonstrüktif cerrahide, doku defektlerinin ideal tedavisi; renk, yapı, duysal innervasyon ve kıl yoğunluğu açısından benzer dokular ile yapılanıdır.

(1)

Doku defektlerinin rekonstrüksiyonunda kullanılan doku genişletme tekniğı lokal ya da uzak deri flepleri, deri greftleri ve serbest flepler gibi konvansiyonel tedavi yöntemeleri ile karşılaştırıldığında basitliğı, verici alanda ilave skar oluşturmaması, daha iyi doku ve renk uyumu sağlamsı açısından bu yöntemlere üstünlük sağlar. (2)

Doku genişletme tekniğı, örtücü dokuların altlarında yavaş olarak büyüyen kitlelere, yüzey alanlarını genişleterek uyum sağlamsı prensibine dayanan fizyolojik

bir yüzey artışıdır. Vücudun her bölgesinde, genişletilebilecek deri alanı bulunan vakalarda bu yöntemi uygulama olanağı vardır (3, 4).

Başlangıçta daha çok saçlı deri, meme, kulak rekonstrüksiyonu amacı ile kullanılırken günümüzde damar sinir uzatılmasında, mesane boynu onarımında serbest fleplerin donör alanlarının genişletilmesi gibi spesifik endikasyonlarda da başarı ile uygulanmaktadır. (5, 6). Ancak genişletme uygulaması haftalar alan bir süreçtir. Uzun sürmesi, sık enjeksiyon gerektirmesi, genişletme uygulamasının en önemli komplikasyonu olan enfeksiyon riskini artırmaktadır. Aynı zamanda hastanın sık sık hastaneye gelmesi ve genişleticinin uzun süre kalarak hareket kısıtlılığına neden olması zaman ve iş gücü kaybına neden olmakta ve hastanın tedaviye uyumunu azaltmaktadır.

Zaman kaybını azaltmak için yapılan hızlı doku genişletmede ise en önemli komplikasyonlardan biri dolaşım bozukluğu sonucunda flep yaşayabilirliğinin azalmasıdır. PRP de bulunan büyüme faktörleri anjiyogenezin oluşumunu hızlandırarak genişleme süresini kısaltıp flebin yaşayabilirliğini artırabilir.

Bu çalışmadaki bizim amacımız, rat dorsal derisinde yapılan hızlı ve yavaş doku genişletmede, lokal olarak uygulanan PRP'nin, doku genişlemesine olan etkisini araştırmaktır.

Trombositten zengin plazma (Platelet Rich Plasma, PRP); Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF), Transforming Büyüme Faktörü α ve β (TGF α ve β), Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF) vb. büyüme faktörlerini içeren ve kanın farklı iki hızda santrifüj edilmesiyle oluşan bir maddedir. Bu ürüne trombin ilavesiyle trombositlerin α - granüllerinden çok

sayıda mediatör salınır. Bunların hemen hepsi yara ve kemik iyileşmesinde görev alan ve anjiogenez üzerinde de etkili olan mediatörlerdir. Bunun yanında otolog olarak üretilebiliyor olması son yıllarda özellikle kemik iyileşmesinde ve zor iyileşen yaraların tedavisinde klinik kullanım alanı bulmasına sebep olmuştur. Yapılan klinik çalışmalarda yara ve kemik iyileşmesini hızlandırdığı; şişliği, ağrıyı, enfeksiyonu ve skarı azalttığı, kanama kontrolü sağladığı iddia edilmektedir.

PRP etkinliği kanıtlanmış, bol miktarlarda elde edilebilen otolog ürün olduğu için, hücresel tedavilerde giderek artan sayıda çalışmaya konu olmaktadır. Buna rağmen literatürde, doku genişletici uygulanan doku üzerindeki potansiyel etkileri ile ilgili çalışmalara rastlanmamıştır. PRP içerisinde bulunan büyüme faktörlerinin ve kemoreaktan maddelerin neovaskülarizasyonu hızlandırdığı bilinmektedir. Doku genişletmede oluşan nekroz gibi komplikasyonlar, anjiogenezin yeterli düzeyde oluşmamasına ve sonuçta dokunun yeterli beslenememesine bağlıdır. Zaman ve maliyet kaybını azaltmak için kullanılmak istenen hızlı doku genişletme işleminde de en büyük problem dolaşım bozukluğudur. PRP'nin anjiogenez üzerindeki olumlu etkileri doku genişletme işlemi sırasında meydana gelen komplikasyonların azaltılmasında yardımcı olabilir.

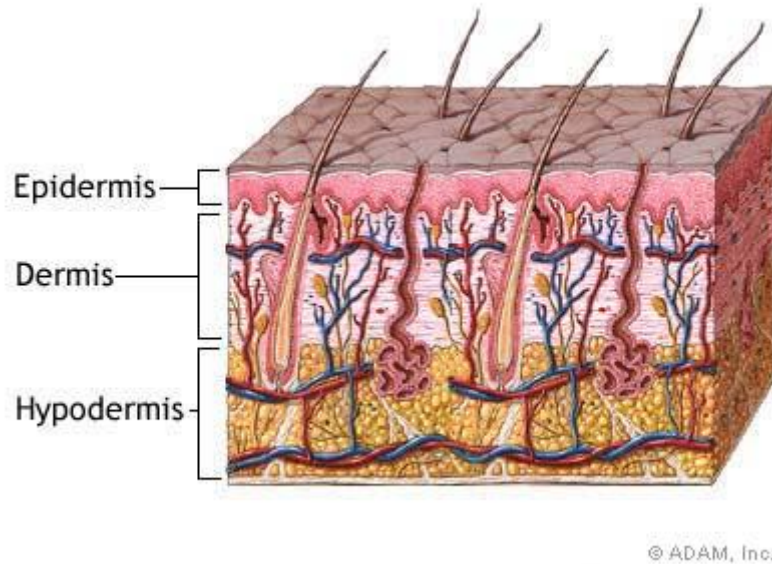
Bu çalışmada rat dorsal bölgesinde yapılan hızlı ve yavaş doku genişletme işlemlerinde, lokal olarak uygulanan PRP'nin, görülebilecek olası etkilerini araştırmayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DERİ

2.1.1. Derinin Yapısı

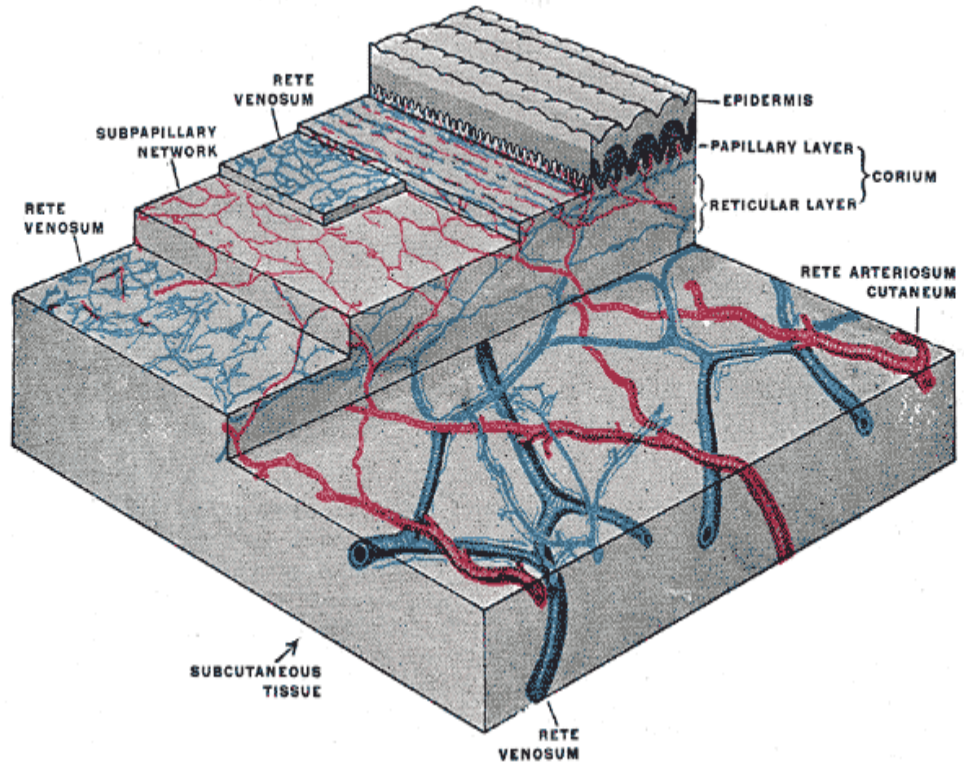
İnsan vücut ağırlığının yaklaşık %16'sını teşkil eden, vücudu kaplayan en geniş yüzeyli organ deridir. Epidermis ve dermis adı verilen iki tabakadan oluşan derinin kalınlığı 1,5-4 mm arasında değişir. Ancak göz kapağında 0,04 mm, avuç içinde ise 1,6 mm olan epidermis, bölgeye göre değişik kalınlık gösterir. Epidermis keratinosit, melanosit, langerhans hücresi ve Merkel hücrelerinden meydana gelir. Dermis ve epidermis birleşme yeri düzensizdir ve papilla denilen uzantılar bulunur. Dermiste non-sellüler bağ doku elemanları ve arasında sinirler, kan damarları, lenfatikler, kas üniteleri, pilosebace, ekrin ve apokrin üniteleri bulunur. Dermisin altında ise içinde yağ hücreleri bulunduran gevşek bağ dokusu bulunur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Dermisin yapısı (<http://www.nytimes.com/health/guides/disease/melanoma/print.html>)

2.1.2. Derinin Kanlanması

Cildin mikrovasküler çatısını arterioller, terminal arterioller, postkapiller venüller, kollektör venüller ve musküler venüller içermektedir (7)(7)(7). Arterioller direkt veya indirekt olarak cildin arteriyel dallarından köken almaktadır. Deri dolaşımı, doku oksijenizasyonun yanında, termoregülatuar ve immünolojik bir dizi işlevide yerine getirir. Derinin damarsal ağı bölgeden bölgeye farklılık gösterir. Cormack ve Lamberty, deri fleplerinin arteriyel anatomisini, fasyokutanöz arterler, muskulokutanöz perforatör arterler ve direk kutanöz arterler şeklinde sınıflamıştır (8)(8). İnsanda derinin kanlanması muskulokutanöz arterler ve septokutanöz arterler aracılığı ile olur. Muskulokutanöz arterler random patern fleplerin kaldırılabilmesine olanak tanırken septokutanöz arterler, aksiyel patern fleplerin oluşmasını sağlarlar. Deri, kanlanmasını üç farklı anatomik seviyede bulunan beş ayrı katmanın birbiri ile bağlantı oluşturması ile meydana getirdiği damar ağı ile sağlar (8). Anatomik seviyeleri fasya, subkutan yağ dokusu ve deri oluştururken, damar ağı ise, subepidermal pleksus, dermal pleksus, subdermal pleksus, subkutanöz pleksus ve fasyal pleksustan oluşur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Dermisin kanlanması (<https://www.boundless.com/physiology/the-integumentary-system/functions-of-the-integumentary-system/blood-reservoir/>).

Fasyal pleksus; Kan damarları, fasyanın içinde, altında (subfasyal) ve üzerinde (prefasyal) seyrederek. Fasyal pleksus iki şekildedir. Bunlar, fasyanın altında yer alan subfasyal pleksus ve fasyanın üstünde yer alan prefasyal pleksustur. Subfasyal pleksus ise nispeten minör karakterdedir. Flebin yaşamını temin etme kabiliyetinden yoksundur. Baskın olan prefasyal pleksustur. Kan akımı muskulokutan ve septokutan arterlerden gelir (9).

Subkutan pleksus; Derin ve yüzeysel olmak üzere subkutan yağ dokusunu ikiye bölen, yüzeysel fasya içinde bulunan arterlerden ve venlerden oluşmuş horizontal ve lineer yerleşimli bir vasküler pleksustur (9).

Subdermal pleksus; Derinin primer kan akımını sağlar. Bu bölge deri flebinin kenar kanamasının olduğu bölgedir. Retiküler dermisle alttaki subkutan yağ

dokusu arasında subkutan pleksustan uzanan dallar bu pleksusu oluşturur. Deri, adipoz doku ve deri eklerini besler. Dermal pleksusa verdiği dallar arasında bulunan yaygın anastomozlar kanlanmayı olağanüstü artırmaktadır. Bu pleksusun ana görevi en üstte bulunan iki pleksusun beslenmesidir. Venöz dolaşım ağına da sahip olmasına karşın hakim olan vasküler yapı arterlerdir (9).

Dermal ve subepidermal pleksuslar; Papiller dermis'ten başlar dermoepidermal bölgeye kadar uzanır. Bu pleksuslar gerçek deri kan dolaşımını sağlarlar. Dermal pleksusta hakim olan yapı arteriyollerdir. Bunlar izole kas alanlarına sahiptirler ve asıl görevi ısı regülasyonunu sağlamaktır. Subepidermal pleksusta hakim olan vasküler yapı ise kapiller damarlardır ve bunların ana görevleri beslenmedir (9). Segmental damarlar derin dokulardan yüzeysel dokulara doğru ilerlerken her biri vücudun belirli bölgesini besleyen damarlar verirler. Bu damarlar kaslar arasındaki fibröz septaları izleyerek, bazıları direkt olarak deriye, çoğu ise kas içine giden dallara ayrılırlar.

Direkt olarak deriye giden dallara septokutan damarlar, kaslar içinden geçerek deriye ulaşan damarlara muskulokutan damarlar adı verilir. Septokutan damarların bir kısmı deri altında yüzeysel olarak seyrederler. Direkt olarak deriyi besleyen bu damarlar, direkt kutanöz damarlar olarak adlandırılırlar. Deride derin pleksus, subkutanöz doku ile derin dermis arasında bulunur. Yüzeysel pleksus, papiller ve retiküler dermis birleşiminde bulunur. Mikrodolaşım, kan akımının lokal kontrolünü ve dokuların beslenmesini sağlayan damarlardan oluşur (10). Derinin normal total kan akımı 20 ml/100 gr/dk'dır. Kan akımı, ısı ve akut sempatik blokajla artar. Artmış kan akımı, kapillerleri atlayarak arteriyovenöz anastomozlar yoluyla deriye ulaşır (11).

subdermal venöz sistem, ikincisi ise kutanöz arterlere eşlik eden vena komitanteslerdir (13). Derinin venöz drenajı, vena kominikanlar ve vena komitanteslerden oluşan perforatör venler aracılığı ile derin venlere doğru yönlendirilir. Kominikan venler subkutanöz venöz pleksusu derin venlere bağlayan büyük venlerdir. Beraberinde kutanöz arter eşlik edebilir. Vena komitantesler subkutanöz yağ dokunun derin kısmını drene eder, direkt veya indirekt yollarla derin venlere dökülürler. Deri kapiller yoğunluğu 16-55/mm²'dir. (Bu oran iskelet kasında 1000-2000/mm²'dir). Subdermal pleksus derinin primer kan kaynağı sayılmaktadır (14).

Lenfatik sistem; lenfatik kapiller, toplayıcı lenfatikler ve lenf kanallarından oluşur ve mikrodolaşımın bir alt yapısıdır. Flep kaldırıldığında bu lenfatik kanallar hasara uğrayarak flepte ödem gelişimine yol açabilirler. Flep kaldırılması ile hücre içi ve dışı basınçlardaki değişiklikler sonucu oluşan ödem, hücrelerin beslenmesi için gerekli diffüzyonu ve dolaşımı zorlaştırır.

Deri dolaşımının sistemik kontrolü: En önemli etken sinir sistemidir. Hipotalamus tarafından kontrol edilir. Damar duvarlarındaki alfa-adrenerjik ve seratoninerjik reseptörler vazokonstriksiyona, beta-adrenerjik reseptörler ise vazodilatasyona yol açarlar. Sempatik tonusun azalması, özellikle arteriovenöz anastomozlarda belirgin vazodilatasyona, artması da vazokonstriksiyona neden olur. Humoral düzenleme sistemi içerisinde adrenalin ve noreadrenalin doğrudan alfa-adrenerjik reseptörleri etkileyerek vazokonstriksiyona neden olurlar. Serotonin vazokonstriktör, histamin ve bradikinin ise vazodilatör etki gösterir. Araşidonik asit metabolitlerinden tromboksan A₂ ve PGF₂-alfa güçlü vazokonstriktör, PGE₁

vazodilatör etkilidir. Prostosiklin güçlü bir vazodilatör ve trombosit agregasyon inhibitörüdür. Deri dolaşımını lökotrienlerin artırdıkları gösterilmiştir (11).

Deri dolaşımının lokal kontrolü: Metabolik düzenlemede deride fazla olmamakla birlikte; hiperkapni, hipoksi, asidoz ve interstisyel potasyum artışı vazodilatasyona neden olur. Fiziksel düzenlemede perfüzyon basıncının artışı damarlarda gerilmeye yol açarak vazokonstriksiyonu tetikler. Bu, miyojenik refleks sayesinde kapiller akım arter basıncından etkilenmeksizin sabit bir düzeyde tutulur. Lokal hipotermi kan akımını azaltır, bu da vazodilatasyonu uyarır. Viskozite, ciddi iskemi durumlarında kan akımını etkilemektedir (15).

2.2. DOKU GENİŞLETİCİLER

2.2.1. Genel Bilgiler

Tarihçe

Canlı dokuların, iç ve dış kuvvetlere bağlı oluşan basınç ve gerilim uyarılarına; yüzey alanlarını genişleterek, boylarını uzatarak, kitlelerini artırarak cevap vermeleri canlılığın doğal yeteneğine bağlı olan fizyolojik bir olaydır. Gebelikte karın derisinin yüzey alanının 2-3 kat artması, pubertede gland dokusu gelişimine bağlı meme derisinin genişlemesi ve vücutta tümörlere bağlı dokuların ekspande olması gündelik hayatta sıkça karşımıza çıkan fizyolojik doku genişlemenin örneklerindendir (16).

Litaretürdeki klinik doku genişletme ile ilgili ilk bilgi kemik uzatma yapılan olgularda yumuşak dokusunda buna adapte olduğunu gösteren Codivilla'ya aittir (17).

1957 yılında Neuman, dış kulak deformitelerinin onarımında, kulak arkasında cilt altına yerleştirdiği, dışarıdan polietilen bir tüp yardımı ile şişirilebilen bir implant uygulamıştır. Genişletilen deri adası kulak rekonstrüksiyonunda başarı ile kullanılmasına rağmen bu yöntem yaygınlaşmamıştır ve unutulmuştur.

Plastik, rekonstrüktif Cerrahide modern anlamda doku genişletme ilk olarak 1970 yılında internal yerleşimli portu olan bir alet geliştiren Radovan ve kendiliğinden şişebilen alet geliştiren Austad tarafından kullanılmıştır (18).

Yapılan deneysel çalışmalar sonucu 1982 yılında Austad genişlemiş deride ortaya çıkan histolojik özellikleri, 1983'de Cherry genişletilmiş deride damarlanma artışını anlatan makaleler yazmışlardır (19).

1987 yılında Becker meme rekonstrüksiyonunda augmentasyon için geliştirerek kendi adını verdiği şişirilebilir, kalıcı meme protezini geliştirmiştir (20).

İntraoperatif doku genişletme yöntemini Sasaki 1987 yılında rapor etmiş, Rappard değişik şekil ve boyutlardaki implantların teorik olarak yüzey artışlarını ortaya koymuştur (21, 22).

Tanım

Canlı dokularda doku genişlemesi mekanik etkilere dinamik cevap vermeleri ile meydana gelir (22). Cerrahi olarak uygulanan doku genişletme, cerraha rekonstrüksiyon açısından benzer duysal innervasyon, dolaşım ve dış görünüme sahip verici alanlar ile onarım yapmasını sağlar (2).

Doku genişletmenin bize sağladığı iki majör fayda şunlardır;

1- Uygulama alanında gerginlik yaratmadan yeterli yumuşak doku örtüsü sağlaması,

2- Genişletme uygulanmış dokunun yapısal olarak zarar görmemesi ve lokal, bölgesel ve uzak taşımaya uygun olmasıdır.

Yumuşak doku örtüsü elde etmede doku genişletme uygulamasının konvansiyonel yöntemlere olan üstünlüğü ve önemi şöyle sıralanabilir;

- Genişletilmiş fleplerde renk ve doku uyumu daha iyidir.
- Uygulanması basit bir yöntemdir, hasta uyumu iyidir.
- Güvenilir, iyi kanlanan flepler sağlar.
- Verici alanda yeni defekt ve skar oluşmaz.
- Deri duyusu sinirler korunduğundan normal kalır.

Sık poliklinik kontrolleri, çok sayıda enjeksiyon yapma zorunluğu, en az 2 seans operasyon gerektirmesi ve mali açıdan hastaya belli bir yük getirmesi doku genişletmenin dezavantajlarıdır.

2.2.2. Doku genişleticiler ve protez çeşitleri

Klinikte, dokuların belirli bir basınç ve gerginlik altında yüzey alanlarını genişletmeyi sağlayan şişirilebilir bir balon ve şişirme ünitesinden oluşan aygıt doku genişletici olarak adlandırılır.

Doku genişletici silikondan yapılmış şişirilebilir bir balon, metal ya da poliüretan bir bağlatı tüpü ve rezervuardan oluşur. Teknolojik gelişmeler daha önce şişirme ve boşaltma için ayrı ayrı kullanılan valfleri teke indirerek kullanım kolaylığı sağlamıştır.

Günümüzde tekniğin ilerlemesiyle birlikte, genişletilecek bölgenin özelliğine göre çeşitli hacim ve şekillerde (oval, dikdörtgen, yuvarlak, kare ve hilal şeklinde) implantlar ticari olarak bulunmaktadır. Van Rapport ve arkadaşları implant şekli ile

ekspande olan deri arasında ilişkiyi araştırmışlar ve yuvarlak, dikdörtgen ve hilal tabana sahip ekspanderların rölatif olarak sırasıyla %25, %38, %32 oranında genişleme elde edildiğini bulmuşlardır. Buna göre hilal ve dikdörtgen doku genişleticiler, taban büyüklükleri kapatılacak defektin 2,5 katı kadar, yuvarlak doku genişleticilerde ise implant çapı kapatılacak defektin 2,5 katı kadar olması gerekmektedir.

Silikon elastomerden yapılmış ana balonun düz olan taban yüzeyi, şişirme işlemi sırasında değişmez, genişleyen bölge yan ve üst yüzey bölgeleridir. Dış yüzü dakron ile güçlendirilmiş bu taban kısmı, implantın yer değiştirmemesi için bulunduğu yere dikilmesine de olanak sağlar (1).

İmplant ve rezervuarın uzantıları olan, katlanmaz özellikteki silikon boruları birbirine bağlayan bağlantı tüpü polipropilen ya da metalden yapılmıştır. Radyoopak özellikleri, yerleştirildikten sonra yer ve durumlarını saptama olanağı verir (23).

Doku genişleticilerin ortak özelliği, salinin peruktan enjeksiyonu ile protez içine verilebilmesini ve gerekirse sızıntı yapmadan geri çekilmesini sağlayan, kendi kendine kapanan bir rezervuar varlığıdır. İmplant komşuluğunda deri altına yerleştirilen rezervuarlar standart olarak çok sayıda enjeksiyona uyumlu yarım küre şeklindedir. Rezervuarların tabanı dakron ile güçlendirilmiştir.

Kapsül kontraktörü engellemek için textured silikon implantlar dizayn edilmiştir. Yüzeye bağlı makromolekülleri olan yeni doku genişleticileri geliştirilmektedir ve gelecekte kullanılabilecektir. Bu moleküller skar formasyonuna meydan vermeden hızlı genişlemeye izin verebilecek, bakteri üremesini azaltıcı ortam oluşturan makromoleküller kullanılarak implant çevresi sekresyon oluşumu azaltılacak, bakterilerin sistemik antibiyotiğe direnci azaltılacaktır.

Elliott, balonla bağlantılı ve deri altına yerleştirilen kalsik rezervuarların dezavantajlarını şöyle sıralamıştır;

- Yerleştirilmesi ve çıkarılması için ayrı insizyon gerekir.
- Derin plana (kas altı) yerleştirdiğinde veya seroma varlığında rezervuarı palpe etmek güçleşir.
- Rezervuar üzerindeki deri erozyona uğrayabilir, balonla bağlatısı ayrılabilir(24).

Jackson klasik rezervuarların bu dezavantajlarını gözönüne alarak eksternal rezervuar uygulamasını gündeme getirmiştir. 24 olguluk serisinde enfeksiyon bulgusuna rastlamamış olup, operasyon süresinin kısılmasını, enjeksiyon sırasında volüm kaybı ve ağrının olmamasını yöntemin avantajları olarak saymaktadır (25).

Şişirme şekillerine göre iki ana grupta inceleyebiliriz;

1. Düzenli aralıklar ile yapılan serum fizyolojik enjeksiyonları.
2. Osmotik fark ile intersellüler sıvı ile şişenler " self inflating expander".

2.2.3. Yapısal ve Yumuşak Doku Değişiklikleri

Hayvan ve insan çalışmalarında ekspande edilen dokularda ışık ve elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde benzer bulgulara rastlanmıştır (26).

Epidermis

Ekspande olan deriye yanıt olarak epidermis de kalınlaşma olur. Akantoliz, hiperkeratoz ve mitotik aktivite artar (4, 27-31). elektron mikroskobu bazal laminanın daha dalgalı olduğu, bazal ve malpighian hücre katmanları arasında tonofilament demetlerinin normal deridekine göre daha genişlemiş olduğu, epidermis katmanlarındaki hücreler arası boşluğun azaldığı gösterilmiştir (30). Bazal

laminadaki artmış dalgalanma ve epidermis katmanlarındaki hücreler arası boşluğun azalması artmış mitotik aktivite ile açıklanabilir (4).

Dermis

Dermisde doku genişleme boyunca önemli değişiklikler meydana gelir. Bir kaç hafta içerisinde ilk olarak dermis kalınlığında azalma gözlenir (26). Papiller ve retiküler dermis normal çapraz bağ yapmış genişlemiş kollajen fibril demetleri içermektedir. Kollajen fibriller incelmıştır. Fibroblast sayısı artar ve endoplazmik retikulumdaki geniş sisterna varlığı, metabolik aktivitenin arttığına göstergesidir (4, 27, 30). Dermis kalınlığı yaklaşık 2 yıl sonra normale döner (29).

Myofibroblastlar genişlemeden yaklaşık birkaç hafta sonra görünürler. Bu hücrelerdeki artmış mitokondri sayısı ve endoplazmik retikulumdaki sisterna sayısındaki artış, metabolik aktivite artışının göstergesidir. Myofibroblast sitoplazmasında uzun microflamentler içerir ve bunlar bazı alanlarda yoğunlaşarak dense granüllerini meydana getirir.

Dermisde myofibroblastların varlığı muhtemelen devamlı genişlemeye karşı gösterdiği kontraksiyon fonksiyonunun kanıtıdır. Elastik fibriller kalınlaşır ve kümelenme gösterir. Ter bezleri, kıl follikülleri gibi adneksiyel yapılar değişim göstermez (4).

Kas

Genişleme sırasında kas kütlelerinde ve kalınlığında azalma olmasına rağmen, fonksiyonunu korur. Klinik olarak kas gücünde ve hareketinde fonksiyonel olarak azalma olmaz. Myofibriller ile ilişkili sarkoplazma miktarında artma gözlenir. Myofibriller genişler, mitokondri sayısı, büyüklüğü artar ve sonuçta; sarkomerlerde düzensiz dağılmış myofibriller oluşur (4, 27, 30).

Yağ

Yağ dokusu genişleme sırasında en fazla etkilenen dokudur (32). Yağ dokusu kalınlığının ve yağ hücre sayısının %30-50 oranında azalma gözlenir (32). Gerçek yağ doku nekrozu dikkatli doku genişletme sırasında oluşmaz. Nadiren biyopsi sonucunda gözlemlendiği gibi yağ dokusu kaybı yıllar sonra dahi kalıcı olabilir (4).

Kapsül

Fibröz yoğun kapsül birkaç gün içerisinde tüm doku genişletici etrafında gelişir ve doku genişleticiyi çevreler. Myofibroblast ve ince uzun fibroblastlardan meydana gelen kapsül 2-2,5 ay içerisinde kalınlaşır (33). Yeni oluşan fibroblast ve myofibroblast hücreleri implanta paralel yerleşimli kalın kollajen demetlerin arasındadır. Fibroblastlar çok aktif endoplazmik retikulum ve belirgin sisternalar barındırır, bu hücrelerin çoğunda elektron-dense materyel içeren veziküller bulunur (30). Fibroblast sitoplazması içerisinde bulunan kollajen fibriller, tek ve birden fazla olabilir. Liflerin büyük çoğunluğu düz olmasına rağmen bir kısmı sarmallı veya kıvrımlı olabilir. İntrasellüler kollajen en çok genişlemenin 8. haftasında alınan örneklerde bulunmaktadır. İmplant çıkarıldığında kapsül hızla geriler, ancak 1 yıla kadar belirginliğini korur. Kapsül, dermis ve epidermis içinde, inflamatuvar reaksiyon veya yabancı cisim dev hücreleri görülebilir (30, 33).

Kan damarları

Hızlı anjiogenez sonucu ana doku ve kapsül bileşkesinde, damar sayısında çok büyük artış meydana gelir. Doku genişletici uygulandığında günler içerisinde arterioller ve venüllerde artış olur, aynı zamanda bu damarların implant üzerindeki yüzeyel dermisdeki küçük damarlar ile bağlantı kurdukları gözlenir (19, 22, 32, 33). Artmış damarlanma; neovaskülerizasyon, damarların yeniden düzenlenmesi,

arteriovenöz şantların kapanışı, nörohumoral vazoaktif maddelerin tükenmesi gibi multipl faktöre bağlıdır (32, 33).

Kemik

İnsanda kemik rezorpsiyonu nadiren tariflenmiştir (34-36). Yenidoğan domuzlar üzerinde yapılan çalışmalarda kranial ve uzun kemiklerde önemli fakat geri dönüşümlü değişiklikler yaptığı gösterilmiştir (37). Kranial kemikler uzun kemiklerden daha fazla etkilenir. Doku genişletici altında kemik hacminde ve kalınlığında azalma görülebilir, ancak kemik yoğunluğunda değişme olmaz. İntrakranial basınç değişikliği meydana gelmez. Genişletici çıkarılana kadar osteoklastik aktivite artar, kemik oluşumu inhibe olur. Doku genişletici çevresinde meydana gelen kemik kalınlığında, hacminde ve depolarizasyonda artış, periost reaksiyonuna sekonder meydana gelir. Doku genişletici çıkarıldıktan 5 gün sonra başlayan iyileşme, 2 ay sonra tamamlanır (37).

2.2.4. Fizyoloji

Obezite ve gebelikte olduğu gibi abdominal derinin genişlemesi; afrika topluluklarındaki dudak ve boyun genişletme; derinin altında yavaş büyüyen kitleye ve bunun oluşturduğu gerilime uyum sağlama açısından deri yüzeyinin artması, cildin genişleyebilme özelliğine örneklerdir (38). Fizyolojik olarak ekspande doku yaklaşık 0 mmHg gibi kritik oksijen basıncına dayanır. 10 – 20 dakika içinde oksijen basıncı artmaya başlar ve 48 -72 saatte normal seviyeye çıkar. Genişletme işlemi devam ederken kan akımının toparlanması derinin adaptasyonuna göre daha yavaş olmaktadır (38). Doku genişletme ile birlikte dokuda hipoksi meydana gelmesi neovaskülerizasyon için olumlu faktördür.

Klinik olarak ekspander fazla şişirildiğinde yaklaşık 28mmHg basınç oluşur. Bu 10-15 dakika içinde azalan rahatsızlık hissi yaratır. Bu sırada implant içindeki sıvı kabuledilebilir konfora erişinceye kadar geri çekilir. Aşırı risk oluşturmada meydana gelen bu hipoksik hasar doku genişlemesi için itici güç oluşturur. Distal bacak, kalça, arka orta hat ve daha önce radyoterapi almış dokular gibi aşırı şişirmeye dirençli alanlar vardır.

Doku genişletici uygulama sonucu uygulama alanındaki yüzey genişlemesi doku creep terimi ile açıklanabilir (27, 28, 39). Mekanik doku creep kavramı derinin akut gerilime artan şekilde viskoelastik yeteneğini ifade eder. Bu gerilim kuvvetine veya yüklenmesine sekonder yüzey alanı genişlemesi ile sonuçlanır. Biyolojik doku creep terimi kronik gerilim kuvvetine sekonder gelişmiş yeni gerçek doku jenerasyonu anlamına gelir. Mekanik creep doku genişletilmesinde geleneksel kontrolde rol alırken, biyolojik creep doku genişletmede büyük ve önemli doku kazancından primer sorumludur. Biyolojik creep fibroblast ve kollagen sentezinin artması, mitotik aktivite, neovaskülarizasyon ve myoflamentlerde artış ile açıklanabilir. Ekspande olmuş deride dermal fibroblastlarda biosentetik aktiviteye bağlı dermal kollajen içeriğinde önemli artış gözlenir. Göreceli olarak tip 1 ve tip 3 kollajen miktarında artış vardır, fakat ekspande deride önemsenecek boyuttadır (40). Kontrollü yavaş genişleme sırasında oluşan anjiogenez, vasküler flep elde edilmesinde ve flep yaşayabilirliğinde artışta son derece önemli rol oynar. Kontrollü doku genişletme ile meydana gelen derideki genişleme miktarı tam olarak bilinmemektedir, fakat %35-%137 arasında olabileceğini gösteren çalışmalar vardır (40) (41, 42) (43). Teorik olarak volüm, genişletme kuvvetinin uygulama süresi ve uygulama şiddeti ile sınırlıdır. Stretchback fenomeni derinin orijinal durumuna

dönmesini ifade eder. Bu durum intraoperatif doku genişletme durumlarında, konvansiyonel kontrollü genişlemeye göre daha az miktarda olmaktadır. Doku kazancı ekspander uygulanan dokunun özelliklerine bağlı olduğu kadar protezin şekli ile de ilişkilidir (44, 45). Dikdörtgen ve yarım ay şeklinde ekspandırların, yuvarlak tabanlılar ile karşılaştırıldığında doku kazancının daha fazla olduğu görülür. Genel olarak ekspander taban yüzey alanı kapatılacak defektin yaklaşık 2,5 katı büyüklüğünde olmalıdır (33, 44) .

Doku genişletici uygulanmış dokularda meydana gelen fizyolojik ve biyolojik değişiklikler hakkında yanıtlanmamış birçok soru mevcuttur. İntraoperatif doku genişletmede deri genişleme miktarı bilinmemektedir. Fakat, lokasyona, konak dokuya, genişletme derecesine ve diğer faktörlere bağımlı olarak %20 ile %31 arasında değişen oranlar rapor edilmiştir.

2.2.5. Komplikasyonlar

Doku genişletme yöntemi yumuşak doku rekonstrüksiyonunda dikkate değer avantajlar sunmaktadır. Buna rağmen kutanöz cerrahi açısından doku genişletmenin dezavantajları ve potansiyel komplikasyonları vardır.

Komplikasyonların azaltılmasında klinik deneyim, uygun hasta ve ameliyat yönteminin seçilmesinin önemi büyüktür.

Doku genişletme sırasında en sık karşılaşılan komplikasyonlar aşağıda anlatılmıştır.

Enfeksiyon

Enfeksiyon oranlarının % 10 gibi yüksek rapor edilmesine rağmen aslında bu oranlar yaklaşık %1 gibi nadirdir (46). Amaç sepsisi %0,5 in altında tutmak

olmalıdır (47). Perioperatif antibiyotik kullanımı önerilir, fakat uzun dönem antibiyotik kullanımı tavsiye edilmez (48). Protez yerleştirme sırasında antibiyotik solüsyon ile irrigasyon önerilir. Eğer ekspanderda enfeksiyon belirtileri gelişmeye başlarsa hemen drenaj, irrigasyon ve antibiyoterapi uygulanmalıdır. Bu başarısız olursa implant acilen çıkarılmalıdır. Enfeksiyon geriledikten sonra protez tekrar konulabilir.

Deri Nekrozu ve Protez Ekspozisyonu

Protezin ekspoze olması insizyon hattından veya üzerindeki cildin nekroze gitmesi nedeni ile meydana gelir (48). Bu komplikasyon genelde implantın sütür hattı ile temas halinde olduğu ve protez cebinin çok küçük açıldığı vakalarda görülür. Cerrahın dikkat etmesi gereken nokta oluşturulacak cebin sütür hattı ile protezin hemen temas halinde olmayacak şekilde yeterince büyük olmasıdır. Çok hızlı genişletme cildin aşırı incelmesine, nekroza ve protezin ekspoze olmasına neden olabilir (46).

İmplantın ekspoze olmasını önlemek için;

- 1- Ekspander yerleştirildikten sonra 2 hafta içinde 1 kereden fazla şişirilmemeli,
- 2- Ekspander yerleştirilirken yalnızca ölü boşlukları dolduracak kadar şişirilmeli,
- 3- Genişletme işlemi yavaş bir şekilde devam etmeli,
- 4- Cerrahi kapama işlemleri emilebilir sütürler ile 2 tabaka şeklinde kapama yapılmalı.
- 5- Flep dolaşımının bozulmasına neden olacak kadar ince kaldırılmamalıdır.

Eğer protez ekspozit olursa veya üzerini erozyona uğratmaya başlarsa doku genişletme hemen durdurulmalı ve protez çıkarılmalı (48).

Hematom – Seroma

Oluşturulan cebin içine kanama nadir olmakla birlikte sorun oluşturabilir. Bu risk dikkatli hemostaz ve dren uygulaması ile minimize edilebilir. Diren enfeksiyon gelişimini önlemek için en kısa zamanda çıkarılmalıdır. Hematom geliştiği zaman drenaj yapılmalı ve cep yıkanmalı. Hematom tedavisi enfeksiyon gelişimini ve doku gerginliğini azaltır. Seroz sıvı birikimide enfeksiyon açısından yakından takip edilmeli, gerektiğinde drene edilmelidir (46).

Ağrı

Doku genişletme rahatsız edici olmasına rağmen çoğu kişi tarafından tolere edilir. Ağrı sık olmamakla birlikte genişletmeyi sınırlandırabilir. Ağrı cildin genişleme sınırına ulaştığında meydana gelir. Genellikle şişirilme sonrası 4-6 saat içinde ağrı azalır, 12 saat sonra rahatlama görülür. Ağrı anatomik alana göre değişiklik gösterir, en az ağrı göğüs dokusunda olur. Göğüs kafesi ve sırt ağrılıdır, ancak en fazla ağrı occipital bölgede ve distal ekstremitelerde (özellikle ayakta) gözlenir (47) (35) (49).

Kemik Rezorpsiyonu

Alın rekonstrüksiyonunda kalvaryal rezorpsiyon tariflenmiş olmasına rağmen kemik rezorpsiyonu nadirdir (50). Özellikle çocuklarda yakın gözlem gereklidir.

2.2.6. Doku Genişletme Yönteminin Planlanması ve İmplant Şişirme

Primer kapatılamayan ya da gerginlik altında kapamanın kontrendike olduğu, yumuşak doku defekti onarımında doku genişleticilerinin yadsınamaz önemi vardır.

Hasta seçimi DG uygulamalarında başarılı sonuç sağlama açısından en önemli kriterdir. Emosyonel yönden stabil her hastada bu yöntem iyi tolere edilir, ancak implantın şişirildiği dönemde hastanın sosyal ve diğer aktiviteleri kısıtlanabilir. Kooperasyonu zor ve mental yetersizliği olan hastalar kötü adaylardır.

Doku genişletme planlamasında gözönüne alınması gereken faktörler şunlardır:

I. Genişletilmekte olan bölgenin özelliklerine ve onarım amacına yönelik, uygun şekilde ve hacimde doku genişletici seçilmelidir.

II. Doku genişletme de gövde ve ekstremitelerinde yakın bölgeler, skalp defektlerinde komşu saçlı deri, sakal kayıplarında aynı taraf boyun bölgesi gibi uygun alanlar seçilir.

III. Defekt bölgesi ile benzer özellikte flepler planlanır, donör alanda implant için yeterli büyüklükte cep hazırlanmalı ve yapılacak insizyonlar daha sonra planlanacak fleplerin dolaşımına zarar vermeyecek şekilde planlanmalıdır.

IV. Ekspander, kafa derisi ve alın derisi genişletileceğinde galea altına, boyun derisi genişletileceğinde platizma altına, yüz, gövde veya meme derisi genişletileceğinde pektoralis majör kası veya deri altına yerleştirilmelidir.

V. Rezervuar ekspandera yakın, ulaşılması kolay ve altında kemik gibi destekli bir dokunun olduğu lokalizasyonda deri altına yerleştirilmeli

VI. Doku genişletme uygulaması sırasında steriliteye dikkat edilmesi, kesici ve delici aletlerin uzak tutulmasına dikkat edilmesi, ayrıca implantta delinme veya sızıntı olması durumunda hemen çıkarılması gereklidir.

Doku genişletme yara kapaması sonrası ve intraoperatif yapılabilir. Foley sondası ile intraoperatif ekspansiyon, cilt hukları ya da benzer cerrahi aletler ile

dokuya sekli traksiyon uygulanması veya ‘sure-closure’ cihazlarında intraoperatif doku genişletmeye örnek gösterilebilir (51). intraoperatif şişirme l boşluk oluşumunu engeller böylelikle seroma ve hematoma riskini minimize eder, aynı zamanda implantın katlanmasına baēlı oluşabilecek ekspozisyonu azaltacaktır. Burada dikkat edilmesi gereken nokta sütür hattında gerilim oluşturmayacak kadar şişirmesidir (52).

şişirilme işlemi genellikle 1-2 hafta içerisinde başlanmasına raēmen, vakaya ve toleransa göre şişirme takvimi belirlenebilir. şişirme 23-gauge veya daha ince iēneli enjektörle yapılmalıdır. (52)

Doku genişleticiler şişirilme şekline göre 3 ana grupta incelenir.

1. **Kronik DG:** en sık kullanılan klasik yöntemdir. şişirme işlemi bölgeye göre deēiřen periyodik günlerde implantın total hacminin %10-15 i verilerek tamamlanır ve implant çıkarılarak flepler ile onarım yapılır.

Kronik DG de anatomik lokalizasyona göre enjeksiyon periyotları şöyledir (49):

i.	Saçlı deri	5-7 gün
ii.	Yüz	3-5 gün
iii.	Boyun	4-6 gün
iv.	Gēs ve karın	5-7 gün
v.	Üst ekstremita	4-6 gün
vi.	Alt ekstremita	6-8 gün

2. **İntraoperatif DG:** Sasaki tarafında 1987 yılında operasyon esnasında doku genişletici 3 dakika süre ile total hacme kadar şişirilerek maksimum balon içi

basınca (160-180mmHg) ulaşılır, daha sonra 40-45mmHg ya kadar boşaltılır, bu basınçta 3 dakika tutulur.

3. **Kontinü DG:** 1991 yılında Logan ve ark. Tarafından yayınlanan bu teknikte ara bağlantı tüpü ayrı bir insizyondan çıkarılarak infizyon pompası ve basınç kontrol aletlerinden oluşan cihaza bağlanarak 45mmHg lık sabit dolum basıncı ile doku genişletici maksimum hacme ulaşana kadar şişirilir. Yaklaşık 3 günlük genişletme süresini takiben implant çıkarılarak onarım sağlanır (53).

Sık ve küçük volümlü şişirme yüksek volümlü şişirmelere göre daha iyi tolere edilir ve fizyolojik olarak daha uygundur. Pratik uygulamada haftalık şişirme yeterli olur, nadiren hızlandırılmış şişirme prosedürü uygulanır(54). bazı otörler her seansda overekspansiyon yapılmasını önerirken bazıları da intraluminal basıncın 500mmHg'yi geçmesi durumunda porttaki enjeksiyon yerinden kaçak olabileceğini vurgularlar. (SR) Eksternal portlu çocuklarda 2-3 gün aralıklar ile küçük volümler ile şişirme iyi tolere edilir. Hasta tolere edebildiği veya ekspande olan ciltte solukluk benzeri durum olmadığı müddetçe şişirme işlemi hasta ve yakınları tarafından yapılabilir. Eğer hipoeestetik bir alan şişiriliyorsa çok dikkatli olunmalı ve cilt dolaşımı takibi ön planda olmalı ve hastanın aşırı şişirmemesi için bilgilendirilmesi gerekir (52).

Ekspnade edilecek bölgede sinir dokusu varsa şişirme işleminin yavaşlatabilir. Periferik sinirler 40mmHg basıncın üzerini belli bir zamandan sonra tolere edemezler, sinir bulunan fleplerde şişirme işlemi ortaya çıkan parestezi durumunda yavaşlatılmalıdır (55).

Kalıcı implant konulması planlanıyorsa özellikle meme rekonstrüksiyonunda istenenden daha fazla şişirilmeli, %20-30 daha fazla şişirme önerilir. Genellikle

implant koyulmadan 4-6 ay önce meme ekspande edilir. Uzun dönem çalışmalar bu sürenin bile kademili olarak ilerleyen kontraksiyon nedeni ile yeterli olmayacağını göstermiştir (52).

Yeterli büyümenin gerçekleştiğini anlamak için implant üzerindeki flep uzunluğundan, genişletici tabanın mesafesi çıkarılarak ilerletilecek flep miktarı hesaplanır. Bu mesafe onarılacak defekten büyük veya eşit olmalıdır (55).

2.2.7. Doku Genişleticilerin Bölgeye ve Vakaya Göre Uygulama Alanları

Doku genişleticileri, vücutta genişletilebilecek dokunun bulunduğu her alanda kullanılabilir. Oldukça geniş kullanım alanı olan bu teknik baş-boyun, meme, gövde ve ekstremitelerdeki defektleri, yanık defektlerinde, erkek kelliğinde, geniş nevüslerde, flep transferinden önce donör alan genişletilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Saçlı Deri Rekonstrüksiyonu

Saçlı deri rekonstrüksiyonunda, saçlı doku ile alopezik alanların, verici alanda defekt ve yeni skarlar oluşturmada rekonstrüksiyonuna izin vermesi açısından doku genişletme uygulaması ideal prosedürdür (56). Bu nedenle travma, yanık, tümör gibi nedenlere bağlı ortaya çıkan saçlı deri defektlerinin onarılmasında yaygın olarak kullanılır.

Manders 1985 de, Argenta ve ark. 1987 de DGY nin saçlı deri defektlerinin onarımında temel seçenek olduğunu vurgulamışlardır.

Saçlı deride ekspander uygulaması yeni saç folikülü oluşmasını sağlamaz, foliküller arası mesafeyi arttırarak folikül dağılımı sağlarlar. Homojen saç dağılımı sağlanması için geniş ekspander kullanımı önerilir.

Genişletme sonrasında kullanılacak flepler ekspander yerleştirilmeden planlanmalı, insizyon yapılırken flep pedik llerine zarar verilmemelidir (57). İnsizyon  nceki skar hattından ya da insizyon bölgelerinden yapılmalı, galea altında künt diseksiyon ile poş oluşturmalı, oluşturulan poş implanttan büyük olmamalıdır. Açılan poşa birden fazla implant yerleştirilebilir, portların kaymaması için sabitlenmesi ve uyurken bası alacak bölgelere konulmaması önerilir (52).

Saçlı deride doku genişletme şişirilmesi başlangıçta sık ve az miktar yapılır, daha sonra skalp gevşer ve daha büyük volümler ile şişirilemeye müsait hale gelir. 6-8 haftada istenilen genişleme sağlanır. Çocuklarda kemik erozyonu olabileceğinden, doku genişletme 1 yaş sonrası başlanır. şişirme tamamlandıktan sonra aynı insizyon yerinden implant çıkarılır, genişletilen doku rotasyon, ilerletme yada transpozisyon flebi ile defekt onarımı yapılır, başlangıçta geçici stepler kullanılır. Kapsül galea kesisi yapılmasından kaçınılmalı, oluşan dog earlar sonradan gerileyeceği için eksize edilmez, sa kaybını azaltmak, retraksiyonu ve skar genişlemsini engellemek için monofilament, eriyebilen sütürler kullanılır. (52)

Tek seans genişletme ile kapatılamayan olgularda birkaç aylık periotlarda seri doku genişletme uygulanabilir, erişkinlerde 3-4 defa seri genişletme yapılabilirken çocuklarda ve infantlarda 2 den fazla yapılamaz, eğer gerekirse 8-12 aylık ara verilerek seanslara devam edilebilir. Çocuklarda büyüme dönemi boyunca skar genişlemesi g zlenebileceğinde daha sonra 16-18 yaşlarında revizyon gerekebilir. Aşırı şişirilen saçlı deride sa folikülü kaybı gözlenebilir, çoğunlukla geçicidir, 12 ay geçince geri d nş m olmaz ise kalıcı alopesi geliştiği söylenebilir (52).

Erkek tipi kellikte her iki temporal bölgeye yerleştirilen ekspander yardımı ile vertex ve alın bölgesindeki saçsız alanlar ilerletme flepleri ile kapatılabilir(57).

Yüz Bölgesi Rekonstrüksiyonu

Yüz ve boyun bölgesinde, çevre dokularda defekt onarımında kullanılacak doku miktarının kısıtlı olması ve lokal fleplerin transpozisyonunun ciddi bir biçimde morbidite oluşturması nedeni ile doku genişletme yöntemi sık olarak kullanılmaktadır(58).

Yüz bölgesi özellikli doku gereksinimi ve endikasyonu açısından dört ana grupta incelenir.

- Alın bölgesi
- Kulak ve temporal bölge
- Göz kapakları
- Yüz laterali ve boyun bölgesi

Yumuşak ve piliabl bir cildi olan göz çevresi, çok az bez içerir, saç folikülü içermez. Alt ve üst periorbital bölgenin estetik subunitlere uygun en iyi rekonstrüksiyon seçeneği tam kalınlıkta deri grefti ile sağlanır. Donör alan olarak sıklıkla supraklaviküler bölge kullanılır, bu bölgede platizma üstüne yerleştirilen ekspander yardımı ile genişletilmiş ciltten, defektin %15-20 fazlası kadar tam kalınlıkta greft alınır. Graft dermise kadar inceltirilerek onarım gerçekleştirilir(52).

Yüz laterali ve boyun bölgesi, cilt kalınlığı, yağlanma ve bez içeriği, kıllanma özelliği açısından oldukça benzer olduğundan tek bir anatomik ünit olarak değerlendirilebilir.

Yüz laterali ve boyun bölgesinin genişletilmesi, burun ve alt yüz bölgesinin rekonstrüksiyonunda, sakal kayıplarında, yüzde geniş hemanjiom, nevüs ve yanık skarı vakalarında kullanılabilir.

Fasyal rekonstrüksiyon sıklıkla, boyun bölgesine yerleştirilen ekspander ve bu bölgeden planlanan Mustarde tipi rotasyon flebi kaldırılarak yapılır. Flep medial ve inferior tabanlı planlanır, insizyon preauriküler bölgeden face lift tipi şeklinde yapılır. Marjinal mandibular dala zarar vermemek için implant platisma üzerine yerleştirilir, port kulak veya boyun arkasına konulur. Karotid arter ve juguler ven üzerine konan ekspanderlar ile ilgili komplikasyonlar bildirilmiştir, ayrıca çocuklarda protez ekpozisyonu riski bu bölgede fazladır. Yeterli doku genişleme sağlanınca preauriküler bölgeden saçlı deri sınırından lateral kantal bölgeye kadar insizyon uzatılır, sonra flep medial ve süperiora ilerletilerek yanak bölgesinde istenen onarım yapılabilir. Ağızda çekme oluşmaması için medial skar lateral komissüre ilerletilmemeli, gözde ektropion olmaması için lateral ve medialden tespit edilir(52).

Dudak yarığı sonrası yapılacak skar revizyonlarında Sagestin nazolabial sulkusa doku genişletici uygulamıştır.

Burun rekonstrüksiyonunda, alın bölgesi benzer doku özelliği açısından ideal donör alandır. Doku genişletici, transkoronal insizyon ile girilerek frontal kas altına yerleştirilir. 6 haftalık genişletme sonunda supraorbital ve/veya supratroklear arter pediküllü olarak, supraorbital rimin 2cm üzerinden yapılan insizyon ile kapsül kesilerek subperiosteal planda diseksiyon yapılır, böylelikle orbite hatta katusa kadar flep mobilize edilir. Yaklaşık 2 ay sonra flep pedikülü ayrılır(52).

Anoftalmik hastalarda, orbitaya yerleştirilen doku genişleticinin, regüler ekspansiyonu ile normal gözün büyümesine eşdeğer etki oluşturarak, orbitanın kemik

yapısının ekspansiyonunu sağlayacağı deneysel olarak yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(59).

Viatarbo yaptığı çalışmalarda, Treacher Collins, Apert ve Crouzon gibi hipoplastik paranazal sinüsler ile birliktelik gösteren sendromlarda, maksiller, frontal ve etmoidal sinüslere bilateral yerleştirdiği ekspanderlar ile orta yüz gelişimini hızlandırabileceğini göstermiştir(60).

Yeterli cilt dokusu bulunmayan mikrotia ve travmatik kulak deformitelerinde, retroauriküler bölgeye temporoparietal fasyaya zarar vermeden cilt altına doku genişletici uygulanabilir. Genişletilmiş alan ile yumuşak doku örtüsünün sağlanmasını takiben, kostal kartilajdan prefabrike edilen iskelet ile onarım sağlanır.

Gövde ve Toraks Rekonstrüksiyonu

Gövde ve toraks bölgesi rekonstrüksiyonlarında, doku genişletme yöntemi tüm yaş gruplarında uygulanabilir. Ekspanderlar genellikle defekt kenarından yapılan insizyon ile fasya altına yerleştirilir, abdomende internal yapılara zarar vermeden genişletme işlemi yapılabilir. Bu bölgede geniş nevüs, konjenital anomaliler, eski greftli alanlar, bazı tümöral lezyonlar doku genişletme ile tedavi edilebilir(11).

Bu bölgelerde birden fazla doku genişletici kullanılması, yeterli ekspande olmuş doku elde edilmesini ve çevre dokularda distorsiyon oluşmasını engeller(11).

Kas-deri fleplerinin en sık kullanıldığı alan toraks ve gövde bölgeleridir. Kas-deri flepleri daha kısa zamanda kanlanması iyi, güvenilir ve daha geniş doku elde edilmesini sağlamaktadır(61). Latissimus dorsi, pektoralis majör ya da rektus kasları altına ekspander koyularak, kas-deri flepleri genişletilebilir. Latissimus dorsi kası altına yerleştirilen doku genişleticiler ile göğüs duvarında geniş defekler onarılabilir.

Mathews 8 aylık bir bebekte, bilateral latissimus dorsi kası altına yerleştirdiği ekspanderlar ile geniş meningosel alanını kapatmıştır(11).

Meme Rekonstrüksiyonu

Günümüzde, doku genişleticileri ile meme rekonstrüksiyonu oldukça yaygın uygulanmaktadır. Bu yöntemin önemli uygulama endikasyonları;

- Meme asimetrisi
- Yanık kontraktürleri
- Mastektomi sonrası onarım
- Poland sendromu

Mastektomi sonrası, sağlıklı ve iyi kalitede doku varlığında doku genişletme uygulanabilir. Doku ekspansiyonu göğüs duvarı cildinde ideal renk ve doku uyumu sağlamaktadır. İlk aşamada doku genişletici genel anestezi altında mastektomi skarından konulur, yeterince şişirildikten sonra kalıcı implant ile yer değiştirilebilir, aylar sonra nipple rekonstrüksiyonu yapılır.

Günümüzde koruyucu mastektomi tekniklerin yaygınlaşmasıve geniş rezeksiyonlardan kaçınılması ile göğüs duvarı kalitesi iyi, fakat miktarı kısıtlı deri örtüsü olan hastaların sayısında artışa neden olmuştur(11). Radyoterapi uygulanmış olgularda dahi bu yöntemin uygulanabileceğini vurgulayan otörler vardır. Fakat böyle olgularda genişletme işleminin yavaş olmakta ve yeterli kozmetik sonuç alınamamaktadır. Bu tür vakalarda uzak flepler ile onarım tercih edilmelidir(11).

Doku genişleticileri tek kullanılabildikleri gibi diğer meme rekonstrüksiyon seçenekleri ile kombine olarak uygulanabilir. Latissimus dorsi kas-deri flebi ekspande edilerek, meme rekonstrüksiyonunda daha büyük protezlerin uygulanması sağlanabilir(61).

Doku genişleticilerin meme rekonstrüksiyonunda avantajları kas-deri fleplerin kısmi transferi ile verici kasta fonksiyonel morbiditenin azalması ve elde edilen deri örtüsünün göğüs ön duvarı ile benzer karakterde olması olarak sayılabilir. %7-10 arasında kapsüler kontraktür, kas altına yerleştirilmelerde yetersiz projeksiyon, inframamarial fold oluşturulmasındaki zorluk ekspanderın dezavantajlarıdır(11, 62).

Doku genişletici uygulamaları mastektomi insizyonu yapılarak, flep uygulamalarında daha fazla skar dokusundan kaçınılmalıdır. İmplant pektoral kas altına, port aksiller bölgede deri altına yerleştirilir. İmplant haftada bir veya iki kere diğer meme dokusu ile simetri sağlanıncaya kadar şişirilir. Simetri sağlandıktan sonra 200-300cc fazladan şişirilerek, daha sonrasında inframamarial fold ve pitoz oluşturulmasında kullanılması için bir miktar fazla doku elde edilmesi sağlanır. Maksimum hacme ulaştıktan sonra 3-4 ay beklenir ve sonrasında kalıcı protez yerleştirilir(11).

Mastektomi ile eş zamanlı meme rekonstrüksiyonu uygulanması, onkolojik cerrahın sorumluluğundadır. Bu yöntemde mastektomi operasyonu sırasında ekspoz olmuş meme dokusuna uygun boyutlarda ekspander, karşı taraf inframamarial fold göz önüne alınarak yerleştirilir, protezin laterale yer değiştirmemesi için pektoral kas sütüre edilir. Şişirilme işlemi yara iyileşimi tamamlandıktan sonra başlatılır(62).

Kemoterapi uygulanan hastalarda şişirilme işlemi yavaş olarak yapılır, kalıcı protez tedavi bittikten sonra uygulanır.

Becker bu yöntemi baz alarak, kalıcı doku genişleticileri kozmetik amaçlı meme büyütmede kullanmıştır. Bu yöntem, protez büyüklüğü memnuniyetsizliği gibi

durumlarda, ikici bir ameliyata gerek kalmadan boyutların değiştirilmesini sağlar(33).

Persoff meme büyütme amacı ile becker protez uyguladığı vakalarda, total hacme ulaşması sonrası 4 hafta 200cc fazladan şişirmiş, sonrasında geri alarak memenin daha doğal şekil aldığını savunmuştur(63).

Kalıcı doku genişleiciler özellikle konjenital meme deformiteli adolesanlarda, diğer ekspnaderlara göre daha doğal görünümde olduğundan oldukça faydalıdır(52).

Ekstremitte Rekonstrüksiyonu

Ekstremiteler cilt ve yumuşak doku ekspansiyonunu iyi tolera eder(52). Travma, tümör, konjenital anomaliye bağlı defektler bu yöntem ile onarılabilir. Eklem ve tendon üzerine vrilen ekspande flep altındaki kapsül yüzeyi, yapışmayan esnek bir kayma yüzeyi sağlar(11).

Genellikle multipl ekspandera ihtiyaç olur. En iyi ekspander yerleşim yeri defekt aksiyalidir. İmplant, ekstremitenin uzun aksine paralel yerleştirilmesi optimal olup, daha büyük miktarda doku genişletmeye izin verir. Birden fazla ekspander kullanımının avantajları, daha az distorsiyon, daha az günlük aktivitelerden geri kalma ve hızlı doku genişletme olarak sayılabilir. Damar ve sinir üzerine yerleştirilse de fonksiyonel bozukluk görülmez. Alt ekstremitte de nadir nöropraksi bildirilmiştir ancak üst ekstremitte için sık değildir. Eğer nöropraksi gelişirse ekspander bir miktar indirilir ve daha yavaş şişirilmeye devam edilir.

El ve ayak dorsali ekspansiyona uygun bölgelerdir. Ayak tabanı ve avuç içi doku genişletici için ağrılı ve dirençli blgerlerdir. Standart dikdörtgen ve yuvarlak protezler ekstremitte için uygun şekillerdir(52).

Uyluk bölgesi cilt ve cilt altı kalınlığı nedeni ile ekspansiyon için uygun ve komplikasyon gelişimi nadirdir. Diz altı bölgede ise doku genişletme özellikle geniş travmatik cilt bölgeleri bulunana vakalarda risklidir. Bu bölgede tümör vakalarındaki gibi temiz izole vakalarda doku genişletici kullanımı tavsiye edilir. Ekstremitelerde doku genişleticilerin risklerini minimize etmek için multipl küçük ekspander uygulanmalıdır. Genellikle alt ekstremitede major ezilme yaralanmalarında veya degloving travmalarında doku genişletici ile estetik onarımdan çok fonksiyon kazandırıcı mikrovasküler flepler yada lokal kas-deri fleplerinden daha çok fayda görülür(52).

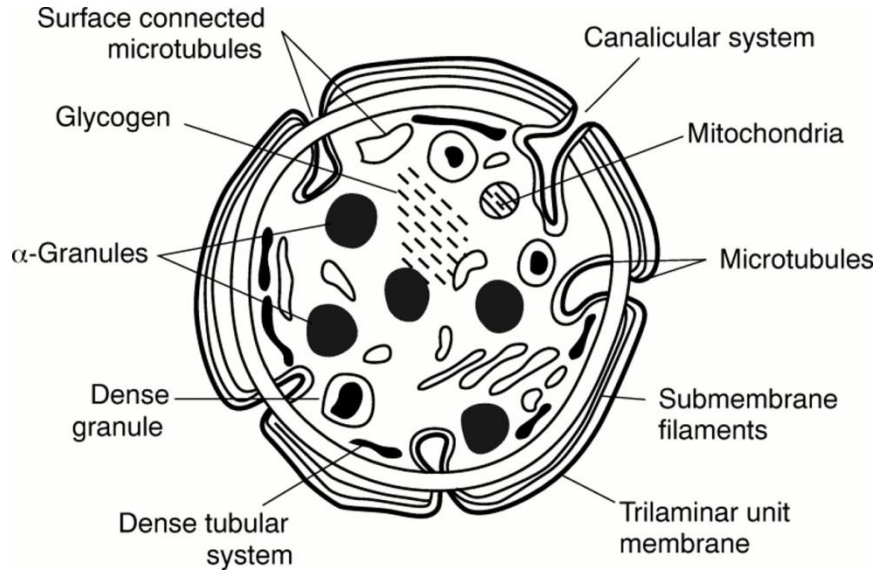
Genişletilme uygulanmış tam kalınlıkta deri greftleri ile el ve ayak defektlerinin onarımı oldukça faydalıdır. Zamanla stabil olurlar, tek seferde greft olarak alınabilirler ve duysal innervasyon oluşur(52).

2.3. Trombositten Zengin Plazma

2.3.1. Trombositlerin Yapısı ve İçerikleri

Kemik iliğinde megakaryositler tarafından üretilen 2-4 µm çapında, mitokondri ve mRNA içermesine rağmen çekirdek içermeyen sitoplazma parçacıklarına trombosit denir. Aktive olduklarında 5 µm'ye kadar ulaşabilen psödopodlar içeren globüler bir şekil alırlar, istirahat halinde disk şeklindedir. Dalakta lokalize olarak bulunur ve periferik dolaşıma geçtikten sonra ortalama 8-10 gün yaşarlar. Mikroskop altında trombositler tek tek incelendiğinde açık mavi boyanan periferik “hyalomer”, mor granüller ve mitokondrilerden oluşan santral “granülomer” kısımlarından oluştuğu görülür, periferik yaymada ise kümeler halindedir. 2 çeşit kanalikül sistemine sahiptir, bunlardan ilki, hücre zarlarının

sitoplazma içine parmak şeklinde girmesi sonucu oluşan ve yüzeye açılan “açık kanaliküler sistem” olarak adlandırılan bir kanalikül sistemi, diğeri ise trombosit aktivasyonu için gerekli olan kalsiyum iyonlarını hyalomer bölgesinde depolayan “yoğun tübüler sistem” adı verilen ikinci bir kanalikül sistemidir. Trombosit yüzeylerinde bulunan reseptörler, trombin, kollajen vb. moleküllerin uyarmasıyla aktif hale geçer ve sitoplazmalarındaki aktif molekülleri içeren granülleri “açık kanaliküler sistem” yoluyla dışarı salgırlar. (Şekil 5).



Şekil 2.3: Trombosit yapısı

Trombositlerde içeriklerine ve yoğunluklarına göre üç değişik granül tarif edilmiştir(64):

1. Delta Granüller (Yoğun Cisimler): 250-300 nm çapında kalsiyum, pirofosfat, ADP, ATP gibi molekülleri içeren, ayrıca serotonin depolanan granüllerdir.

2. Lambda Granüller (Lizozomlar): 175-250 nm çapında olup içinde asit hidrolazlar gibi lizozomal enzimler olan granüllerdir. Glikozidaz, proteaz gibi bakterisidal etkili proteinleri de içerirler.

3. Alfa Granüller: 200-400 nm çapında tek kat membranlı büyük organellerdir ve trombositlerin majör granülleri olan alfa granüllerinde koyu renkli boyanan alanlarında proteoglikanlar, açık renkli bölümlerinde vWF, albümin gibi proteinler ve tübüler yapılar içerirler. Alfa granüllerin hemostaz, inflamasyon, kemik ve yara iyileşmesinde görevli pek çok protein ve büyüme faktörünü içermektedir. Bu özellikler trombositlerin yoğunlaştırılarak klinikte yara, kemik iyileşmesi gibi alanlarda kullanımının gündeme gelmesine neden olmuştur.

Alfa granüllerinde, büyüme faktörlerinin yanı sıra salınan ADP ve Tromboksan A2 gibi moleküller diğerk trombositleri aktive ederek, vWF (von Willebrand Faktörü) trombositlerin birbirine yapışmasını sağlayarak pıhtılaşma mekanizmasını aktive ederler (64).

2.3.2. Büyüme Faktörleri

Plasentadaki yeni damar oluşumunu tarif etmek için 1935'te ilk kez anjiogenez terimi kullanıma girmiş ve sonrasında tüm yeni damar oluşumları için kullanılır olmuştur. Dokuların normal büyüme ve gelişmesi için damar proliferasyonu oldukça önemli olmasına rağmen erişkinlerde anjiogenez nadirdir. Üreme sisteminde folikül ve korpus luteumda, hamilelik sonrası plasentada, yara ve kemik iyileşmesinde normal olarak gerçekleşirken; diyabetik retinopatide, tümörlerde kontrolsüz ve patolojiktir. Anjiogenezi uyaran ve durduran bir takım

faktörlerin araştırılıp bulunması vücudun, normal ve patolojik işleyiş mekanizmalarının kısmen de olsa aydınlanmasını sağlamıştır(65).

Büyüme faktörlerinin son yıllarda yara iyileşmesini ve anjiogenezi olumlu yönde etkilediğinin saptanıp etki mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması, araştırmacıların kemik, yara, tendon, sinir iyileşmesine yönelik deneysel ve klinik uygulamalarında bu faktörlere ilgiyi arttırmıştır (66). Anjiogenez mekanizmasının, çeşitli anjiogenik faktörler tarafından doğrudan ya da dolaylı olarak başlatılıp yönlendirildiği bilinmektedir (67). Polipeptid sitokinlerden oluşan büyüme faktörleri, tüm vücutta kendilerine özgü reseptörler üzerinden etkilerini göstermektedirler(68). Dolaşımda bulunan trombositlerin α -granüllerinde depolanmış durumda olan VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF β 1 ve β 2 (Transforming Growth Factor- β 1 ve β 2), bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) gibi pek çok büyüme faktörleri, çeşitli uyarılara karşı trombosit aktivasyonu olduğunda granüllerden salınırlar(69-71) (72).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF): Yara iyileşmesinin erken dönemlerinde ilk saptanan moleküllerden olup, fibroblast ve düz kas hücreleri üzerinde mitojendir. PDGF molekülünün AA, AB ve BB şeklinde üç izoformu vardır. Hücre membranındaki reseptörlere bağlanınca sitoplazmadaki yüksek enerjili fosfat bağı içeren bir sinyal proteini aktive olur ve bu sinyal iyileşmede görevli hücrelerin çoğalmasına, anjiogeneze, kollajen, fibronektin, hyaluronik asit üretilmesine, diğer büyüme faktörleri ve hücrelerin fonksiyonlarının artmasına aracılık eder. Böylece fibroblastik ve osteoblastik faaliyetler artar, hücreler farklılaşır, büyüme faktörlerinin makrofaj gibi hücreler üzerindeki etkileri hızlanmış olur (73). İnsan mezenkimal hücreleri için de PDGF primer mitojen olan bir büyüme

faktörüdür. Bu etki interferon- γ sayesinde daha da artmakla birlikte, plazmada diğer büyüme faktörlerinin bulunmasına bağlıdır (69) (74) (75). PDGF'nin diğer büyüme faktörlerinin varlığından bağımsız olarak nötrofil, monosit, makrofaj ve fibroblastlar için kemotaktik özelliği vardır, ayrıca yara iyileşmesinin ileri safhalarında kollajenaz aktivasyonu yaparak 'remodelling'e katkıda bulunmaktadır (74) (76) (77) (78). Yara iyileşmesinde rol oynayan PDGF ve TGF- β genellikle sinerjistik etki gösterir. bu iki proteinin de kemik, periodontium, tendon, sinir ve deri iyileşmesini stimüle ettiği, kollajen miktarını ve yara kuvvetini arttırdığı gösterilmiştir (71) (76) (79) (80).

Deneysel hayvan çalışmalarında tendon, ligament ve kırıkdaalarda oluşturulan yaralanmalarda, yara iyileşimini uyarıcı etkisi gösterilmiştir (66) (81) (82) (83). Metilselüloz içinde tek doz uygulama ile yapılan kalvaryal kemik defekt onarımlarında kemik ilerlemesini, mineralize dokuyu, kemik iliği miktarını, yani kemikleşmeyi arttırdığı saptanmıştır (84). Brown, sıçan epigastrik ada fleplerinin pediküllerinde 3-4 mm'lik defektler yaratıp bu alana PDGF vermiş ve aradaki bölgede 3 hafta içinde yeni bir damar oluştuğunu görmüştür. Flep periferinde anjiogenezin arttığını gözlemlemesinin üzerine flep alanına PDGF verilmesinin erken pedikül ayırmaya izin verdiğini belirtmiştir (85). Kas fleplerine uygulandığında da flep sağkalımını arttırdığı anlaşılmıştır (86). Hayvanlardaki deneysel yara iyileşmesi çalışmalarında granülasyon dokusunun ve ekstraselüler matriksin arttığı, iyileşmenin hızlandığı gösterilmiştir (78). Yine diyabetik hale getirilen sıçanlarda yapılmış olan bir çalışmada, bozulmuş olan yara iyileşmesini PDGF uygulamasının normalde olması gereken hale getirdiği, inflamatuvar cevabı arttırmadığı, erken safhada DNA sentezi ve kollajen miktarını arttırmasına rağmen 20. gün civarında bu değişimlerin normale döndüğü saptanmıştır(74).

Klinikte diyabet ya da iskemi kaynaklı kronik deri ülserlerinde yara iyileşmesini arttırmak için, maksillofasiyal cerrahide kemik grefti yerleştirilen bölgede, oral ve nazal fistüllerin cerrahi onarımında, kemik-integre implantlara destek olarak kullanılmıştır (77) (87). Rekombinant DNA teknolojisiyle üretilmiş olan PDGF (becaplermin 0,01 %- Regranex OMP, Raritan, NJ) ile kronik yaralarda yapılmış olan iyileşme çalışmaları da ümit vaat eden sonuçlar sunmaktadır (77).

“Transforming” büyüme faktörü (TGF- β): TGF- β fibroblast çoğalmasını uyaran plasenta kaynaklı bir madde olarak 1983 yılında keşfedilmiştir. Fakat daha sonra tüm vücutta yaygın olarak bulunduğu, hücre siklusu regülasyonu, embriyogenez, organ gelişimi gibi pek çok biyolojik aktivitede görev aldığı fark edilip çeşitli araştırmalarda odak noktası olmuştur.

Üç farklı izoformundan TGF- β 1 ve β 2 trombositlerde bulunduğu ispatlanmış olan, bağ dokusu iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunda görev alan, TGF’ün en sık görülen alt gruplarıdır. Hücre büyümesi, extraselüler matriks üretimi, anjiogenezin uyarılması, yara iyileşmesi ve farklılaşması gibi çeşitli biyolojik olaylarda rol alırlar(71) (79) (75). Fibroblastları prokollajen üretimi için aktive ederek yarada kollajen depolanmasına neden olurlar(71). TGF- β lar parakrin olarak etkilerini fibroblast, kemik iliği kök hücresi ve preosteoblast gibi hücreler üzerinde gösterebilirler ve bu hedef hücreler de yine TGF- β salgılayabilirler. Böylece TGF- β yalnızca yumuşak doku ve kemik rejenerasyonunu başlatmakla kalmayıp remodelling aşamaları ve kemik grefti olgunlaşmasında da etkili olur (87). Sıçanlarda yapılan çalışmada insizyonların altına tek doz TGF- β uygulanmasının ardından yara gerim kuvvetini %51 arttırdığı gösterilmiştir (88). Rekombinant TGF- β uygulaması da benzer sonuçlar vermiştir (68).

Çeşitli çalışmalarda epidermal rejenerasyonu, anjiogenezi, tendon ve ligament iyileşmesini hızlandırdığı da gösterilmiştir (76) (77) (76, 77, 81). TGF- β ile transfekte edilmiş adenovirüslerin sıçan epigastrik fleplerine enjeksiyonu sonucu flep yaşayabilirliğinin, damar yoğunluğu ve çaplarının arttığı saptanmış ve gen terapisinin iskemide kullanılabileceğinin göstergesi olmuştur (89).

Aşırı ve düzensiz kollajen depolanmasına neden olarak fibrozis ve skar formasyonunun oluşumunda önemli rol oynayan bir sitokin olması, uygulandığı bölgelerde hipertrofik skar yaratabileceği yönünde endişelerin gelişmesine neden olmuştur; fakat TGF- β ailesinin üyelerinden olan BMP (Bone Morphogenetic Protein) ler ortopedik cerrahide ön çalışma niteliğinde kullanıma girmiş durumdadır (77).

Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF): Fibroblast büyüme faktörleri mitojenik polipeptid ailesidirler. İçlerinde en çok incelenmiş olan altgrup bFGF; fibroblastlar, endotel hücreleri, osteoblastlar, kondrositler ve keratinositler üzerinde mitozu arttırıcı etki gösterir, anjiogenez ve endotelyal hücre göçünde rol oynar, TGF- β 'nın dağılımını arttırıcı etki yapar (75). VEGF ve TNF- α ile birlikte olduğunda maksimum anjiogenik etkisini gösterir. Yara iyileşmesinde özellikle keratinositlerin proliferasyon ve göçüne neden olur. Anjiogenezin başlaması için gerekli olan fibroblastlardan kollajenaz üretimi ve kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu sağlar (90) (91). Granülasyon dokusu oluşumunu başlatmaya da yardımcı olur (74). Bazik fibroblast büyüme faktörü ve sucrose octasulfate (sucralfate)' ın ayrı ayrı gastrik ülserler üzerine olumlu etkisi olduğu bilinmektedir (92). Rashid ve arkadaşları bu iki maddeyi birlikte kullanarak sıçan dorsal fleplerinde yaşayabilirliği arttırdığını, bunun da anjiogenez sayesinde olduğunu saptamışlardır (92). Khouri

fleplerin altına bFGF, Uhl ise rekombinant bFGF uyguladığında neovaskülarizasyonun ve flep sağkalımının arttığını rapor etmiştir (43) (93). Fakat Hayward bFGF verdikten sonra opere ettiği fleplerin sağkalımında anlamlı bir iyileşme sağlayamamıştır (94). Yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini anlayabilmek için McGee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rekombinant bFGF'nin kollajen miktar, organizasyon ve maturasyonunu arttırdığını, buna sebep olan faktörün kollajen ve fibroblastların yara yerinde daha erken birikmesi ve kollajen lifleri arasında daha çok çapraz bağ oluşması olabileceğini düşünmüşlerdir (95). Diyabetik, iskemik ve protein eksikliği olan yaraların iyileşmesini arttırdığı ve tendon iyileşme modellerinde de başarısı gösterilmiştir (77) (75). Kardiyak enfarktüs sonrası kollateral oluşumunu arttırmak için bFGF ile çalışmalar devam etmektedir.

İnsülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I): İnsan proinsülinine benzerliği nedeniyle bu ismi alan IGF-I, fibroblast, kondrosit, keratinosit, osteoblast, mezangial eritroid progenitor hücreler gibi pek çok hücre tipinin çoğalmasını artırarak büyümeyi uyarır. PDGF ile birlikte olduğunda daha iyi bir etki gösterir. Dolaşımdaki IGF-1'in protein sentezini, periferik glukoz alımını, glikojen sentezini, sinir sağkalımını, miyelin sentezini, kemik oluşumunu arttıran anabolik etkileri arttırdığı, kaslardaki protein yıkımı gibi katabolik etkileri azalttığı bilinmektedir. Aşil tendonunda travma oluşturarak yapılan çalışmada düzeyinin arttığı görülüp tendon iyileşmesinde muhtemelen mitozu artırarak etki gösterdiği düşünülmüştür.

Egzogen olarak verilen IGF-1'in DNA, kollajen ve proteoglikanı arttırdığı gösterilmiştir (77) (69) (70). IGF'nin proteoglikan sentez ve yıkımını dengeleyerek kırıkta homeostazında önemli rol oynadığı öne sürülmüş ve atlarda yapılan

kıkırdak defekti modelinde fibrin pıhtıya IGF ilave edilerek bu defekte uygulandığında onarılan dokunun kalite ve miktarını arttırdığı gözlenmiştir (83) (96).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF): VEGF'ün, tümör hücrelerinden salgılanan, damar geçirgenliğini arttırarak asit oluşumuna katkıda bulunan bir madde olduğu düşünülmüş ve bu nedenle 1983'te "vascular permeability factor" olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar doğrultusunda VEGF olarak ismi değiştirilmiş, en kuvvetli fizyolojik ve patolojik anjiogenezis uyarıcısıdır (82) (75) (67) (97). Beş adet izoformu bulunan VEGF kendi salınımından sonra diğer proteoglikan-bağlı salınımı olan büyüme faktörlerinin (bFGF) de salınımını uyarır ve bFGF ile sinerjistik anjiojenik etkisi gösterilmiştir (90) (96).

Anjiogenezin ilk basamaklarında vasküler bazal membranların yıkılması için gerekli olan kollajenaz ve jelatinazın indüksiyonuna, daha sonra yine anjiogenez için gerekli olan α integrinlerin ekspresyonuna neden olarak iyileşen dokuda anjiogenez başlatır. Diğer büyüme faktörleri ile kıyaslandığında mitojenik etkisinin endotelyal hücrelerle sınırlı olması teorik olarak VEGF'in vasküler yetmezliklerde terapötik anjiogenez sağlamak için avantajlı olduğunu düşündürmektedir (90) (67). Doğrudan mitotik etkisinin yanında, VEGF bir taraftan kısmen nitrik oksit sentezini uyararak vazodilatasyona neden olurken, diğer taraftan hücre göçünü ve apoptozu inhibe eder (98). Yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fibroblast, inflamatuvar ve endotelyal hücrelerin proliferasyon ve göçünün uyarılmasında görevlidir ve vasküler geçirgenliği arttırır (70) (96). Tümörlerde kompresyon ve iskemiye bağlı gelişen lokal hipoksiye yanıt olarak VEGF düzeylerinde artış olduğu Shweiki tarafından gösterilmiş ve Stavri kalpte iskemiye takiben aterosklerotik plaklarda yeni damar oluşumlarının uyarılmasında hipoksiye bağlı VEGF artışının rol oynayabileceği

tezini savunmuştur. Deneysel modellerde ekstremitte iskemisinde egzogen verilen VEGF'in anjiogenezi başlatarak vasküler kaynağı, bazı çalışmalarda da vasküler yaralanmanın ardından uygulandığında yeniden endotel oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (77) (90). Zhang ve arkadaşlarıysa sıçan TRAM flep modelinde subkutan VEGF uygulamasında flep yaşayabilirliğinde ve anjiogeneziste anlamlı artış saptamışlar; cerrahi geciktirme yapılan sıçan TRAM fleplerinde sitokin düzeylerine baktıklarında TGF- β ve PDGF ekspresyonu değişmezken bFGF ve VEGF ekspresyonlarının anlamlı miktarda arttığını belirleyerek önceki çalışmalarını desteklemiş ve farmakolojik olarak geciktirme etkisi yaratmak için kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada da dışarıdan uygulanan VEGF'in iskemik yaralarda anjiyogenezi uyardığı ve tensil gücü arttırdığını göstermişlerdir (98). Kryger ve arkadaşları hem kas fleplerinde hem de muskulokütan fleplerde VEGF uygulamasının hem subdermal/subfasyal hem de intravasküler olduğunda flep yaşayabilirliği üzerinde olumlu etkileri olduğunu yayınlamışlardır (67). Machens sıçan epigastrik fleplerinin altına VEGF uygulayıp, flep yaşayabilirliğinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış saptayarak diğer araştırmacıların sonuçlarıyla kısmen çelişmiştir (99).

Petersen ve arkadaşları da 2002'de tendon anjiogenezinin ana belirleyicisinin VEGF olduğunu bulmuşlardır (82).

Epidermal büyüme faktörü (EGF): Epidermal büyüme faktörü, yara iyileşmesinin erken safhalarında fibronektin gibi proteinlerin üretimini ve epitel hücre göçünü uyarır. Kollajen üretimini arttırmadan fibroblastların çoğalmasını sağladığı düşünülmüş olmasına rağmen Brown ve arkadaşları sıçanlarda insizyon bölgelerine biyosentetik EGF uygulamalarının ardından yaptıkları elektron

mikroskopik incelemede artmış kollajen oluşumu göstermişler ve 7-14 gün sonra yara gerim kuvvetinin % 200 arttığını bildirmişlerdir (88) (99). İn vivo olarak anjiogenezi uyardığı bilinen EGF ile yapılan klinik çalışmalarda gümüş sülfadiazin içine koyularak kronik yaralara uygulandığında epitelizasyonu arttırdığı saptanmıştır (100).

Büyüme faktörlerine ilave olarak α -granüllerinden trombin, tromboksan A2 ve ADP salınımı olur. Bu maddeler oluşan pıhtıya daha çok trombositin gelmesine ve hemostatik cevabın artmasına neden olurlar (76).

2.3.3. Trombositten Zengin Plazma (PRP = TZP = trombosit jel = büyüme faktörlerinden zengin plazma)

Trombositlerin çeşitli yöntemlerle, antikoagülan ilave edilmiş venöz kandan santrifüj edilerek ayrıştırılıp, fibrinojen de içeren az miktar plazma içerisinde süspansiyon haline getirilmesiyle TZP elde edilir. İleri teknoloji aletler kullanılması da mantık olarak minimum 45-60 cc kan, antikoagülan solüsyon içine alındıktan sonra seri santrifüj işlemlerinden geçirilip, kırmızı kan hücreleri, fibrin yapıştırıcı (trombosit fakir plazma) ve trombosit konsantresi (TZP) olarak ayrıştırılabilmektedir. Trombosit sayısı kandaki normal değerinin 3-8 katına kadar konsantre edilebilir (87) (101) (79). Trombin ve kalsiyum ilave edilerek TZP aktif hale getirilir, pıhtılaşarak jel halini alan bu maddedeki trombositlerin α -granüllerindeki büyüme hormonları ortama salınır (101) (102). Trombosit zengin plazma ile fibrin yapıştırıcının farkı TZP’de trombosit konsantrasyonunun fazla, fibrinojen konsantrasyonunun az olmasıdır. Daha az fibrinojen içerdiği için çok katı bir fibrin pıhtı oluşmadığı, bu

nedenle yara iyileşmesini engellemeyip, bilakis içindeki büyüme faktörleri sayesinde bu olayı hızlandırdığı düşünülmüştür (79) (102).

Yeterli deneysel çalışmaları yapılmadan önce kullanıma giren TZP'nin genelde kontrol gruplarının olmaması deneysel çalışmalara olan ihtiyacı beraberinde getirmiştir. Yapılmış az sayıdaki deneysel çalışmalardan birisi olan Partsafas'ın çalışmasında FY veya TZP'nin serbest flep modelinde olumlu ya da olumsuz etkisi saptanmamıştır (103). Yara bölgelerine TZP uygulayarak yapılan çalışmalarda amaç, yara iyileşmesinin başlatıcıları olan büyüme faktörlerini konsantre şekilde yara bölgesine vererek iyileşme sürecini hızlandırmaktır. Çünkü klinik olarak ciddi birer problem olan kronik yaralarda, bu faktörlerin miktarlarının azaldığı gösterilmiştir. Bu durum, üretimde veya salınımında azalma, yıkımda artma ya da hepsine birden bağlı olabilir. Venöz ülserler, diyabetik yaralar vb. kronik durumlarda kullandıklarında TZP'nin faydalı olduğunu rapor etmiş olan pek çok araştırmacı vardır (104) (105). Yara iyileşmesini arttıran proteinlerin yanında bakterisidal proteinleri de içermesi, enfeksiyonların kontrol altına alınmasına ve hastanede yatış sürelerinin kısalmasına, ağrı ve şişlikte azalmaya neden olmuştur (106).

Marx tek başına kemik grefti uygulaması ile kemik grefti + TZP uygulamasını karşılaştırdığında ikili uygulamada kemik dansitesinde, kemik biçimlenmesinin hız ve derecesinde daha çok artış saptamış ve bunun PDGF ve TGF- β sayesinde olduğunu belirtmiştir (87). Anitua da diş çekimi sonrası oluşan boşluğa TZP uygulamış ve hem epitelizasyon hem de kemik dansitesinde artış rapor etmiştir. Trombosit zengin plazma invitro ortamda fetal osteoblast benzeri hücrelerin rejenerasyon ve fonksiyonelliğini arttırıp, mezenkimal kök hücrelerin ortama göçünü sağlamaktadır (69). Gruber de trombositlerin periost kaynaklı hücrelere kemotaktik

olduğunu göstermiştir (107). Aghaloo ve ark. ise kemik greftleriyle yaptıkları deneysel hayvan çalışmalarında TZP'nin üstünlüğünü gösterememişlerdir (108). Fakat oral ve maksillofasiyal cerrahide, osteointegrasyon için kullanılan otojen greftlere kemik doku ilerlemesini hızlandırdığını bildiren araştırmacılar mevcuttur ve maksiller antroplastide kemik greftleriyle birlikte kullanımında başarılı sonuçlar bildirilmiştir (101). Trombositlerin içerdiği büyüme faktörlerinin hem periost ve osteoblastlar, hem de osteoblast benzeri hücreler üzerinde mitojenik etkisi olduğu ve TZP'nin poröz hidroksiapatit içine kemik ilerlemesini arttırdığı gösterilmiştir (109).

Kemikleşmeye ve yara iyileşmesine katkıları nedeniyle lumbar spinal füzyon hastalarında otogreft ve hidroksiapatitle birlikte kullanılmış ve başarılı sonuçlar yanında olumsuz sonuçlar da rapor edilmiştir (69).

Kawase ve Okuda'nın 2003 yılında TZP'nin periodontal ligamentte kollajen sentezini ve in vitro osteoblastik aktiviteyi arttırdığını göstermelerinden sonra Huang ve arkadaşları gingival çekilmelerde koronal ilerletme flebine TZP uygulaması yapmışlar fakat istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme artışı saptayamamışlardır(70, 110). Daha önceden Siebrecht ile birlikte TZP'nin poröz hidroksiapatit içine kemik ilerlemesini ve kemik oluşumunu arttırdığını gösteren Aspenberg, sıçan aşıl tendonunda TZP uygulanan tendon defektinin tendon kopma kuvvetinde ve tendon kallusunda artış saptamıştır. Ligamanlar üzerinde de benzer etkileri saptanmış ve artroskopik cerrahide kullanımı önerilmiştir.

Oftalmolojik cerrahide maküler deliklerin kapatılmasında başarılı sonuçlar bildirilmiş, tavşanlarda yapılan deneysel bir çalışmada da retinal yaralanmalarda hücrel cevabı arttırdığı gösterilmiştir (69).

Man, hem TZP hem de fibrin yapıştırıcıyı yüz germe, boyun germe, meme küçültme gibi ameliyatlarda kullanmış ve operasyon süresinde kısılma, dren koyma ihtiyacında, baskılı pansuman kullanımında, seroma oluşumunda, hastanın postoperatif şişlik ve ağrı şikâyetlerinde azalma rapor etmiştir (102).

Teknolojik ilerlemeler sayesinde bazı cihazlar yardımıyla tüm kan hücrelerini, dolayısıyla trombositleri de steril şartlar altında izole ve konsantre etmek mümkündür. Çelişkili sonuçlar yeterli kontrollü çalışmalarla aydınlatıldığı takdirde, bireyin kendi kanından elde edildiği için immün reaksiyon gözlenmemesi, herhangi bir yan etki oluşmaması, ve gerektiğinde aynı hastadan herhangi bir sorun çıkmadan tekrar elde edilebilmesi, otolog olarak elde edildiği için hastalık bulaştırma riski olmaması kullanımının yaygınlaşmasını sağlayacak en önemli faktörlerdendir.

Plastik cerrahide en önemli problemlerden biri büyük cilt defektlerinin kapatılmasıdır. Büyük defektleri kapatmada kullanılan ve kendilerine ait bir damar yatağına sahip olan fleplerin, boyu uzadıkça flep yaşayabilen kısmında azalma olmaktadır. Bu durumda flep distalinde nekroz alanları oluşmaktadır. Fleplerin yaşayabilen kısımlarını arttırmak için çok sayıda kimyasal, fiziksel ve cerrahi modifikasyon yapılmıştır. Trombositten zengin plazma (PRP) ve stromal vasküler fraksiyon (SVF), tıpta geniş kullanım alanları olan, etkinlikleri kanıtlanmış, otolog kaynaklı hücresel tedavi ürünleridir. Buna rağmen literatürde, bu iki ürünün flep yaşayabilirliğini arttırmadaki rolü üzerine yeterli sayıda çalışma yoktur. Bu çalışmada bizim amacımız, rat dorsal derisinde kaldırılan McFarlane flebinde, lokal olarak uygulanan PRP ve SVF'nin, flep yaşayabilirliğine olan etkisini araştırmaktır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınarak Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı.

Çalışmada deney hayvanı olarak ağırlıkları 350-450 gr arasında değişen 56 adet Sprague-Dawley cinsi erişkin dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar uygun kafeslerde, 22±20 C sıcaklıkta ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamın sağlandığı koşullarda barındırıldı. Hayvanların beslenme ihtiyaçları standart laboratuvar yemi ve su verilerek düzenli olarak karşılandı. Sıçanlar basit rastgele örnekleme yöntemiyle her biri 6'şar adetten oluşan dört gruba ayrıldı.

Gruplar:

Grup I: A) Hızlı doku genişletme uygulanan grup

B) Yavaş doku genişletme uygulanan grup

Grup II: A) Hızlı doku genişletme yapılan ve doku genişletici yerleştirilen alana genişletmeden 1 hafta önce PRP enjeksiyonu yapılan grup

B) Yavaş doku genişletme yapılan ve doku genişletici yerleştirilen alana genişletmeden 1 hafta önce PRP enjeksiyonu yapılan grup

Grup III: A) Hızlı doku genişletme yapılan ve doku genişletici yerleştirilen alana genişletmeyle aynı gün PRP enjeksiyonu yapılan grup

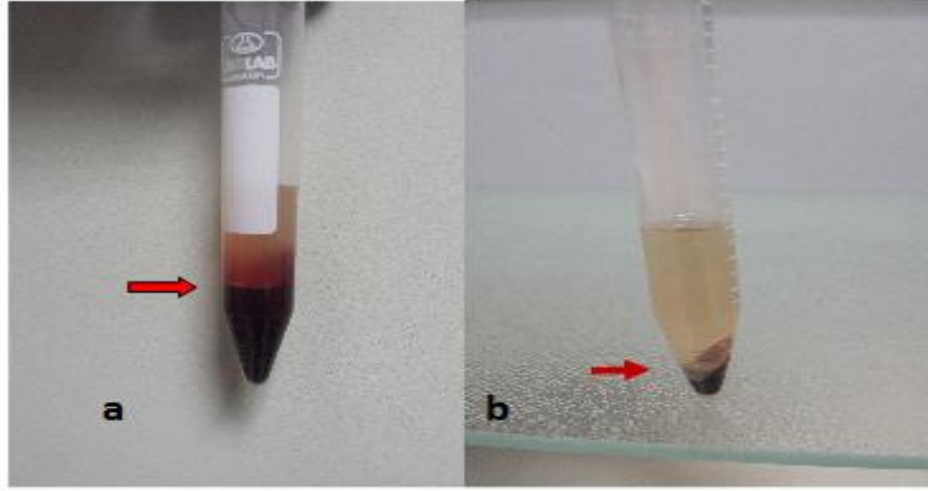
B) Yavaş doku genişletme yapılan ve doku genişletici yerleştirilen alana genişletmeyle aynı gün PRP enjeksiyonu yapılan grup

3.1. İşlemler:

3.1.1. PRP'nin Hazırlanması

Trombositlerin diğer kan elemanlarından ayrılıp bir miktar plazma ilave edilerek TZP haline getirilebilmesi için gerekli olan kan, donör olarak seçilen 10 adet sıçandan, Ketamine HCl (Alfamine®-IM) ve Ksilazin HCl (Rompun®-IM) karışımı ile sağlanan anestezi altında intrakardiyak kanülizasyon ile tüm vücut kanları alınarak elde edildi.

Elde edilen 150 ml kan, pıhtılaşmasını engellemek için sitrat-fosfat-dekstroz (CPD) solüsyonu ile, 5 ml kan/1 ml CPD oranında karıştırılarak santrifüj işlemi için uygun olan dört plastik tüp içerisinde toplandı. Bizim kullandığımız CPD solüsyonu kan merkezlerindeki üçlü kan torbaları (Baxter Healthcare Corp, USA) içerisinde elde edildi. Toplanan kan 22⁰C sıcaklıkta ve 200 g devirde santrifüj cihazında 20 dakika boyunca santrifüje tabi tutuldu. Üstte toplanan açık sarı renkli plazma ile en alttaki kırmızı tabaka arasında ince bir ara tabaka (buffy coat) izlendi (Resim 3.1). Üzerindeki plazmayla beraber bu ara tabaka ayrı bir tüpe alındı. Bu tüp ikinci kez 480 g devirde 20 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlem sonunda trombositler fakir plazmanın en üstte toplandığı görüldü (Resim 3.2).



Resim 3.1: a) İlk santrifüj sonrası plazma ve kırmızı kan hücreleri arasında trombosit ve lökositlerin oluşturduğu ince tabaka (ok) ; b) İlk santrifüj sonrası plazma ve kırmızı kan hücreleri arasında trombosit ve lökositlerin oluşturduğu ince tabaka (ok).

Oluşan trombosit konsantresi ve trombosit fakir plazma (= fibrin yapıştırıcı= FY) ayrıştırılıp farklı tüplere alındı. Trombosit konsantresi thoma lamında sayıldı ve $1,5 \times 10^{12}$ trombosit/ml olacak şekilde FY ile seyreltilti. Yapılan analizle trombositlerin üç kat konsantre edildiği saptandı ($0,3-0,8 \times 10^{12}$ / $1,5 \times 10^{12}$ trombosit/lt).

Elde edilen PRP maksimum etki için doku genişletici uygulanan alana genişletmenin yapıldığı gün veya 1 hafta önce intradfermal enjekte edildi. Akraba ratlarda kan grubu uyumu aranmadığı için farklı ratlardan hazırlanan PRP'nin lokal uygulamasında herhangi bir ret reaksiyonu görülmedi.

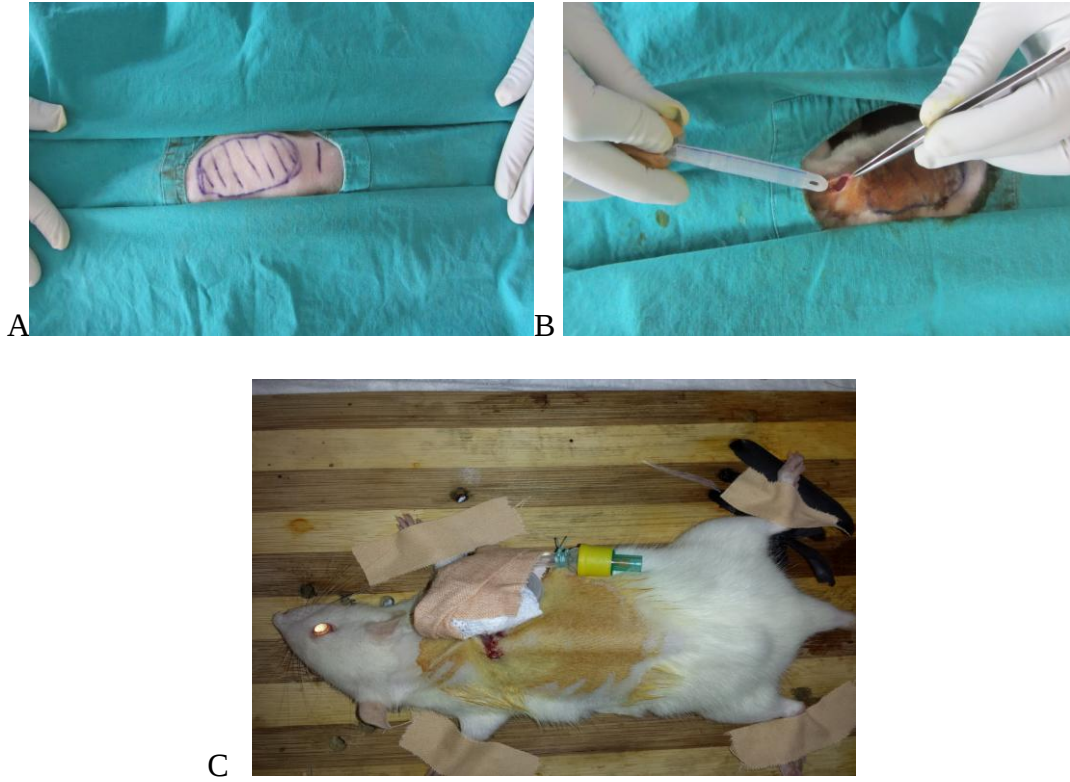
3.1.2. Anestezi

Anestezi, 35 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®, Eczacıbası-Türkiye) i.m. ve 5 mg/kg ksilozin hidroklorid (Rompun®, Bayer-Türkiye) i.m. ile sağlandı. Anestezi derinliği çene ve iskelet kas tonusuyla izlendi.

3.1.3. Cerrahi

Anestezi altındaki deney hayvanının dorsal cilt derisi elektrikli tıraş makinesi ile tıraş edildi ve doku genişletici yerleştirilecek ve PRP uygulanacak 2*4 cm'lik alan işaretlendi. %10 povidon iyot (Poviiodeks, Kim-Pa İlaç Lab. Tic. Ltd. Şti. İstanbul) ile temizlendi. Tüm cerrahi işlemler boyunca lokal steril şartlara dikkat edildi. Dorsal torasik ciltten yaklaşık 2 cm lik transvers insizyon yapıldı. Cilt ve cilt altı geçilerek doku genişletici için uygun poş oluşturuldu. Doku genişletici yerleştirildikten sonra port görevi gören sonda ucu sıçan servikal cildine sütür ve flaster yardımı ile fiks edildi. Kanama kontrolünü takiben, insizyon hattı 3/0 vicryl ile primer sütüre edildi. (Resim 3.2)

Çalışmamızda doku genişletici olarak 22 G silikon idrar sondası kullanılarak deney sonuna kadar 80 cc SF ile şişirildi.



Resim 3.2: Operasyonun planlanması (A), doku genişleticinin yerleştirilmesi (B) ve fiksasyonu (C)

3.1.4. Enjeksiyonlar

Grup I

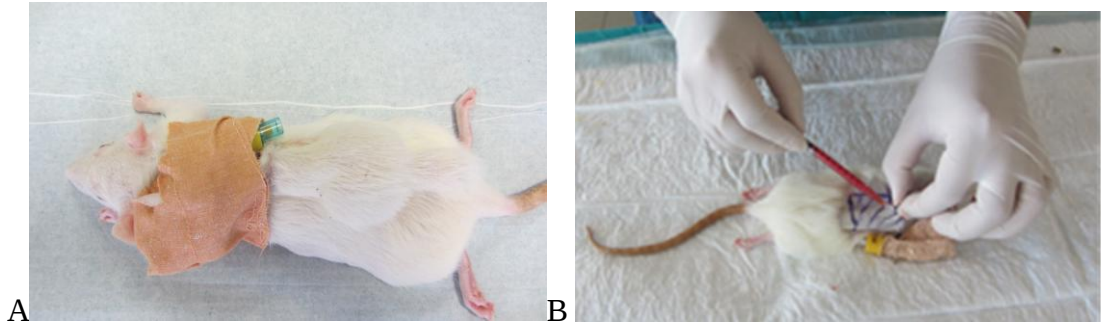
A) : Kontrol grubundaki deney hayvanlarına doku genişletici yerleştirildikten 1 hafta sonra (yeterli yara iyileşimi sağlandıktan sonra) hızlı doku genişletme uygulandı. İlk gün 20 cc, 2. gün 20 cc, 3. gün 20 cc ve 4. gün 20 cc (toplamda 80cc) SF ile sondalar şişirildi. Doku genişletme işlemi bittikten 1 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edildi.

B) Kontrol grubundaki deney hayvanlarına doku genişletici yerleştirildikten 1 hafta sonra (yeterli yara iyileşimi sağlandıktan sonra) yavaş doku genişletme uygulandı. İlk gün 20 cc, 2. gün 10 cc, 3. gün 10 cc, 4. gün 10 cc, 5. gün 10 cc, 6.

gün 10 cc ve 7. gün 10cc (toplamda 80cc) SF ile sondalar şişirildi. Doku genişletme işlemi bittikten 1 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edildi.

Grup II:

A) Hızlı doku genişletme uygulanacak deney hayvanlarına doku genişletici yerleştirildikten 1 hafta sonra (yeterli yara iyileşimi sağlandıktan sonra) 21G enjektörlerle daha önce işaretlenmiş alana ortalama 0,1 cc PRP uygulanacak şekilde birbirine eşit uzaklıkta 25 adet enjeksiyon (toplam 2,5 cc) yapıldı ve işlemden 1 hafta sonra hızlı doku genişletme eylemi başlatıldı. İlk gün 20 cc, 2. gün 20 cc, 3. gün 20 cc ve 4. gün 20 cc (toplamda 80cc) SF ile sondalar şişirildi. Doku genişletme işlemi bittikten 1 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edildi. (Resim 3.3).



Resim 3.3: Ekspande edilecek alana PRP uygulanması

B) Yavaş doku genişletme uygulanacak deney hayvanlarına doku genişletici yerleştirildikten 1 hafta sonra (yeterli yara iyileşimi sağlandıktan sonra) 21G enjektörlerle daha önce işaretlenmiş alana ortalama 0,1 cc PRP uygulanacak şekilde birbirine eşit uzaklıkta 25 adet enjeksiyon (toplam 2,5 cc) yapıldı ve işlemden 1 hafta sonra yavaş doku genişletme eylemi başlatıldı. İlk gün 20 cc, 2. gün 10 cc, 3. gün 10 cc, 4. gün 10 cc, 5. gün 10 cc, 6. gün 10 cc ve 7. gün 10cc (toplamda 80cc) SF ile sondalar şişirildi. Doku genişletme işlemi bittikten 1 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edildi.

Grup III:

A) Hızlı doku genişletme uygulanacak deney hayvanlarına doku genişletici yerleştirildikten 1 hafta sonra (yeterli yara iyileşimi sağlandıktan sonra) 21G enjektörlerle daha önce işaretlenmiş alana ortalama 0,1 cc PRP uygulanacak şekilde birbirine eşit uzaklıkta 25 adet enjeksiyon (toplam 2,5 cc) yapıldı ve işlemle aynı gün hızlı doku genişletme eylemi başlatıldı. İlk gün 20 cc, 2. gün 20 cc, 3. gün 20 cc ve 4. gün 20 cc (toplamda 80cc) SF ile sondalar şişirildi. Doku genişletme işlemi bittikten 1 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edildi.

B) Yavaş doku genişletme uygulanacak deney hayvanlarına doku genişletici yerleştirildikten 1 hafta sonra (yeterli yara iyileşimi sağlandıktan sonra) 21G enjektörlerle daha önce işaretlenmiş alana ortalama 0,1 cc PRP uygulanacak şekilde birbirine eşit uzaklıkta 25 adet enjeksiyon (toplam 2,5 cc) yapıldı ve işlemle aynı gün yavaş doku genişletme eylemi başlatıldı. İlk gün 20 cc, 2. gün 10 cc, 3. gün 10 cc, 4. gün 10 cc, 5. gün 10 cc, 6. gün 10 cc ve 7. gün 10cc (toplamda 80cc) SF ile sondalar şişirildi. Doku genişletme işlemi bittikten 1 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edildi.

3.2. Değerlendirme

3.2.1. Genel Değerlendirme

Çalışmaya dahil edilen hayvanlarda deney süresince oluşan genel değişiklikler her gün gözlemlendi. Postoperatif dönemde ağrıları olmaması için 2 gün boyunca flunixin (1,1 mg/kg - Fluvil®-IM) enjeksiyonları yapıldı. Sıçanların birbirlerine zarar vermelerini önlemek için her biri ayrı kafeslerde barındırıldı. Yara yerlerine postoperatif iki gün boyunca günde iki kez olacak şekilde %10'luk povidon

iodine solüsyonu ile pansuman yapıldı. Tepe noktasında % 50'den fazla nekroz alanı bulunan ratlar değerlendirmeye alınmadı ve yerlerine yeni ratlar eklendi.

3.2.2. Histolojik Değerlendirme

Tüm gruplardan, doku genişletme işlemi bittikten sonraki 7. günde, anestezi altında, doku genişletme uygulanan alanın tepe noktasında 2 cm² çapında tam kat insizyonel biyopsi örnekleri alındı. Alınan dokular %10'luk formaldehit solüsyonuna konularak tespit edildi. Oluşan kapsülle birlikte alınan kesitler, rutin protokole uygun olarak doku takip işlemine tabi tutuldu.

Dokular; rutin mikroskopik inceleme, kapsül kalınlığı ölçümü ve inflamatuvar değişimlerin değerlendirilmesi için Hematoksilen Eozin (HE) ve Masson'un üçlü boyaması ile boyandı. Boyama sonrasında, dokular ışık mikroskobu altında spesimenlerin hangi gruplara ait olduğunu bilmeyen aynı histolog tarafından incelendi. İnflamatuvar hücre değişimlerine bakıldı. HE ile boyanan her örnek için 4x'lik büyütmede kapsül kalınlığı ölçüldü (Nikon eclipse 80 i foto mikroskop ile NIS-element/ Nikon software programı kullanılmıştır).

Rutin immunohistokimyasal işlemler sonrasında VEGF antikoru kullanılarak yapılan boyamada; herbir gruptaki bütün örnekler, 40x büyütme ile mikroskopta 20 alanda yeni oluşan damarlar sayıldıktan sonra ortalamaları alınarak yeni oluşan damar sayıları saptandı. Kesitlerde yeni oluşmaya başlayan damar yapılarının lümensiz ya da kısmen lümenli ve kahverengi ağırlıkta boyanan epitel adacıkları şeklinde belirdiği gözlemlendi.

Bütün dokuların histolojik incelemeleri Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yapıldı.

3.2.3. VEGF ve bFGF Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Doku genişletme işlemi bittikten sonraki 7. günde genişletilmiş dokunun tepe noktasından alınan 1 gr. ağırlığındaki doku örnekleri, soğuk PBS (Phosfat buffer solution) ile yıkandı. Homojenizatör ile parçalanarak dokular -80 derecede bekletildi. Birbirini takip eden dondurma çözündürme işlemlerinin ardından dokular ELISA çalışmaya uygun hale getirildi. Homojenize tamponun santrifüjü sonrasında süpernatant kısmından VEGF ve bFGF ekspresyonunun değerlendirilmesi amacı ile enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) uygulandı. Grup 1 A ve Grup 1B kontrol olarak alınarak değerler % 100 olarak kabul edildi. Hızlı ve yavaş şişirilen gruplar kendi aralarında karşılaştırıldı.

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler, SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 16.0 paket programına girilerek analiz edildi. Gruplar arasında verilerin değerlendirilmesinde anlamlı fark olup olmadığını bulmak için varyans analizi (One Way ANOVA) yapıldı. Anlamlı farkı oluşturan grubun bulunabilmesi amacıyla gruplar arası karşılaştırmada post hoc Tukey HSD testi yapıldı. Anlamlılık düzeyi 0.05 olarak kabul edildi. Nekroz oluşan ve değerlendirme dışı bırakılan hayvan sayılarının istatistiksel değerlendirmeleri ise nonparametrik legacy two independent yoluyla manwhitney U testi ile yapılarak anlamlılık düzeyi 0.005 kabul edilmiştir.

4. Bulgular

4.1. Genel Değerlendirme

Cerrahi sonrasındaki yedinci güne kadar gözlemlenen hayvanlarda enfeksiyon, abse formasyonu, protez ekspozisyonu, hematoma ve seroma gibi komplikasyonlara rastlanmadı. Ancak Grup 1A'daki deneklerden 3 tanesi, Grup 1B'deki deneklerden 2 tanesi, Grup 2A ve 2B'deki deneklerden 1'er tanesinin tepe noktalarında %50'den fazla nekroz alanı bulunduğundan dolayı bu denekler değerlendirme dışı tutuldu ve yerlerine yeni denekler eklendi. Gruplardaki nekroz oranları kalitatif olarak karşılaştırıldığında, nekroz oranının en fazla olduğu deneklerin Grup 1'in her iki alt grubuna ait oldukları gözlemlendi. Nekroz alanının en az olduğu deneklerin ise Grup 3'e ait denekler olduğu gözlemlendi. (Resim4.1).



Şekil 4.1: Şişirilme sonrası nekroz alanlarının gösterilmesi. A) Grup 1A, B) Grup 2A, C) Grup 3A, D) Grup 1B, E) Grup 2B, F) Grup 3B'den temsili resimler.

Nekroz

Yapılan çalışmada ekspande edilen dokunun tepe noktasında %50'den fazla nekroz alanı gelişen ve değerlendirme dışı bırakılan hayvan sayısı Grup 1A'da 3, nekroz alanı gelişen ve değerlendirme dışı bırakılan hayvan sayısı Grup 1B'de 2, Grup 2A'da 1, Grup 2B'de 1 iken Grup 3A ve Grup 3B'de

değerlendirme dışı bırakılan hiç hayvan yoktur. Yapılan istatistiksel değerlendirmede hızlı ve yavaş şişirilen grupların teker teker değerlendirilmesinde anlamlı fark bulunmamıştır (tablo 4.1.). Ancak grupları şişirilme şekillerine göre değilde PRP uygulamalarına göre değerlendirdiğimizde; kontrol olarak ele aldığımız Grup 1 ile doku genişletme işlemi sırasında PRP uygulanan Grup 3 arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (tablo 4.2)

Grup karşılaştırması	P
Grup1A-Grup1B	0,591
Grup1A-Grup2A	0,254
Grup1A-Grup2B	0,254
Grup1A-Grup3A	0,060
Grup1A-Grup3B	0,060
Grup1B-Grup2A	0,530
Grup1B-Grup2B	0,530
Grup1B-Grup3A	0,141
Grup1B-Grup3B	0,141
Grup2A-Grup2B	1,000
Grup2A-Grup3A	0,317
Grup2A-Grup3B	0,317
Grup2B-Grup3A	0,317
Grup2B-Grup3B	0,317

Grup3A-Grup3B	1,000
---------------	-------

Tablo 4.1. Hızlı ve yavaş şişirilen gruplardaki nekroz oluşan ve değerlendirme dışı bırakılan hayvan sayılarının nonparametrik legacy two independent yoluyla manwhitney U testi ile yapılan karşılaştırmaları (* istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınan karşılaştırmalar)

Grup karşılaştırması	P
Grup1-Grup2	0,199
Grup1-Grup3	0,015*
Grup2-Grup3	0,150

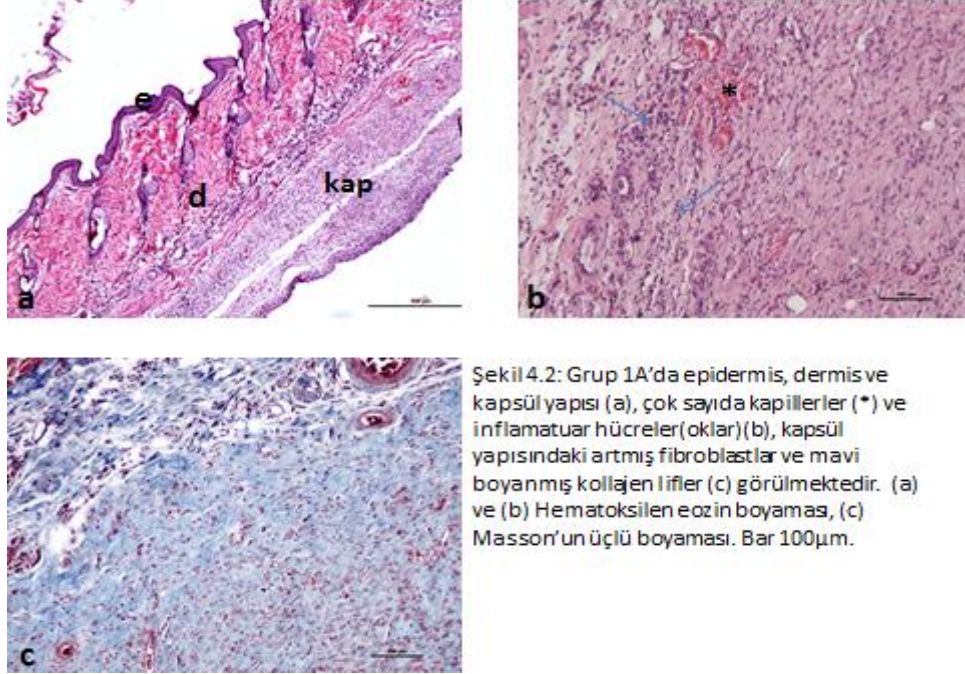
Tablo 4.2. PRP uygulanan ve kontrol gruplarındaki nekroz oluşan ve değerlendirme dışı bırakılan hayvan sayılarının nonparametrik legacy two independent yoluyla manwhitney U testi ile yapılan karşılaştırmaları (* istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınan karşılaştırmalar)

4.2. Histolojik Değerlendirme

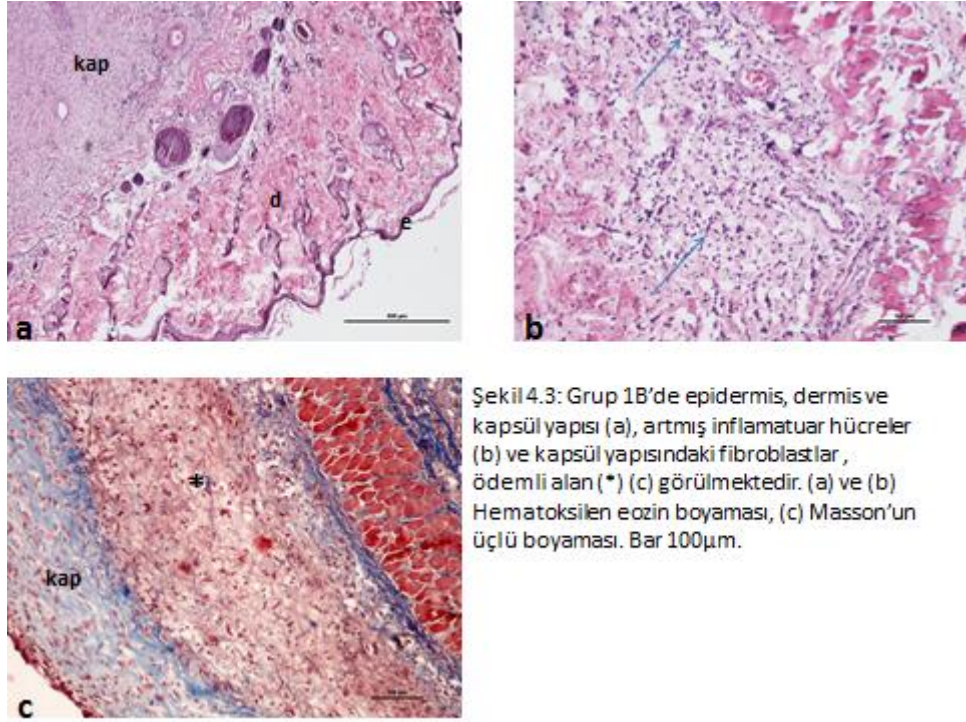
4.2.1. Genel Histolojik Bakış

Hematoksilen Eozin ve Masson'un üçlü boyamasında; Grup 1A'da epidermis ve dermis yapılarında dejenerasyon olmadığı (Şekil 4.2a), kalın olan kapsül yapısında çok sayıda dolgun kapillerlerin ve inflamatuvar hücrelerin bulunduğu (şekil

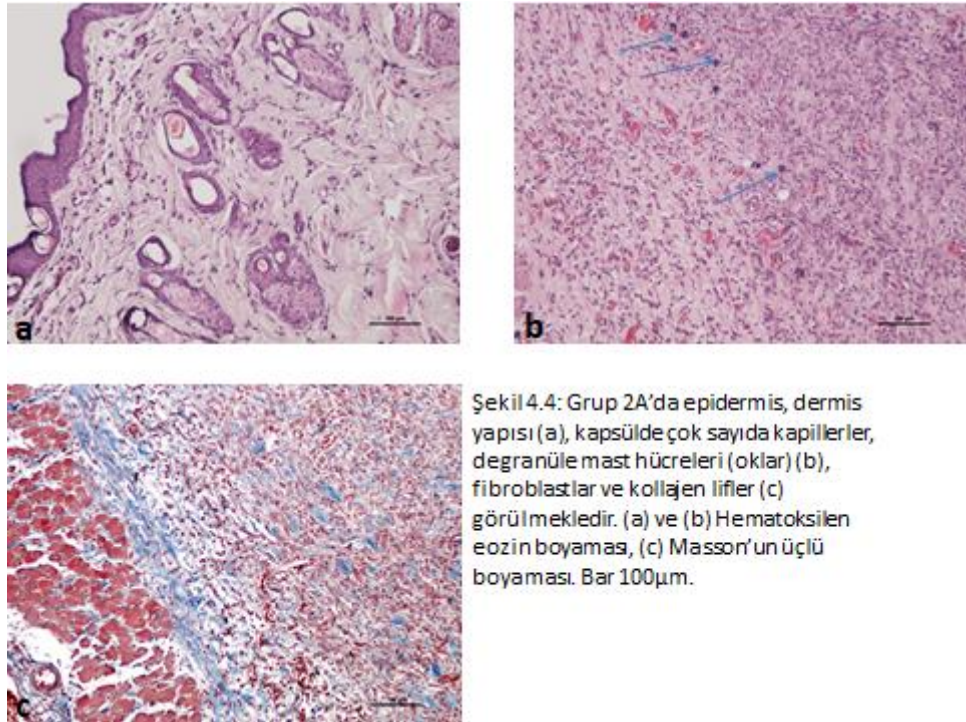
4.2b), kapsül yapısında fibroblastların ve kollajen liflerin belirgin olduğu (Şekil 4.2c) görüldü.



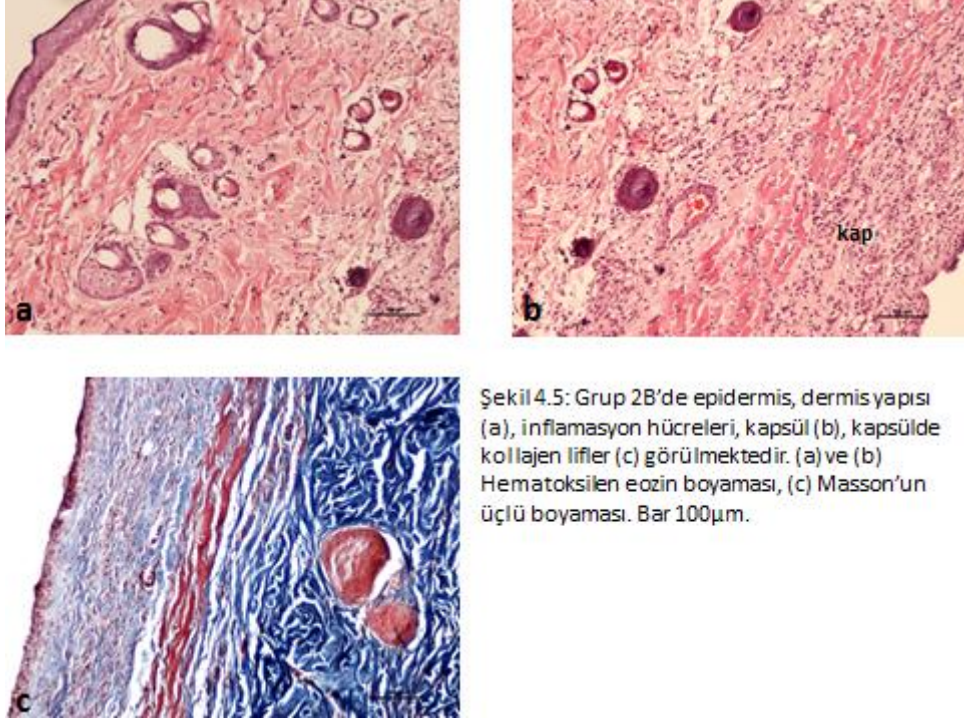
Grup 1B'de dermis tabakasında kollajen liflerde ayrılmaların olduğu (Şekil 4.3a), inflamatuvar hücrelerin dermis içine ilerlediği (Şekil 4.3b), kapsül ile dermis arasında oldukça belirgin ödemli bir alanın olduğu tespit edildi (Şekil 4.3c).



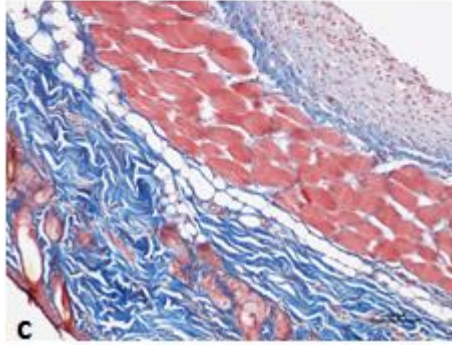
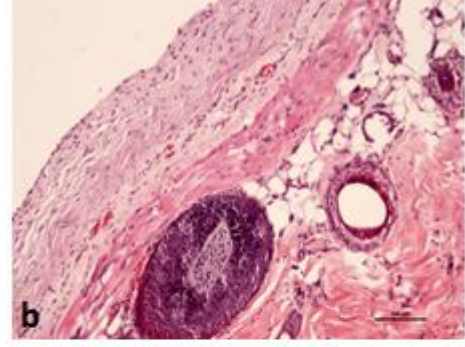
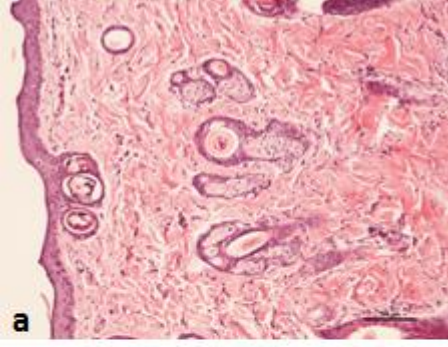
Grup 2A'da dermis yapısının daha düzenli olduğu (Şekil 4.4a), kapsülde çok sayıda kapillerlerin ve degranüle mast hücrelerinin yer aldığı (Şekil 4.4b), kapsülde kollajen liflerin ve fibroblastların belirgin olduğu (Şekil 4.4c) gözlemlendi.



Grup 2B’de epidermis ve dermis yapısının düzgün olduğu (Şekil 4.5a), kapsül yapısının Grup 1B’ye göre daha ince olduğu, kapillerler ve kollajen liflerin belirgin olduğu (Şekil 4.5b, 4.5c) saptandı.

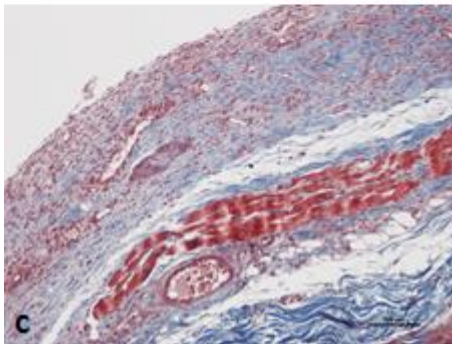
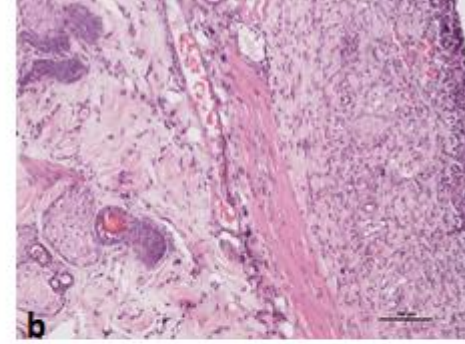
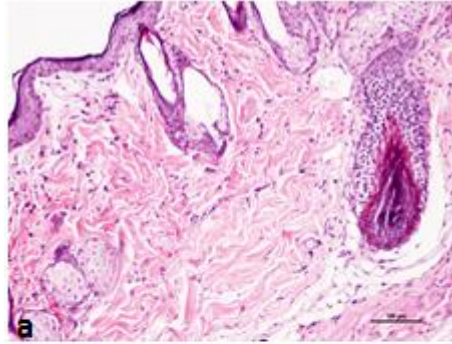


Grup 3A’da Grup 1A ve Grup 2A’ya benzer olarak epidermis, dermis yapıları gözlendi (Şekil 4.6a). İnflamatuvar hücrelerin Grup 1A ve Grup 2A’ya göre daha az olduğu, kapsülün ince olduğu ve kollajenlerin belirgin olduğu gözlendi (Şekil 4.6b, Şekil 4.6c).



Şekil 4.6: Grup 3A'da epidermis, dermis yapısı (a), ince kapsül (b) ve kapsülde kollajen lifler, fibroblastlar (c) görülmektedir. (a) ve (b) Hematoksilen eozin boyaması, (c) Masson'un üçlü boyaması. Bar 100µm.

Grup 3B'de dermiste az sayıda inflamatuvar hücre (Şekil 4.7a), ince kapsül yapısı, kapsülde kapillerler, kollajen lifler (Şekil 4.7b, Şekil 4.7c) izlendi.



Şekil 4.7: Grup 3B'de, epidermis ve dermis yapısı (a), kapsül (b) ve kapsülde belirgin kollajen lifler ve kapillerler (c) görülmektedir. (a) ve (b) Hematoksilen eozin boyaması, (c) Masson'un üçlü boyaması. Bar 100µm.

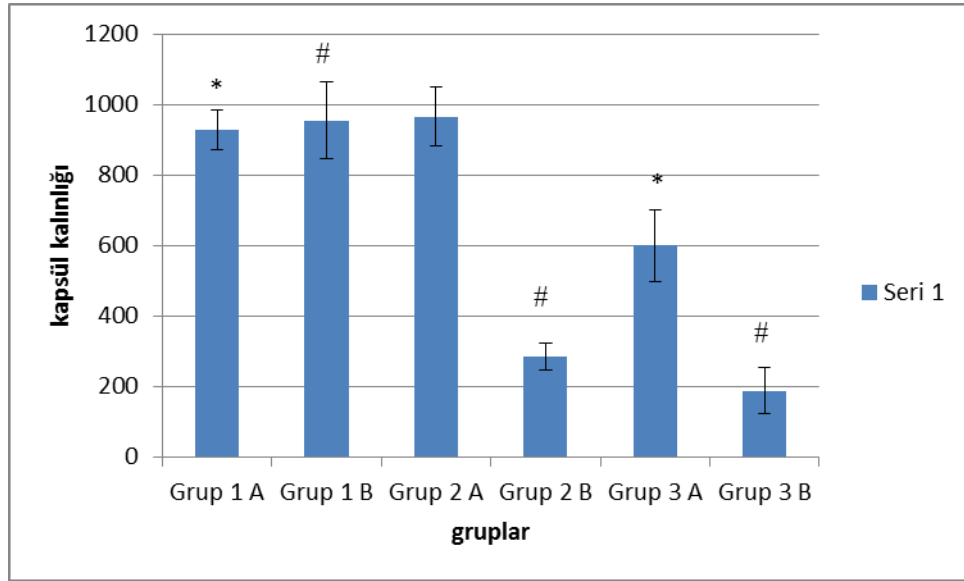
4.2.2. Nötrofil sayısı

HE ile boyanan doku örneklerin histolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda Grup 1A ve Grup 1B’de nötrofil sayısının oldukça fazla olduğu gözlemlendi. PRP uygulanan Grup 2A ve Grup 2B ile Grup 3A ve Grup 3B’de ise nötrofil sayısının kalitatif olarak azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6,4.7).

4.2.3. Kapsül Kalınlığı

Hematoksilen Eozinle boyanarak ölçüm yapılan doku örneklerinde, Grup 1 A’da oluşan kapsül kalınlığı ortalama $928,4 \pm 56,6$ μm idi. Grup 2 A’da oluşan kapsül kalınlığı ortalama $965,7 \pm 84,7$ μm olarak gözlemlendi. Grup 3 A’da ise oluşan kapsül kalınlığının azaldığı ve ortalama $600,7 \pm 102$ μm olduğu gözlemlendi. Bu azalma istatistiksel olarak da anlamlı bulundu (Grafik 4.2).

Grup 1B’de oluşan kapsül kalınlığı ortalama $955,2 \pm 109,7$ μm idi. Grup 2 B ve Grup 3B’de ise oluşan kapsül kalınlıklarının azaldığı ve sırasıyla ortalama $284,3 \pm 38,5$ μm ve $188,1 \pm 64,9$ μm olduğu gözlemlendi. Her iki gruptaki kapsül kalınlığı azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Grafik 4.2).



Grafik 4.2: Oluşan kapsül kalınlığı (µm); * , Grup 3A'daki, Grup 1A 'ya göre kapsül kalınlığındaki anlamlı azalmayı göstermektedir; # , Grup 2B ve Grup 3B'deki, Grup 1B'ye göre kapsül kalınlığındaki anlamlı azalmayı göstermektedir (p<0,05).

Gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirme ve istatistiksel olarak anlamlılık düzeyleri tablo 4.3. 'te verilmiştir.

Grup karşılaştırması	P
Grup1A-Grup1B	1,000
Grup1A-Grup2A	0,990
Grup1A-Grup2B	0,000*
Grup1A-Grup3A	0,004*
Grup1A-Grup3B	0,000*
Grup1B-Grup2A	0,999
Grup1B-Grup2B	0,000*

Grup1B-Grup3A	0,005*
Grup1B-Grup3B	0,000*
Grup2A-Grup2B	0,000*
Grup2A-Grup3A	0,002*
Grup2A-Grup3B	0,000*
Grup2B-Grup3A	0,578
Grup2B-Grup3B	0,632
Grup3A-Grup3B	0,056

Tablo 4.3. Ölçülen kapsül kalınlığının Tukey HSD ile yapılan tüm gruplar arası karşılaştırmaları (* istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınan karşılaştırmalar)

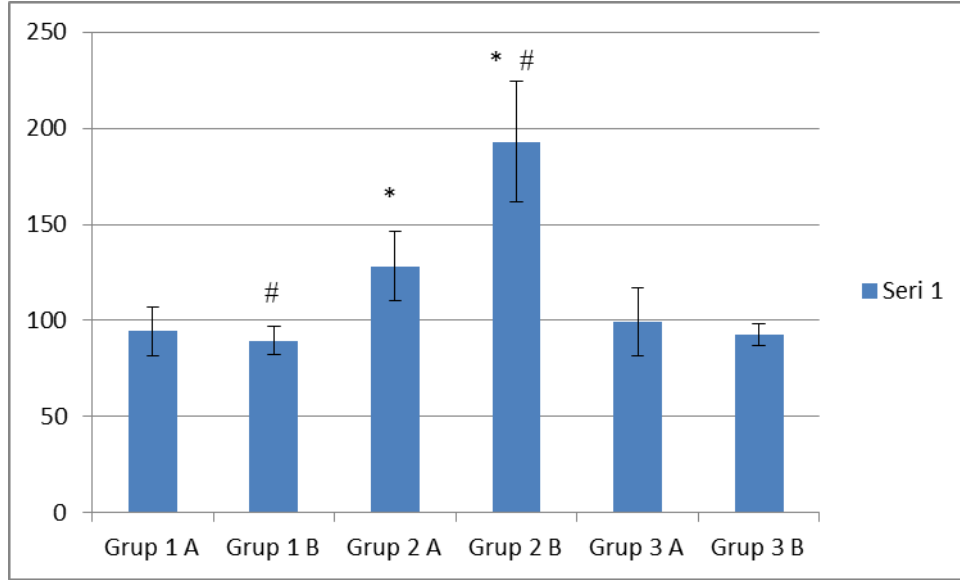
4.2.4. Yeni Oluşan Damar Sayısı

Yapılan VEGF immünohistokimyasal boyaması sonucunda; Grup 1 A'da yeni oluşan damar sayısı ortalama $94,4 \pm 12,6$ idi. Grup 2 A'da yeni oluşan damar sayısı ortalama $128,2 \pm 18$ olarak gözlemlendi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Grup 3 A da ise damar sayısı ortalama $99,6 \pm 17,6$ olarak gözlemlendi (Grafik 4.1).

Grup 1B'de yeni oluşan damar sayısı ortalama $89,5 \pm 7,4$ idi. Grup 2 B'de ise yeni oluşan damar sayısı ortalama $192,8 \pm 31,4$ olarak gözlemlendi ve damarlanmadaki bu artış grup 1B VE 3B ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Grup 3 B'de ise damar sayısı ortalama $92,6 \pm 5,8$ olarak

gözlemlendi. Grup 2A ve 2B arasında da damar sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi

(Grafik4.1).



Grafik 4.1: Yeni oluşan damarların gruplara göre dağılımı; * , Grup 2B’deki, Grup 2A ‘ya göre yeni oluşan damarlar açısından anlamlı artışı göstermektedir; # , Grup 2B’deki, Grup 1B’ye göre yeni oluşan damarlar açısından anlamlı artışı göstermektedir (p<0,05).

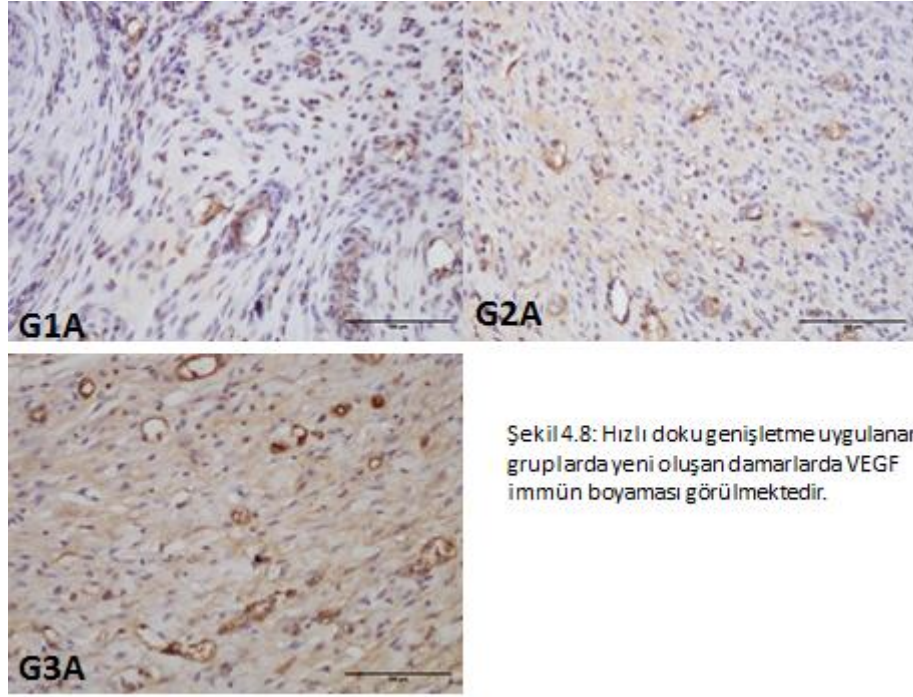
Gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirme ve istatistiksel olarak anlamlılık düzeyleri tablo 4.4. ‘te verilmiştir.

Grup karşılaştırması	P
Grup1A-Grup1B	1
Grup1A-Grup2A	0,491
Grup1A-Grup2B	0,000
Grup1A-Grup3A	1,000
Grup1A-Grup3B	1,000

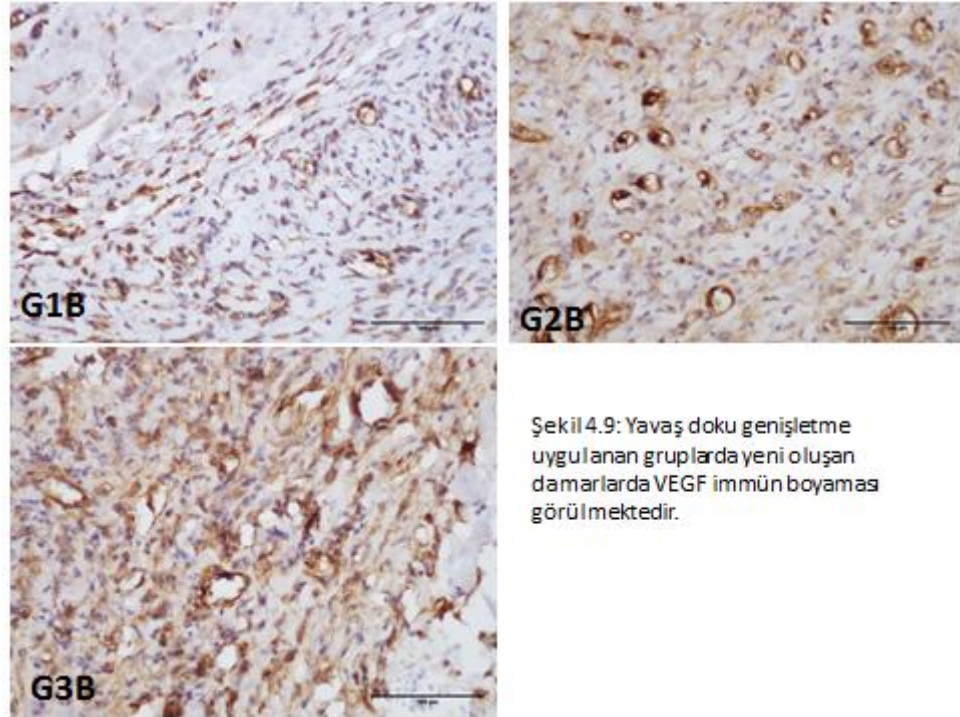
Grup1B-Grup2A	0,403
Grup1B-Grup2B	0,000*
Grup1B-Grup3A	0,995
Grup1B-Grup3B	1,000
Grup2A-Grup2B	0,026*
Grup2A-Grup3A	0,602
Grup2A-Grup3B	0,496
Grup2B-Grup3A	0,000*
Grup2B-Grup3B	0,000*
Grup3A-Grup3B	0,999

Tablo 4.4. Yeni oluşan damar sayısının Tukey HSD ile yapılan tüm gruplar arası karşılaştırmaları (* istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınan karşılaştırmalar)

VEGF immünohistokimyasal boyaması ile yeni oluşmuş damar sayısının yanında VEGF düzeyindeki artışlarda gözlemlendi (şekil4.8-4.9).



Şekil 4.8: Hızlı doku genişletme uygulanan gruplarda yeni oluşan damarlarda VEGF immün boyaması görülmektedir.



Şekil 4.9: Yavaş doku genişletme uygulanan gruplarda yeni oluşan damarlarda VEGF immün boyaması görülmektedir.

4.3. VEGF ve bFGF Ekspresyonunun ELİSA Yöntemi İle Değerlendirilmesi

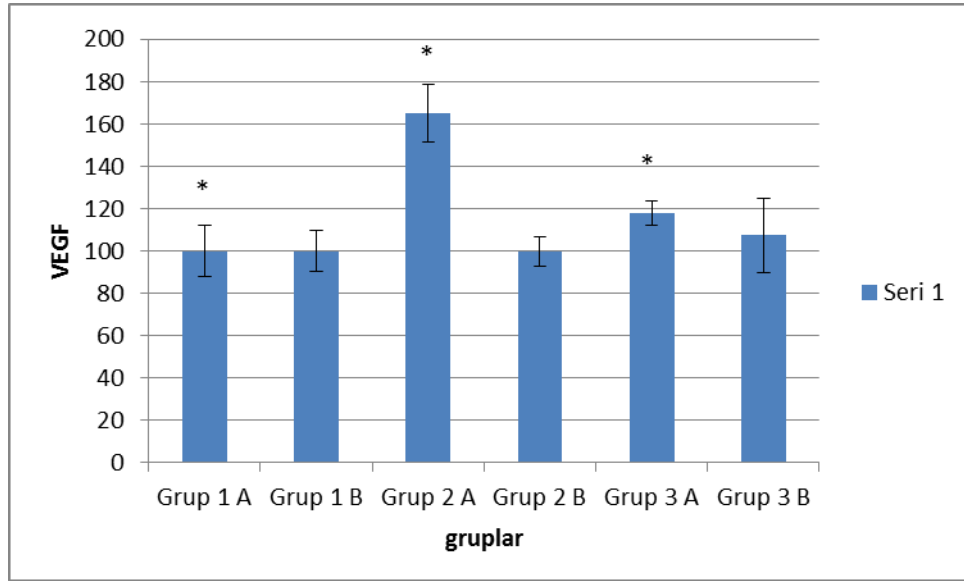
Hızlı ve yavaş şişirilen doku genişletici uygulanan her iki grupta da kontrol absorbans değerleri 100 olarak kabul edildi ve değerler % olarak verildi.

4.3.1. VEGF Ekspresyonunun ELİSA Yöntemi İle Değerlendirilmesi

VEGF ekspresyonundaki artış hızlı şişirilen ve PRP uygulanan gruplarda daha belirgin olarak gözlemlendi. Grup 2A'daki VEGF miktarında, kontrol olarak kabul ettiğimiz Grup 1A'ya göre % 65 oranında istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi. Yine Grup 1 B' de VEGF miktarında kontrole göre %17 'lik istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi (Grafik 4.3).

Grup 2 B ve Grup 3 B'de ki VEGF düzeyi değişimleri ise yine kontrol olarak kabul ettiğimiz Grup 1B'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Grafik 4.3).

VEGF düzeyindeki değişimlerin immunohistokimyasal boyama ile uyumlu olduğu gözlemlendi. İmmünohistokimyasal boyamada da kalitatif değerlendirme ile hızlı gruplar arasında VEGF ekspresyonunda daha belirgin artışın olduğu gözlemlendi.



Grafik 4.3: VEGF düzeylerinin gruplara göre dağılımı; * ; Grup 2A ve 3 A'daki Grup 1A'ya göre VEGF düzeyindeki anlamlı artışı göstermektedir ($p < 0,05$).

Gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirme ve istatistiksel olarak anlamlılık düzeyleri tablo 4.5. 'te verilmiştir.

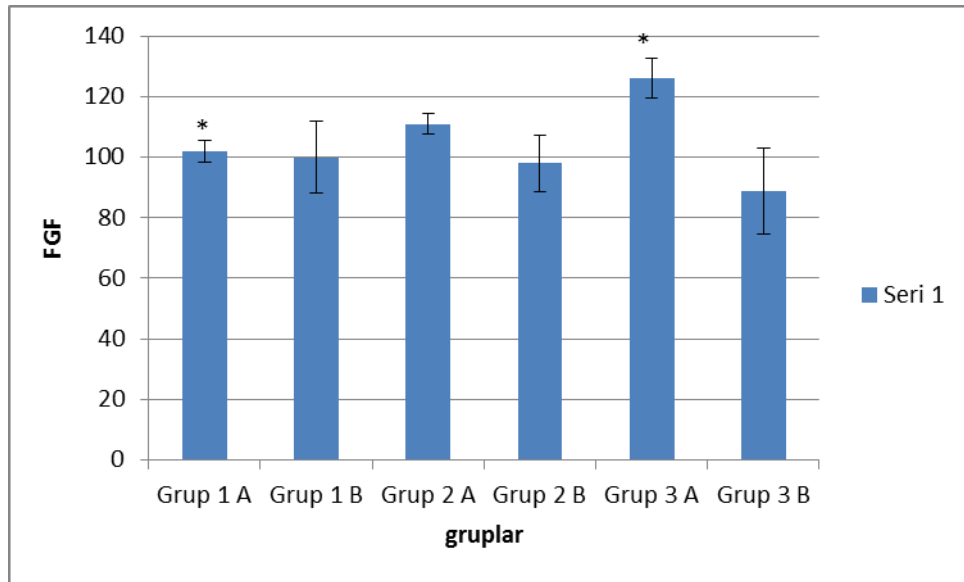
Grup karşılaştırması	P
Grup1A-Grup2A	1,000
Grup1A-Grup3A	0,000*
Grup2A-Grup3A	0,000*
Grup karşılaştırması	P
Grup1B-Grup2B	0,076
Grup1B-Grup3B	0,582
Grup2B-Grup3B	0,883

Tablo 4.5. VEGF ELISA ölçümünün Tukey HSD ile yapılan tüm gruplar arası karşılaştırmaları (* istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınan karşılaştırmalar)

4.3.2 bFGF Ekspresyonunun ELİSA Yöntemi İle Değerlendirilmesi

bFGF düzeyleri hızlı şişirilen her iki deney grubunda (Grup 2A ve Grup 3A) da kontrole (Grup 1A) göre artış gözlemlendi. Grup 2 A'daki %11'lik artış istatistiksel olarak anlamlı görülmezken, Grup 3 A'daki %26 düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Grafik 4.4).

Yavaş şişirilen gruplarda ise bFGF düzeyinde kontrole (Grup 1B) göre her iki deney grubunda da (Grup 2B ve Grup 3B) anlamlı değişim gözlenmedi (Grafik 4.4).



Grafik 4.4: bFGF düzeylerinin gruplara göre dağılımı; * ; Grup 3A'daki, Grup 1A'ya göre bFGF düzeyindeki anlamlı artışı göstermektedir ($p < 0,05$).

Gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirme ve istatistiksel olarak anlamlılık düzeyleri tablo 4.6. 'te verilmiştir.

Grup karşılaştırması	P
Grup1A-Grup2A	0,689
Grup1A-Grup3A	0,008*
Grup2A-Grup3A	0,216
Grup karşılaştırması	P
Grup1B-Grup2B	0,998
Grup1B-Grup3B	0,512
Grup2B-Grup3B	0,755

Tablo 4.6. bFGF ELISA ölçümünün Tukey HSD ile yapılan tüm gruplar arası karşılaştırmaları (* istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınan karşılaştırmalar).

5. Tartışma

Plastik ve rekonstrüktif cerrahide, doku defektlerinin ideal tedavisi; renk, yapı, duysal innervasyon, kıl miktarı açısından benzer dokular ile yapılanıdır. (1)

Doku defektlerinin rekonstrüksiyonunda kullanılan doku genişletme tekniği lokal ya da uzak deri flepleri, deri greftleri ve serbest flepler gibi konvansiyonel tedavi yöntemeleri ile karşılaştırıldığında basitliği, verici alanda ilave skar oluşturmaması, daha iyi doku ve renk uyumu sağlaması açısından bu yöntemlere üstünlük sağlar. (2)

Doku genişletme tekniği, örtücü dokuların altlarında yavaş olarak büyüyen kitlelere, yüzey alanlarını genişleterek uyum sağlaması prensibine dayanan fizyolojik

bir yüzey artışıdır. Vücudun her bölgesinde, genişletilebilecek deri alanı bulunan vakalarda bu yöntemi uygulama olanağı vardır. (3, 4)

Başlangıçta daha çok saçlı deri, meme, kulak rekonstrüksiyonu amacı ile kullanılırken günümüzde damar sinir uzatılmasında, mesane boynu onarımında serbest fleplerin donör alanlarının genişletilmesi gibi spesifik endikasyonlarda da başarı ile uygulanmaktadır (5, 6). Ancak enfeksiyon, implant ekstrüzyonu, hematoma, seroma, ağrı, sinir disfonksiyonu, kemik rezorbsiyonu ve doku nekrozu gibi değişik sıklıklarda rastlanan birçok komplikasyonu vardır. Birçok cerrah oluşan bu komplikasyonları azaltmak için çeşitli yöntemler geliştirmeye ve farklı ajanlar kullanmaya çalışmıştır. Ancak burada kullanılacak ideal yöntem ve ajanların ucuz olması, kolay elde edilebilmesi, yan etkilerinin az olması ya da hiç olmaması, kolay uygulanabilmesi ve kullanıldığı bölgede etkinliğinin yüksek olması kullanım alanlarının artmasını sağlayabilir (111). Dahası hem hasta hem de cerrah açısından şişirme periyodunun görece olarak uzun olması ve bu sürede birçok poliklinik kontrolü gerektiğinden hızlı şişirmenin sağlanması doku genişleticilerin kullanımındaki en önemli çekincelerden biri olan uzun tedavi gereksinimini azaltacaktır. Genişletilmiş dokuların damar yoğunluğunun diğer dokulara göre daha fazla olduğu deneysel olarak ispatlandığı gibi cerrahlar tarafında gözlemsel olarak da farkedilebilmektedir (112). Genişletme sırasında oluşan geçici hipoksi damarlanmada artışa neden olarak gösterilmektedir. Hipoksi sırasında strese bağlı olarak salınan büyüme faktörlerinin neovaskülarizasyonu artırdığı bildirilmiştir. (113).

Hücresel tedaviler, özellikle de kök hücre tedavileri, son yıllarda tüm tıp camiasının en çok üzerinde durduğu ve her yıl yüzlerce yeni çalışmanın yapıldığı bir

konu haline gelmiştir. Sunduğu ve sunacağı muhtemel tedavi olanakları düşünüldüğünde, halen tedavisi mümkün olmayan pek çok hastalığa çare olması beklenmektedir. Plastik cerrahide de estetik cerrahi de dahil olmak üzere birçok kullanım alanları bulan hücresel tedaviler, son zamanlarda, flep yaşayabilirliğini arttırmaya yönelik çeşitli çalışmalarda da denenmektedir. Ancak yaptığımız araştırmalarda doku genişleticilerle birlikte kullanımına dair bir literatür çalışmasına rastlamadık. Bu tip hücresel tedaviler arasında en yaygın olarak kullanılan Plateletten Zengin Plazma (PRP), otolog bir üründür. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda PRP'nin yeni damar oluşumunu arttırdığını ve yara iyileşmesini hızlandırdığını vurgulamıştır (114) (115) .

Neovaskülarizasyon karmaşık ve geniş bir anjiogenik faktör yelpazesi ile düzenlenen bir süreçtir. Bu anjiogenik faktörlerin çoğunun neovaskülarizasyonu invitro ve invivo stimüle ettiği tanımlanmış ve gösterilmiştir (116) . Bunun yanında PRP'nin antienflamatuar etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (117) (118) . PRP'nin bu anjiogenetik faktörler yönünden oldukça zengin olması ve antiinflamatuar özelliği sayesinde nötrofil göçünü azaltması, klinikte yeni kullanım alanlarının oluşabileceğini düşündürmüştür. Biz de, PRP'nin bahsettiğimiz özellikleri sayesinde hızlı ve yavaş doku genişletme uygulamalarında doku genişleticilerin komplikasyonlarının minimumuna inerek, maliyetin ve zaman kaybının azalabileceğini ve hasta konforunun artabileceğini düşündük. Yaptığımız literatür taramasında, PRP'nin doku genişletici tedavi üzerine etkilerini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Anjiyogenez, yeni kapiller oluşumu için endotel hücrelerinin harekete geçmesi, göç etmesi ve çoğalmasını gerektiren, normal şartlarda erişkinlerde nadir

gözlenmesine rağmen; tümör oluşumu, romatoid artrit ve diyabetik retinopati gibi patolojik durumlarda kontrolsüz olarak işleyen biyolojik bir mekanizmadır. Doku genişletme operasyonlarında genişletilen dokuda yeni oluşan damar sayısında belirgin derecede artış gözlenmektedir (113) . Oluşan neovaskülarizasyon flep cerrahisindeki delay fenomenine de benzerlik göstermektedir (112). Ancak genişletilen dokularda özellikle nekrozun gelişimi, neovaskülarizasyonun yetersiz kaldığı düşüncesini gündeme getirmiştir (113) . Yakın zamanda araştırmacılar bazı büyüme faktörlerinin doğrudan veya dolaylı olarak anjiyogenezi uyardığını saptamışlardır. Büyüme faktörleri, kendilerine özgü hücrelerin biyolojik aktiviteleri üzerinde reseptörler yoluyla etkilerini gösteren, küçük proteinler veya glikoproteinlerin oluşturduğu sitokinlerdir. Tek başlarına etki gösterebildikleri gibi bazılarının sinerjistik etkileşimleri olduğu da anlaşılmıştır. Bu büyüme faktörleri arasında, “basic fibroblast growth factor” (bFGF), “platelet-derived growth factor” (PDGF), “transforming growth factor- β ” (TGF- β) ve “vascular endothelial growth factor” (VEGF) en iyi bilinen ve üzerinde en çok çalışılanlardır. Bunlar arasında VEGF en güçlü anjiyojenik etki gösterendir ve hipoksinin VEGF salınımını uyardığı saptanmıştır (67) (75) .

PRP ile fibrin yapıştırıcının farkı PRP’de trombosit konsantrasyonunun fazla, fibrinojen konsantrasyonunun az olmasıdır. Daha az fibrinojen içerdiği için çok katı bir fibrin pıhtı oluşmadığı, bu nedenle yara iyileşmesini engellemeyip, bilakis içindeki büyüme faktörleri sayesinde bu olayı hızlandığı düşünülmüştür (119). PRP’nin içeriğindeki trombositler aktive olduğunda alfa granüllerdeki bioaktif moleküller ve büyüme faktörleri salınarak rejenerasyon ve revaskülarizasyon sürecini başlatmaktadırlar. bFGF ve VEGF bu granüllerdeki en önemli büyüme

faktörleri arasında yer almaktadır. Yapılan deneysel çalışmalarda lokal olarak uygulanan PRP'nin random paternli deri fleplerinin yaşayabilirliğini arttırdığı gösterilmiştir (120). Ancak doku genişleticiler üzerindeki etkilerinin değerlendirilebileceği herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Bizim çalışmamızda PRP uygulanan gruplarda nekroz oranının azaldığı ve de yeni oluşan damar sayılarının arttığı gözlemlenmiştir. Nekroza giderek deney dışı bırakılan sıçan sayısı genişletmeden 1 hafta önce PRP uygulanan gruplarda kontrole göre daha azdır ve hatta genişlerme ile aynı gün PRP uygulanan gruplarda hiç yoktur. Damar sayısındaki artış doku genişletme işleminden 1 hafta önce PRP uygulanan hızlı ve yavaş doku genişletme uygulanan her iki grupta da diğer gruplara göre anlamlı olarak fazla bulundu. VEGF oranlarının da, gruplarda genel olarak kontrol grubuna göre arttığı tespit edildi. Ancak gruplardan yalnızca Grup 3A ve Grup 3B'de VEGF oranının istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edildi. Gruplardaki VEGF oranındaki artış immünohistokimyasal boyamalarda da tespit edildi. Ve yine bu boyamalarda VEGF oranının hızlı doku genişletmede daha fazla arttığı gözlemlendi. Bu sonuçlar doğrultusunda hızlı doku genişletmeye bağlı dolaşım bozukluğunun PRP içerisinde bulunan biyoaktif maddeler sayesinde yeni damar oluşumu sağlanarak ve ödemin azaltılmasına bağlı engellendiği düşünüldü. Ancak bu konuda literatürde, yapılmış çalışma bulunmadığından dolayı bulgularımızın desteklenmeye ihtiyacı vardır. Yavaş doku genişletmede de yeni oluşan damar sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamasına rağmen oluşan enflamasyonun azalmasına bağlı ödemin azalması, immünohistokimyasal boyama ile belirgin şekilde gösterilebilen VEGF artışı ve PRP içinde bulunan fakat

çalışmamız kapsamında ölçmediğimiz birçok büyüme faktörünün nekroz oranını azalttığı düşünülmektedir.

Literatürde iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesi amacı ile tanımlanmış çok sayıda yayın mevcuttur. İskemi reperfüzyon sonrası oluşan hasardan primer olarak nötrofiller ve onların oluşturduğu serbest radikaller sorumlu tutulmuştur (121). Postiskemik dokuların çok sayıda enflamatuar hücre tuttuğu çok iyi bilinmektedir. Özellikle nötrofiller reperfüzyon hasarının primer mediatörü olarak kabul edilmektedir. Aktif haldeki nötrofiller araziidonik asit metabolitleri salgılayarak, yumaklaşan trombositler ve eritrositler ile birlikte reperfüzyon sonrası kapillerlerin obstrüksiyonuna yol açarlar. Bütün bu hücrel metabolik olaylar sonucu vasküler oklüzyon ve sonrasında nekroz gelişir. Hücreler arasındaki ilişkiler tam olarak bilinmemesine rağmen birçok çalışmada polimorfonükleer lökositlerin yüzeyinde ve vasküler endotel hücrelerin yüzeyindeki hücre adhezyon moleküllerinin birbirleri ile ilişkiye geçmeleri sonucu damar geçirgenliğin artarak doku ödemeine yol açtığı gösterilmiştir. Bundan dolayı son çalışmalar özellikle nötrofillerin fonksiyonları üzerinedir. Yapılan birçok çalışmada dokularda nötrofil sayısını azaltan ajanların doku yaşayabilirliğini de arttırdığı gösterilmiştir (121) (122). Yaptığımız çalışmada histolojik olarak da gösterildiği gibi PRP uygulanmayan Grup 1A ve Grup 1 B’de nötrofil sayısı oldukça fazladır. Ancak PRP uygulanan gruplarda nötrofil sayıları oldukça azalmıştır. Yukarıda belirtilen çalışmalarda olduğu gibi çalışmamızda da PRP uygulanan Grup 2A ve Grup 3A’daki doku yaşayabilirliği Grup 1A’ya oranla; Grup 2B ve Grup 3B’deki doku yaşayabilirliği de Grup 1B’ye oranla daha fazladır. Dolayısıyla PRP doku yaşayabilirliğini inflammatuar hücre sayısını azaltarak da artırmış olabileceği düşünülmüştür. PRP içeriğindeki birçok kemoatraktan sitokin ve

büyüme faktörlerinin inflamatuvar hücre sayısında artışa yol açması beklenmektedir. Ancak Weiwei ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, PRP enjekte edilen deney grubunda bizim sonuçlarımıza benzer şekilde inflamatuvar hücre sayısı kontrol grubuna göre azalmış bulunmuştur. Yazarlar bu durumu PRP'nin içeriğinde bulunan ve fibroblast aktivasyonu ile epidermal rejenerasyonu hızlandırarak, yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını kısaltan Epidermal Büyüme Faktörünün (EGF) etkisine bağlamışlardır (123) . Bizim çalışmamızdaki nötrofil sayısındaki azalmanın bu çalışmada olduğu gibi EGF'e bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamız kapsamında ölçtüğümüz bFGF oranlarının özellikle hızlı şişirilen gruplarda arttığı gözlemlenmiştir. Ancak bu artış yalnızca doku genişletme uygulanmasından 1 hafta önce PRP uygulanan grup olan Grup 3A'da anlamlı bulunmuştur.

Fibroblast büyüme faktörü alt grubu üyelerinden olan bFGF; fibroblastlar, endotel hücreleri, osteoblastlar, kondrositler ve keratinositler üzerinde mitozu arttırıcı etki gösterir, angiogenez ve endotelyal hücre göçünde rol oynar, TGF- β 'nın dağılımını arttırıcı etki yapar (75). VEGF ve TNF- α ile birlikte olduğunda maksimum anjiogenik etkisini gösterir. Yara iyileşmesinde özellikle keratinositlerin proliferasyon ve göçüne neden olur. Angiogenezin başlaması için gerekli olan fibroblastlardan kollajenaz üretimi ve kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu sağlar (90) (91). Granülasyon dokusu oluşumunu başlatmaya da yardımcı olur (74). Bazik fibroblast büyüme faktörü ve sucrose octasulfate (sucralfate)' ın ayrı ayrı gastrik ülserler üzerine olumlu etkisi olduğu bilinmektedir (92). Rashid ve arkadaşları bu iki maddeyi birlikte kullanarak sıçan dorsal fleplerinde yaşayabilirliği arttırdığını, bunun da angiogenez sayesinde olduğunu saptamışlardır (92). Khouri

fleplerin altına bFGF, Uhl ise rekombinant bFGF uyguladığında neovaskülarizasyonun ve flep sağkalımının arttığını rapor etmiştir (43) (93). Fakat Hayward bFGF verdikten sonra opere ettiği fleplerin sağkalımında anlamlı bir iyileşme sağlayamamıştır (94). Yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini anlayabilmek için McGee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada rekombinant bFGF'nin kollajen miktarı, organizasyon ve maturasyonunu arttırdığını, buna sebep olan faktörün kollajen ve fibroblastların yara yerinde daha erken birikmesi ve kollajen lifleri arasında daha çok çapraz bağ oluşması olabileceğini düşünmüşlerdir (95). Diyabetik, iskemik ve protein eksikliği olan yaraların iyileşmesini arttırdığı ve tendon iyileşme modellerinde de başarısı gösterilmiştir (77) (75). Kardiak enfarktüs sonrası kollateral oluşumunu arttırmak için bFGF ile çalışmalar devam etmektedir.

Yaptığımız çalışmada bFGF düzeyleri doku genişletici yerleştirildikten 1 hafta sonra ölçülmüştür. Dolayısıyla bFGF PRP uygulananından da 2 ve 3 hafta sonra ölçülmüştür. Yapılan çalışmalarda bFGF'nin yaralanma ile birlikte hemen yükselmeye başladığı ve 48 saat içinde normal değerlere düştüğü gösterilmiştir (124) (125). Yaptığımız çalışmada bFGF düzeylerinin grupların çoğunda anlamlı artışının bulunmaması, testin yapıldığı güne kadar bFGF'nin stabil kalmamasına ve PRP'nin bFGF salınımında devamlılığa neden olmamasına bağlanmıştır. Ancak PRP içinde bulunan bFGF'nin diğer büyüme faktörleri ile birlikte Grup 2B, Grup 3A ve Grup 3B'de yara iyileşmesinde remodelingi düzenmiş olabileceği düşünülmüştür.

Periprostetik fibrozis yabancı cisme karşı oluşmuş bir yanıt olup, implantasyon anında başlar ve stabil olana dek uzun süre devam eder. Bu nedenle lokal olarak etki eden, skarlaşma hadisesini inhibe edecek maddeler birçok çalışmanın konusu olmuştur. Mesna, zafirlukast, triamsolan bu maddelere örnek

olarak verilebilir (126) (127). Kapsül kalınlığının oküler mikrometre kullanılarak mikroskopik ölçümü knuyla ilgili hemen tüm çalışmalarda öncelikli değerlendirme metodu olarak kullanılmıştır. Oküler mikrometre ile kaşınık ölçümü hem objektif , kantitatif bir değerlendirme sağlamakta, hem de çoğu zaman diğer değişkenlerle korele şekilde kapsüler fibrotik hadisenin derecesini ve gruplar arasındaki farklılığını orataya koymaktadır. Biz de çalışmamızda, deney grupları ve kontrol grubu kapsüllerini kapsül kalınlığının olkülometrik kantitatif analizini yaparak karşılaştırdık. Kapsül kalınlığı, her denekte ekspande olan dokunun tepe bölgesinden alınan örneklerde 5 farklı bölgede ölçülerek ve ortalamaları alınarak hesaplanmıştır. Yaptığımız çalışma kapsamında HE ile boyama yapılan kesitlerde değerlendirdiğimiz kapsül kalınlığı ölçümlerinde, Grup 2B, 3A ve 3B de istatistiksel olarak anlamlı kalınlık azalmaları tespit edilmiştir. Bu azalma mason üçlü boyama kesitlerinde de belirgin olarak gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalarda inflamasyonu baskılayan antiinflamatuvar ajanların fibrozisi engelleyerek kapsül oluşumunu azalttıkları gözlenmiştir (126). PRP'nin antiinflamatuvar özelliğinin de bulunduğunu düşünecek olursak kapsül oluşumu üzerindeki inhibitör etki inflamasyonun baskılanması ile alakalı olabileceğini düşünmekteyiz. Yine PRP uygulanan gruplarda nötrofil sayılarının kontrole göre az bulunması kapsül kalınlığındaki azalmanın, PRP'nin antiinflamatuvar etkisi ile alakalı olabileceğini düşündürmektedir.

Bunun yanında McGee ve arkadaşları, ratlarda bFGF'nin yara iyileşmesinde kollojen fibrillerinin organizasyon ve maturasyonunda düzenleyici görevinin bulunduğunu göstermişlerdir. Yine Spyrou ve arkadaşları, bu bulguyu destekleyen bir çalışma yapmış ve bFGF'nin antiskar özelliğinin bulunduğunu göstermişlerdir

(128). Yine yapılan çalışmalarda PRP'nin içerisinde yüksek oranda bulunan sitokinler ve kemokiner sayesinde postoperatif yara iyileşmesinde faydalı yönlerinin olabileceği gösterilmiştir (129). Cervelli ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, PRP ve laser uygulamasının skar tedavisinde etkili bir yöntem olduğunu bulmuşlardır (129). Yaptığımız çalışmada fibröz doku artışı ile karakterize olan kapsül oluşumunun PRP uygulanan gruplardaki anlamlı azalması PRP içerisinde bulunan bFGF ve yine PRP içinde bulunan diğer kemoreaktan maddelerin etkisi ile oluşmuş olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda, hızlı şişirilen ve yavaş şişirilen dokular arasındaki farklar da dikkat çekmektedir. Gruplar, yeni oluşan damar sayısı, kapsül kalınlığı, nötrofil sayısı ve nekroza giden doku miktarı açısından kendi aralarında karşılaştırıldıklarında yavaş doku genişletmenin daha avantajlı olduğunu gözlemledik.

Yavaş doku genişletmenin özellikle nekroz gibi komplikasyonlar açısından hızlı doku genişletmeye karşı üstünlüğü olmasına rağmen; tedavi sürecinin uzun olması tedavi maliyetlerini artırdığı gibi hastada fiziksel ve emosyonel komplikasyonlara da neden olmaktadır (130). Hızlı doku genişletme zaman açısından avantaj sağlamasına rağmen, kapsüldeki basıncın hızlı artışına bağlı derideki ani gerginlik lokal doku komplikasyon sıklığını arttırmaktadır(130). Yapılan çalışmalarda hızlı doku genişletme süresi birkaç saat ile 20 gün arasında değişmekte olup, biz çalışmamızda üç günlük hızlı doku genişletmeyi uyguladık (130). PRP uygulanarak hızlı genişletilen dokuların, yukarıda tartışılan ve bahsedilen nedenler doğrultusunda doku yaşıyabilirliğini, kapsül kalınlığını, enflamasyon varlığını ve yeni oluşan damar sayısını PRP uygulanmayan yavaş doku genişletmeye göre olumlu yönde

değiştirdiğini gözlemledik. Bu da PRP uygulaması ile birlikte yapılan hızlı doku genişletmenin PRP uygulanmayan yavaş doku genişletmeye göre avantajlı olduğunu göstermektedir.

Yukarıda tartışılan faydalı etkilerinin yanı sıra PRP'nin üzerinde durulması gereken diğer bir önemli özellikleri ise elde edilmesindeki kolaylık ve otolog ürün olması sebebiyle yan etki görülme olasılığının minimum olamasıdır. Lokal olarak uygulanan bir çok madde (antibiyotikler, steroidler, povidone iodin ...); fibrozis, neovaskülarizasyon, inflamasyon üzerinde olumlu etkiler oluşturmaya rağmen, periprostetik boşluğa tatbiki nedeniyle implant elastomer yapısını bozabilmektedir (126) . PRP'nin otolog bir ürün olması bu ve buna benzer komplikasyonların da ortaya çıkışını engelleyebilmektedir.

PRP hastanın kendi kanının bir takım santrifüj ve aktivasyon işlemlerinden geçirilmesi ile elde edilen bir otolog üründür. Bu üründe herhangi bir immün reaksiyon ya da hastalık bulaşma riski söz konusu değildir. Bu özellikleri nedeni PRP Rochrich'in tanımladığı “ideal ajan” tanımına oldukça yakındırlar. PRP'nin ilerleyen yıllarda tıbbın her alanında olduğu gibi plastik cerrahide de giderek artan bir şekilde kullanıma gireceğini düşünmekteyiz. Ancak klinik kullanımlarından önce yeterli güvenilirlik ve etkinliklerinin olup olmadığının çok sayıda çalışma ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

6. Sonuç

Çalışmamızda, PRP kullanımında hızlı veyavaş doku genişleticilerde PRP'nin veriliş zamanına da bağlı olarak ekspande edilen dokuda nekroz miktarını anlamlı oranlarda azaltmıştır. Bu etkisini içeriğindeki büyüme faktörleri ve proaktif hücreler sayesinde hem neoanjiogenezi arttırarak hem de inflamatuvar hücre birikimini azaltarak gerçekleştirdiğini düşünüyoruz. PRP kolay elde edilebilmesi, ucuz olması, otolog olduğundan dolayı güvenli olması nedeni ile gelecekte doku genişletme uygulamalarında kullanım alanı bulabileceğini ve doku genişletme sürelerini azaltabileceğini düşünüyoruz. Ancak bu ürünün çok fazla büyüme faktörünü birlikte içermesi nedeniyle doku genişletme uygulamasındaki etki mekanizması ve uzun dönem sonuçları ile ilgili daha çok sayıda deneysel çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Radovan C. Tissue expansion in soft-tissue reconstruction. Plastic and reconstructive surgery. 1984;74(4):482-90.
2. Aydın H, Alpay, U., Kuran, İ. Saclı deri defektlerinin doku genişletme yöntemiyle onarımı. Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni. 1992;4:427.
3. Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM. Basic Techniques and Principles in Plastic Surgery. Aston SJ, editor. Philadelphia: Lippincott Raven; 1997.
4. Argenta L, C., Waternabla, M., C. and Grabb, W., C. Advances in tissue expansion. Annals of Plastic Surgery. 1985;12:159.
5. Azzolini A, Riberti C, Cavalca D. Skin expansion in head and neck reconstructive surgery. Plastic and reconstructive surgery. 1992;90(5):799-807.
6. Stark GB, Hong C, Futrell JW. Rapid elongation of arteries and veins in rats with a tissue expander. Plastic and reconstructive surgery. 1987;80(4):570-8.
7. Cormack GC, Lamberty BGH. The arterial anatomy of skin flaps. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1986.
8. Cormack GC, Lamberty BGH. The arterial anatomy of skin flaps. 2 ed. London: Churchill Livingstone; 1994.
9. Kayser MRMD. Surgical flaps. Selected Readings in Plastic Surgery. 1999;9(2).
10. Taylor GI. The blood supply of skin. In: Aston SJ BR, Thorne CHM, editor. Plastic Surgery (Chapter 5). Philadelphia: Lippincott - Raven; 1997.
11. Daniel R, Kerrigan C. Principles and physiology of skin flap surgery. In: JG MC, editor. Plastic Surgery Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1990. p. 275-328.
12. Lamberty B, Healy C. Flaps: Physiology, principles of design, and pitfalls. In: Cohen M, editor. Mastery of Plastic and Reconstructive Surgery. Boston: Little, Brown and Company; 1994. p. 56-70.
13. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. Plast Reconstr Surg. 1983;72(6):766-77. Epub 1983/12/01.
14. Taylor G, Palmer J, D. M. The vascular territories of the body (angiosome) and their clinical applications. In: McCarthy J, May J, Litter J, editors. Mathes Plastic Surgery. Philadelphia: WB Saunders; 1990. p. 353-5.
15. Spalteholz W. Vertheilung der Blutgefasse in der Haut. Arch Anat Entwcklngs-Gesch. 1983(1):54.
16. Carthy M, May JR J, Littler J. Plastic Surgery. WB saunder Company: Pg. 1990:3460-7.
17. Codivilla A. On the means of lengthening, in the lower limbs, the muscles and tissues which are shortened through deformity. The Journal of Bone & Joint Surgery. 1905;2(4):353-69.
18. Radovan C. Breast reconstruction after mastectomy using the temporary expander. Plastic and reconstructive surgery. 1982;69(2):195-206.
19. Cherry GW, Austad E, Pasyk K, McClatchey K, Rohrich RJ. Increased survival and vascularity of random-pattern skin flaps elevated in controlled, expanded skin. Plast Reconstr Surg. 1983;72(5):680-7. Epub 1983/11/01.
20. Becker H. Breast reconstruction using an inflatable breast implant with detachable reservoir. Plastic and reconstructive surgery. 1984;73(4):678-83.

21. Van Rappard JH, Molenaar J, van Doom K, Sonneveld G, Borghouts J, Shively RE. Surface-area increase in tissue expansion. *Plastic and reconstructive surgery*. 1988;82(5):833-7.
22. Sasaki GH, Pang CY. Pathophysiology of skin flaps raised on expanded pig skin. *Plast Reconstr Surg*. 1984;74(1):59-65.
23. Argenta LC, Watanabe MJ, Grabb WC. The use of tissue expansion in head and neck reconstruction. *Annals of Plastic Surgery*. 1983;11(1):31-7.
24. Elliott MP, Dubrul W. Magna-site tissue expander: an innovation for injection site location. *Plastic and reconstructive surgery*. 1988;81(4):605-7.
25. Jackson IT, Sharpe DT, Polley J, Costanzo C, Rosenberg L. Use of external reservoirs in tissue expansion. *Plastic and reconstructive surgery*. 1987;80(2):266-71.
26. Johnson TM, Lowe L, Brown MD, Sullivan MJ, Nelson BR. Histology and physiology of tissue expansion. *The Journal of dermatologic surgery and oncology*. 1993;19(12):1074-8.
27. Austad ED, Pasyk KA, McClatchey KD, Cherry GW. Histomorphologic evaluation of guinea pig skin and soft tissue after controlled tissue expansion. *Plast Reconstr Surg*. 1982;70(6):704-10. Epub 1982/12/01.
28. Johnson PE, Kernahan DA, Bauer BS. Dermal and epidermal response to soft-tissue expansion in the pig. *Plast Reconstr Surg*. 1988;81(3):390-7. Epub 1988/03/01.
29. Pasyk KA, Argenta LC, Hassett C. Quantitative analysis of the thickness of human skin and subcutaneous tissue following controlled expansion with a silicone implant. *Plast Reconstr Surg*. 1988;81(4):516-23. Epub 1988/04/01.
30. Pasyk KA, Austad ED, McClatchey KD, Cherry GW. Electron microscopic evaluation of guinea pig skin and soft tissues "expanded" with a self-inflating silicone implant. *Plast Reconstr Surg*. 1982;70(1):37-45. Epub 1982/07/01.
31. Timmenga EJ, Schoorl R, Klopper PJ. Biomechanical and histomorphological changes in expanded rabbit skin. *Br J Plast Surg*. 1990;43(1):101-6. Epub 1990/01/01.
32. Leighton WD, Russell RC, Marcus DE, Eriksson E, Suchy H, Zook EG. Experimental pretransfer expansion of free-flap donor sites: I. Flap viability and expansion characteristics. *Plast Reconstr Surg*. 1988;82(1):69-75.
33. Baker SR. Fundamentals of expanded tissue. *Head & neck*. 1991;13(4):327-33. Epub 1991/07/01.
34. Hemmer KM, Marsh JL, Picker S. Calvarial erosion after scalp expansion. *Ann Plast Surg*. 1987;19(5):454-9. Epub 1987/11/01.
35. Antonyshyn O, Gruss JS, Mackinnon SE, Zuker R. Complications of soft tissue expansion. *Br J Plast Surg*. 1988;41(3):239-50. Epub 1988/05/01.
36. Fudem GM, Orgel MG. Full-thickness erosion of the skull secondary to tissue expansion for scalp reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 1988;82(2):368-9. Epub 1988/08/01.
37. Moelleken BR, Mathes SJ, Cann CE, Simmons DJ, Ghafoori G. Long-term effects of tissue expansion on cranial and skeletal bone development in neonatal miniature swine: clinical findings and histomorphometric correlates. *Plast Reconstr Surg*. 1990;86(5):825-34. Epub 1990/11/01.
38. Canady JW, Squier CA, Kelly KM, Bardach J. Serial measurement of blood flow in expanded tissue by laser Doppler velocimetry. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 1990;103(6):986-90. Epub 1990/12/01.

39. Austad ED, Thomas SB, Pasyk K. Tissue expansion: dividend or loan? *Plast Reconstr Surg*. 1986;78(1):63-7. Epub 1986/07/01.
40. Knight KR, McCann JJ, VanderKolk CA, Coe SA, O'Brien BM. The redistribution of collagen in expanded pig skin. *Br J Plast Surg*. 1990;43(5):565-70.
41. Machida BK, Liu-Shindo M, Sasaki GH, Rice DH, Chandrasoma P. Immediate versus chronic tissue expansion. *Ann Plast Surg*. 1991;26(3):227-32.
42. McCann JJ, Mitchell GM, O'Brien BM, Vanderkolk CA. Comparative viability of expanded and unexpanded axial pattern skin flaps in pigs. *Br J Plast Surg*. 1988;41(3):294-7. Epub 1988/05/01.
43. Uhl E, Rosken F, Curri SB, Menger MD, Messmer K. Reduction of skin flap necrosis by transdermal application of buflomedil bound to liposomes. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102(5):1598-604. Epub 1998/10/17.
44. van Rappard JH, Molenaar J, van Doorn K, Sonneveld GJ, Borghouts JM. Surface-area increase in tissue expansion. *Plast Reconstr Surg*. 1988;82(5):833-9. Epub 1988/11/01.
45. Brobmann GF, Huber J. Effects of different-shaped tissue expanders on transluminal pressure, oxygen tension, histopathologic changes, and skin expansion in pigs. *Plast Reconstr Surg*. 1985;76(5):731-6. Epub 1985/11/01.
46. Marcus J, Horan DB, Robinson JK. Tissue expansion: past, present, and future. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1990;23(5):813-25.
47. Masser MR. Tissue expansion: a reconstructive revolution or a cornucopia of complications? *British journal of plastic surgery*. 1990;43(3):344-8.
48. Argenta L, Marks M, Pasyk K. Advances in tissue expansion. *Clinics in plastic surgery*. 1985;12(2):159-71.
49. Manders EK, Schenden MJ, Furrey JA, Hetzler PT, Davis TS, Graham III WP. Soft-tissue expansion: concepts and complications. *Plastic and reconstructive surgery*. 1984;74(4):493-507.
50. Fudem GM, Orgel MG. Full-thickness erosion of the skull secondary to tissue expansion for scalp reconstruction. *Plastic and reconstructive surgery*. 1988;82(2):368.
51. Richards A. Key notes on plastic surgery: John Wiley & Sons; 2008.
52. Mathes SJ, Hentz VR. Plastic surgery: Saunders; 2006.
53. Wee SS, Logan SE, Mustoe TA. Continuous versus intraoperative expansion in the pig model. *Plastic and reconstructive surgery*. 1992;90(5):808-14.
54. MARKS MW, MACKENZIE JR, BURNEY RE, KNIGHT PR, ANDERSON SH. Response of random skin flaps to rapid expansion. *Journal of Trauma-Injury, Infection, and Critical Care*. 1985;25(10):947-52.
55. Weinzweig J. Plastic surgery secrets. 1999.
56. Manders EK, Graham III WP, Schenden MJ, Davis TS. Skin expansion to eliminate large scalp defects. *Annals of Plastic Surgery*. 1984;12(4):305-12.
57. Adson MH, Anderson RD, Argenta LC. Scalp expansion in the treatment of male pattern baldness. *Plastic and reconstructive surgery*. 1987;79(6):906-14.
58. Romo T, Goldberg J. Versatile use of skin expanders in facial plastic surgery. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1992;118(3):333-7.
59. Lo A, Colcleugh R, Allen L, Van Wyck L, Bite U. The role of tissue expanders in an anophthalmic animal model. *Plastic and reconstructive surgery*. 1990;86(3):399-408.

60. Viterbo F, de Souza T, Cavalcante M, Zanini S. [Growth stimulus of the paranasal sinuses with tissue expanders]. *Revista paulista de medicina*. 1990;109(4):177-8.
61. Thornton J, Marks M, Izenberg P, Argenta L. Expanded myocutaneous flaps: their clinical use. *Clinics in plastic surgery*. 1987;14(3):529-34.
62. Seckel B, Hyland W. Soft-tissue expander for delayed and immediate breast reconstruction. *The Surgical clinics of North America*. 1985;65(2):383-91.
63. Persoff MM. Expansion-augmentation of the breast. *Plastic and reconstructive surgery*. 1993;91(3):393-403.
64. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*. 2001;12(5):261-73. Epub 2001/08/07.
65. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med*. 2000;6(4):389-95. Epub 2000/03/31.
66. Weiler A, Forster C, Hunt P, Falk R, Jung T, Unterhauser FN, et al. The influence of locally applied platelet-derived growth factor-BB on free tendon graft remodeling after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med*. 2004;32(4):881-91. Epub 2004/05/20.
67. Grunluoglu R, Ozer K, Skugor B, Lubiowski P, Carnevale K, Siemionow M. Effect of transfection time on the survival of epigastric skin flaps pretreated with adenovirus encoding the VEGF gene. *Ann Plast Surg*. 2002;49(2):161-9. Epub 2002/08/21.
68. McGee GS, Broadley KN, Buckley A, Aquino A, Woodward SC, Demetriou AA, et al. Recombinant transforming growth factor beta accelerates incisional wound healing. *Curr Surg*. 1989;46(2):103-6. Epub 1989/03/01.
69. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost*. 2004;91(1):4-15. Epub 2003/12/24.
70. Huang LH, Neiva RE, Soehren SE, Giannobile WV, Wang HL. The effect of platelet-rich plasma on the coronally advanced flap root coverage procedure: a pilot human trial. *J Periodontol*. 2005;76(10):1768-77. Epub 2005/10/29.
71. Ksander GA, Sawamura SJ, Ogawa Y, Sundsmo J, McPherson JM. The effect of platelet releasate on wound healing in animal models. *J Am Acad Dermatol*. 1990;22(5 Pt 1):781-91. Epub 1990/05/01.
72. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2001;107(1):229-37; discussion 38-9. Epub 2001/02/15.
73. Snyder EL, Calhoun BC. Topical platelet growth factor therapy: of lotions and potions. *Transfusion*. 2001;41(10):1186-9. Epub 2001/10/19.
74. Grotendorst GR, Martin GR, Pencev D, Sodek J, Harvey AK. Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factor in normal and diabetic rats. *J Clin Invest*. 1985;76(6):2323-9. Epub 1985/12/01.
75. O'Toole G, MacKenzie D, Buckley MF, Lindeman R, Poole M. A review of therapeutic angiogenesis and consideration of its potential applications to plastic and reconstructive surgery. *Br J Plast Surg*. 2001;54(1):1-7. Epub 2000/12/21.
76. Green DM, Klink B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. *Plast Reconstr Surg*. 1998;101(4):1161-2. Epub 1998/03/26.
77. Hsu C, Chang J. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. *J Hand Surg Am*. 2004;29(4):551-63. Epub 2004/07/14.

78. Pierce GF, Mustoe TA, Altmann BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *Journal of cellular biochemistry*. 1991;45(4):319-26.
79. Altmann J, Hansen E, Bonnländer GL, Horch RE, Jeschke MG. Composition and characteristics of an autologous thrombocyte gel. *J Surg Res*. 2004;117(2):202-7. Epub 2004/03/30.
80. Oya T, Zhao YL, Takagawa K, Kawaguchi M, Shirakawa K, Yamauchi T, et al. Platelet-derived growth factor-b expression induced after rat peripheral nerve injuries. *Glia*. 2002;38(4):303-12. Epub 2002/05/15.
81. Kondo E, Yasuda K, Yamanaka M, Minami A, Tohyama H. Effects of administration of exogenous growth factors on biomechanical properties of the elongation-type anterior cruciate ligament injury with partial laceration. *Am J Sports Med*. 2005;33(2):188-96. Epub 2005/02/11.
82. Petersen W, Pufe T, Zantop T, Tillmann B, Mentlein R. Hypoxia and PDGF have a synergistic effect that increases the expression of the angiogenic peptide vascular endothelial growth factor in Achilles tendon fibroblasts. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2003;123(9):485-8. Epub 2003/04/17.
83. Schmidt MB, Chen EH, Lynch SE. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006;14(5):403-12. Epub 2006/01/18.
84. Vikjaer D, Blom S, Hjorting-Hansen E, Pinholt EM. Effect of platelet-derived growth factor-BB on bone formation in calvarial defects: an experimental study in rabbits. *Eur J Oral Sci*. 1997;105(1):59-66. Epub 1997/02/01.
85. Brown DM, Hong SP, Farrell CL, Pierce GF, Khouri RK. Platelet-derived growth factor BB induces functional vascular anastomoses in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(13):5920-4. Epub 1995/06/20.
86. Carroll CM, Carroll SM, Schuschke DA, Barker JH. Augmentation of skeletal muscle flap survival using platelet derived growth factor. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102(2):407-15. Epub 1998/08/14.
87. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85(6):638-46. Epub 1998/06/25.
88. Brown GL, Curtsinger LJ, White M, Mitchell RO, Pietsch J, Nordquist R, et al. Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF-beta. *Ann Surg*. 1988;208(6):788-94. Epub 1988/12/01.
89. Huemer GM, Shafighi M, Meirer R, Debagge P, Piza-Katzer H, Grunluoglu R. Adenovirus-mediated transforming growth factor-beta ameliorates ischemic necrosis of epigastric skin flaps in a rat model. *J Surg Res*. 2004;121(1):101-7. Epub 2004/08/18.
90. Ribatti D, Vacca A, Presta M. The discovery of angiogenic factors: A historical review. *General Pharmacology: The Vascular System*. 2000;35(5):227-31.
91. Currie LJ, Sharpe JR, Martin R. The use of fibrin glue in skin grafts and tissue-engineered skin replacements: a review. *Plast Reconstr Surg*. 2001;108(6):1713-26. Epub 2001/11/17.
92. Rashid MA, Akita S, Razzaque MS, Yoshimoto H, Ishihara H, Fujii T, et al. Coadministration of basic fibroblast growth factor and sucrose octasulfate (sucrafate) facilitates the rat dorsal flap survival and viability. *Plast Reconstr Surg*. 1999;103(3):941-8. Epub 1999/03/17.

93. Khouri RK, Brown DM, Leal-Khouri SM, Tark KC, Shaw WW. The effect of basic fibroblast growth factor on the neovascularisation process: skin flap survival and staged flap transfers. *Br J Plast Surg.* 1991;44(8):585-8. Epub 1991/11/01.
94. Hayward PG, Alison WE, Jr., Carp SS, Hui PS, Robson MC. Local infiltration of an angiogenic growth factor does not stimulate the delay phenomenon. *Br J Plast Surg.* 1991;44(7):526-9. Epub 1991/10/11.
95. McGee GS, Davidson JM, Buckley A, Sommer A, Woodward SC, Aquino AM, et al. Recombinant basic fibroblast growth factor accelerates wound healing. *J Surg Res.* 1988;45(1):145-53. Epub 1988/07/01.
96. Distler O, Neidhart M, Gay RE, Gay S. The molecular control of angiogenesis. *Int Rev Immunol.* 2002;21(1):33-49. Epub 2002/08/22.
97. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Pu LQ, Bunting S, et al. Therapeutic angiogenesis. A single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. *J Clin Invest.* 1994;93(2):662-70. Epub 1994/02/01.
98. Zhang F, Oswald T, Lin S, Cai Z, Lei M, Jones M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and the effect of exogenous VEGF on survival of a random flap in the rat. *Br J Plast Surg.* 2003;56(7):653-9. Epub 2003/09/13.
99. Machens HG, Salehi J, Weich H, Munch S, Siemers F, Krapohl BD, et al. Angiogenic effects of injected VEGF165 and sVEGFR-1 (sFLT-1) in a rat flap model. *J Surg Res.* 2003;111(1):136-42. Epub 2003/07/05.
100. Brown GL, Curtsinger L, Jurkiewicz MJ, Nahai F, Schultz G. Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor. *Plast Reconstr Surg.* 1991;88(2):189-94; discussion 95-6. Epub 1991/08/01.
101. Babbush CA, Kevy SV, Jacobson MS. An in vitro and in vivo evaluation of autologous platelet concentrate in oral reconstruction. *Implant Dent.* 2003;12(1):24-34. Epub 2003/04/23.
102. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plastic and reconstructive surgery.* 2001;107(1):229-37; discussion 38-9.
103. Partsafas AW, Bascom DA, Jorgensen SA, Wax MK. Effects of Tisseel and FloSeal on primary ischemic time in a rat fasciocutaneous free flap model. *Laryngoscope.* 2004;114(2):301-4. Epub 2004/02/03.
104. Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci.* 2004;30(2):145-51. Epub 2004/04/06.
105. Mazzucco L, Medici D, Serra M, Panizza R, Rivara G, Orecchia S, et al. The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: a pilot study. *Transfusion.* 2004;44(7):1013-8. Epub 2004/07/01.
106. Valbonesi M, Giannini G, Migliori F, Dalla Costa R, Galli A. The role of autologous fibrin-platelet glue in plastic surgery: a preliminary report. *Int J Artif Organs.* 2002;25(4):334-8. Epub 2002/05/25.
107. Gruber R, Karreth F, Frommlet F, Fischer MB, Watzek G. Platelets are mitogenic for periosteum-derived cells. *J Orthop Res.* 2003;21(5):941-8. Epub 2003/08/16.
108. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60(10):1176-81. Epub 2002/10/16.

109. Siebrecht MA, De Rooij PP, Arm DM, Olsson ML, Aspenberg P. Platelet concentrate increases bone ingrowth into porous hydroxyapatite. *Orthopedics*. 2002;25(2):169-72. Epub 2002/03/02.
110. Kawase T, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H. Platelet-rich plasma-derived fibrin clot formation stimulates collagen synthesis in periodontal ligament and osteoblastic cells in vitro. *J Periodontol*. 2003;74(6):858-64. Epub 2003/07/31.
111. Rohrich R, Cherry G, Spira M. Enhancement of skinflap survival using nitroglycerin ointment. *Plast Reconstr Surg*. 1984;6(73):943-8.
112. Cherry GW, Austad E, Pasyk K, McClatchey K, Rohrich RJ. Increased survival and vascularity of random-pattern skin flaps elevated in controlled, expanded skin. *Plastic and reconstructive surgery*. 1983;72(5):680-5.
113. Agrawal K, Agrawal S. Tissue regeneration during tissue expansion and choosing an expander. *Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India*. 2012;45(1):7-15.
114. Lu F, Mizuno H, Uysal CA, Cai X, Ogawa R, Hyakusoku H. Improved viability of random pattern skin flaps through the use of adipose-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg*. 2008;121(1):50-8. Epub 2008/01/08.
115. Koh YJ, Koh BI, Kim H, Joo HJ, Jin HK, Jeon J, et al. Stromal vascular fraction from adipose tissue forms profound vascular network through the dynamic reassembly of blood endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):1141-50. Epub 2011/03/12.
116. Hunt TK. Can repair processes be stimulated by modulators (cell growth factors, angiogenic factors, etc.) without adversely affecting normal processes? *J Trauma*. 1984;24(9 Suppl):S39-49. Epub 1984/09/01.
117. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, et al. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci*. 2007;48(1):15-24. Epub 2007/07/24.
118. Gonzalez MA, Gonzalez-Rey E, Rico L, Buscher D, Delgado M. Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Arthritis Rheum*. 2009;60(4):1006-19. Epub 2009/04/01.
119. Gosain AK, Lyon VB. The current status of tissue glues: part II. For adhesion of soft tissues. *Plast Reconstr Surg*. 2002;110(6):1581-4. Epub 2002/11/01.
120. Takikawa M, Sumi Y, Ishihara M, Kishimoto S, Nakamura S, Yanagibayashi S, et al. PRP&F/P MPs improved survival of dorsal paired pedicle skin flaps in rats. *J Surg Res*. 2011;170(1):e189-96. Epub 2011/07/19.
121. Lee C, Kerrigan CL, Picard-Ami LA, Jr. Cyclophosphamide-induced neutropenia: effect on postischemic skin-flap survival. *Plast Reconstr Surg*. 1992;89(6):1092-7. Epub 1992/06/11.
122. Ioculano M, Squadrito F, Altavilla D, Canale P, Campo GM, Bussolino F, et al. Protective effects of L-659,989, a platelet-activating factor receptor antagonist, in myocardial ischemia and reperfusion in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1994;23(1):7-12. Epub 1994/01/01.
123. Li W, Enomoto M, Ukegawa M, Hirai T, Sotome S, Wakabayashi Y, et al. Subcutaneous injections of platelet-rich plasma into skin flaps modulate proangiogenic gene expression and improve survival rates. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129(4):858-66. Epub 2012/03/30.

124. Brown NJ, Smyth EA, Cross SS, Reed MW. Angiogenesis induction and regression in human surgical wounds. *Wound repair and regeneration*. 2002;10(4):245-51.
125. Nissen NN, Polverini PJ, Gamelli RL, DiPietro LA. Basic fibroblast growth factor mediates angiogenic activity in early surgical wounds. *Surgery*. 1996;119(4):457-65.
126. Hocaoglu E, Koldas T, Keklik B, Bicer A, Mete O, Issever H. Effects of Zafirlukast on the Capsular Fibrosis of Silicone Breast Implants. *Archives of Clinical and Experimental Surgery (ACES)*. 2014;3(3).
127. Ajmal N, Riordan CL, Cardwell N, Nanney LB, Shack RB. The effectiveness of sodium 2-mercaptoethane sulfonate (mesna) in reducing capsular formation around implants in a rabbit model. *Plastic and reconstructive surgery*. 2003;112(5):1455-61.
128. Spyrou GE, Naylor IL. The effect of basic fibroblast growth factor on scarring. *British journal of plastic surgery*. 2002;55(4):275-82.
129. Cervelli V, Nicoli F, Spallone D, Verardi S, Sorge R, Nicoli M, et al. Treatment of traumatic scars using fat grafts mixed with platelet-rich plasma, and resurfacing of skin with the 1540 nm nonablative laser. *Clinical and experimental dermatology*. 2012;37(1):55-61.
130. Ju Z, Wei J, Guan H, Zhang J, Liu Y, Feng X. Effects of hyperbaric oxygen therapy on rapid tissue expansion in rabbits. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2012.