

TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA İLE KOMBİNE EDİLMİŞ YAĞ DOKU KÖKENLİ STROMAL VASKÜLER FRAKSİYONUN SİLİKON İMPLANTLAR ÇEVRESİNDE RADYASYONUN İNDÜKLEDİĞİ KAPSÜL KONTRAKTÜRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ

THE EFFECT OF ADIPOSE TISSUE STROMAL VASCULAR FRACTION COMBINED WITH PLATELET-RICH PLASMA ON IRRADIATION-INDUCED CAPSULAR CONTRACTURE AROUND SILICONE IMPLANTS

*Ayşe Özlem Gündeşlioğlu, *İrfan İnan, **Yılmaz Tezcan, ***Hatice Toy, ****Dilek Emlik, *****Murad Aktan, *****Selçuk Duman

*Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, KONYA

**Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, KONYA

***Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, KONYA

****Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, KONYA

*****Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Histoloji Anabilim Dalı, KONYA

ÖZET

Kozmetik veya rekonstrüktif meme büyütme cerrahisi sonrası implant çevresinde gelişen kapsülün nedeni ve patogenezini henüz tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, son dönemde yapılan deneysel çalışmalar ve klinik gözlemler, yağ doku kökenli mezenkimal kök hücrelerin biyomateryaller çevresine uygulanmasının kapsül oluşumunu azalttığına dair olumlu ve cesaret verici sonuçlar ortaya koymuştur.

Bu çalışmada, sırt bölgelerine mini silikon implant yerleştirilen ve radyasyon verilerek implantlar çevresinde kapsül oluşturulan ratlarda, trombosit zengin plazma ile kombine edilerek verilen yağ doku kökenli stromal vasküler fraksiyonun, kapsül oluşumu üzerine etkileri araştırıldı.

Sırt bölgesinde her iki tarafa yerleştirilen silikon implant alanlarının tek fraksiyon 10 Gy elektron ile ışınlanmasını takiben, tüm ratların sadece sağ tarafta ki implant çevresine ve çevre dokulara trombosit zengin plazma ile kombine edilmiş yağ doku kökenli stromal vasküler fraksiyon uygulandı. Sol taraftaki implant çevresine ise kontrol grubu olmak üzere aynı miktarda serum fizyolojik enjekte edildi. Operasyon sonrası 30. günde implantların çevresinde gelişen kapsül kalınlıkları ultrasonografik, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak incelendi.

Sonuçlar kapsül kalınlığı açısından tedavi uygulanan ve uygulanmayan taraflar arasında ultrasonografik, histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığını gösterdi.

Bu ön bulgular yağ doku kökenli kök hücre ve trombosit zengin plazma kombinasyonunun, silikon implant ile dokuların entegrasyonunun sağlanmasında ve implant çevresinde kapsül oluşumunu azaltmada etkinlikleri olmadığını ve yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Stromal vasküler fraksiyon, trombosit zengin plazma, kapsül, radyasyon

ABSTRACT

The exact reason and pathogenesis of capsule formation around breast implant after cosmetic and reconstructive breast enhancement is still unclear. However, recent studies and clinical observations regarding the application of adipose-derived mesenchymal stem cells around implanted biomaterials have shown encouraging results.

In this study, the effects of the adipose-derived stromal vascular fraction combined with platelet-rich plasma on capsule formation around silicone implants were investigated in irradiated rats.

After implantation of silicones implants bilaterally on the rat dorsal area, both sides were irradiated with 10-Gy as single fraction electron beam irradiation. Following radiation, the mixture of stromal vascular fraction and platelet-rich plasma was injected to right sides of the animals. Left sides were injected with same amount of saline as a control. On day 30, capsule around the implants was evaluated in regarding the capsular thickness by ultrasonography, histopathology and immunohistochemical examination.

The results demonstrated that there is no statistically significant difference between the treated and non-treated groups in ultrasonographic, histopathologic, and immunohistochemical evaluations.

These preliminary results demonstrated that adipose-derived stem cells with platelet rich plasma do not have efficiency for integration of tissue and silicone implants and to reduce capsule formation and further studies are required

Keywords: Stromal vascular fraction, platelet rich plasma, capsule, radiation

GİRİŞ

Silikon meme protezleri, meme büyütme cerrahisi veya mastektomi sonrası rekonstrüksiyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır.¹ Silikon protez uygulanması sonrası ikincil operasyona en sık neden komplikasyonlardan birisi kapsül kontraktürüdür ve protezin belirginleşmesi, memede ağrı ve asimetri gibi bulgularla

ortaya çıkar.² Her ne kadar kapsül oluşumunda bakteri kolonizasyonu, implant yüzey özellikleri, hematoma ve radyasyon suçlanmışsa da temelde kapsül oluşumu, organizmanın yabancı cisme verdiği reaksiyon olarak düşünülmektedir.³ Kapsül dokusu içinde büyük miktarda CD34/CD68+ histiyositlerin bulunması ve bu histiyositlerin büyüme faktörleri ve fibroblast-stimüle edici

sitokinler üreterek implant çevresindeki kollajenin tabakanın zaman içinde artan biçimde kalınlaşmasına yol açması da bunun kanıtı olarak gösterilmektedir.⁴⁻⁶

Daha önceki yapılan deneysel çalışmalar, epididim yağ dokusu içerisine yerleştirilen implantların çevresinde daha yoğun yeni damar oluşumları ve daha az fibrozis geliştiğini göstermiş ve yağ doku kökenli kök hücrelerin, biyomateryaller çevresindeki yabancı cisim reaksiyonunu kontrol edebildiğini ortaya koymuştur.^{7,8} Bununla birlikte literatür araştırıldığında, yağ doku kökenli kök hücreleri içeren stromal vasküler fraksiyon (YDKSVF) ve trombositten zengin plazmanın (TZP) birlikte kullanımının silikon protezler çevresindeki kapsül oluşumuna etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmaktadır.

Bu çalışmada, radyasyonun indüklediği fibrozis ve kapsül dokusu üzerinde trombositten zengin plazma ile kombine edilmiş yağ doku kökenli stromal vasküler fraksiyonun etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada yirmi adet dişi, 12 haftalık Wistar albino rat (200-300 g) kullanıldı. Anestezi amacıyla periton içine Ketamin (60 mg/kg) ve Ksilazin (4 mg/kg) uygulandı. Ratlar sıcaklığı sabit ortamda (22 °C), 12 saat gündüz, 12 saat gece ortamında tutularak ve standart rat yemi verilerek deneye hazırlandı. Deneyde kullanılacak ratlar 12 saat önce aç bırakılarak sadece su içmelerine izin verildi. Deney sonrası, denekler normal oda ısısı ve atmosferine bırakılarak standart rat yemi ve su verilerek takip edildi. Tüm ratlar operasyon sonrası 30. günde intraperitoneal yüksek doz anestetik uygulanarak sakrifiye edildi. YDKSVF ve TZP elde edilmesi amacıyla üç adet ratın inguinal yağ dokuları ve tüm kanları laboratuara gönderildi. Bu çalışmanın içerdiği tüm işlemler üniversitenin etik kurulu tarafından değerlendirilip, onaylandı (2012-056, 25.06.2012).

Deney için her bir ratın sağ (n = 20) ve sol (n = 20) sırt bölgeleri kullanıldı. Cerrahi alanın tıraşlanması ve iyotlu solüsyonla temizlenmesini takiben ratın sırt bölgesi orta hatta yapılan 1,5 cm'lik vertikal kesi hattından girilerek üst ekstremitelere doğru diseksiyon uygulandı. Sağ ve solda kutanöz maksimus kası altında birer adet boşluk oluşturuldu ve bu boşluklara yaklaşık 1 cm çaplı düzgün yüzeyli dairesel silikon bloklar (Düzenli yüzeyli silikon doku genişletici tabanı (Mentor™, Smooth Elliptical Tissue Expander) yerleştirildi. Mobiliteilerinin kısıtlanması amacıyla bloklar 3/0 Polyglactin 910 kullanılarak deriye tespit edildi ve deri insizyonları da aynı dikiş materyaliyle kapatıldı (Şekil 1).

Cerrahi işlemler tamamlandıktan sonra ratlar, halen anestezi altında iken, radyasyon uygulanmak üzere yüzüstü pozisyona alındı. Sırt bölgesinde hem kontrol

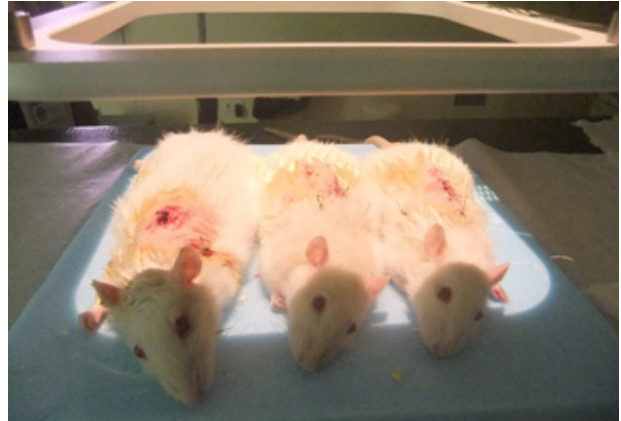
hem de deney grubuna ait cerrahi alanlar, toraks duvarına yönlendirilen 10 Gy tek fraksiyon elektron (6 MeV) ile 100 cm den ışınlandı (Siemens™ Primus Plus, USA). Böylece hem deney hem de kontrol grubunun aynı dozda ışın alması sağlanmış oldu (Şekil 2).

Trombositten Zengin Plazma ve Stromal Vasküler Fraksiyonun Uygulanması

Deneysel grup (n = 20): Her bir ratın sırt bölgesindeki cerrahi sahanın ışınlanmasını takiben 0,4 ml YDKSVF ve TZP karışımı implantın yerleştirildiği boşluk ve çevresindeki dokulara enjekte edildi (Şekil 3).



Şekil 1. Ratın sırt bölgesinde her iki tarafa kutanöz maksimus kası altına mini silikon implantların yerleştirilmesi ve deriye tespiti sonrası görünüm.



Şekil 2. Ratların cerrahi işlemden hemen sonra lineearakseltör kullanılarak cerrahi sahalarının ışınlanması.



Şekil 3. Cerrahi işlem ve ışınlamanın hemen ardından ratların sağ taraflarına yerleştirilen implant çevresi dokulara yağ doku kökenli stromal vasküler fraksiyon ve trombositten zengin plazmanın enjekte edilmesi.

Kontrol grubu (n = 20): Her bir ratın sırt bölgesinin ışınlanmasını takiben, implant çevresindeki boşluk ve çevre dokulara 0,4 ml serum fizyolojik enjekte edildi.

Stromal Vasküler Fraksiyon Hazırlanması

Üç adet ratın inguinal bölgelerindeki yağ dokuları alındıktan sonra, dokular antibiyotik içeren (100 U/mL penisilin, 100 mg/mL streptomisin; 0.25 pgr/mL fungizon) serum fizyolojik ile yıkandı ve laminer akımlı özel kabin içinde küçük parçalara ayrıldı. Bu doku parçaları 37°C de 25 dakika süreyle 0.1% kollajenaz tip 1-2 karışımı (Sigma-Aldrich™, St. Louis, MO) içeren solüsyonda karıştırıldı ve üstte biriken yağ tabakası alındıktan sonra geride kalan sıvı

2200 rpm ile 20 dakika santrifüje edildi. Tabandaki hücre kümesi toplanıp 5 mL Dulbecco solüsyonuyla (Dulbecco's modified Eagle's medium-DMEM) ile karıştırıldı. Oluşturulan hücre süspansiyonu 2200 rpm de 10 dakika daha santrifüje edildi.

Trombositten Zengin Plazmanın Hazırlanması

10 mL'lik enjektöre 1,3 mL antikoagulan sitrat dekstrozu solüsyonu çekildikten sonra, aseptik koşullarda üç adet rattan intrakardiyal girişimle 21 G iğne ile elde edilen kan (6,7 mL) ile karıştırıldı ve karışım toplam 10 mL olacak şekilde üzerine serum fizyolojik eklendi. Kan 20°C de 1000 rpm de 20 dakikada santrifüje edilerek plazma, eritrosit, lökosit ve trombositlerden arındırıldı. En üstteki 4,5 mL'lik plazma bir başka tüpe aktarıldı ve 5 dakika 3800 rpm de santrifüje edilerek üstteki 2,5 mL'lik trombositten fakir plazma (TFP) ve alttaki 2 mL'ik trombositten zengin plazma elde edildi. Üstteki TFP ampire edilerek TZP ile karışması önlenildi ve TZP bir başka steril tüpe aktarıldı. Deney grubundaki her bir implant için 0,1 mL TZP, 0,2 mL SVF ve 0,1 mL DMEM içeren 0,4 mL'lik karışımı hazırlandı. Kontrol grubu için de aynı miktarda, 0,4 mL serum fizyolojik hazırlandı.

Ultrasonografik Görüntüleme

İmplantların çevresinde oluşan kapsülün kalınlığı ultrasonografik olarak dördüncü haftada ratlar anestezi altında ve yüzüstü pozisyonunda iken değerlendirildi. Ultrasonografi 12 MHZ lineer prob kullanılarak cerrahi işlemlere yabancı bir radyolog tarafından yapıldı. İmplantların çevresinde ki kapsül kalınlığı beş farklı alandan ölçülerek ortalama değerler elde edildi.

Histopatolojik Değerlendirme

Ultrasonografik muayene sonrası, ratlar sakrifiye edildi ve sırt bölgelerindeki deri de dahil olmak üzere implant ve çevresindeki kapsül bir bütün olarak çıkarıldı. Makroskobik olarak yapılan değerlendirme ve fotoğrafıma sonrası eksize edilen dokular %10'luk formalin ile 36 saat süreyle tespit edildi. Alkol ile dehidratasyon uygulanmasını takiben silikon blokla birlikte tespit edilen dokular parafin bloklara gömüldü ve daha sonra hematoksilen eosin ile boyandı. Elde edilen preparatlarda

kapsül kalınlığı ölçüldü, neovaskülarizasyon ve hücre tipleri beş farklı alandan değerlendirildi ve alınan ortalama değerler, istatistiksel analizler için kullanıldı.

Histolojik incelemeler cerrahi işlemlere yabancı bir patolog tarafından yapıldı. Değerlendirilen alanlardan alınan dijital görüntüler ışık mikroskobu altında (Olympus™ BX51) ve 4x büyütme dijital renkli video kamera (Pixera Pro150ES) ile imaj analiz software programı kullanılarak (Bs200D Image Analysis Software, BAB Mühendislik Müh. Mus, San. ve Tic. Ltd. Şti. Ankara, Türkiye) incelendi. Kapsül kalınlığı, neovaskülarizasyon ve hücre tipi değerlendirmeleri de aynı program kullanılarak yapıldı.

İmmunohistokimya Protokolü

Bu çalışmada, parafin blokların immün boyama için CD105 (RB-9291-R7: Neomarker), CD73 (S2054: Epitomics), ve CD90 (2694-1: Epitomics) e karşı yönlendirilmiş antikorlar kullanıldı. CD105 olduğu gibi kullanılırken, CD73 ve CD90 antikorları, kullanım için 1:100 oranında sulandırıldı. Kromojenik ürünleri oluşturmak için AEC ve substratları kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

Beş farklı alandan elde edilen kapsül kalınlığı, damar sayısı, nötrofil ve fibroblastlara ait sayısal değerler SPSS (Statistical Package for Social Sciences, 16.0 version, USA) program kullanılarak paired sample test ile analiz edildi. Sonuçlar \pm SEM (Standart Error of Mean) olarak ifade edildi ve $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

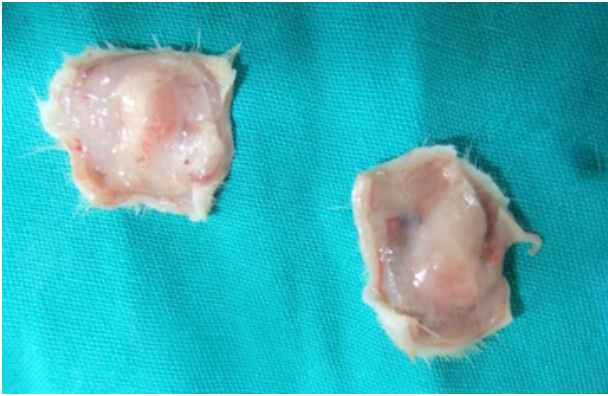
Operasyon sonrası 30. günde ratların sakrifikasyonu sonrası çıkarılan implant ve çevre doku materyallerinin (deri ve implant çevresi kapsül dokusu) makroskobik değerlendirmesinde YDKSVF+TZP ile tedavi edilen ve edilmeyen grup arasında kapsül kalınlığı açısından gözle görünür anlamlı fark tespit edildi (Şekil 4a). Kontrol grubunda ki implantların çevresinde daha kalın ve daha vasküler olan kapsül gözlenirken deney grubunda ki implantların çevresinde daha ince ve damarlanması daha az kapsül oluşumu gözlemlendi (Şekil 4b).

Postoperatif 30. günde yapılan ultrasonografik inceleme sonucunda deney grubunda ortalama kapsül kalınlığı 1,3 mm iken, kontrol grubunda 1,5 mm olarak bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 5) (Tablo I).

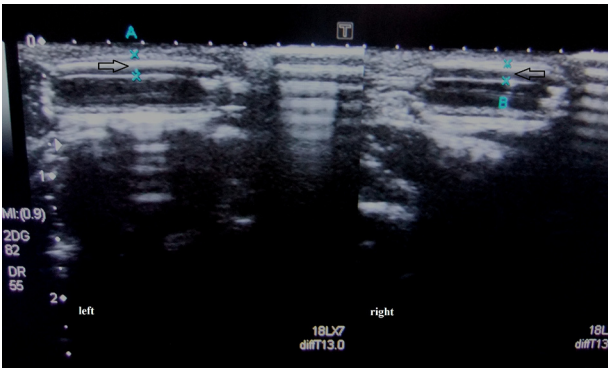
Postoperatif 30. günde yapılan histopatolojik inceleme sonucunda deney grubunda ortalama kapsül kalınlığı 393.817 μ m iken, kontrol grubunda ortalama kapsül kalınlığı 363.166 μ m olarak bulundu. Elde edilen diğer sonuçlarla birlikte değerlendirildiğinde deney ve



Şekil 4a. Postoperatif dördüncü hafta tedavi (SVF+TZP) uygulanan sol taraf ile tedavi uygulanmayan sağ taraf arasındaki gözle görünür kapsül kalınlık farkı izleniyor. Deney tarafında daha ince kapsül oluşumu gözleniyor.



Şekil 4b. Tedavi uygulanan tarafta ince ve göreceli olarak daha avasküler olan kapsül (ok) oluşumuna karşın, tedavi edilmeyen tarafta kalın ve daha vasküler kapsül oluştuğu gözleniyor.



Şekil 5. Tedavi uygulanan sağ taraf ile uygulanmayan sol taraf arasında kapsül kalınlıklarının postoperatif dördüncü haftada ultrasonografik olarak incelenmesi. Kapsül kalınlığı sağda 1,5 mm (ok, A) iken solda 1,3 mm (ok, B).

Tablo I. Tedavi edilen sağ taraf ve edilmeyen sol taraf kapsül kalınlığının histopatolojik ve ultrasonografik değerlendirmelerinin sayısal değerlendirme sonuçları.

	Sağ taraf	Sol taraf	p değeri
Kapsül kalınlığı (µ)	393.8171	363.1665	0.731
USG'de Kapsül kalınlığı (mm)	1.5471	1.4059	0.190

kontrol grupları arasında kapsül kalınlığı, neovaskülarizasyon ve hücresel parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı sonucuna varıldı (Şekil 6) (Tablo I, II).

İmmunohistokimyasal Değerlendirme

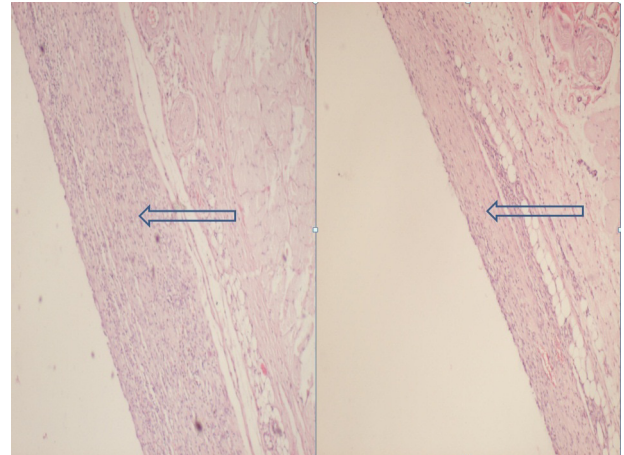
Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında deney grubunda tübüler yapılar arasında CD90 ve CD105 ile zayıf boyanma tespit edildi. Her iki grupta CD73 ile boyanma tespit edilemedi. Hipodermis ve fibroz doku arasındaki sınır kesitlerde belirsizleşmiş ve fibröz dokunun hipodermise doğru ilerlemiş olduğu gözlemlendi (Şekil 7J, K, L). Tahmin edilenin aksine deney grubunda yüzey işaretçileri arzu edilen yoğunlukta tespit edilemedi.

TARTIŞMA

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar YDKSVF ve TZP kombinasyonunun silikon implantlar çevresinde radyasyonun indüklediği inflamasyon süreci, kapsül oluşumu ve kalınlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi olmadığını göstermiştir.

Bu çalışma yağ doku kökenli kökenli kök hücrelerin yara iyileşmesi üzerinde aşağıda bahsedilen rolleri temel alınarak kurgulandı:

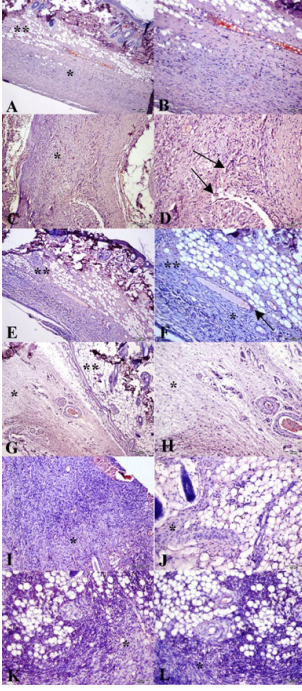
1. Yağ doku kökenli kök hücreler travmatize veya radyasyonla yaralanmış dokularda hepatosit büyüme faktörleri salgılayarak (HGF), fibroblast büyüme faktörü-2



Şekil 6. Tedavi uygulanan sağ taraf ile uygulanmayan sol taraftan alınan histolojik örneklemeler. Sol tarafta sağa göre daha kalın, dens kapsül oluşumu mevcut. (Hematoksilen-eozin; orijinal büyütme, 4x).

Tablo II. Neovaskülarizasyon ve hücresel değişimlerin, tedavi edilen sağ taraf ve edilmeyen sol taraf arasındaki istatistiksel değerlendirmesi.

	Sağ taraf	Sol taraf	p değeri
Neovaskülarizasyon	2,4471	3,1059	0,352
Fibroblast	4,6824	4,8353	0,881
Nötrofil	1,8118	3,0706	0,113



Şekil 7. İmplant çevresindeki kapsülün immunohistokimyasal boyamalarla değerlendirilmesi.

A. Deneysel grupta CD73 için negatif boyanma, **B.** Aynı görüntünün büyütülmüş hali, **C.** Deneysel grupta CD90 in görüntülenmesi, **D.** Aynı görüntünün büyütülmüş hali, **E.** Deneysel grupta CD105 in görüntülenmesi, **F.** Aynı görüntünün büyütülmüş hali, **G.** CD73 için kontrol grubunda negatif boyanma, **H.** Aynı görüntünün büyütülmüş hali, **I-J.** CD90 için kontrol grubunda negatif boyanma, **K-L.** CD105 için kontrol grubunda negatif boyanma (*) fibroz dokulara işaret ediyor, (**) hipodermisi gösteriyor, ok tübüler yapılar çevresindeki zayıf işaretçileri gösteriyor.

(FGF-2)'nin indüklediği yaralanma sonrası fibrozisi inhibe eder.^{9,10}

2. Yağ doku kökenli kök hücreler, FGF-2 ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi anjiyojenik büyüme faktörleri salgılar.^{8, 11}

3. Yağ doku kökenli kök hücreler adiposit ve adipojenik progenitor hücrelere farklılaşabilir.¹²

Daha önce yayınlanan çalışmalarda yağ doku içine yerleştirilen biyomateryallerin çevresinde deri altı dokulara yerleştirilen implantlara oranla daha yoğun neovaskülarizasyon ve daha az kapsül oluştuğu bildirilmiştir.⁷ Benzer şekilde, Pichard ve arkadaşları yağ doku kökenli kök hücrelerin poliyamide ve poliüretandan oluşan biyomateryaller çevresinde daha az fibrotik kapsül oluşumuna yol açtıklarını yayınladılar.⁸

Bu çalışmada, her ne kadar makroskobik muayene bulgularımız tedavi uygulanan deney grubunda kapsül kalınlığının azalmış olduğunu gösterse de, beklentilerimizin aksine deney grubu ile kontrol grubu arasında, kapsül kalınlığı başta olmak üzere diğer parametreler açısından da anlamlı fark bulunamadı. Bu sonuç, YDKKH ile TZP arasındaki etkileşimlerden kaynaklanabilir. TZP nin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri yoğun miktarlarda dönüştürücü büyüme faktörü $\beta 1$ ve $\beta 2$ (TGF- $\beta 1$, TGF- $\beta 2$), platelet faktör 4, VEGF, platelet (trombosit)-kökenli büyüme faktörü (PDGF-aa, PDGF-aB, and PDGF-BB) ve epitelyal hücre büyüme faktörü (EGF) içermesindedir.¹³ Bu büyüme faktörleri farklılaşmamış hücreleri yara dokusuna çekerek farklılaşmaları ve çoğalmalarını aktive eder, gerekliyse makrofajlarla etkileşerek inflamasyonu baskılar ve anjiogenezi akti-

ve eder.¹⁴ Bu çalışmada da TZP, YDKKH'lerin çoğalma ve aktivasyonlarını desteklemek amacıyla kullanıldı.¹⁵ Bununla birlikte, TZP içindeki, VEGF ve PDGF anjiyojenik olarak bilinse de, TGF- β implantlar çevresindeki bilinen en etkili fibrojen ve kapsül oluşum aktivatörüdür. TZP, TGF- β dan zengin olduğu için karışım içinde baskın unsur olup fibrojenizi aktive etmiş veya henüz bilemediğimiz bir etkileşimle kök hücrelerin implant bölgesindeki etkilerini azaltmış olabilir. Bununla birlikte, TZP nin içerdiği çok sayıda büyüme faktörü, proteomiks ve eksozomun hedef dokularla ne tür bir reaksiyona gireceği ve aralarında ne tür etkileşimler olduğunu bugünkü bilgilerimizle açıklanmanın henüz imkanı yoktur.

Bu çalışmada, YDKKH-TZP karışımı implant çevresi dokular ve implant boşluğuna enjekte edilmiştir. Bu beklenin aksine sonuçların elde edilmesindeki bir diğer önemli husus olabilir. SVF ve TZP nin enjekte edildiği kas dokusu, meme veya yağ dokusunun destekleyici matriks özelliklerini taşımaz ve bu nedenle kök hücreler cerrahi sahada etkin olacakları uygun ortamı henüz bulamadan rezorbe olmuş olabilir. Bu nedenle, SVF ve TZP karışımının implantlar çevresinde anlamlı etki gösterebilmesi için yağ dokusuyla birlikte verilmesinin uygun olacağı kanaatindeyiz ve bu yöndeki çalışmalarımız devam etmektedir.

Bir diğer unsur da zaman faktörü olabilir. Daha önceki yayınlarda radyasyon uygulanması sonrası kapsül oluşumu için bir aylık sürenin yeterli olacağı bildirilmiş¹⁶ ve bu çalışmada da aynı süre kullanılmıştır. Bununla birlikte bu zaman periyodu kök hücrelerin kapsül oluşumu üzerindeki etkinliklerini gösterebilmeleri için yetersiz kalmış olabilir.

Bu çalışmada, TZP ile zenginleştirilmiş YDKSVF, silikon çevresindeki kapsül oluşumunu azaltması amacıyla kültüre edilmiş yağ doku kökenli kök hücrelere bir tedavi stratejisi olarak tercih edildi. SVF; YDKKH, makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri ve perisitler olmak üzere farklı tipte hücreler içerir.¹⁷ SVF içerisindeki hücrelerin yaklaşık %10 unun progenitörlerden fakir yağ dokusunu progenitörlerden zengin yağ dokusuna çeviren YDKKH'ler olduğu tahmin edilmektedir.¹⁸ Daha da önemlisi yağ doku kökenli SVF içindeki adipositler, YDKKH ve makrofajlar arasında çapraz etkileşimlerin preadiposit doku oluşumu ve yeni adipositlerin çoğalmalarını arttırdığı gösterilmiştir.¹⁹ Bu nedenle, farklı türde hücre tipleri içeren SVF, kültüre edilmiş YDKKH'lere tercih edilmiştir.

Ayrıca, ototransplantasyonun getirdiği ek maliyet ve cerrahi olumsuzluklardan kaçınmak amacıyla allojenik SVF ve TZP kullanıldı. YDKKH'ler prostaglandin E2 tarafından yönetilen majör doku uyumluluk kompleksi-II (MHC-II)'yi taşıyamaları nedeniyle allojenik veya zenojenik olarak kullanılabilir.²⁰⁻²² Son dönemde yapılan bir çalışmada, Allen ve arkadaşları zenojenik SVF kullandıklarını ve immun rejeksiyon görmediklerini

bildirmiştir.²³ Benzer şekilde, bu çalışmada da, implant bölgesinde makroskopik veya histopatolojik olarak rejeksiyonu düşündürülen yoğun inflamasyon veya iskemi bulgusu tespit edilmedi. İlaveten YDKKH'lerin immun-supresif ve immunmodülatör özelliklerinin varlığı da rejeksiyonu engellemiş olabilir.^{21,22} Bizim çalışmamızda da herhangi bir rejeksiyona rastlanmadı.

Kök hücreleri dokuda tespit edebilmek için tek ve benzersiz bir işaretleyici halen mevcut değildir. Bununla birlikte mezenkimal kökenli kök hücrelerin ekspresyonları CD105, CD90 ve CD73 un tespit edilmesi minimum standart olarak belirlenmiştir.²⁴

Bu çalışmada, implant çevresinde kapsül oluşumunu arttırmak amacıyla lineer akseleratör kullanıldı. Bu cihaz yüzeysel lezyonlar için elektronlar ve daha derin yerleşimli lezyonlar için foton içerir. Lineer akseleratörden gelen elektron partiküllü radyasyonun yan etkileri deri ve hemen deri altı dokusunda oluşur ve kapsül kontraktürü oluşumunu provoke eder. Radyobiyoji alanında tek doz 10Gy radyasyonun, klinikte kullanılan klasik fraksiyone radyasyon uygulamalarından daha fazla deri yan etkileri oluşturduğu bilinir.²⁵ Silikon implant deri yüzeyine oldukça yakın yerleştirildiği ve küçük olduğu için (10x10 x2 mm) düşük enerjili (10 Gy for 6 MeV) elektron tip radyasyon bu deneyde tercih edildi.

Bu çalışmadaki bir diğer kritik konu implant çevresindeki kapsülün kalınlığının ultrasonografik ölçümüdür. Meme dokusunda, ana süt kanallarının boyutları özellikle areola altında 1 mm den daha küçük olabilir ve 10 mm ye kadar çıkabilir. Memenin deri altı dokularının özellikle de areola altı duktusların incelenmesinde ultrasonun yakın alan rezolüsyonu mümkün olduğunca yüksek olmalıdır. Son dönemdeki teknik ilerlemeler yüksek frekanslı lineer array transduserlerin (7-12 MHz) kullanımıyla ultrasonografik olarak yüzeysel yapıların hatta sinir, damar, süt kanalları gibi detayların bile incelenmesine imkan tanımaktadır.²⁶⁻²⁸ 12 MHz yüksek frekanslı transduser kullanımının sonucu olarak bu çalışmada yüzeysel yerleşimli implant çevresindeki kapsülün kalınlığını ultrasonografik olarak ölçmek ve milimetrik ayrımları yapmak mümkün olmuştur.

Bu bulguların ışığında, her ne kadar allojenik SVF ve TZIP karışımı rejekte edilmemişse de, beklenenin aksine implantın dokuya entegrasyonunu arttırmamış ve kapsül kalınlığı üzerinde beklenen olumlu etkiyi göstermemiştir. Elde edilen bu sonuç doku mühendisliği çalışmaları için de gerekli temel unsurlardan biri olan uygun matriksin gerekliliğini ortaya koymasından önem taşımaktadır. Bu nedenle, sonraki deneysel çalışmalarda YDKSVF ve TZIP kombinasyonunun, uygun matriks oluşumuna katkıda bulunacağı kanısıyla yağ dokusuyla birlikte implant çevresi dokulara verilmesi gerektiği kanaatindeyiz ve bu yöndeki çalışmalar klinikte devam etmektedir.

Dr. Ayşe Özlem GÜNDEŞLİOĞLU

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi,
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, KONYA
E-posta: ozlemgundes@hotmail.com

KAYNAKLAR

1. American Society of Plastic and Reconstructive Surgeons. More Mastectomy Patients Opting for Breast Reconstruction. Arlington Heights, Ill: ASPRS; 1991.
2. Gabriel SE, Woods JE, O'Fallon WM, Beard CM, Kurland LT, Melton LJ 3rd. Complications leading to surgery after breast implantation. N Engl J Med. 1997; 336:677-82.
3. Kamel M, Protzner K, Fornasier V, Peters W, Smith D, Ibanez D. The peri-implant breast capsule: An immunophenotypic study of capsules taken at explantation surgery. J Biomed Mater Res. 2001;58:88-9.
4. Sieminski AL, Gooch KJ. Biomaterial-microvasculature interactions. Biomaterials. 2000;21:2233-41.
5. Anderson JM. Biological responses to materials. Annu Rev Mater Res. 2001;31:81-110.
6. Castner DG, Ratner BD. Biomedical surface science: Foundations to frontiers. Surf Sci. 2002;500:28-60.
7. Williams SK, Berman SS, Kleinert LB. Differential healing and neovascularization of ePTFE implants in subcutaneous versus adipose tissue. J Biomed Mater Res. 1997;35:473-81.
8. Pichard HL, Reichert WM, Klitzman B. Adult adipose-derived stem cell attachment to biomaterials. Biomaterials. 2007;28:936-56.
9. Suga H, Eto T, Shigeura K, Inoue H, et al. IFATS Collection: Fibroblast growth factor-2-induced hepatocyte growth factor secretion by adipose-derived stromal cells inhibits postinjury fibrogenesis through a c-Jun N-terminal kinase-dependent mechanism. Stem Cells. 2009;27:238-49.
10. Rigotti G, Marchi A, Galie M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. Plast Reconstr Surg. 2007;119:1409-22.
11. Montesaano R, Vasalli JD, Baird A, et al. Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro. Proc Natl Acad Sci USA. 1986;83:7297-301.
12. Plant-Berard V, Silvestre JS, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: Physiological and therapeutic perspectives. Circulation. 2004;109:656-63.
13. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: A review of biology and applications in plastic Surgery. Plast Reconstr Surg. 2006;118(6):147e-159e.
14. Mishra A, Woodall J Jr, Vieira A. Treatment of tendon and muscle using platelet rich plasma. Clin Sports Med. 2009;28:113-25.
15. Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, et al. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblast. Plast Reconstr Surg. 2008;122:1352-60.
16. Katzel EB, Koltz PF, Tierney R et al. The impact of Smad3 loss of function on TGF β signaling and radiation-induced capsular contracture. Plast Reconstr Surg. 2011; 127. 2263-9.
17. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, et al. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. J Cell Physiol. 2006;208:64-76.

18. Suga H, Matsumoto D, Inoue K, et al. Numerical measurement of viable and nonviable adipocytes and other cellular components in aspirated fat tissue. *Plast Reconstr Surg.* 2008;122:103-14.
19. Chazenbalk G, Bertolotto C, Haneidi S, et al. Novel pathway of adipogenesis through cross-talk between adipose tissue macrophages, adipose stem cells and adipocytes: Evidence of cell plasticity. *PLoS One.* 2011;6(3):e17834.
20. Lin CS, Lin G, Lue TF. Allogeneic and xenogeneic transplantation of adipose-derived stem cells in immunocompetent recipients without immunosuppressants. *Stem Cells Dev.* 2012;21:2770-8.
21. Yanez R, Lamana ML, Garcia-Castro J, Colmenero I, Ramirez M, Bueren JA. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease. *Stem Cells.* 2006;24:2582-91.
22. Le Blanc K, Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med.* 2007;262:509-25.
23. Allen RJ Jr, Canizares O Jr, Scharf C, et al. Grading lipoaspirate: Is there an optimal density for fat grafting? *Plast Reconstr Surg.* 2013; 131: 38-45.
24. Akbulut H, Cuce G, Aktan TM, Duman S. Expression of mesenchymal stem cell markers of human adipose tissue surrounding the vas deferens. *Biomed Res.* 2012; 23: 166-9.
25. Turesson I, Thames HD. Repair capacity and kinetics of human skin during fractionated radiotherapy: erythema, desquamation, and telangiectasia after 3 and 5 year's follow-up. *Radiother Oncol.* 1989;15(2):169-88.
26. Hatfield A, Bodenham A. Ultrasound: an emerging role in anaesthesia and intensive care. *B J Anaesth* 1999; 83: 789-800.
27. Geddes DT. The use of ultrasound to identify milk ejection in women – tips and pitfalls. *International Breast Feeding Journal* 2009; 4: 5.
28. Amann P, Botta U, Montet X, Bianchi S. Sonographic Detection and Localization of a Clinically Nondetectable Subcutaneous Contraceptive Implant. *J Ultrasound Med* 2003; 22: 855–9.