



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN'İN BLOK, EZİLMİŞ VE DOĞRANMIŞ  
KIKIRDAĞA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Ahmet Kirazoğlu**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kemalettin Yıldız**

**NİSAN 2023**



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN'İN BLOK, EZİLMİŞ VE DOĞRANMIŞ  
KIKIRDAĞA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Ahmet Kirazoğlu**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kemalettin Yıldız**

Bu tez, 222S782 proje numarası ile TÜBİTAK 1002-A Hızlı Destek Programı ve 20221002 proje numarası ile Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir.

**NİSAN 2023**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimime başladığım günden itibaren bana yol gösteren, tüm uzmanlık eğitimim boyunca benden desteğini, bilgisini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, insanlığıyla daima bana örnek olan, kendisinden çok şey öğrendiğim ve kendisine çok şey borçlu olduğum, asistanı olmaktan gurur duyduğum kıymetli hocam Prof. Dr. Kemalettin YILDIZ'a,

Engin bilgi, birikim ve tecrübeleriyle bana her daim yol gösteren, iyi ve kötü günlerimde ihtiyaç duyduğum her an desteğini esirgemeyen, akademik kariyerimde yaptığı fedakarlıkları daima hatırlayacağım, bana öğrettikleri ve kattıklarıyla kendisine minnettar olduğum değerli hocam Prof. Dr. Selma Sönmez ERGÜN'e,

Uzmanlık eğitimimiz boyunca bizlere sayısız bilgi ve tecrübesini aktarmak için özverisini hiçbir zaman eksik etmeden çaba sarfeden, sunmuş olduğu sayısız imkanlarla ufkumuzu genişleten, çalışma ahlakı, hoşgörüsü ve sabrı ile bana örnek olan değerli hocam Prof. Dr. Ethem GÜNEREN'e,

Edindiği değerli bilgi ve tecrübelerini bizlerden hiçbir zaman esirgemeyen, akademik anlamda bana kattıklarıyla kendisine müteşekkir olduğum değerli ağabeyim ve hocam Doç. Dr. Osman KELAHMETOĞLU'na,

Desteğini her zaman yanımda hissettiğim, bilgi ve becerileri ile bizlere örnek olan, yeniliklere açık olmanın ne denli önemli olduğunu bizlere gösteren, beraber çalışma fırsatına eriştiğim için çok şanslı olduğum değerli ağabeyim ve hocam Dr. Öğr. Üyesi Nuh EVİN'e,

Zorlukları beraber aştığımız ve acı tatlı birçok anı paylaştığımız, bir olabilmenin hayatta en önemli erdem olduğunu bana gösteren, ihtisasım boyunca birlikte çalışmaktan ve zaman geçirmekten çok büyük mutluluk duyduğum ve kendilerinden çok şey öğrendiğim hepsi birbirinden kıymetli asistan arkadaşlarıma,

Beni her türlü fedakârlıklarla yetiştiren ve bugünlere gelmemi sağlayan, beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ve her konuda bana destek olan anneme, babama ve kardeşime,

Uzmanlık eğitimim boyunca yaşadığım tüm sıkıntılarda her daim yanımda olan, desteğini ve sevgisini hep yanımda hissettiğim biricik eşim Damla'ya,

*Sonsuz teşekkürlerimle..*

Nisan 2023

Dr.Ahmet Kirazoğlu

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Ahmet Kirazoğlu

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖNSÖZ.....	iii
BEYAN.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
RESİM LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xv
SUMMARY (İNGİLİZCE ÖZET).....	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kıkırdak Dokusu.....	2
2.1.1. Genel Özellikler.....	2
2.1.2. Kıkırdak Dokusunun Yapısı.....	2
2.1.2.1 Perikondrium.....	3
2.1.2.2 Glikozaminoglikanlar.....	4
2.1.2.3 Agrekan.....	5
2.1.2.4 Tip II kollajen.....	5
2.1.2.5 Hidroksiprolin.....	6
2.1.2.6 Kıkırdak oligomerik matriks proteini.....	6
2.1.2.7 Gliyal fibriler asidik protein.....	7
2.1.3 Kıkırdak Dokusunun Gelişimi.....	7
2.1.4 Kıkırdak Dokusu Tipleri.....	8
2.1.4.1 Hiyalin kıkırdak.....	8
2.1.4.2 Elastik kıkırdak.....	9
2.1.4.3 Fibröz kıkırdak.....	9
2.2 Burun Ameliyatlarında Kullanılan Greft Materyalleri.....	10
2.2.1 Genel Bilgiler.....	10
2.2.2 Homolog Greftler.....	10
2.2.2.1 Asellüler allojenik kadavra dermisi.....	10
2.2.2.2 Işınlanmış kostal kıkırdak grefti.....	11
2.2.2.3 Taze dondurulmuş kostal kıkırdak grefti.....	11
2.2.3 Alloplastik Materyaller.....	12
2.2.3.1 Silikon.....	13
2.2.3.2 Yüksek yoğunluklu gözenekli polietilen.....	14
2.2.3.3 Politetrafloroetilen.....	14
2.2.3.4 Hidroksiapatit.....	15
2.2.5 Otolog Greftler.....	16
2.2.5.1 Yumuşak doku greftleri.....	17
2.2.5.2 Kemik grefti.....	18
2.2.5.3 Otolog kıkırdak grefti.....	19
2.3 Trombositten Zengin Kan Ürünleri.....	23
2.3.1 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin İçeriği.....	24
2.3.1.1 Trombositler.....	24

2.3.1.2 Lökositler.....	25
2.3.1.3 Büyüme faktörleri.....	25
2.3.1.4 Sitokinler.....	29
2.3.1.5 Fibrinojen ve fibrin.....	29
2.3.2. Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin Sınıflandırılması.....	30
2.3.2.1 Trombositten zengin plazma.....	31
2.3.2.2 Trombositten zengin fibrin.....	32
2.3.2.3 Konsantre büyüme faktörü.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1 Denekler ve Çalışma Dizaynı.....	39
3.2 Kıkırdak Greftlerinin Hazırlanması.....	39
3.3 Trombositten Zengin Fibrin Eldesi ve Kıkırdak Greftleri ile Kombine Edilmesi.....	42
3.4 Kıkırdak Greftlerinin Yerleştirilmesi.....	43
3.5 Kıkırdak Greftlerinin Çıkartılması.....	48
3.6 Biyokimyasal İnceleme.....	49
3.7 Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme.....	51
3.8 İstatistiksel Analiz.....	54
4. BULGULAR.....	55
4.1 Biyokimyasal İnceleme Bulguları.....	55
4.2 Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme Bulguları.....	67
5. TARTIŞMA.....	96
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	134
KAYNAKLAR.....	136
EKLER.....	173
ÖZGEÇMİŞ.....	176

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

TZF	: Trombositten zengin fibrin
TZP	: Trombositten zengin plazma
TFP	: Trombositten fakir plazma
ESM	: Ekstrasellüler matriks
MHC	: Büyük doku uygunluk kompleksi
HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü
ADM	: Asellüler dermal matriks
HBV	: Hepatit B virüsü
HCV	: Hepatit C virüsü
SMAS	: Yüzeysel musküler aponörotik sistem
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
TGF- $\beta$ 1	: Dönüştürücü büyüme faktörü-beta bir
GAG	: Glikozaminoglikanlar
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
TAS	: Total antioksidan seviyesi
TOS	: Total oksidan seviyesi
OSI	: Oksidatif stres indeksi
ATP	: Adenozin trifosfat
ADP	: Adenozin difosfat
MMP	: Matriks metalloproteinaz
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
IL-1 $\beta$	: Interlökin-bir beta
IL-4	: Interlökin-dört
IL-6	: Interlökin-altı
TNF- $\alpha$	: Tümör nekroz faktörü alfa
Th	: Yardımcı T lenfosit
PBS	: Fosfat tamponu
H&E	: Hematoksilen-Eozin
GFAP	: Glial fibriler asidik protein
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
OA	: Osteoartrit
COMP	: Kıkırdak oligomerik matriks proteini
BMP	: Kemik morfojenik protein
OP-1	: Osteojenik protein bir
ABTS	: 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit
DAB	: 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorid
HRP	: Horseradish peroxidase
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
Gy	: Gray
$\mu$ m	: Mikrometre
nm	: Nanometre

mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
mmol	: Milimol
$\alpha$	: Alfa
$\delta$	: Delta
$\lambda$	: Lambda
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
$\Delta$ Abs	: Absorbans değişimi

## RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Resim 3.1:</b> Deney hayvanının kulak kıkırdağından elde edilen 3x2 cm ebatlarındaki kıkırdak grefti.....	40
<b>Resim 3.2:</b> 3x2 cm ebatlarındaki kıkırdak greftinden elde edilen altı adet 1x1 cm ebatlarındaki kıkırdak grefti.....	41
<b>Resim 3.3:</b> Cottle kıkırdak ezici.....	42
<b>Resim 3.4:</b> Çalışmada kullanılan santrifüj cihazı.....	43
<b>Resim 3.5:</b> Santrifüj sonrası elde edilen tüpün içeriği.....	44
<b>Resim 3.6:</b> Tüpten alınarak kırmızı kan hücrelerinden ayrılan trombosit zengin fibrin örneği.....	44
<b>Resim 3.7:</b> Deney hayvanlarının sırtında paraspinal bölgede açılacak subkütan ceplerin işaretlemeleri.....	45
<b>Resim 3.8:</b> Çıplak blok (I), ezilmiş (III) ve doğranmış (V) otolog kıkırdak greftleri ile TZF ile kombine edilmiş blok (II), ezilmiş (IV) ve doğranmış (VI) otolog kıkırdak greftleri.....	46
<b>Resim 3.9:</b> Otolog kıkırdak greftinin yerleştirildiği subkütan cepten çıkartılması...	48
<b>Resim 3.10:</b> Deney hayvanının sırtındaki implantasyon yerlerinden çıkartılan otolog kıkırdak greftleri.....	49

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 2.1:</b> Burun ameliyatlarında kullanılan implant materyalleri ve ilişkili komplikasyon oranları.....	16
<b>Tablo 4.1:</b> Gruplar arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması.....	55

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

<b>Şekil 2.1:</b> Trombositten zengin fibrin hazırlama protokolü.....	34
<b>Şekil 4.1:</b> Kontrol blok kıkırdak grubu ve TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak grubu arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması ***: $p < 0,001$ , **: $p < 0,01$ , *: $p < 0,05$ ; KBK: Kontrol blok kıkırdak, TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak.....	59
<b>Şekil 4.2:</b> Kontrol ezilmiş kıkırdak grubu ve TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak grubu arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması, ***: $p < 0,001$ , **: $p < 0,01$ , *: $p < 0,05$ , KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, TZF-KEK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak.....	60
<b>Şekil 4.3:</b> Kontrol doğranmış kıkırdak grubu ve TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak grubu arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması, ***: $p < 0,001$ , **: $p < 0,01$ , *: $p < 0,05$ , KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak, TZF-KDK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak.....	61
<b>Şekil 4.4:</b> Kontrol kıkırdak grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması, ***: $p < 0,001$ , **: $p < 0,01$ , *: $p < 0,05$ , KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak.....	62
<b>Şekil 4.5:</b> Kontrol kıkırdak grupları arasındaki oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması, ***: $p < 0,001$ , **: $p < 0,01$ , *: $p < 0,05$ , KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak.....	63
<b>Şekil 4.6:</b> TZF ile kombine edilmiş kıkırdak grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması, ***: $p < 0,001$ , **: $p < 0,01$ , *: $p < 0,05$ , TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak.....	64
<b>Şekil 4.7:</b> TZF ile kombine edilmiş kıkırdak grupları arasındaki oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması, ***: $p < 0,001$ , **: $p < 0,01$ , *: $p < 0,05$ , TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak.....	65
<b>Şekil 4.8:</b> Tüm grupların biyokimyasal parametrelerinin değerleri, KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak, TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak.....	66
<b>Şekil 4.9:</b> Tüm grupların oksidatif stres parametrelerinin değerleri, KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak, TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş kıkırdak, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak.....	67
<b>Şekil 4.10:</b> KBK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) ve perikondrium (kırmızı asteriksler) ve çevre bağ doku (mavi yıldızlar) görülmekte (H&E, X100).....	68
<b>Şekil 4.11:</b> KBK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Bağ dokusuna doğru uzanan (yeşil hatla sınırlanan), genişlemiş ve kıkırdak dokusunun normal histolojik görünümünü yer yer kaybettiği proliferasyon alanları görülmekte (siyah oklar). Kıkırdak çevresindeki bağ dokusu içinde bulunan izole kıkırdaklaşma odakları (sarı kesikli çizgili daire ile işaretlenen alan) izlenmekte (H&E, X100.)...	69

<b>Şekil 4.12:</b> KBK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Bağ dokusuna doğru uzanan (yeşil hatla sınırlanan) ve genişlemiş proliferasyon alanları görülmekte. Kıkırdak çevresindeki bağ dokusu içinde bulunan izole kıkırdaklaşma odakları (sarı kesikli çizgili daire ile işaretlenen alan) izlenmekte (H&E, X100).....	70
<b>Şekil 4.13:</b> TZF-BK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) etrafında perikondrium (kırmızı asteriks) ve kıkırdağın periferik bölümlerinde artmış proliferasyon görülmekte. Mavi yıldızlar çevre bağ dokuyu göstermekte (H&E, X100).....	71
<b>Şekil 4.14:</b> TZF-BK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) etrafında perikondrium (kırmızı asteriks) ve kıkırdağın periferik bölümlerinde artmış proliferasyon görülmekte. Mavi yıldızlar çevre bağ dokuyu göstermekte (H&E, X200).....	72
<b>Şekil 4.15:</b> KEK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Kıkırdak dokusunun dejenere olduğu (siyah yıldızlar) görülmekte (H&E, X100).....	73
<b>Şekil 4.16:</b> KEK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Dejenere olan kıkırdak dokusunun yerinde spongiyöz kemik dokusunun (kırmızı çizgi ile sınırlanan alan) yapılandığı saptandı(H&E, X100).....	74
<b>Şekil 4.17:</b> KEK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun yerini almaya başlayan spongiyöz kemik dokuları işaretlenmiştir. Ayrıca kesitte osteoblastlar ile dōşeli kemik dokuları da (BT) görülmekte (H&E, X100).....	75
<b>Şekil 4.18:</b> KEK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun yerini almaya başlayan spongiyöz kemik dokuları işaretlenmiştir. Kesitte osteoblastlar (OB) ile dōşeli kemik dokuları (BT) ve yer yer osteoklastlar (OC) ve trabeküller arasında yerleşen kemik iliği (BM) görülmektedir (H&E, X200).....	76
<b>Şekil 4.19:</b> TZF-EK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun (siyah yıldızlar) yerini almaya başlayan spongiyöz kemik dokuları (BT) işaretlenmiştir. (H&E, X100).....	77
<b>Şekil 4.20:</b> TZF-EK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun (siyah yıldızlar) yerini almaya başlayan spongiyöz kemik dokuları (BT) işaretlenmiştir. Kıkırdak yüzeyine yakın proliferasyon bölgeleri (PPC) çift taraflı kırmızı okla işaretlendi (H&E, X100).....	78
<b>Şekil 4.21:</b> TZF-EK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun (siyah yıldızlar) yerini almaya başlayan spongiyöz kemik (BT) dokuları işaretlenmiştir. Kesitte osteoblastlar (OB) ile dōşeli kemik dokuları (BT) ve trabeküller arasında yerleşen kemik iliği (BM) görülmekte (H&E, X100).....	79
<b>Şekil 4.22:</b> KDK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) ve perikondrium (kırmızı asteriksler) ve çevre bağ doku (mavi yıldızlar) görülmektedir (H&E, X100).....	80
<b>Şekil 4.23:</b> KDK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Dejenere olan kıkırdak dokusu içinde bulunan genişlemiş lakunalar (Kırmızı L), kondrositlerin sitoplazmalarında bulunan irili ufaklı vakuoller (kırmızı V), piknotik nükleuslar (kırmızı PN) görülmekte (H&E, X200).....	81

- Şekil 4.24:** KDK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Kıkırdağın periferik bölümlerindeki proliferasyon alanları (çift taraflı kırmızı ok ve yeşil renk ile sınırlandırılan alan PPC) görülmektedir (H&E, X200).....82
- Şekil 4.25:** KDK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Dejenere olmuş kıkırdak alanlarının (siyah yıldızlar) sıkı bağ dokusu (F) ile istila edildiği alanlar görülmekte (H&E, X100).....83
- Şekil 4.26:** TZF-DK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Yer yer periferik proliferasyon (yeşil çizgi ile sınırlanan) olan sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) görülmekte (H&E, X100).....84
- Şekil 4.27:** TZF-DK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Dejenere kıkırdak alanında (siyah yıldız, sarı çizgi ile sınırlandırılan alanlar) bulunan piknotik nükleuslar (siyah ok başları) ve hücre artıkları görülmekte (H&E, X200).....85
- Şekil 4.28:** TZF-DK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Kıkırdağın (sarı yıldız) periferinden bağ dokusuna ilerleyen geniş proliferasyon alanları (çift taraflı kırmızı ok, PPC) ve bağ dokusu (mavi yıldız) içinde nadir olarak bulunan kemik doku (BT) görülmekte (H&E, X100).....86
- Şekil 4.29:** TZF-DK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna (sarı yıldızlar) ait kesit. Sıkı bağ dokusu (F) etrafında geniş kıkırdaklaşma merkezlerine (CC) rastlandı (H&E, X100).....87
- Şekil 4.30:** A: KBK Grubu, B: KDK Grubu, C: KEK Grubu. Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları görülmekte. Kıkırdak dokusunun orta kısımları (sarı yıldızlar) daha soluk, periferik proliferasyon alanlarının (yeşil asteriksler) daha koyu mavi boyandığı izlenmektedir (Masson Trikrom, X100).....88
- Resim 4.31:** Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları görülmekte. Kıkırdak dokusunun orta kısımları (sarı yıldızlar) daha soluk, periferik proliferasyon alanlarının (yeşil asteriksler) daha koyu mavi olduğu ve lokal proliferasyon alanlarının (mor yıldız) neredeyse boyanmadığı ve çok soluk mavi boyandığı izlenmektedir. BT: Kemik doku (Masson Trikrom, X100).....88
- Şekil 4.32:** Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları görülmekte. A: KBK Grubu, B: TZF-BK Grubu, C: KDK Grubu, D: TZF-DK Grubu. TZF-BK ve TZF-DK gruplarında kıkırdak dokusunun (sarı yıldızlar) KBK ve KDK gruplarına göre daha koyu boyandığı görülmektedir. Yeşil asteriksler periferik proliferasyon alanlarını, mor yıldız lokal proliferasyon alanlarını göstermektedir (Masson Trikrom, X100).....89
- Şekil 4.33:** Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları görülmekte. A: KEK Grubu, B: TZF-EK Grubu. KEK ve TZF-EK gruplarında kıkırdak dokusunun (sarı yıldızlar) Şekil 4.32’ de gösterilen blok ve doğranmış kıkırdak gruplarına göre daha soluk boyandığı görülmektedir. Yeşil asteriksler periferik proliferasyon alanlarını, mor yıldız lokal proliferasyon alanlarını göstermektedir (Masson Trikrom, X100). .....90
- Şekil 4.34:** A: KBK, B: KDK, C: KEK, D: TZF-BK, E: TZF-DK, F: TZF-EK. Orsein ile boyanmış kıkırdak greft dokuları görülmektedir (Orsein, X400).....91
- Şekil 4.35:** A: KDK ve B: TZF-DK. Sarı yıldızlar Orsein ile boyanmış kıkırdak greft dokusunu, yeşil yıldızlar ise periferde yeni oluşan kıkırdak dokusunu göstermektedir. Yeni oluşan kıkırdak dokuda elastik lifler görülmektedir. (Orsein, X200).....91

- Şekil 4.36:** A: KBK, B: KDK, C: KEK, D: TZF-BK, E: TZF-DK, F: TZF-EK. Safranin ile boyanmış kıkırdak greft dokuları görülmektedir (Safranin- O, X100)...92
- Şekil 4.37:** KDK Grubu. Safranin ile boyanmış kıkırdak greft dokusu görülmektedir. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun yerini almaya başlayan spongiyöz kemik dokuları (BT) işaretlenmiştir. Mavi oklara ve kemik dokuya yakın kıkırdak doku matriksinin safranin ile oldukça zayıf boyandığı izlenmektedir (Safranin- O, X100).....93
- Şekil 4.38:** A: KEK, B: TZF-EK. Safranin ile boyanmış kıkırdak grefti dokuları görülmektedir. Kemik dokuya (BT) yakın kıkırdak doku matriksinin safranin ile oldukça zayıf boyandığı, komşu kısımlarının ise safranin ile boyanmadığı izlenmektedir (Safranin- O, X100).....94
- Şekil 4.39:** A: KBK, B: KDK, C: KEK, D: TZF-BK, E: TZF-DK, F: TZF-EK. GFAP poliklonal antikor ile immünohistokimyasal olarak boyanmış kıkırdak greft dokuları görülmektedir (GFAP- Hematoksilen, X200).....95

## TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN'İN BLOK, EZİLMİŞ VE DOĞRANMIŞ KIKIRDAĞA ETKİSİ

### ÖZET

**Giriş:** Burun ameliyatlarında; burun iskeletindeki zayıflık, burunda çeşitli bölgelerde meydana gelen kontur deformiteleri ve düzensizliklerde otolog kıkırdak greftleri ideal greft materyali olarak kullanılmaktadır. Literatürde kıkırdakların blok halinde kullanılması, küp şeklinde doğranması ve ezilmesi gibi çeşitli yöntemler tarif edilmiştir. Ancak her yöntemin kendine özgü avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Otolog kıkırdak greftlerinin canlılığını ve kalıcılığını artırmak, rezorbsiyonunu önlemek, alıcı alanda dağılmasını ve migrasyonunu azaltmak için çeşitli prosedürler uygulanmıştır. Ancak, literatürde bahsi geçen uygulamalar günümüzde olası risk ve problemlere nihai anlamda çözüm getirememiştir. Bu çalışma ile; biyolojik bir doku ürünü olan trombositten zengin fibrin (TZF)'in otolog kıkırdak greftleri üzerindeki potansiyel etkilerinin incelenmesi, farklı formlardaki otolog kıkırdak greftleri ile en uygun kombinasyonunun bulunması ve bu sürecin biyolojik ve fizyolojik mekanizmalarının aydınlatılmaya çalışılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmada ortalama ağırlığı 3000 g (2500 g - 3500 g) olan 24 adet 4-6 aylık Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Her deneğin tek kulağından alınan otolog kıkırdak greftleri blok, ezilmiş ve doğranmış kıkırdak şeklinde altı gruba ayrılmıştır. Blok, ezilmiş ve doğranmış kıkırdaklar kontrol grubuna, TZF ile kombine edilen blok, ezilmiş ve doğranmış kıkırdaklar ise çalışma grubuna dahil edilmiştir. Tavşan venöz kanından santrifüj yoluyla elde edilen, standardizasyonu ve eşit dağılımı sağlanan TZF ile kombine edilen otolog kıkırdak greftleri, kontrol grubu ile karşılıklı olarak deneklerin sırtında paraspinal alanda birbirinden eşit uzaklıklarda subkütan ceplere implante edilmişlerdir. 8 hafta sonra implante edilen subkütan ceplerden çıkartılan otolog kıkırdak greftleri ve TZF ile kombinasyon ürünleri histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal incelemeye alınmışlardır. Kıkırdak dokularının canlılık, proliferasyon ve kondrojenez özelliklerine bakılmıştır. Kıkırdak matriks molekülleri, kollajen ve elastik lif yapıları incelenmiştir. Hücre dışı moleküller ve büyüme faktörlerinin biyobelirteçleri değerlendirilmiştir. Bu konuda gruplar arası çalışması daha önce yapılmamış olan anjiyojenez, oksidatif stres ve apoptoz belirteçleri incelenmiştir. Verilerin analizi için IBM SPSS Statistics 26.0 programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı bulgular için veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Tek yönlü Anova testi kullanılmıştır. Varyans homojenliği Levene testi ile kontrol edilmiştir. Farklılıkları belirlemek üzere tamamlamalı post-hoc analizi olarak Tukey ve Games-Howell testleri kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak belirlenmiştir.

**Bulgular:** Çalışmamızın biyokimyasal analizleri doğrultusunda ELISA ile yapılan ölçümlerde STK-18 M30, TOS ve OSI parametrelerinin düzeylerinin TZF ile kombine edilmiş doğranmış, blok ve ezilmiş kıkırdak gruplarında kontrollerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu, HPR, VEGF, GAG,

TGF- $\beta$ 1, bFGF, HIF-1 $\alpha$ , PDGF, COMP, TAS ve EGF parametrelerinin ise düzeylerinin sırasıyla kontrol doğranmış , blok ve ezilmiş kıkırdak gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğu gösterilmiştir (p < 0,001, p < 0,01, p < 0,01). Histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme bulgularına göre TZF ile kombine edilmiş doğranmış ve blok kıkırdak gruplarında, periferik proliferasyon alanlarının yoğun izlendiği, kollajen, elastik lif ve kıkırdak ESM proteoglikan miktarının daha fazla olduğu görülmüştür. Kontrol ezilmiş kıkırdak grubu kesitlerinde ise belirgin histopatolojik değişikliklerin olduğu, hücre sağ kalımının azaldığı, kıkırdak dokuda yüksek düzeyde dejenerasyonun ve matriks hasarının meydana geldiği, bunun yerini fibrotik bağ dokusu ve kemikleşmenin aldığı izlenmiştir. Grup içi karşılaştırmalarda hem TZF ile kombine edilen gruplarda hem de kontrol gruplarında otolog doğranmış kıkırdak greftleri ve blok kıkırdak greftlerinin, otolog ezilmiş kıkırdak greftlerine göre hücre sağ kalımlarının daha iyi olduğu, dejenerasyon oranlarının daha az olduğu ve kıkırdak ESM matriks bileşenleri yönünden daha zengin oldukları gösterilmiştir.

**Sonuç:** Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, TZF'nin otolog kıkırdak greftlerinde canlılık, hücre sağ kalımı ve hücre proliferasyonu gibi süreçlerde olumlu etkilerinin görüldüğü, anjiyojenezde etkin rol alan faktörlerin düzeylerini artırdığı, kıkırdak dokusu ESM molekülleri üzerinde düzenleyici rol aldığı ve incelenen süre aralığında enflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. TZF'nin doku rejenerasyonu için destekleyici görevi gören, büyüme faktörlerini ve kök hücreleri bir arada tutan, doğal yollarla meydana gelmiş fibrin yapı iskeletinin; büyüme faktörleri ve sitokinleri yavaş ve kontrollü olarak salınımının bu sürece önemli ölçüde katkı yaptığını düşünmekteyiz. Aynı zamanda TZF'nin daha önce otolog kıkırdak greftleri üzerinde incelenmemiş olan oksidatif stres belirteçleri ve apoptotik süreçte hücre sağ kalımı lehine görev üstlendiğini düşünmekteyiz. Bu çalışma ile otolog, aşırı duyarlılık reaksiyonuna sahip olmayan, enfeksiyon riski az, jelatinöz ve membranöz yapısı sayesinde kıkırdak greftlerinin bir arada form oluşturmasına yardımcı olabilecek ve olası migrasyon problemlerini en aza indirebilecek, düşük maliyetli ve hızlı elde edilebilir biyolojik bir doku ürünü olan TZF'nin burun ameliyatlarında olası komplikasyonların en aza indirilebilmesi ve daha öngörülebilir sonuçlar elde edilebilmesi için uygun endikasyonlarda doğranmış ve blok kıkırdak greftlerinin TZF ile birlikte başarılı bir şekilde kullanılabileceğini düşünüyoruz.

**Anahtar kelimeler:** Trombositten Zengin Fibrin; TZF; Otolog Kıkırdak Grefti; Otojen Kıkırdak Grefti; Blok Kıkırdak; Ezilmiş Kıkırdak; Doğranmış Kıkırdak; Rinoplasti.

# EFFECT OF PLATELET RICH FIBRIN ON BLOCK, CRUSHED AND DICED CARTILAGE

## SUMMARY

**Introduction:** In rhinoplasty, autologous cartilage grafts are commonly used as an ideal graft material for addressing weak nasal skeletal structure, contour deformities, and irregularities in various areas of the nose. The literature describes various methods of using cartilage, such as using it in block form, diced form, or crushed form. However, each method has its own advantages and disadvantages. Various procedures have been applied to enhance the viability, survival, and prevent resorption, as well as to reduce dispersion and migration of autologous cartilage grafts. However, the existing practices mentioned in the literature have not provided definitive solutions to potential risks and problems. This study aims to investigate the potential effects of thrombocyte-rich fibrin (PRF), a biological tissue product, on autologous cartilage grafts, determine the optimal combination with different forms of autologous cartilage grafts, and shed light on the biological and physiological mechanisms involved in this process.

**Methods:** The study involved 24 New Zealand rabbits with an average weight of 3000 g (ranging from 2500 g to 3500 g) at the age of 4-6 months. Autologous cartilage grafts were obtained from the single ear of each subject and divided into six groups: block, crushed, and diced cartilage grafts were assigned to the control group, while block, crushed, and diced cartilage grafts combined with TZF were assigned to the study group. Autologous cartilage grafts combined with TZF, which were standardized and equally distributed, were implanted into subcutaneous pockets on the rabbits' backs at equal distances. After 8 weeks, the implanted subcutaneous pockets were dissected, and autologous cartilage grafts and TZF combination products were subjected to histopathological, immunohistochemical, and biochemical examinations. Viability, proliferation, and chondrogenic properties of cartilage tissues have been examined. The cartilage matrix molecules, collagen, and elastic fiber structures have been investigated. The biomarkers of extracellular molecules and growth factors have been evaluated. Angiogenesis, oxidative stress, and apoptosis markers which have not been studied previously regarding PRF and its effects on cartilage grafts were examined. The IBM SPSS Statistics 26.0 program was used for data analysis. Descriptive findings were presented as mean and standard deviation. One-way ANOVA test was used, and variance homogeneity was checked with the Levene test. Tukey and Games-Howell tests were employed as complementary post-hoc analyses to determine differences. The significance level was set at  $p < 0.05$ .

**Results:** According to the biochemical analyses conducted in our study using ELISA, the levels of parameters such as CK-18 M30, TOS, and OSI were significantly lower in the groups combining PRF with crushed, block, and diced cartilage grafts compared to their respective controls ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ). On the other

hand, the levels of parameters HYP, VEGF, GAG, TGF- $\beta$ 1, bFGF, HIF-1 $\alpha$ , PDGF, COMP, TAS, and EGF were significantly higher in the groups combining PRF with crushed, block, and diced cartilage grafts compared to the control group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ). Histopathological and immunohistochemical examination findings revealed that the groups combining PRF with crushed and block cartilage grafts exhibited intense peripheral proliferation areas and higher amounts of collagen, elastic fibers and cartilage extracellular matrix (ECM) proteoglycans. In the control group with crushed cartilage grafts, significant histopathological changes, decreased cell survival, high levels of degeneration and matrix damage in cartilage tissue, and the replacement of fibrotic connective tissue and ossification were observed. In intra-group comparisons, both the groups combining TZF and the control groups showed that autologous diced and block cartilage grafts had better cell survival, lower degeneration rates, and were richer in cartilage ECM matrix components compared to autologous crushed cartilage grafts.

**Conclusion:** The results obtained from our study demonstrated that PRF has positive effects on the viability, cell survival, and cell proliferation processes of autologous cartilage grafts, increases the levels of factors involved in angiogenesis, plays a regulatory role on cartilage tissue ECM molecules, and reduces inflammation during the investigated time interval. We believe that the natural fibrin scaffold of TZF, which acts as a supportive structure for tissue regeneration, holding growth factors and stem cells together and allowing their slow and controlled release, significantly contributes to this process. Additionally, we believe that PRF plays a role in favor of cell survival in oxidative stress markers and apoptotic processes, which have not been previously investigated on autologous cartilage grafts. With this study, we suggest that PRF, as a biologic tissue product that is easily obtainable, cost-effective, has a gelatinous and membranous structure, and neither cause hypersensitivity reactions nor carry a high risk of infection, can be successfully used in combination with diced and block cartilage grafts to minimize complications and achieve more predictable outcomes in nasal surgeries.

**Keywords:** Platelet-Rich Fibrin; PRF; Autologous Cartilage Graft; Autogenous Cartilage Graft; Block Cartilage; Crushed Cartilage; Diced Cartilage; Rhinoplasty.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Burun estetiği ameliyatlarında burun iskeletindeki zayıflık, burunda çeşitli bölgelerde meydana gelen kontür deformiteleri ve düzensizlikler görsel ve fonksiyonel açıdan önemli sorunlara neden olabilmektedir (1-3). Otolog kıkırdak greftleri ideal bir greft materyali olarak bu endikasyonlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Yapısal bütünlük ve hacim restorasyonu sağlamak için kullanılan kıkırdak greftlerinde temel sorun, zamanla meydana gelen hacim kaybı ve greftlerin öngörülemeyen canlılığıdır. Otolog kıkırdak greftlerinin canlılığını ve kalıcılığını artırmak, rezorbsiyonunu önlemek, alıcı alanda dağılmasını ve yer değiştirmesini en aza indirmek için çeşitli metodlar kullanılmış ve greftin farklı malzemelerle sarılması dahil çeşitli prosedürler uygulanmıştır (4-13). Ancak, literatürde bahsi geçen uygulamalar rezorbsiyon, yabancı cisim ve aşırı duyarlılık reaksiyonu, bulaşıcı enfeksiyon riski, doku oksijenizasyonunu engelleme ve kıkırdak sağ kalımını olumsuz yönde etkileme potansiyeli, kıkırdak migrasyonu, donör alanda morbidite, skar ve yüksek maliyet gibi olası risk ve problemlere nihai anlamda çözüm getirememiştir.

Son zamanlarda doku rejenerasyonunu iyileştirmek için farklı endikasyonlarda yeni yaklaşımlar sunan ve birçok büyüme faktörü içeren trombosit konsantrelerinin en yeni formlarından biri olan trombositten zengin fibrin (TZF), eşsiz özellikleri ve potansiyeli sayesinde bu konuda çözüm arayışımızın odağı haline gelmiştir (14-24). Bu çalışma ile, tavşan kulak kıkırdağından elde edilen otolog kıkırdaklar çeşitli formlarda gruplara ayrıştırılmış (blok, ezilmiş ve doğranmış) ve tavşan venöz kanından standardize edilmiş yöntemler ile elde edilen TZF ile kombine edilerek bu kombinasyon ürünlerinin davranış modellerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve etkinliklerinin biyolojik ve fizyolojik mekanizmalarının aydınlatılması amaçlanmıştır (2).

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Kıkırdak Dokusu**

#### **2.1.1 Genel özellikler**

Kıkırdak, mekanik streslere karşı koyan, bunun yanında yumuşak, bükülebilir ve dayanıklı bir matriksi bulunan özelleşmiş bir bağ dokusudur. Normal bağ dokusundan daha dayanıklı ve daha esnektir (25). Kıkırdak dokusu sinirlerden, kan damarları ve lenf damarlarından yoksundur (26). Kıkırdağın önemli görevleri arasında, bazı organların iskeletini oluşturmak, kemiklerin eklem yüzeylerini desteklemek ve fetal iskeletin büyük bir kısmını oluşturmak yer alır. Ayrıca, kıkırdak yumuşak dokulara destek sağlar, eklemlerde pürüzsüz bir alan oluşturarak kaygan bir yüzey sağlar ve esneklik ve mukavemetiyle şok emici olarak görev yapar (26).

#### **2.1.2 Kıkırdak dokusunun yapısı**

Kıkırdak, avasküler bir doku olup kondrosit adı verilen hücrelerin ve zengin miktarda lifin bulunduğu yüksek derecede özelleşmiş bir hücre dışı matriksten (ESM) oluşur (25). ESM kıkırdak dokusunun hacminin %95'ten fazlasını oluşturur.

Kıkırdakta bulunan hücreler, kondrosit adı verilen tek tip hücrelerdir. Matriksin üretimi ve devamlılığı için gerekli olan hücrelerdir (25, 27). ESM içinde kendi lakünalarında tek başlarına veya gruplar halinde bulunurlar.

ESM, hücreler tarafından salgılanan dinamik bir moleküler ağıdır. Nitekim ESM, her doku ve organda yerleşik hücrelerin salgıladığı ürünlerden ve üç boyutlu bir yapı içinde düzenlenmiş yapısal ve işlevsel proteinlerden oluşur. Kıkırdakta ESM, kondrositler tarafından sentezlenir. ESM ise kondrositler için gerekli olan mikroçevreyi oluşturur.

Temel olarak fibröz doku, glikozaminoglikan ve proteoglikandan oluşmakla beraber, kollajen, hyaluronik asid, proteoglikanlar ve çeşitli glikoproteinler bu kıkırdak

matriksinin bütün tiplerinde bulunan ve birbirleri ile etkileşen makromoleküllerdir (25).

Kıkırdak matriksinin tüm ağırlığının %70'i sudur. Kuru ağırlığının %40-70'ini kollajen, %15-40'ını proteoglikan ve %5'ini kondrositler oluşturur (25).

Kıkırdak matriksi proteoglikan agregatlarınca zengindir. Özellikle proteoglikanlar sebebiyle, içerisinde büyük miktarda negatif yük bulunur ve bu durum Na<sup>+</sup> gibi katyonlar için çekici bir etki oluşturur. Sonucunda bol miktarda su tutulur. İnterfibriler matriks genişledikçe yüzeysel kollajen ağı, gerginlik yaratarak karşı bir kuvvet oluşturur. Osmotik basınç ile uygulanan yük arasında bir denge oluşur. Proteoglikan agregatları ve bozulmamış bir kollajen ağı, kıkırdağın basınç ve zorlamalara karşı dirençli olmasının önemli nedenlerindedir (25, 28, 29).

Kıkırdakta damar ağı bulunmaması nedeniyle beslenmesi komşu dokulardan difüzyon yoluyla sağlanır (27). Kıkırdak dokunun kendine özgü bir özelliği olan interstisyel sıvı içerisinde su ve elektrolitlerin serbest akışı, viskoelastisiteyi sağlar ve kondrositlerin beslenmesi için uygun bir ortam oluşturur. Böylece doku canlılığının sürekliliği sağlanır. Bu nedenle, ESM'nin yapısı kondrositlerin hayatta kalabilmesi için son derece önemlidir (27, 30, 31). Kondrositler, diğer avasküler dokuların hücreleri gibi düşük metabolik aktivite sergilerler (25). Beslenme, vasküler bir ağ yerine difüzyon yoluyla gerçekleştiği için kıkırdağın farklı anatomik bölgelere çeşitli şekillerde transfer edilebilmesi mümkündür.

Yaş, travma veya metabolik hastalık gibi durumlarda ESM'nin bileşimi değişebilir. Örneğin, kıkırdak dokuda yaşla birlikte kollajen miktarı artarken, proteoglikan miktarı azalır. Bu değişiklikler sonucunda kıkırdak doku sertleşir ve kalsifiye olabilir. Özellikle yaşlı hastalarda, kostal kıkırdak grefti kullanılmak istendiğinde kalsifiye bir kıkırdakla karşılaşılabilir (25, 28, 29, 32).

### **2.1.2.1 Perikondriyum**

Kıkırdağı dıştan saran sağlam bir bağ dokusudur ve iki katmandan oluşur. Tip I kollajen içeriği yüksektir ve birçok fibroblast içerir. Elastik ve tip I kollajen fibrilleri, çatıyı oluşturan ana bileşenlerdir (33).

Perikondriumun iki katmanlı yapısının dış tabakası (fibröz kat), fibriler yapıda olup çevre bağ dokusu ve damarlarla komşudur. Kıkırdak dokusunun beslenmesinde önemli bir rolü vardır. Avasküler kıkırdağa difüzyon yoluyla vasküler desteği sağlar (34). Eklem yüzeylerinde perikondrium görülmediği için istisna olarak eklem yüzeyleri sinoviyal sıvıdan beslenir (33).

Perikondriumun iç tabakası ise (kondrojenik kat), matriks sentezleme yeteneğine sahiptir ve perikondriyal hücrelerin farklılaşmasıyla kıkırdağın apozisyonel (yüzeyel) büyümesinde rol oynar (35).

Perikondriumun yeni kıkırdak hücreleri oluşturma yeteneği olduğu gösterilmiştir (33). Rejenerasyon genellikle perikondriumun aktivitesi ile meydana gelir. Kıkırdak bütünlüğü bozulduğunda, perikondrium kaynaklı kondroblastlar defekt bölgesine gelir, kondrositlere dönüşür ve kondrositlerin mitoz bölünmesi ile kıkırdak yenilenir. Bu yeni doku, dayanıklı bir matriks oluşturarak çevresindeki kıkırdak hücrelerine doğru genişler. Ancak, yeni oluşan kıkırdak dokusu olgunlaşmış kıkırdağa temas ettiğinde yeni kıkırdak oluşumu durur. Eğer hasar büyükse, perikondrium yeterince hızlı kıkırdak oluşturamaz ve defekt hızla gelişen yoğun bağ dokusuyla kapatılır (36).

### **2.1.2.2 Glikozaminoglikanlar**

Mukopolisakkaritler olarak da bilinen glikozaminoglikanlar (GAG), negatif yüklü polisakkarit bileşikleridir. Her memeli dokusunda bulunan tekrarlayan disakkarit birimlerinden oluşurlar (37). Vücutta bir çok fonksiyonel ve yapısal işlevleri vardır ve bu moleküler yapıları tarafından belirlenir. Tarihsel olarak, GAG'ların işlevinin hücre hidrasyonu ve yapısal iskelet oluşturmak ile sınırlı olduğu düşünülüyordu. Bununla birlikte, artık kanıtlar, GAG'ların, çok sayıda biyokimyasal süreci modüle etmeye hizmet eden hücre sinyalleşmesinde kilit bir rol oynadığını göstermektedir (38). Bu süreçlerin bazıları, hücre büyümesinin ve çoğalmasının düzenlenmesi, hücre adezyonunun teşvik edilmesi ve yara onarımıdır. Dört ana GAG grubu, ana disakkarit birimlerine göre sınıflandırılır ve bunlar heparin/heparan sülfat, kondroitin sülfat/dermatan sülfat, keratan sülfat ve hyalüronik asittir (39).

### **2.1.2.3 Agrekan**

Proteoglikanlar ise çokça glikozillenmiş olan özel bir glikoprotein sınıfını temsil eder. Bir veya daha fazla kovalent bağla eklenmiş glikozaminoglikan (GAG) zincirli bir çekirdek (core) proteinden oluşur. Yani proteoglikanlar, kısaca, proteinlere kovalan olarak bağlanmış glukozaminoglikanlardır. Kıkırdakta en yaygın olarak bulunan proteoglikan agrekan olarak bilinir. Kıkırdak dokusunun %10'u büyük kümeler oluşturan kondroitin sülfat proteoglikan agrekanlarından oluşur. Protein omurgaya kondroitin sülfat ve keratan sülfat zincirlerinin eklenmesiyle agrekan monomeri meydana gelir. ESM'nin stabilizasyonu ve basınca dirençli hidrate jel kıvamında bulunmasında majör görev almaktadır (40-43).

Agrekan, hyalüronanı bağlama yeteneği sayesinde kondrosit-kondrosit ve kondrosit-matriks etkileşimlerine aracılık etmede önemli bir rol oynar (44).

Lokalize yüksek agrekan konsantrasyonları, normal doku fonksiyonu için gerekli olan ozmotik özellikleri sağlar ve GAG'lar, su çekerek doku üzerindeki kompresif yüklere karşı koyan basıncı üretir. Bu işlevsel yetenek, doku ESM'sinde bulunan yüksek GAG/agrekan konsantrasyonuna bağlıdır (45).

### **2.1.2.4 Tip II kollajen**

İnsan vücudunda en çok bulunan protein kollajendir. Kondroblastlar, osteoblastlar, fibroblastlar, endotel hücreleri ve epitel hücreleri dahil olmak üzere birçok hücre tarafından üretilir. Yirmi sekizden fazla kollajen tipi bulunmaktadır. Vücutta en çok tip I, II, III ve IV kollajen bulunur. Bu kollajenlerin yapısını temel olarak glisin, prolin ve hidroksprolin amino asitleri oluşturur. Tip II kollajen, özellikle hiyalin ve elastik kıkırdakta bulunur (28). Kollajenler, geniş bir amorf madde içinde bulunurlar ve kondroitin sülfat ile sıkı bir ilişki içindedirler (25). Kıkırdaktaki proteinlerin %50'sini ve eklem kıkırdağındaki kollajenin %85-90'ını oluşturur. Tip II kollajen fibriller halinde düzenlenir. Bu fibriller kollajen ağı, kıkırdağın proteoglikan agregatlarını tutmasına ve dokuya gerilme kuvveti sağlamasına izin verir (46).

Kıkırdağa spesifik belirteç, COL2A1, kıkırdak matriksinin ana bileşenidir ve diğer proteinler ve proteoglikanlarla birlikte mekanik kuvvetleri taşımak, fizyolojik homeostazı sürdürmek ve kondrositler, ESM molekülleri ve büyüme faktörlerine

bağlantı bölgeleri sağlamak için karmaşık hücre dışı bir yapı iskeleti oluşturur (47). Yapısal işlevlerine ek olarak COL2A1, kondrosit çoğalmasını, metabolizmasını ve farklılaşmasını düzenleyebilen önemli bir ESM sinyal molekülüdür (48-50). OA kıkırdağında tipik patolojik bir değişiklik olarak COL2A1'in bozulması ve azalması sıklıkla gözlenir (51).

#### **2.1.2.5 Hidroksiprolin**

Hidroksiprolin ana yapısal protein olan kollajenin önemli bir bileşenidir. Kollajende ve birkaç hücre dışı molekülde bulunan esansiyel olmayan bir amino asittir. Trans-4-hidroksi-L-prolin ve trans-3-hidroksi-L-prolin olmak üzere iki izomerik formu vardır. Kollajen sentezinde ve kollajen ve ilişkili dokuların üçlü sarmal konformasyonun termodinamik stabilitesinde çok önemli bir rol oynar. Hidroksiprolin metabolizmasında çeşitli bozukluklar farklı hastalıkların patofizyolojisi ve patogeneğinde anahtar rol oynamaktadır. Artan hidroksiprolin seviyesi, örneğin, graft versus host hastalığı, keloidler ve vitiligo gibi çeşitli bozukluklarda gözlenirken, azalan seviyesi, zayıf yara iyileşmesinin bir belirtecidir (52).

ESM bileşenleri, kondrositler tarafından sentezlenir ve salgılanır. Kıkırdakta ağırlıkça en fazla bulunan moleküler bileşen kollajendir (53). Kıkırdakta, tip II kollajen ESM'de fibriller oluşturur ve bunlar kıkırdağın gerilme mukavemetinden büyük ölçüde sorumludur. Her kollajen molekülü içinde, prolin amino asitinin kalıntıları, sentez sırasında enzimatik olarak hidroksillenir. Nispeten az sayıda başka molekül bu modifikasyona uğradığından, hidroksiprolinin ölçümü birçok dokuda kollajeni ölçmek için güvenilir bir yöntem olarak kabul edilir (54).

#### **2.1.2.6 Kıkırdak oligomerik matriks proteini**

Trombospondin-5 olarak da bilinen kıkırdak oligomerik matriks proteini (COMP), öncelikle kıkırdakta bulunan bir ESM proteindir (55, 56).

Eklem kıkırdağının kuru ağırlığının önemli bir kısmı hücre dışı matriks ESM proteinlerinden (tip II kollajen, agrekan, COMP, vb.) oluşur (57-59). ESM proteinleri, kıkırdak dokusu homeostazında önemli belirleyicilerdir ve bu proteinler kıkırdak mikro ortamını oluşturmak için gereklidir. Agrekan, glikozaminoglikan

içeriği nedeniyle kıkırdağın sabit negatif yükünün üretilmesinde kilit bir rol oynayarak su çekme özelliklerini sağlar(60, 61). COMP ise, kıkırdak dokularında anahtar bir moleküller arası köprü görevi gören bir homopentamerdir (62). Başlangıçta kıkırdakta tanımlanmasına rağmen ligamanlar, menisküs, tendonlar, sinovyum, osteoblastlar ve vasküler düz kasta da bulunmaktadır (63, 64).

### **2.1.2.7 Glial fibriler asidik protein**

Glial fibriler asidik protein(GFAP), 1972 yılında ilk kez tanımlanmıştır ve glial hücrelerinin sitoplazmasında bulunan bir ara filament proteini olarak kabul edilir (65). GFAP, özellikle merkezi sinir sisteminde bulunan astrositlerde yoğun olarak izlenir. Vimentin, desmin ve periferin gibi ara filament proteinleri ile aynı aile içinde yer alır. Ara filamentler hücre içi iskeletin bir parçasıdır ve hücrelerin yapısal desteklerini sağlamanın yanı sıra hücre migrasyonu, hücre bölünmesi ve sinyal iletiminde de önemli roller oynarlar. GFAP'ın da hücre bölünmesinde filament ağını düzenleme görevi olduğu gösterilmiştir. Merkezi sinir sistemi dışında Schwann hücreleri, Leydig hücreleri, hipofiz bezi, tükürük bezleri, bazı tümörler ve kıkırdak hücrelerinde de bulunduğu bilinmektedir (66, 67).

### **2.1.3 Kıkırdak dokusunun gelişimi**

Kıkırdak, kondrojenez olarak bilinen süreçle mezoderm germ tabakasından meydana gelir. Mezenkim, hücre dışı matriksin ana bileşenlerini salgılayan hücreler olan kondroblastlara farklılaşır. Kıkırdak oluşumu için bu bileşenlerin en önemlileri agrekan ve tip II kollajendir (31).

Gelişen kondroblastlar ESM sentezini sağlayarak hücreler arasındaki mesafenin açılmasına neden olurlar. Her bir hücre lakün adı verilen kompartmanlara hapsolür ve kondroblastlar artık kondrosit olarak adlandırılır (25).

Kıkırdağın ilerleyen gelişimi, interstisyel ve apozisyonel olmak üzere iki şekilde devam eder (25, 68).

Apozisyonel büyüme perikondriyumda gerçekleşirken, interstisyel büyüme kıkırdağın iç kısmında meydana gelir. Apozisyonel büyümede, perikondriyumun kondrojenik tabakasındaki hücreler kondroblastlara farklılaşır. Kondroblastlar, lifler

ve ESM'yi oluşturarak büyümeyi sağlar ve kondrositlere dönüşür. İnterstisyel büyümede ise kıkırdak içerisindeki kondrositler mitoz bölünmeyle çoğalır ve ESM'yi oluştururlar (69).

İnterstisyel büyüme mevcut olan kondrositlerin mitotik bölünmeleri sonucu meydana gelir. Apozisyonel büyüme ise perikondriumdaki hücrelerin farklılaşması ile olur. Her iki durumda da yeni oluşmuş kondrositler, kollajen liflerinin ve temel maddenin sentezini yaparlar.

Her iki tipte de gelişim çağına dek kıkırdaklaşma süreci devam eder. Perikondriumun kondrojenik kapasitesi korunur ve perikondrium olası kıkırdak hasarında rejenerasyonu sağlar (57, 70-73). Ancak kıkırdak dokunun yenilenmesi sınırlıdır. Bu nedenle, kıkırdağın boyutu ve kütlesi başlangıçtaki kondrifikasyondan sonra önemli ölçüde değişmez (31).

#### **2.1.4 Kıkırdak dokusu tipleri**

Üç farklı kıkırdak tipi bulunmaktadır. Bu kıkırdak tipleri kendi aralarında görünüm açısından farklılıklar gösterir ve matrikslerinin mekanik özellikleri karakteristik özelliklerine göre değişmektedir (25).

##### **2.1.4.1 Hiyalin kıkırdak**

Hiyalin kıkırdak, homojen ve amorf matriksiyle ayırt edilir. Hiyalin kıkırdağın matriksi canlı durumda mavi beyaz-camsı bir görünüm sergiler ve bu nedenle "hiyalin" olarak adlandırılır (Yun. hyalos, camsı). Hiyalin kıkırdak, basit ve hareketsiz homojen bir madde değil, canlı ve kompleks bir dokudur.

Kıkırdak matriksi içerisindeki boşluklara lakünalar denir ve bu lakünalarda kondrositler bulunur. Hiyalin kıkırdak matriksi tip II lifler ve kıkırdağa özgün diğer kollajen molekülleri ile birlikte glikozaminoglikanları içeren proteoglikan kümeleri ve çeşitli yapışkan glikoproteinlerden oluşur (non-kollajen proteinler).

Embriyo döneminde, kemikleşme gerçekleşene kadar hiyalin kıkırdak geçici bir iskelet görevi üstlenir. Yetişkin memelilerde ise hiyalin kıkırdak, hareketli eklemlerde, büyük solunum yollarının duvarlarında (burun, larenks, trakea vb.) ve

kostaların sternuma bağlandığı uçlarda bulunur. Ayrıca, solunum yollarının çökmesini önlemek için inspirasyonda önemli bir rol oynar.

Hiyalin kıkırdak matriksinde ara maddeye gömülü kollajenler yüksek düzeyde su içerir. Proteoglikan ve glikozaminoglikanlar burada jel benzeri bir yapı oluştururlar. Birlikte oluşturdukları ortam su ve elektrolitlerin taşınmasında önemli bir rol almaktadır. Bu durum, hem kıkırdak dokunun dirençliliğini hem de kıkırdağın beslenmesi için ihtiyacı olan difüzyon ortamını sağlar.

Hiyalin kıkırdak, düşük sürtünmeli bir yüzey sahiptir. Sinoviyal eklem yüzeylerinin kayganlaşmasına yardımcı olur ve uygulanan kuvvetlerin dağıtılmasında rol oynar. Ayrıca, basınca karşı dayanıklı bir dokudur. Onarım yeteneği sınırlı olsa da, normal koşullarda yaşam boyu sürtünmeye bağlı yırtılma gerçekleşmez. Ancak, çoğu insan için yaşlanma ile bozulan eklem kıkırdağı bunun bir istisnasıdır. Olgun eklem kıkırdağının yenilenme süreci yavaştır. Yüksek derecede stabil tip II kollajen ağının ve proteoglikan moleküllerinin uzun yarı ömürleri, bu yavaş yenilenme sürecinin sebebi olarak düşünülmektedir (27).

#### **2.1.4.2 Elastik kıkırdak**

Elastik kıkırdak, hyalin kıkırdak matriksinin bileşenlerine ek olarak, dallanan ve birbirleri ile anastomozlar gerçekleştiren yoğun bir elastik lif ağı içerir. Taze elastik kıkırdağın sarımsı bir rengi vardır. Kulak kepçesi, dış kulak yolu, östaki tüpü, epiglot ve aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntılarında bulunur. Çoğu hyalin kıkırdak gibi perikondrium tabakası içerir. Elastik kıkırdağın matriksi yaşlanma sürecinde kalsifiye olmaz, bu da yaşlanma ile birlikte kalsifiye olan hyalin kıkırdaktan farklılık gösterir (25).

#### **2.1.4.3 Fibröz kıkırdak**

Hiyalin kıkırdağın matriks bileşenlerine ek olarak bol miktarda tip I kollajen lifleri ile karakterizedir. Hyalin ve elastik kıkırdaktaki gibi kendisini çevreleyen bir perikondriyumu yoktur. Tipik olarak intervertebral diskte, simfisis pubiste, tendonların kemik yüzeyine tutundukları yerlerde, sternoklaviküler ve temporomandibular eklemlerin artiküler disklerinde bulunur (25).

## **2.2 Burun Ameliyatlarında Kullanılan Greft Materyalleri**

### **2.2.1 Genel bilgiler**

Burnun yapısal bütünlüğünü ve hacmini korumak için çeşitli greftler ve implantlar kullanılabilir. Bu biyomateryaller iki geniş kategoriye ayrılabilir: Aynı türden elde edilen dokulardan türetilen homogreftler; ve aynı hastadan elde edilen kırık kemik, fasya ve dermisi içeren otogreftler. Üçüncü bir kategoride bulunan alloplastik implantlar ise, plastik cerrahide çeşitli uygulamalara sahip biyouyumlu polimerler olarak da adlandırılan sentetik implantlardır.

### **2.2.2 Homolog Greftler**

#### **2.2.2.1 Asellüler allojenik kadavra dermisi**

Homolog greftler, palpe edilebilen veya görülebilen dorsal düzensizliklerin kamufle edilmesinde ve düzeltilmesinde kullanılabilir. Dondurulmuş asellüler allojenik kadavra dermisi (örn. AlloDerm; LifeCell Corp., Palo Alto, CA, Amerika Birleşik Devletleri) ya da asellüler dermal matriks (ADM), konak doku iç büyümesi için kollajen matriksi sağlayan bir greft materyalidir (74-76). Büyük doku uygunluk kompleksi (MHC) sınıf I ve II antijenlerinden yoksun olan bu materyal yüksek oranda biyouyumludur ve immünojenik değildir (74, 77-79). Bu da kalıcı olarak uyum sağlayacak bir matriks oluşturarak konak doku iç büyümesine olanak sağlar ve olası yer değiştirme, ekstrüzyon ve enfeksiyon ihtimalini azaltır (75). Üretici tarafından antibiyotik katkılı bir medium ile sunulur ve bu durum antibiyotiklere duyarlı hastalarda kontrendike olabilir (80).

ADM, dorsal profilde yetersizliği 3 mm' den fazla olan hastalarda veya büyük implantların endike olduğu durumlarda destek grefti olarak kullanılmamalıdır. Bu nedenle çökmüş veya ciddi şekilde travmatize olmuş burunlarda kullanımı sınırlıdır (75, 76, 79).

### **2.2.2.2 Işınlanmış kostal kıkırdak grefti**

Işınlanmış kostal kıkırdak grefti, burnun hemen hemen her türlü yapısal desteği için kullanılabilir (81-86). Donörler, insan immün yetmezlik virüsü (HIV), hepatit B virüsü (HBV), tüberküloz ve diğer zührevi hastalıklar için taranır. Kadavradan kostal kıkırdak elde edildikten sonra 30.000 ila 60.000 Gy' ye kadar ışınlanır. Bu işlem hücrel ve viral patojenleri ortadan kaldırır. Işınlanmış kaburga kıkırdağı grefti kolayca oyulabilir ve şekillendirilebilir. Enfeksiyona karşı direnci, konak fibrovasküler doku iç büyümesine ve zamanla bağ dokusu ile yer değiştirmesine bağlıdır. Hücrel içerikten yoksun olması sebebi ile bu greftler immünojenik değildir ve konak tarafından iyi tolere edilir.

Işınlanmış kostanın en belirgin dezavantajı bükülme ve rezorbsiyon riskinin olmasıdır. Ayrıca enfeksiyon, greftin yer değiştirmesi ve ekstrüzyonu gibi olası erken ve geç komplikasyonlar görülebilir (87). Rezorbsiyon oranları, hastalarda farklı kullanımlarda yüzde 75 gibi yüksek oranlarda rapor edilirken, bazı klinik çalışmalarda daha düşük rezorbsiyon oranları gösterilmiştir (87-89). İlgili çalışmalarda, ışınlanmış kıkırdağın fiziksel özellikleri ve rezorbsiyon oranlarındaki bu değişkenliğin, uygulanan radyasyon dozundan kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Yüksek dozlarda uygulanan radyasyonun, greftin daha bükülgen ve rezorbsiyona daha yatkın hale gelmesine sebep olabileceği belirtilmiştir (90).

Radyasyonlanmış kıkırdak ve asellüler allojenik kadavra dermisi, sanayi üretimi homogreft ürünleri olduğundan maliyet açısından da dezavantajlı ürünlerdir. On yıl önce, kıkırdak allogrefti için tek seçenek ışınlanmış kaburga kıkırdağıydı. Ancak günümüzde modern tıp, taze kadavra kaburga kıkırdağını uygulanabilir ve nispeten daha uygun maliyetli bir seçenek haline getirmiştir.

### **2.2.2.3 Taze dondurulmuş kostal kıkırdak grefti**

Işınlanmış kıkırdak greftlerine başka bir alternatif olan taze donmuş kıkırdak greftleri HIV, HBV ve hepatit C virüsü (HCV) test sonuçları negatif olan, sepsis veya aktif maligniteye sahip olmayan, 55 yaşından genç donörlerden toplanmaktadır. Greftler yumuşak doku eklerinden arındırılarak; kan, lipid ve hücrel bileşenleri

uzaklaştırılmak üzere işlenmekte, antibiyotik solüsyonu ile dekontamine edilmektedir (91).

Işınlanmış kostal kıkırdak greftlerindeki olası bükülme ve rezorbsiyon komplikasyonlarının, bu greftlerin kullanımı ile birlikte azaltılması amaçlanmıştır. İlk çalışmalarda, ekstrüzyon olmaksızın bu anlamda iyi sonuçlar bildirilmesine rağmen, şu anda uzun vadeli sonuçlara ilişkin literatürde sınırlı sayıda veri mevcuttur (91). Işınlanmış greftlerin aksine, greftlerin donmuş olarak nakledilmesi ve saklanması gerekir, bu da maliyetlerini artırır.

### **2.2.3 Alloplastik Materyaller**

Alloplastik materyaller uygun maliyetlidir. Donör alan morbiditesi olmaksızın bol miktarda kullanılabilirler ve belirli bir deformiteye veya ihtiyaca göre uygulanmaları kolaydır. Ancak değişken ekstrüzyon ve enfeksiyon oranları ile ilişkilendirilmişlerdir. Cerrahın seçeneklerinin sınırlı olduğu durumlarda alloplastik materyaller uygun seçim olabilmektedir.

İmplant-konak etkileşimleri ameliyattan uzun bir süre sonra dahi klinik sonuçları etkileyebildiğinden, implant biyolojisinin genel ilkelerini anlamak önemlidir. İmplantlar üzerindeki gözenekler, konak dokunun fibrovasküler büyümesine izin vererek stabiliteyi artırır ve konak savunmasına izin verir. 1  $\mu\text{m}$ ' den büyük porlar potansiyel bakteri geçişine izin verirken, 30 ila 50  $\mu\text{m}$  veya daha büyük olan porlar makrofajların geçişine izin verirler. Tersine, gözeneksiz implantlar bakteri geçişine izin vermez ve yumuşak doku iç büyümesini destekleyemez (92).

İmplant uygulaması ve uygulanan bölge nihai sonucu etkiler. Vücudun harekete eğilimli bölgelerinde uygulanan özellikle sert yapıda olan alloplastik materyaller uygulamanın başarısız olma olasılığını artırır (93, 94). Burun ucu hareketli bir ünite olarak düşünülmelidir ve alloplastik materyal uygulamaları konusunda dikkatli davranılmalıdır (95, 96). İmplantı destekleyecek olan yumuşak doku zarfının kalınlığı ve vaskülaritesi seçilecek olan implantasyon yeri için oldukça önemlidir.

### 2.2.3.1 Silikon

Silikon, göreceli olarak reaktif olmaması nedeniyle yumuşak doku implantı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (97). Tıbbi sınıf kauçuk silikon, esnek ama dayanıklı bir katıdır. Gözeneksiz ve enzimatik bozunmaya dirençlidir (92, 98). Silikon implantlar, cerrahın ihtiyaçlarını karşılamak için kolayca oyulabilir, şekillendirilebilir ve hasar riski olmaksızın otoklavlanabilir (99, 100).

Burun ameliyatlarında silikonun en yaygın kullanımı, burun dorsumu, burun ucu greftleri ve kolumellar strut greftleri ile birlikte uygulanmasıdır. Gözeneklerinin olmaması konak dokunun içe büyümesini engeller (93). Bunun yerine implantın çevresinde implanta destek sağlayan fibröz bir kapsül oluşur. Kapsül ayrıca herhangi bir enfeksiyon ya da komplikasyon durumunda implantın çıkarılmasını teknik olarak kolaylaştırır (93, 101). Fibrovasküler içe büyümenin sağlayacağı fiksasyon olmadığı için implantın mobilizasyonu kronik iltihaplanmaya ve implantın ekstrüzyonu ile birlikte komşu dokuların ve kemiğin nihai erozyonuna neden olabilir (92, 102). Bu durumun, implantasyondan 20 yıl sonra dahi görüldüğü bildirilmiştir (103-105). Literatürde dorsal burun implantları için yüzde 10'a ve kolumellar implantlar için yüzde 50'ye varan ekstrüzyon oranları bildirilmiştir (99, 106).

Kapsülün implant çevresindeki asimetrik kontraktürü zamanla implantı deforme ederek tatmin edici olmayan estetik sonuçlara yol açabilir (93). Fibröz kapsülün zayıf vaskülaritesi, bölgeye antibiyotik infiltrasyonuna karşı bir bariyer görevi görmekte, implantın kapsül içindeki mobilizasyonuna ve ortaya çıkacak olan ölü boşluk ile implantın çıkarılmasını gerektiren ciddi enfeksiyonlara zemin hazırlamaktadır (107-109).

Silikon implantlar, 40 yılı aşkın bir süredir yüz ve burun augmentasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Mevcut literatür implantla ilişkili çeşitli komplikasyon oranları ortaya koymaktadır (103, 110-115). Silikon ile ilişkili enfeksiyon, yer değiştirme ve ekstrüzyon gibi olası komplikasyon eleştirilerine rağmen, özellikle Asya'da augmentasyon için en yaygın kullanılan alloplastik materyal olmaya devam etmektedir (116-118).

### **2.2.3.2 Yüksek yoğunluklu gözenekli polietilen**

1970'lerde geliştirilen Medpor (Porex Medical, Fairburn, GA, Amerika Birleşik Devletleri), yüksek yoğunluklu polietilenden oluşan gözenekli bir augmentasyon materyalidir (119). Nispeten sıkıştırılmaz ve görece esnek bir materyal olan Medpor keskin bir aletle kolayca oyulabilir ve doğrudan hastaya uygulanabilir. Mükemmel biyouyumluluğu sayesinde yüz iskeleti üzerine implant olarak yerleştirilebilir (93). Parçaları gerektiğinde birbirine dikilebilir veya vidalanabilir.

Malzeme biyolojik olarak inerttir ve ortalama 200 µm çapında büyük gözenekleri mevcuttur (119, 120). Bu özellik, önemli miktarda doku iç büyümesine imkan sağlayarak implant fiksasyonunda yüksek başarı, çok düşük rezorbsiyon oranları ve düşük enfeksiyon riski ile karakterizedir (102, 121-123). Bununla birlikte, hareketli ve basınca maruz kalan bölgelere implante edildiğinde kronik bir inflamatuvar yanıtı neden olarak etrafına parçacıklar saçtığı gösterilmiştir (93). Diğer gözenekli materyallerde olduğu gibi, yoğun doku iç büyümesi implantın çıkarılmasını zorlaştırır ve genellikle çevredeki yumuşak dokuların da implant ile birlikte rezeksiyonunu gerektirir. Bazı çalışmalarda ise, yüksek yoğunluklu polietilen implantların burun ucu ve burun dorsumu gibi derinin ince olduğu bölgelerde ekstrüzyonunun görülebildiği belirtilmiştir (120).

Sert bir materyal olması sebebiyle burun augmentasyonunda kullanımı sınırlıdır. Dorsal augmentasyonda kullanıldığında genellikle doğal olmayan bir görünüm ve his uyandırır. Bu durum kenarlarının yumuşatılması ile veya asellüler dermis ya da fasya gibi biyomateryal uygulamaları ile kamufle edilebilir (92, 102, 124).

### **2.2.3.3 Politetrafloroetilen**

Politetrafloroetilen (PTFE), 30 µm büyüklüğüne kadar gözeneklere sahip karbon ve flor moleküllerinden oluşan hidrofobik bir polimerdir; bu, sınırlı yumuşak doku iç büyümesine ve bakteriyel tutunmaya izin verir, böylece yeterli stabilite sağlanır ve gerekli durumlarda kolaylıkla çıkartılabilir (97, 109, 125-127). PTFE, 1971'den beri çeşitli uygulamalar için kullanılmaktadır ve uzun kullanım periyodu boyunca hiçbir biyouyumsuzluk vakası gösterilmemiştir.

PTFE, piyasaya sunulduğundan beri çeşitli uygulamalar için çeşitli ticari isimler altında pazarlanmıştır ve 1993'te Gore-Tex, PTFE subkütan augmentasyon materyali olarak (W.L. Gore Associates, Flagstaff, Arizona, Amerika Birleşik Devletleri) yumuşak doku augmentasyonunda kullanım için onaylanmıştır. 1, 2 ve 4 mm kalınlıklarında olup rinoplasti dahil yüz cerrahisinde kullanılmak üzere makas veya bistüri yardımı ile kolayca bükülebilir ve şekillendirilebilir (93, 125, 128, 129). Minimal sertlik ve tensil kuvvete sahip olması sebebi ile nazal valv, septum, burun ucu veya kolumella rekonstrüksiyonlarında olduğu gibi yapısal destek gerektiren durumlarda kötü bir seçimdir. Küçük düzensizlikleri gizlemek için kamuflaj materyali olarak kullanılabilir, büyük bir defekti doldurmak için ise şekillendirilebilir ve katmanlandırılabilir olmasıyla tercih sebebi olabilmektedir. Bu yumuşak implantın doğal görünümü ve hissi, aşırı rezeksiyon yapılmış olan dorsumlarda da yaygın olarak kullanılmasına yol açmıştır (130-136).

Rinoplastide Gore-Tex ile ilk deneyimler çok iyi sonuçlar vaadediyordu ve greftle ilgili herhangi bir komplikasyon bildirilmemişti ancak yalnızca kısa vadeli takip verileri mevcuttu (131, 132, 134, 137). Daha sonra güvenilirliği üzerine yapılan uzun dönem takipli (40 ay) bir çalışmada, revizyon rinoplasti vakalarının %5,4'ünde ve birincil vakaların %1,2'inde çıkarılmasını gerektiren enfeksiyonların meydana geldiği, oysa hiç ekstrüzyon görülmediği bildirildi (136). Bu çalışmada yazarlar gözlemlerine dayanarak, nazal septal perforasyonun rinoplastide Gore-Tex kullanımına kontrendikasyon olması gerektiğini ve tüm hastalara perioperatif olarak antistafilokokal antibiyoterapi verilmesi gerektiğini savunmuşlardır. Daha sonraki çalışmalar ise, burunda kullanılan Gore-Tex'in enfeksiyona ve ekstrüzyona daha önce inanıldığından daha yatkın olabileceğini göstermektedir (138).

#### **2.2.4 Hidroksiapatit**

Farklı bir implant materyali kategorisi, kemiğin ana inorganik bileşeni olan kalsiyum fosfat bileşiği, hidroksiapatittir  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ . Günümüzde birçok kalsiyum fosfat ve hidroksiapatit biyomateryali mevcuttur ve yüz iskeleti augmentasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Sentetik olarak elde edilebildiği gibi, doğal olarak ya da ksenojenik kaynaklardan elde edilebilmektedir. Kullanımı kolaydır. Donör alan

morbiditesi yoktur. Enfeksiyona dirençlidir. Biyouyumludur ve augmentasyon etkisinin kalıcılığı güvenilirdir (139). Osteokondüksiyona ve osteointegrasyona izin verir (140, 141). Hidroksiapatit granüllerinin glabellar bölge, premaksiller bölge ve burun dorsumunda augmentasyon amaçlı kullanımında iyi sonuçlar bildirilmiştir, ancak uzun vadeli veriler mevcut değildir (142). Olası bir revizyon ihtimalinde materyallerin tamamen çıkarılması zordur.

İmplant materyallerinin listesi ve komplikasyon oranları Tablo 2.1’de gösterilmektedir.

**Tablo 2.1:** Burun ameliyatlarında kullanılan implant materyalleri ve ilişkili komplikasyon oranları.

	Enfeksiyon	Ekstrüzyon	Rezorbsiyon
<b>Homolog Greftler</b>			
Aselüler allojenik kadavra dermisi	Çok düşük	Çok düşük	Orta-yüksek
Işınlanmış kıkırdak grefti	Düşük	Düşük	Orta-yüksek
Taze Dondurulmuş Kostal Kıkırdak Grefti	Çok düşük	Çok düşük	Çok düşük
<b>Alloplastik Materyaller</b>			
Silikon	Düşük-orta	Orta-yüksek	Çok düşük
Yüksek yoğunluklu gözenekli polietilen	Düşük	Orta	Çok düşük
Politetrafloroetilen	Düşük-orta	Düşük	Çok düşük
Hidroksiapatit†	Değişken	Değişken	Değişken

*Çok düşük, yüzde 1'den az; düşük, yüzde 1 ila 5; orta, yüzde 5 ila 15; yüksek, yüzde 15'ten fazla.*

*\*Tablo 1, komplikasyon oranlarının basitleştirilmiş bir özetidir. Komplikasyon oranları implant yeri, greft tipi ve kullanılan tekniğe göre değişmektedir.*

*†Hidroksiapatit için komplikasyon oranları formülasyona, granül boyutuna ve gözenekliliğine göre değişiklik gösterebilir.*

### 2.2.5 Otolog Greftler

Otolog greftler augmentasyon rinoplastisinde altın standart olarak kabul edilmektedirler (143-145). Homolog greftler ve alloplastik implantlarla karşılaştırıldığında, otolog greftler yüksek biyouyumluluk, düşük enfeksiyon oranları ve düşük ekstrüzyon oranlarına sahiptir (146, 147) Bununla birlikte, donör alanda

yeterli doku mevcudiyeti, donör alan morbiditesi ve olası greft rezorbsiyonu otolog greftlerin kullanımını sınırlayabilmektedir.

### **2.2.5.1 Yumuşak doku greftleri**

Dorsal augmentasyon için çeşitli yumuşak dokular greft olarak kullanılabilir. Genel olarak yumuşak dokular hafif ila orta dereceli defektleri doldurmak için kullanılır ve yetersiz augmentasyon en yaygın komplikasyonlarıdır (148, 149).

Yağ ve yağlı fibröz doku, minör kontür düzensizliklerini minimal komplikasyonlarla kamufle edebilir (150, 151). Mikro yağ infüzyonlu yumuşak doku büyütme tekniğinde, mikro yağ yumuşak doku taşıyıcılarına (örn. temporal fasya veya perikondrium) enjekte edilir ve dorsumu augmented etmek için kullanılabilir (152).

Fasya (derin temporal veya rektus), 1 ila 2 mm'lik bir augmentasyon sağlamak için kullanılan, katlanabilen, bükülebilen ve kolayca elde edilebilen bir grefttir (153-155). Birincil olarak özellikle ince derili hastalarda burun dorsumun görünürlüğü azaltmak için kullanılır (143).

Benzer şekilde, dermal greftler, zayıflamış veya ince bir deri zarfına destek olmak için kullanılabilir (143, 156).

Yüz germe ameliyatlarında kullanılan ya da eksize edilen SMAS (yüzeysel musküler aponörotik sistem) dokusunun da dorsal augmentasyonda kullanıldığı ve uzun vadeli iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir (157).

Diğer greftlerle karşılaştırıldığında dorsal augmentasyon için yumuşak dokuların kullanımına ilişkin yayınlar genellikle daha azdır. Mevcut literatürde bu greftlerin kullanımında karşılaşılan komplikasyonlar da (örn. ekstrüzyon, enfeksiyon veya yer değiştirme) nadirdir (148).

Temporoparietal fasya grefti, küçük deformitelerin düzeltilmesinde başarılı sonuçlar sağlamıştır. Ancak, donör alanda geçici veya kalıcı saç dökülmesi gibi sorunlar ortaya çıkabilir, ameliyat süresi uzayabilir ve greftin alıcı alana yerleştirilmesinde zorluk yaşanabilir. Belirtilen durumlar temporoparietal fasya greftinin olası dezavantajlarından bazılarıdır (153, 154, 158).

Dermis grefti uygulamalarında, kist oluşma riski ve donör alanında oluşabilecek skar dikkate alınmalıdır (159).

Rinoplasti sonrası meydana gelen düzensizliklerde yağ enjeksiyonu uygulamaları, %50'ye varan rezorbsiyon oranları ile sonuçlanabilir, bu nedenle sonuçların tahmin edilmesi zor olabilir (160, 161).

SMAS kullanımı sekonder rinoplasti operasyonlarında ve eş zamanlı yüz germe ameliyatlarıyla birlikte mümkündür. Bu durum, elde edilebilecek SMAS dokusu miktarı ile sınırlanır (157).

Tüm otolog dokularda hacim kaybı yaşanır, bu nedenle gerektiğinde ek düzeltmeler yapılması gerekebilir. Otolog materyal kullanımı için gereken miktar ameliyat öncesi tam olarak öngörülemez.

### **2.2.5.2 Kemik greftleri**

Kıkırdak, dorsal augmentasyon için tercih edilen geleneksel greft olmasına rağmen, otolog kemik kaynağı olarak iliak krest, mastoid, olekranon ve kaburga dahil olmak üzere birçok donör bölge mevcuttur ve greft materyali olarak kullanılabilir (147, 148). Kemik, güçlü yapısal destek sağlamak için orta ila büyük defektlerde tercih edilebilir (147). Kemik greftleri kaba ve doğal olmayan bir görünüme neden olabilir ve kıkırdak greftlerine göre rezorbsiyona daha duyarlıdır (162-164). Membranöz kemiğin (örn. bölünmüş kalvarial kemik) endokondral kemikten (örn. iliak krest) daha az rezorbe olması muhtemeldir (97, 109, 165, 166). Greftin rijit fiksasyonu uzun süreli sağ kalıma yardımcı olabilir (167). Bölünmüş kalvaryal kemik, aynı ameliyat sahasında bulunması ve iyi bir yapısal destek sağlaması ile dorsal augmentasyonda kullanım için genellikle tercih edilen kemik greftidir (147, 164). Nadir olmakla birlikte potansiyel komplikasyon olarak hematoma, donör yerinde skar, alopesi, dura yırtıkları ve intrakraniyal kanama görülebilir (164, 167-170). Dorsal augmentasyonda kullanılan kemik greftlerinde ise ekstrüzyon (%3,4 ila 6,3), enfeksiyon (%1,9 ila %5,0) ve yer değiştirme (%1,9 ila %3,6) gibi komplikasyonlarla karşılaşılabilir (167, 171-177).

### **2.2.5.3 Otolog kıkırdak grefti**

#### **Tarihçe**

Günümüz plastik cerrahi uygulamalarında ideal bir greft materyali olarak yaygın şekilde kullanılan otolog kıkırdak greftleri ilk olarak 19. yüzyılın sonlarında König ve Goodale tarafından burun deformitesinin rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır (178).

Mannheim ve Zypkin, 1926'da kostal ve septal kıkırdak greftlerinin canlılığını göstermiştir. Daha sonra, 1941'de Young, doğranmış kıkırdakların canlılığını deneysel olarak kanıtlamış ve 1943'te Peer, doğranmış kıkırdak greftlerini mikrotia ve kafatası kemik depresyonlarında kullanarak klinik uygulamaya geçmiştir (179-181). Peer sonrasında doğranmış kıkırdak greftlerinin kulak çerçevesine kalıp olarak yerleştirilmesi üzerine çalışmalar yapmıştır (182). Peer 'in ilk zamanlardaki çalışmalarına Wilflingseder kraniyoplastilerde kaburgadan elde edilmiş kıkırdak grefti ve doğranmış kıkırdak grefti kullanımı çalışması ile katkıda bulunmuştur (183).

Cottle, 1951'de ilk kez otolog ezilmiş kıkırdak greftlerini rinoplastide nazal kontür düzeltilmesi için kullanmıştır (184).

1992'de, Erol rinoplastide doğranmış kıkırdak kullanımını tekrar popüler hale getirmiştir. Dorsal nazal düzensizliklerin önlenmesi ve düzeltilmesi için 'Türk lokumu' olarak adlandırdığı tekniği geliştirmiştir (9, 185-187). Günümüzde tartışmalı olmakla beraber günlük pratikte sıkça kullanılmaktadır.

#### **Donör alan seçenekleri**

##### **Septal kıkırdak**

Mevcut kıkırdak kaynakları arasında septal kıkırdak, dorsal augmentasyon ve rekonstrüksiyon için en sık kullanılan grefttir (143, 145, 147). Septal kıkırdağın donör greft materyali olarak kullanılması rinoplasti sırasında ek bir insizyon ihtiyacını ortadan kaldırdığı için tercih edilir (97, 147, 188). Hiyalin kıkırdak fenotipi, rijit ancak elastik destek sağlaması ile doğal burun iskeletine benzemektedir

(144, 189). Septal kıkırdak genellikle düzdür ve kullanılacak greftler zamanla minimum bükülme riskiyle belirli defektlere uyacak şekilde kolayca manipüle edilebilir (164, 190). Herhangi bir otolog greftte olduğu gibi rezorbsiyon, ekstrüzyon ve enfeksiyon oranları düşüktür (147). Ancak, bu önemli avantajlarına rağmen, septal kıkırdağın kullanımı genellikle mevcudiyeti nedeniyle sınırlıdır (144). Sekonder rinoplasti, travma veya konjenital eksiklik durumlarında, hastalarda genellikle augmentasyon için yetersiz miktarda septal kıkırdak bulunur (102, 143).

### **Kulak kıkırdağı**

Yeterli septal kıkırdak olmadığı veya ek kıkırdak gerektiğinde, kulak kıkırdağı otolog kıkırdak grefti olarak kullanılabilir başka bir seçenektir. Her bir kulaktan yaklaşık 5 cm<sup>2</sup>'lik greft materyali düşük donör saha morbiditesi ile alınabilir (96, 164). Septal kıkırdaktan farklı olarak, kulak kıkırdağının doğal kurvatürü, greftin istenilen şekle getirilmesini zorlaştırabilir. Elastik kıkırdak olması ile septal kıkırdaktan daha kırılabilir ve daha az rijittir (191-193). Bu dezavantajlarının üstesinden gelebilmek için dorsal augmentasyonda genellikle katmanlı bir şekilde veya birbirine dikilerek kullanılır (143). Kuvvetli yapısal destek gerektiren durumlarda septal veya kostal kıkırdak greftleri ilk seçenektir (97). Kulak kıkırdağı greftleri zamanla eğilme, bükülme ve görülebilen veya hissedilebilen dorsal düzensizlikler gibi deformiteler oluşturmaya eğilimlidir (144). Çalışmalarda revizyon oranlarının yüzde 16'lara kadar çıktığı gösterilmiştir (194). Yerleştirmeden önce kıkırdak greftinin perikondriyumunun çıkarılması eğilme ve bükülmeyi azaltmak için bir teknik olarak önerilmiştir (195). Greftin perikondriyumu ile birlikte taşıyıp skorlamaya olanak sağlanarak kıkırdağın istenilen şekil ve forma kavuşturulabilmesi ise başka bir seçenek olarak literatürde bildirilmiştir (196). Donör alan morbiditesini ve deformitesini en aza indirmek için ameliyat öncesi detaylı planlama ve bu anlamda hastayı bilgilendirme çok önemlidir.

### **Kostal kıkırdak**

Kostal kıkırdağın primer avantajı bol bulunabilirliğidir (197). Travma sonrası rekonstrüksiyonda büyük greft materyali gerektiren ciddi veya kompleks vakalar için

tercih edilir (143, 170, 197, 198). Septal kıkırdağın kısa veya eksik olabildiği özellikle Asyalı ya da Afrika kökenli hastalarda önemli hacimlerde dorsum ve burun ucu augmentasyonu gerektiğinden, sekonder rinoplastilerde olduğu kadar primer rinoplastide de kıkırdak kaynağı olarak sıkça kullanılmaktadır.

Kostal kıkırdağın oyulması ve şekillendirmesi görece kolaydır ve parçalanmadığı takdirde minimal rezorbsiyona uğraması öngörülmektedir (191, 199). Bununla birlikte, kaburga kıkırdağının ileri kalsifikasyonu yaşlı hastalarda şekillendirmeyi daha zor hale getirmekte ve rezorbsiyon oranları kalsifikasyon derecesine göre değişmektedir (192). Kostal kıkırdağın en önemli dezavantajı öngörülemeyen eğrilme potansiyelidir (97, 99, 200, 201). Ameliyat sonrası eğilmeyi en aza indirmek için çeşitli teknikler tanımlanmıştır, en önemlisi Gibson'ın dengeli oyma ilkeleridir (170, 202). Taştan'ın oblik split metodu da en sık kullanılan güncel yöntemler arasında yerini almıştır (203). Greftler ayrıca, oyulmadan ve şekillendirmeden önce kıkırdağın kendiliğinden bükülmesine izin vermek için tuzlu suya batırılabilir. Bu işlem postoperatif ileri bükülme ve eğrilme riskini önemli ölçüde azaltır (170, 202, 204-206). Kirschner telleri gibi sert sentetik destekler de stabilizasyon için kullanılabilir; ancak, Kirschner telleri nispeten yüksek bir ekstrüzyon riskine sahiptir (143, 197, 207-209). Kostal kıkırdağın diğer bir dezavantajı, donör alan morbiditesidir. Kaburga kıkırdağının alınmasından kaynaklanan nadir ancak potansiyel komplikasyonlar arasında pnömotoraks, uzun süreli ağrı, göğüs duvarında skarlaşma ve deformite yer alır (144, 201, 210, 211).

### **Kullanım alanları**

Otolog kıkırdak greftlerinin temel endikasyonları; burun iskeletine yapısal destek sağlanması, kontür deformitelerinin ve düzensizliklerin gizlenmesi ve burnun nihai olarak şekillendirilmesidir. Literatürde ve genel pratikte burun iskeletinin yapılandırılması ya da augmentasyonu istenen durumlarda dayanıklı, eğilmeye ve bükülmeye dirençli bir kıkırdak kullanılması önerilirken, özellikle ince derili hastalarda postoperatif dönemde ödem gerilediğinde kıkırdakların belirgin hale gelebileceği olası deformitelerde ve bölgesel düzensizliklerde kamuflej grefti olarak

daha esnek ve şekillendirilebilir tipte otolog kıkırdak greftleri önerilmektedir (1-3, 178, 212).

Genel olarak bu amaçlarla kıkırdakların blok halinde kullanılması, küp şeklinde doğranması, kıyılması, çeşitli seviyelerde ezilmesi ve dilimlenmesi gibi çeşitli yöntemler tarif edilmiştir (1, 3, 212-215).

Otolog kıkırdak, blok, doğranmış ve ezilmiş gibi çeşitli formlarda greft materyali olarak kullanılabilir. Ancak her tekniğin birbirlerine göre avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır (216).

Blok kıkırdak grefti, tek parça veya blok halindeki kıkırdak greftini tanımlamaktadır. Genellikle septum, kaburga veya kulak gibi donör bölgelerden elde edilir. Rekonstrüktif ve estetik cerrahi prosedürlerinde yapısal destek sağlayan ve istenilen şekil ve kontürü elde etme imkanı veren önemli bir greft materyalidir. Dorsal augmentasyon için blok kıkırdaklar ideal seçeneklerdir; ancak, eğilme, yer değiştirme, rezorbsiyon, enfeksiyon ve gözle görülür kontür düzensizliği gibi bazı olası komplikasyonları mevcuttur (179, 181, 190, 202, 217).

Blok kıkırdak kullanımında meydana gelebilecek olası problemlerin üstesinden gelebilmek için bir alternatif olarak doğranmış kıkırdak zaman içerisinde popülerlik kazanmıştır. Bu yöntemde, katı kıkırdak parçaları ince dilimler halinde kesilir veya doğranır. Doğranmış kıkırdak greftleri, daha esnek ve şekillendirilebilir olmasıyla alıcı bölgeyle uyum sağlamada kolaylık sunar. Dorsal augmentasyonda kontür düzensizlikleri veya asimetriyi düzeltmek için yaygın olarak kullanılırlar.

Başlıca avantajları kolay hazırlanabilmesi ve uzun bir kıkırdak greftinin alınmasına gerek kalmadan ince düzeltmelerin yapılabilmesidir. Ayrıca, doğranmış kıkırdakların daha düşük rezorbsiyon potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Ancak burun dorsumuna yerleştirilmesi zordur, bu da büyük bir dezavantajdır (147, 217-219).

Özellikle dorsal düzensizliklerin giderilmesi ve daha düzgün bir dorsal yüzey elde edilebilmesi için ezilmiş kıkırdak greftleri sıklıkla kullanılmaktadır. Kıkırdaklar genellikle çeşitli derecelerde manuel olarak ezilir veya parçalanır. Özellikle burun ucu ve dorsumunda hacim düzenlemek, şekil vermek veya kontür düzeltmelerinde kullanılmak üzere tercih edilir (199, 214, 220).

Yapısal bütünlük ve hacim restorasyonu sağlamak için kullanılan kıkırdak greftlerinde ortak sorun, zamanla meydana gelen hacim kaybı ve greftlerin öngörülemeyen canlılığıdır. Operasyonun uzun süreli başarısı için kıkırdak greftlerinin hacminin korunması önemlidir. Kıkırdak dokusu, avasküler yapısı nedeniyle sınırlı bir yenilenme kapasitesine sahiptir. Kıkırdak rezorbsiyonunun önlenmesinde son zamanlarda geniş çapta yapılan araştırmalar zorlu bir konu olmaya devam etmektedir (8, 213). Otolog kıkırdak greftleri bağışıklık tepkisini uyarmadıkları için; reddedilme, enfeksiyon ve ekstrüzyon gibi sorunlar ile nadiren karşılaşılır.

Kullanılan otolog kıkırdağın şekil ve yapısına bağlı olarak uzun dönemde eğrilmeler, bükülmeler, kıkırdağın yer değiştirmesi ve dağılması sonucunda burunda meydana gelen düzensizlikler gibi sorunlarla karşılaşılabilir (2, 3, 8, 195, 212, 213).

Günümüzde kıkırdak greftlerinin alıcı alan ihtiyaçlarına, donör alan olanaklarına, cerrahın deneyimine ve/veya birbirlerine olan avantaj ve dezavantajlarına göre farklı endikasyonlarda kullanılmaktadır. İstenilen kontür, hacim ve/veya yapısal desteği sağlamak için uygun olan kıkırdak greftleri tek başına veya başka materyaller ile birlikte kullanılabilir.

### **2.3 Trombositten Zengin Kan Ürünleri**

Yara iyileşmesi, birçok hücrel ve hücre dışı mekanizma tarafından düzenlenen bir süreçtir. Yara iyileşmesinde ve büyüme faktörlerinin salgılanması gibi fizyolojik olaylarda trombositler önemli role sahiptir. Bu sürecin daha başarılı ve hızlı bir şekilde gerçekleşmesi için son yıllarda trombosit ürünleri kullanılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir.

Trombositten zengin kan ürünleri, yara iyileşmesi, rejenerasyon, hemostaz ve yara iyileşme bölgesinde enfeksiyonu önlemek amacıyla uzun yıllardır kullanılmaktadır (221). Trombosit ve lökosit içerikleri, kan kaynaklı trombosit biyomateryallerinin iyileşme üzerindeki etkilerini belirler. Konsantre kan hücrelerinden santrifüj sonrası salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri, doku iyileşmesine olumlu katkı sağladığı için bu ürünlerin kullanımı giderek yaygınlaşmıştır (221, 222).

## 2.3.1 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin İçeriği

### 2.3.1.1 Trombositler

Trombositler, kemik iliğinde bulunan megakaryositlerden köken alan kanın şekilli elemanlarından biridir. Çapları 2 ile 4 µm arasında değişen disk şeklindeki trombositler mitokondri ve mRNA içeren, çekirdeksiz sitoplazma parçacıkları olarak tanımlanmaktadır. Mikrolitrede ortalama trombosit sayısı 200.000-400.000 arasında değişmektedir. Dolaşıma katılmalarının ardından yaklaşık 10 günlük ömrü olan trombositlerin pıhtılaşma mekanizmasında önemli görevleri bulunmaktadır (16). Ayrıca trombositler anjiyojenez, hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonu, kollajen üretimi ve doku rejenerasyonunda etkilidir (223).

Trombositlerin sitoplazmalarında alfa ( $\alpha$ ), delta ( $\delta$ ) ve lambda ( $\lambda$ ) olmak üzere üç tip granül bulunur. Boyut ve içerikleri farklı olan bu granüllerin işlevleri de birbirlerinden farklıdır.

Alfa granüller, trombositlerin majör granülleri olarak kabul edilen, 300-500 nm çapında olan küçük yapılardır. Bu granüller, boyutları ve sayıları bakımından trombositler için önemli bir rol oynarlar. Pıhtılaşma, enflamasyon ve doku iyileşmesinde etkin bir görev üstlenirler. Trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinde, otuzdan fazla biyoaktif protein ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta_1$ ), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi başlıca büyüme faktörleri bulunmaktadır (224, 225).

Delta ( $\delta$ ) granüller, 250–300 nm çapa sahiptir. Elektron mikroskopunda yoğun bir şekilde ışığı absorbe etmeleri nedeniyle yoğun cisimler olarak da bilinirler. Bu granüller kalsiyum iyonları, pirofosfat, adenosin trifosfat (ATP), adenosin difosfat (ADP) gibi protein olmayan moleküllerin yanı sıra serotoninini depolarlar.

Lambda ( $\lambda$ ) granüller, çapları 175-250 nm arasında değişen veziküllerdir ve içerdikleri lizozomal enzimlerle karakterizedirler. Bu granüllerin bakterisidal etkileri bulunmaktadır. Ayrıca pıhtılaşma sürecinde oluşan fazla pıhtıyı çözme rolünü de üstlenirler (226, 227).

Trombositlerin hücre membranı, pıhtılaşma mekanizmasında önemli bir katalizördür (228, 229). Trombin ve kollajen gibi moleküllerin reseptörlerini içeren fosfolipid yapıdaki membran, hemostaza katkıda bulunmak ve hemostazın başlamasını sağlamak için başlangıçta aktive olmalıdır. Trombositlerin degranülasyonu sonucunda sitokinler ve büyüme faktörlerini salgılayarak hücre göçünü ve hücrelerin çoğalmasını uyarır. İyileşmenin ilk adımı bu aşamadır (16, 222, 230).

### **2.3.1.2. Lökositler**

Lökositler, bağışıklık sisteminin öncü hücreleridir. Kendi ürettikleri antikorlar veya fagositoz yoluyla vücuttaki ölü doku artıklarını, mikroorganizmaları ve yabancı partikülleri yok ederler. Sağlıklı bir insanın kanında ortalama olarak mikrolitrede 4000-10000 lökosit bulunur (231, 232).

Lökositler ve trombositler, sitokinlerle büyüme faktörleri arasındaki dengeyi sağlayarak vücutta gerçekleşen anabolik ve katabolik reaksiyonları düzenler. (230).

Yara iyileşmesinde hücrel cevabın oluşmasını sağlayan lökositlerin, immün sistemi regüle edici görevleri bulunmaktadır. Serin proteazların salınımını sağlayarak antimikrobiyal etki göstermektedirler (233, 234). Trombosit konsantrlerinde bulunan lökosit miktarı, immün regülasyona katkıları ve antiinflamatuar etkileri nedeniyle büyük bir öneme sahiptir. Bu etkilerini içerdikleri sitokinler aracılığıyla sağlarlar (235). Lökositler, enflamasyon hücreleri olmanın yanı sıra, içerdikleri antiinflamatuar sitokinler ve opioid peptitlerle patolojik ağrının hafifletilmesinde etkin bir rol oynarlar (230, 236, 237). Lökositler tarafından salınan matriks metalloproteinazlar (MMP); lökositlerin migrasyonunda etkilidir. Ayrıca MMP'lar, doku anjiyogenez, reepitelizasyon, remodeling ve degradasyon süreçlerinde de görev almaktadırlar (233, 234).

### **2.3.1.3 Büyüme Faktörleri**

#### **Trombosit kaynaklı büyüme faktörü**

PDGF, trombosit kaynaklı bir büyüme faktörüdür. Trombositlerin yanı sıra makrofajlar, vasküler endotel hücreleri, fibroblastlar ve keratinositler tarafından da

üretir. PDGF yara iyileşmesinin her aşamasında rol oynar ve yara iyileşmesinde görülen ilk büyüme faktörüdür. Yarı ömrü oldukça kısa olmakla birlikte, ilginç bir şekilde ikinci kuşak trombosit konsantrasyonları tarafından uzun süreli ve yavaş olarak salınan önemli bir büyüme faktörüdür (238).

Nötrofil, makrofaj, fibroblastlar, düz kas hücrelerinin mitogenezi ve kemotaksisini uyarır, kollajen sentezini düzenler (239, 240). Embriyonik gelişim ve doku yenilenme süreçlerinde, endotel anjiyojenezini ve kemotaksisini uyarak görev alır. Bu süreçlerde mezankimatöz hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu uyararak dokuların iyileşme ve yenilenme kabiliyetini destekler (241, 242). Osteoblast ve osteoklastlara etki ederek kemik iyileşmesinde remodeling aşamasında görev alır (240). Bu nedenlerden dolayı PDGF'ler fizyolojik iyileşmede önemli role sahiptirler (243, 244).

Makrofajlardan TGF- $\beta$ 1 üretilmesini ve salınmasını sağlamaktadır. Ayrıca enflamasyonu da stimüle eden PDGF'nin damar matürasyonunda ve kapillerin etrafında perisitlerin toplanmasında önemli rolü bulunmaktadır. Bu sebeplerle PDGF damar yapı bütünlüğünün sağlanmasında rol oynayan önemli bir büyüme faktörüdür (245).

IGF-I ve trombospondin-1 üretimini sağlayarak reepitelizasyonda görev alır. Dokunun tamiri ve rejenerasyonu sürecinde, MMP'ların yardımıyla eski kollajenin yıkımına destek olmaktadır (246-248).

Kronik yaralarda, PDGF düzeyleri azalır. Bu durum, artmış metalloproteinaz aktivitesiyle birlikte, ESM'yi bozar, hücre göçünü ve kollajen birikimini engeller (249). Metalloproteinaz inhibitörleriyle birlikte kullanıldığında, kronik yaralarda bu süreci tersine çevirmenin mümkün olduğu gösterilmiştir. Becaplermin (Regranex, Smith-Nephew, Watford, Birleşik Krallık) rekombinant insan varyantı PDGF'si, kronik yara tedavisi için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış olup, diyabetik ülserli hastalarda başarıyla uygulanmaktadır (250).

### **Dönüştürücü büyüme faktörü-beta**

TGF- $\beta$  ailesi, TGF- $\beta$  1-3, kemik morfojenik protein (BMP) ve aktivin olmak üzere beş proteinden oluşur. Makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler ve trombositler tarafından üretilir. Yara iyileşmesinin enflamasyon, anjiyojenez, reepitelizasyon ve bağ dokusu rejenerasyonu evrelerinde baskındır ve yaralanmanın başlamasıyla ekspresyonu artar. En güçlü fibrozis ajanı olarak bilinir (251, 252). Aynı zamanda yara iyileşmesinin matris oluşumu ve remodeling aşamasında kollajen üretiminde rol alır. Metalloproteinazların güçlü bir inhibitörüdür (250, 253). Hücre mitozunu uyarır ve dokuların kıkırdak veya kemiğe farklılaşmasında yol gösterir(254). Ayrıca VEGF salınımını da artırır (250, 255).

TGF- $\beta$ 1 ayrıca lenfositlerin proliferasyonunu kontrol eder ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir (239, 256, 257). Kronik yaralarda proteolitik enzimler, özellikle nötrofiller tarafından salgılanan elastaz ile yıkılarak önemli ölçüde azalır (250, 253).

### **Vasküler endotelial büyüme faktörü**

Anjiyojenez ve vaskülogenezde başrol oynayan bu glikoprotein; endotelial hücreler, makrofajlar, trombositler, fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından üretilir (258). Hipoksi; PDGF, TGF- $\beta$ 1, bFGF gibi etkenlerin yanında VEGF'yi uyaran başlıca sebeptir (259). Gelişen hipoksi sonucunda VEGF aktivasyonu ile anjiyojenezde artış meydana gelerek doku perfüzyonu tekrar sağlanmış olur. Vaskülogenez ve lenfanjiyojenez sürecinde etkili olan VEGF, fibroblast, inflamatuvar ve endotelial hücre proliferasyonunu artırmaktadır. Ayrıca bu hücrelerin yara bölgesine migrasyonunu indükler ve vasküler geçirgenliği artırmaktadır (260, 261). VEGF, ayrıca kronik enflamasyonda ve tümör oluşumunda da anjiyojenezi teşvik etmektedir. Kan damarlarının gelişimi ile paralel nörogenezi uyarmasıyla sinir onarımında da etkili olduğu öne sürülmüştür (262).

### **İnsülin benzeri büyüme faktörü**

Primer olarak karaciğerde sentezlenen tek zincirli bir polipeptit olan IGF; düz kas, kemik, plasenta gibi dokulardan ve trombositlerden de sentezlenir (263).

Birçok hücrenin proliferasyonu ve diferansiyasyonu üzerine pozitif yönde etkilidir (264). Kıkırdak büyümesini ve kemik matriks oluşumunu stimüle eder, miyoblast ve osteoblastların bölünmesini uyarır (240, 265). İskelet ve kas dokusunda proteolizi inhibe eder. Adipozitler gibi birçok hücrenin farklılaşmasını stimüle eder (263). İnsülin benzeri biyokimyasal ve fonksiyonel özellikler gösteren IGF, mitojenik aktivitenin yanı sıra dokuların rejenerasyonunda da rol almaktadır (266).

İnsülin benzeri büyüme faktörü apoptozun güçlü bir inhibitörüdür. Bu etkileri ne yazık ki tümör hücreleri için de geçerlidir. Gösterdiği antiapoptotik etki ile tümör gelişimi ve hücre ölümü direncinde kilit rol oynar (267, 268).

Lokal olarak PDGF ile kombine edildiğinde yara iyileşmesinin hızını ve kalitesini artırdığı gösterilmiştir (240, 265).

### **Temel fibroblast büyüme faktörü**

bFGF ilk olarak fibroblastlar için mitojenik aktiviteye sahip bir madde olarak tanımlanmıştır. bFGF, endotel hücreleri, fibroblastlar, düz kas hücreleri, kondrositler, trombositler ve mast hücreleri tarafından üretilir. Özellikle yara iyileşmesinde keratinositlerin göçünü hızlandırır, fibroblastların kollajenaz sentezini artırır, anjiyojenezin başlaması için kapiller endotel proliferasyonunu uyarır ve granülasyon dokusunun oluşumunu başlatır. bFGF'nin anjiyojenez, aterogenez, damar yaralanması sonrası endotelial iyileşme, akciğer gelişimi, nöral gelişim, göz gelişimi, prostat büyümesi, kas büyümesi ve gelişimi ve yara iyileşmesinde aktif olarak rol aldığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, bFGF hemen hemen her organ sisteminin gelişimi, yeniden şekillenmesi ve hastalık durumlarında görev alır (250, 265).

### **Epidermal büyüme faktörü**

EGF ilk kez 1962 yılında Cohen tarafından erkek fare submandibuler tükürük bezinden izole edilmiştir (269). Tükürük bezi, böbrek ve tiroid bezinde bol miktarda bulunmaktadır (270). Tükürük ve pankreas bezlerinde büyük miktarlarda üretilen EGF, başlıca bağırsak lümenine salınmaktadır. EGF, böbrekler tarafından süzülerek kısmen kan dolaşımına verilirken, ürogastron şeklinde idrarla atılmaktadır (271).

Etkilerini başlıca sindirim sistemi, üreme sistemi ve sinir sistemi üzerinde göstermektedir. Epidermal büyüme faktörü, hücrelerin bölünmesini, farklılaşmasını, büyümesini ve hücre göçünü uyaran protein yapıda bir büyüme faktörü olup, organizmadaki pek çok fizyolojik ve patolojik süreçte rol almaktadır (272-277).

### **2.3.1.4 Sitokinler**

Sitokinler, birçok farklı hücre tarafından üretilen ve sentezlenebilen, hücre proliferasyonu, immünite ve inflamatuvar olayları düzenleyen polipeptitlerdir. İnflame doku, bağ doku ve bağışıklık hücreleri tarafından salınan parakrin ve otokrin etkili hormon benzeri aktivite gösteren moleküllerdir (278).

TZF içeriğinde inflamatuvar ve antiinflamatuvar özellikte birçok sitokin bulunmaktadır. Bu sitokinlerin en önemlileri; interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interlökin-4 (IL-4), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF-  $\alpha$ )'dır.

Birincil görevi iyileşmenin desteklenmesi olan IL-4 ayrıca lenfosit hücreleri, mast hücreleri, T-lenfosit ve hematopoetik öncü hücrelerin proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu stimüle etmektedir.

Enflamasyon sitokinleri olarak da tanımlanan IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  bu grubun en önemli üyeleridir. IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ile beraber kemik yıkımını artırır ve yeni kemik oluşumuna engel olur (14, 279). IL-1 $\beta$ , enflamasyonun kontrolünde önemli olup yardımcı T lenfositlerin (Th) uyarılmasını sağlamaktadır. IL-1 $\beta$ 'nın diğer görevleri ise; araşidonik asit metabolizmasını düzenlemek, kollajenaz ve hiyalüronidaz aktivasyonunu sağlamak ve vasküler endotelial hücre proliferasyonunu inhibe etmektir (280).

IL-6, enfeksiyonlara ve doku yaralanmalarına cevaben hızlı ve geçici olarak üretilmektedir. Konağın akut faz yanıtında etkili olan IL-6, hematopoezi ve immün reaksiyonları da düzenlemektedir (281, 282).

Güçlü bir proinflamatuvar sitokin olan TNF- $\alpha$ , inflamatuvar hücrelerin sitotoksitesini ve fagositoz kapasitesini, IL-6 ve IL-1 $\beta$  sentezini artırır. Hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonu, anjiyojenez ve apoptoz esnasında önemli rol oynamaktadır (280, 281).

### 2.3.1.5 Fibrinojen ve Fibrin

Pıhtılaşma reaksiyonlarının sonucunda oluşan ve son ürün olan fibrinojen, fibrin monomerlerinin temel molekülüdür. Suda çözünebilen fibrinojen, trombinin etkisiyle su içinde çözünmeyen fibrin yapısına dönüşerek yaranın skatrisyel matriksinin ana bileşenini oluşturur. Fibrinojen, doku hasarına yanıt olarak ortaya çıkan makrofaj ve monositleri düzenleyerek iyileşme sürecinde oluşan rejeneratif ve inflamatuvar reaksiyonları dengeleyen bir rol oynar (283).

Fibrinojenin trombin tarafından aktive edilmesiyle oluşan protein yapıya fibrin denir. Fibrin molekülü, hem plazmada hem de trombositlerin  $\alpha$  granüllerinde bulunur. Hemostaz sırasında trombosit agregasyonunda önemli bir rol oynar. Fibrin pıhtısı, trombosit tıkaçında doğal bir yapıştırıcı olarak işlev görerek yeni oluşan damar ağına koruyucu bir duvar rolü üstlenir (14-18, 221, 222, 284, 285).

Fibrinin yara iyileşmesini hızlandırma, immüniteyi ve reepitelizasyonu artırma gibi mekanizmalarda etkisi bulunmaktadır. Hücrelerin bağlanması ve proliferasyonu için iskelet görevi görmektedir. Fibrin matriksin anjiyojenez üzerindeki etkileri fibrin yapının üç boyutlu anatomisi ve fibrin ağ içerisinde kalan sitokinlerin aktiviteleriyle açıklanır (14-18, 221, 222, 284-288).

Doku mühendisliğinde kullanılan trombosit zengin kan preparatları, yaralanma sonucunda trombosit tıkaçı içinde oluşan fibrin matriksi taklit ederek çeşitli sitokinler ve büyüme faktörlerini içeren ağ benzeri bir yapı oluşturmayı amaçlar. Bu matriksin yapısı, işlevi, fibrinojen konsantrasyonu, stabilizasyon süresi, fibrin sıklığı ve polimerizasyon derecesi uygulanan dokunun rejenerasyon yeteneğini doğrudan etkiler (235, 289, 290).

Trombosit zengin kan preparatlarının içerdiği fibrin ağının özellikleri, kişinin kanında bulunan fibrinojen ve trombin oranına bağlıdır. Yüksek trombin konsantrasyonu hızlı bir polimerizasyona neden olur ve sıkı bir ağ yapısı oluşturur. Bu sıkı ağ yapısı, hücre göçünü ve sitokin salınımını engeller. Öte yandan, yavaş polimerizasyon, sitokin salınımı ve hücre göçüne izin veren esnek bir fibrin ağı oluşmasında rol oynar (14, 237, 288).

### **2.3.2 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin Sınıflandırılması**

Geçmişten günümüze rejeneratif tedavilerde altın standart otolog ürünlerdir (291). Yaygınlaşan doku mühendisliği uygulamaları ile rejeneratif tedavilerde yeni bir dönem başlamıştır (292). Kan, vücudumuzun da yumuşak ve sert doku tamirinde kullandığı en önemli kaynaktır. Farklı formlarda üretilmiş otolog kan konsantreleri, biyolojik ürünler olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır (292-294) Otolog kan konsantrelerinin temel prensibi; periferel kanın santrifüj edilerek hücre ve doku yenilenmesi için önemli olan trombosit, lökosit ve plazma proteinleri gibi içeriklerin konsantre formunu üretmektir (295).

1950'lerin başından beri, kan kaynaklı ürünlerin literatürde çok çeşitli klinik uygulamalarda doku iyileşmesini güçlendirmek için kullanıldıkları bildirilmiştir (296).

Trombosit konsantreleri başlangıçta doku yapıştırıcıları olarak, daha sonraları ise biyolojik materyaller olarak uzun yıllardır kullanılmışlardır (294). Periferel kandan üretilen trombosit konsantreleri 1990'larda tanıtılmış olup, o tarihten bu zamana klinik uygulamadaki kullanımları hızla artmıştır (297, 298). Bu şekilde transfüzyonda kullanılan standart trombosit konsantrasyonları trombositten zengin plazma (TZP) olarak isimlendirilmiştir (290).

#### **2.3.2.1 Trombositten zengin plazma**

Trombositten zengin plazma(TZP), alınan venöz kanın santrifüj işlemlerinden geçirildikten sonra kan elemanlarından trombositlerin ayrıştırılmasıyla elde edilen birinci nesil kan konsantresidir (299-301).

Günümüzde TZP hazırlama ve uygulama protokolleri standardize edilmemiş olsa da, rejeneratif tedavilerde yaygın olarak kullanılmaktadır (302). Şimdiye kadar, otolog tam kandan 40'tan fazla TZP hazırlama tekniği benimsenmiştir (303).

TZP'nin rutin kullanılmaya başlamasıyla birlikte bazı dezavantajlara sahip olduğu görülmüştür.

TZP hazırlama prosedürü iki aşamalı santrifüjden oluşur.

Otolog bir yöntem olarak sunulmuş olmasına rağmen büyüme faktörlerini serbest bırakacak trombositleri aktive etmek ve kanın doğası gereği dakikalar içinde

pıhtılaşma hızı sebebiyle harici TZP'ye ksenojenik sığır trombini veya kalsiyum klorür eklenir (304). Harici biyokimyasalların eklenmesiyle oluşan ürün tamamen otolog olarak tanımlanamaz. Eklenen biyokimyasallar kontaminasyon, alerji ve hipersensitivite riskini artırabilir, sığır trombini kullanımı insan koagülasyon faktörleri ile çapraz reaksiyona giren antikorların oluşmasına neden olabilir ve bu sebeplerle yara iyileşmesi olumsuz etkilenebilmektedir (305, 306).

TZP eldesi sırasında birinci yavaş santrifüjde pıhtılaşma engellenir ve eritrositler çöktürülürken, ikinci hızlı santrifüjde pıhtılaşma yapay olarak sağlanır (307). Yapay pıhtılaşma ile oluşan fibrin matriks yapısı doğal pıhtılaşma ile oluşan fibrin matriks yapısından daha rijittir. Bu yapı, içeriğindeki büyüme faktörlerini kontrollü ve yavaş bir salınımla değil de hızlı ve kısa sürede salınmasına neden olmaktadır (16).

İzolasyonundan TZP'nin uygulanmasına kadar geçen süre önemlidir, çünkü aktif TZP ilk 10 dakika içinde büyüme faktörlerinin %95'ini salgılamaktadır (308, 309).

TZP'nin kısa süreli büyüme faktörü salınımı sebebiyle, rejeneratif fazda klinik iyileşme potansiyeli de sınırlıdır (310, 311).

TZP'nin kalitesi ve terapötik etkinliği, bireyin trombosit konsantrasyonundaki nihai trombosit konsantrasyonuna bağlıdır (308, 309).

TZP hazırlama prosedürleri arasında belirgin farklar bulunmaktadır, bu durum homojen ve ortak bir hazırlama prosedürünün belirlenmesini zorlaştırmaktadır. (308, 309).

Hazırlama sürecinin birçok aşamadan oluşması, biyokimyasal maddelerin eklenerek hazırlanması TZP'nin klinik rutinde kullanımını ayrıntılı, zaman alan ve maliyetli bir prosedür olarak kılmaktadır.

### **2.3.2.2 Trombositten Zengin Fibrin**

Bütün bu sınırlamalar, 2001 yılında Fransa'da Choukroun tarafından geliştirilen ve 2006 yılında Dohan ve arkadaşları tarafından tanıtılan, trombosit zengin fibrin (TZF) olarak adlandırılan, tamamen otolog olan ikinci nesil bir trombosit konsantrasyonunun geliştirilmesinin önünü açmıştır (14, 16, 285).

TZF, lökosit, trombosit ve büyüme faktörleri bakımından zengin bir membran oluşturmayı amaçlamaktadır. Kan alımı sırasında içerisine antikoagülanlar eklenen

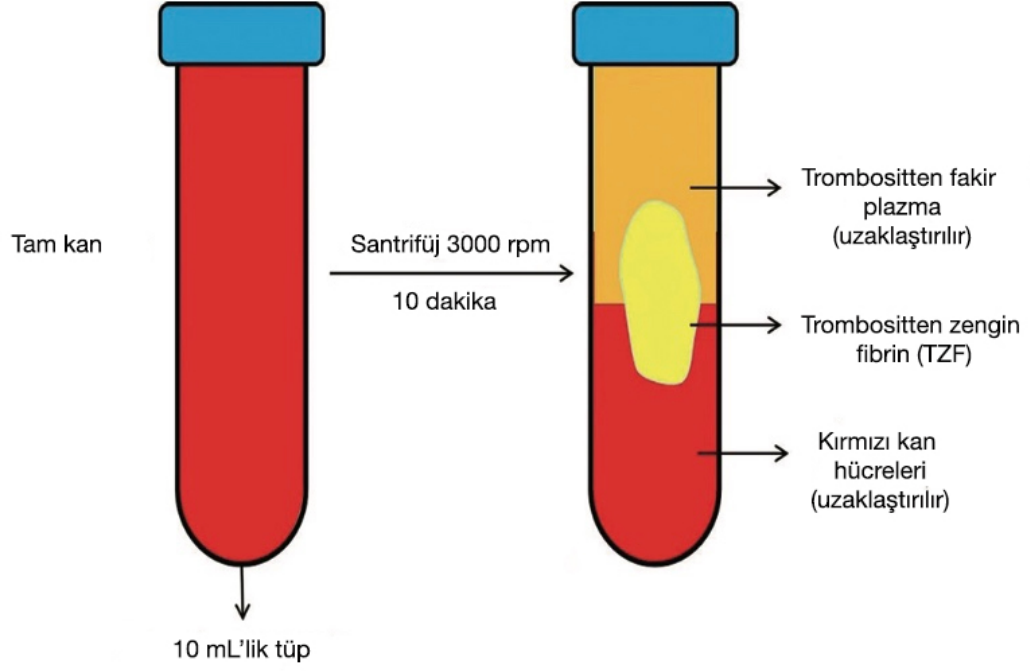
TZP'nin aksine, herhangi bir antikoagülan içermeyen, elde etme süresi ve tekniği açısından daha basit bir prosedür ile tek aşamalı olarak santrifüj edilir ve bu sebeple tamamen otolog bir üründür (312).

TZF üretilirken doğal bir pıhtılaşma süreci meydana gelir ve kanın herhangi bir biyokimyasal modifikasyonuna gerek kalmadan lökosit ve trombosit açısından zengin fibrin pıhtısının kolayca toplanmasına izin verir. Kan alınan tüpe ve santrifüjleme protokolüne bağlı olarak, katı veya sıvı formda bir TZF matriksi oluşturmak mümkündür. Bu prosedür, kan kaynaklı ürünler içinde şimdiye kadar geliştirilmiş en basit ve aynı zamanda ucuz protokoldür (290).

Hastadan alınan venöz kan, 10 ml'lik boş, kuru silika tüplere toplanır ve 2700 rpm'de 12 dakika veya 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilir. Kanın dışarıdan antikoagülan ile karıştırılmaması nedeniyle, kan tüpünün iç yüzeyine temas ettiği anda pıhtılaşma süreci başlar ve trombosit aktivasyonu ile fibrin polimerizasyonu hemen tetiklenir. Santrifüjlemeden sonra kırmızı kan hücreleri temel katmanı, ortada TZF pıhtısından oluşan katman ve asellüler plazma üst katmanı-trombositten fakir plazma(TFP) olacak şekilde üç katman oluşur (Şekil 2.1).

TFP steril bir enjektör kullanılarak uzaklaştırıldıktan sonra, TZF periost elevatörü veya düz ince bir aletin ucu yardımıyla cam yüzeyinden ayrılıp alttaki kırmızı kan hücresi tabakasından kesilerek ayrılır. TZF proksimalindeki kırmızı kan hücreleri ile komşu olan bölge hücre yoğunluğu açısından en zengin bölgedir ve "buffy coat" şeklinde adlandırılır (17, 18). TZF pıhtısı ise, toplanan kandaki trombositlerin ve lökositlerin çoğunun yoğunlaştığı karmaşık üç boyutlu bir yapıya sahip güçlü bir fibrin matriksi oluşturur (14, 313, 314).

Choukroun'un TZF'si, TZP'nin aksine uygulamadan sonra hızla çözülmez. Bunun yerine, güçlü fibrin matriksi, doğal bir kan pıhtısına benzer şekilde yavaşça yeniden şekillendirilir. Bu yöntemde trombositler, lökositler ve sitokinler oluşan fibrin ağı içinde hapsolür. İşlem sırasında trombositler aktive olur ve bu, trombosit ve lökosit büyüme faktörlerinin fibrin matriksine gömülmesine ve proteolizinin önlenmesine yol açar (17, 18).



**Şekil 2.1:** Trombositten zengin fibrin hazırlama protokolü

Trombosit konsantrelerinin en yeni formlarından biri olan trombositten zengin fibrin (TZF), ilk olarak 2000 yılında Choukroun tarafından tanımlanmıştır (16, 313). İkinci nesil bir trombosit konsantresi olan TZF, bir çok trombosit ve lökosit kökenli sitokin (örneğin, IL-1 $\alpha$ , IL-4, IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) içerir ve büyüme faktörleri (PDGF, TGF- $\beta$ 1, IGF, FGF, EGF ve VEGF açısından zengin bir otolog fibrin matrisine sahiptir (14-19, 23, 24, 221, 284, 285, 305, 313).

Trombosit konsantreleri son zamanlarda farklı endikasyonlarda yeni yaklaşımlar sunmuşlardır (23, 302, 315-318).

TZF, içerdiği sitokin, lökosit ve büyüme faktörleri sayesinde büyüme, iyileşme ve enflamasyon için kilit rol oynar. Yapılan çalışmalar TZF'nin büyüme faktörü ve sitokinlerin yavaş ve uzun süreli salınımı sonucu büyümeyi ve iyileşmeyi belirgin şekilde uyardığını ve enflamasyonu düzenlediğini göstermektedir (15, 319-322).

Hücre proliferasyonunu ve anjiyojenezi desteklediği, kemik ve kıkırdak dokusunun onarımına yardımcı olduğu gösterilmiştir.

TZF, kondrosit diferansiyasyonunu ve proliferasyonunu tetikler, matriks biyosentezini uyarır ve kondrositlerde önemli ölçüde kollajen ve proteoglikan sentezine yol açar.

Adeziv özelliğindedir. Bu sayede greft stabilitesini artırmakta, manipülasyonunu kolaylaştırmaktadır. Pıhtılaşmada büyük öneme sahip olan trombospondin-1'in yoğun olarak salınıyor olması hemostaza yardımcı bir ajan olarak da uygulanabileceğini de göstermiştir (16-18, 221, 285, 305, 323). Yağ ve kemik greftlerinin canlılığı ve yara iyileşmesinde olumlu sonuçlar verdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (20-22).

Tamamen otolog olan, immün yanıt ve enfeksiyon riski taşımayan TZF, lökosit migrasyonunu tetiklemesi ile aynı zamanda yara alanını enfeksiyonlardan korumakta görev alır (18). Elde etmesi basit ve pratik, gerek jel gerekse enjekte edilebilir formda elde edilebilen ikinci kuşak bir trombosit ürünüdür (14-18, 315, 324-330).

TZF, 2001 yılında Joseph Choukron tarafından tanıtıldığından beri trombosit ürünlerinin içeriğindeki büyüme faktörü, lökosit ve fibrin matriks oranlarının en ideal kombinasyonlara getirilmesi amacıyla çeşitli modifikasyonlar yapılarak farklı üretim süreçleri denenmektedir. Bu ürünlerin elde edilmesindeki farklılıklar; kan örneği alınan tüpün özellikleri, santrifüj süresi ve santrifüj hızıdır (Şekil 2.9, Şekil 2.10).

Prensip olarak santrifüj zamanının kısaltılması, santrifüj g-kuvvetleri tarafından hücrelerin aşağı çekilmesini azaltır, bu da TZF'nin üst tabakasında kalan toplam hücre sayısını artırır ve fibrin matriksi içinde daha fazla lökositin kalmasını sağlar (331).

TZF'nin gelişimi, yüksek hızlı bir protokole dayalı Lökosit Zengin Trombositten Zengin Fibrinin (TZF) tanıtılmasıyla başladı. Daha sonra, trombosit ve lökosit sayısını artırmak amacıyla, daha düşük g-kuvvetleri ve santrifüj sürelerine sahip Advanced/Geliştirilmiş TZF (G-TZF) ve enjekte edilebilir TZF (i-TZF) tanıtılmıştır (332).

### **Geliştirilmiş TZF**

Santrifüj hızının düşürülmesi ve süresinin uzatılması ile elde edilen trombosit konsantrasyonudur. Bilinen TZF'den fibrin içindeki hücre dağılımı konusunda

nötrofil ve trombosit bazında ayrılır. Standart TZF’de trombositler daha çok kırmızı kan hücrelerinin bitimi ve buffy coat bölgesinde yani fibrinin proksimalinde toplanırken Geliştirilmiş TZF (G-TZF)’de bu dağılım fibrin boyunca daha homojen görülür. 1500 rpm’de 14 dakika yapılan santrifüj için steril düz cam tabanlı tüpler kullanılmaktadır (331).

#### **Geliştirilmiş TZF+**

Bu protokolde ise kan 1300 rpm’de 8 dk santrifüj edilir. Santrifüj süresi ve hızı azaltılarak teorik olarak üst tabakada kalan toplam hücre sayısının ve büyüme faktörlerinin salınımının artacağı savunulmaktadır (331).

#### **Enjekte Edilebilir TZF**

Enjekte edilebilir TZF (i-TZF), santrifüj tüpüne alınan kanın çok düşük bir hızda ve daha kısa bir santrifüj süresi ile elde edilen ve enjekte edilebilir formda olan rejeneratif ajandır. 600 rpm’de 8 dakika santrifüj edilmesi sonucunda elde edilen trombosit konsantrasyonudur. Hem santrifüj süresi hem de kuvvetin azaltılması ile içerisindeki büyüme faktörü, lökosit ve trombosit sayısı standart TZF ye kıyasla fazladır. Diğer prosedürlerle elde edilen TZF çeşitlerine göre fiziksel olarak da akışkan ve enjekte edilebilir olması yine büyük bir avantajdır (295, 333, 334). Greft stabilitesini temin etmek amacıyla kemik greftleri ile karıştırılarak kullanılabilir. Osteoartrit ve temporomandibular eklem rahatsızlıklarının tedavisinde ve yüz estetiğinde kollajen sentezini doğal olarak iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır (335, 336).

#### **Titanyum ile Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin**

Bu ürünler de TZF’ye benzer şekilde tamamen otolog nitelikte olup, polimerizasyon için herhangi bir ilaveye ihtiyaç duymamaktadır (312, 337). Trombosit aktivasyonu sırasında antikoagülansız tüpte bulunan silikaya kıyasla, titanyumun daha etkili bir preparat olduğu hipotezinden yola çıkılarak, silikanın yerine titanyum tüplerin kullanılmasıyla ortaya çıkmıştır. Elde edilen kanın 2800 rpm’de 15 dakika santrifüj

edilmesi ile Titanyum ile Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin (T-TZF) meydana gelir.

T-TZF ve TZF yapısal olarak benzer histolojik yapılara sahip olmalarına rağmen, T-TZF'nin daha küçük mikro boşluklarının olduğu ve daha güçlü, sıkı bir fibrin ağına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu sayede T-TZF'nin dokuda, TZF'ye kıyasla daha uzun süre rezorbe olmaksızın bulunabileceği öne sürülmüştür. Bunun sebebi olarak, santrifüj sırasında titanyum tüpün iç çeperine temasıyla başlayan fibrin polimerizasyonunun silika tüp içerisinde meydana gelen fibrin polimerizasyondan daha iyi olduğu düşünülmüştür. Ancak yapılan çalışmalarda, taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizinde lökosit miktarı ve trombosit aktivasyonunda her iki TZF türü arasında fark bulunmadığı belirtilmiştir (285, 338-340).

Tüm bu TZF ürünlerinin başarısı sürecin hızlı yönetilmesine bağlıdır. Zira klinik olarak yeterli bir TZF oluşturmak için, kanın hızlıca toplanması ve bekletilmeden santrifüj makinesine transferi gerekmektedir. Aksi halde kan tüpün duvarlarına temas eder etmez fibrin polimerizasyonu başlayarak pıhtılaşma meydana gelmektedir. Pıhtılaşma sürecine başlamış bir venöz kanın santrifüjünün ardından az miktarda TZF eldesi olmaktadır (16).

Özet olarak TZE, fibrin bir iskelete sahip olması nedeniyle membranöz-jelatinöz bir yapısının olması alıcı alanda otolog kıkırdak greftleri ile kombinasyonu esnasında ve postoperatif dönemde kıkırdak materyallerini bir arada tutmakta, bu sayede kıkırdak materyallerinin olası yer değiştirme ve dağılma riskini en aza indirmekte ve alıcı alanda düzgün bir kontür oluşturmakta etkin bir rol üstlenmektedir (341). Aynı zamanda büyüme faktörü salınımını bu fibrin pıhtı içerisine sınırlayarak selektif doku onarımı ve yenilenmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (316). Otolog bir ürün olması sebebiyle bulaşıcı enfeksiyon geçişi ve hipersensitivite reaksiyonu gibi riskleri bulunmamaktadır. Hastada ek morbiditeye yol açmadan operasyon esnasında mevcut bulunan damar yolundan eldesi mümkündür. Bu avantajlarının yanı sıra diğer trombosit konsantre ürünlerine göre tek fazlı santrifüj işleminden geçirilmesi, herhangi bir kimyasal madde ya da sıgır trombinini eklenmemesi, maliyetinin düşük olması ve kolay ve hızlı elde edilebilir olması nedeniyle plastik cerrahi alanında giderek daha fazla kullanılmaktadır (341).

### **2.3.2.3 Konsantre büyüme faktörü**

Trombosit ürünlerinin üçüncü ve son jenerasyonu olan konsantre büyüme faktörü (KBF) 2006 yılında Sacco tarafından keşfedilmiştir (342). KBF, TZF eldesindeki prosedüre benzer bir şekilde, ancak farklı bir santrifüj hız protokolü uygulanarak üretilir. Antikoagülan içermeyen 10 mL'lik steril kan tüpüne alınan venöz kan; 2 dakika 2700 rpm, 4 dakika 2400 rpm, 4 dakika 2700 rpm ve 3 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek elde edilir. KBF eldesi basit ve ucuzdur. Sığır trombini veya kalsiyum klorür gibi ekzojen ilaveler gerektirmez. Bu nedenle, çapraz reaksiyon olasılığı düşüktür (10, 343).

TZF'de olduğu gibi benzer fibrin matriksi içeren bir jel tabakasında konsantre edilmektedir (344). Daha yoğun bir fibrin matriksi izolasyonunun sağlanabildiği savunulmaktadır (345). Yüksek vizkozite ve yüksek tensil kuvvetine sahip olmasının bu ürünü erken proteolizden koruduğu belirtilmiştir (337).

İkinci ve üçüncü jenerasyon trombosit konsantreleri arasındaki temel farklar tam olarak belgelenmemiş olsa da fibrin matriks yapılarının ve potansiyel etkilerinin santrifüj prosedürlerindeki değişimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (346).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Çalışmamız, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu tarafından 27.05.2022 tarih ve E.63385 sayılı izin ile onaylanmıştır.

İlgili çalışma, 222S782 proje numarası ile TÜBİTAK 1002-A Hızlı Destek Programı ve 20221002 proje numarası ile Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında destekleri alınarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi Deneysel Hayvan Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

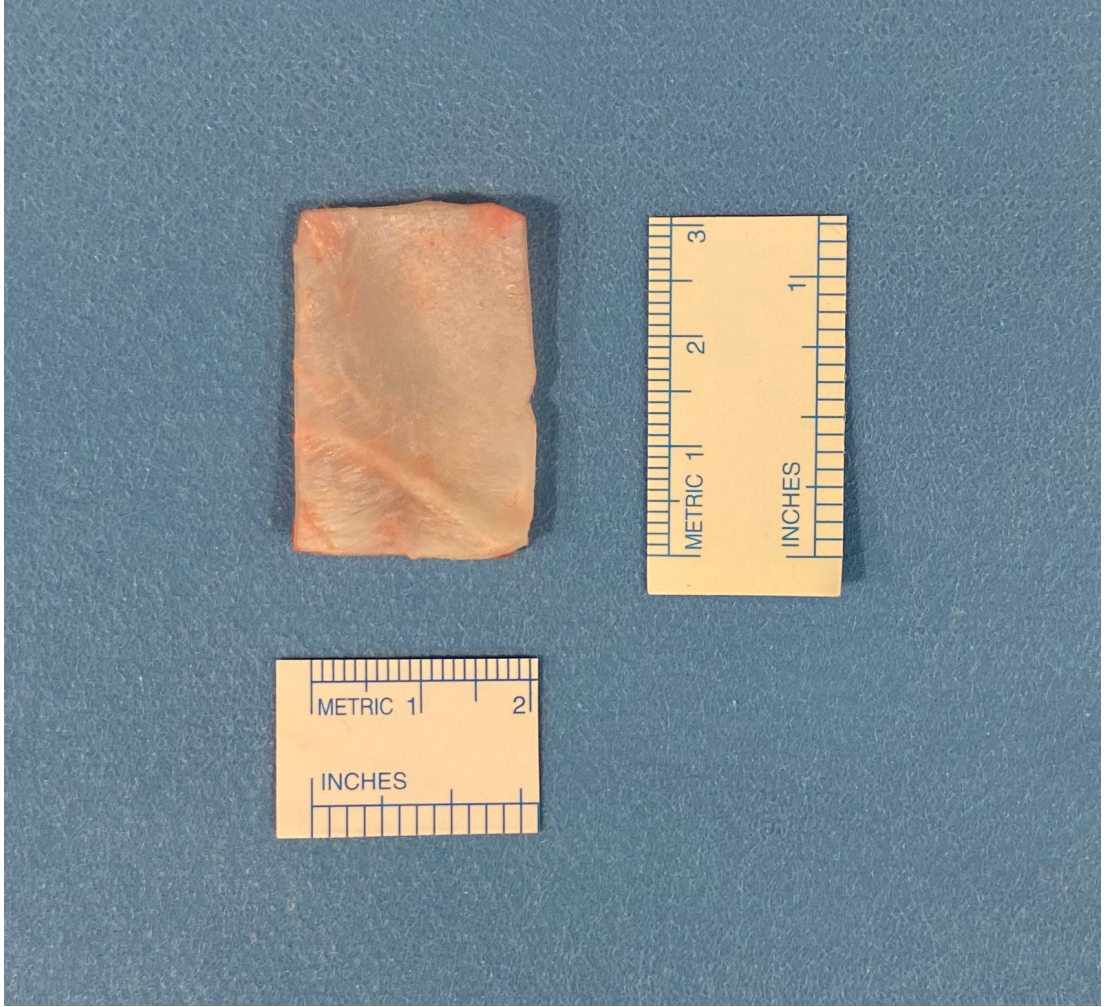
#### **3.1 Denekler ve Çalışma Dizayını**

Hayvan modeli olarak daha önceki çalışmalarda da insan kıkırdağına fizyolojik ve histopatolojik benzerliği gösterilen yetişkin tavşan kulak kıkırdağının eldesi ve takibi amacıyla çalışmamızda ortalama ağırlığı 3000 g (2500 g - 3500 g) olan 24 adet 4-6 aylık Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı (23, 341, 347). Tavşanlar, 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünün standart koşulları altında barındırıldı ve 22-24 °C sıcaklıkta düzenlenmiş hava akışı ve kontrollü neme sahip bir odada tutuldu. Tavşanlar pelet ve musluk suyu ile ad libitum beslendi. Her deneğe intramüsküler 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer, New York, Amerika Birleşik Devletleri) ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer, Leverkusen, Almanya) verilerek anestezi uygulandı.

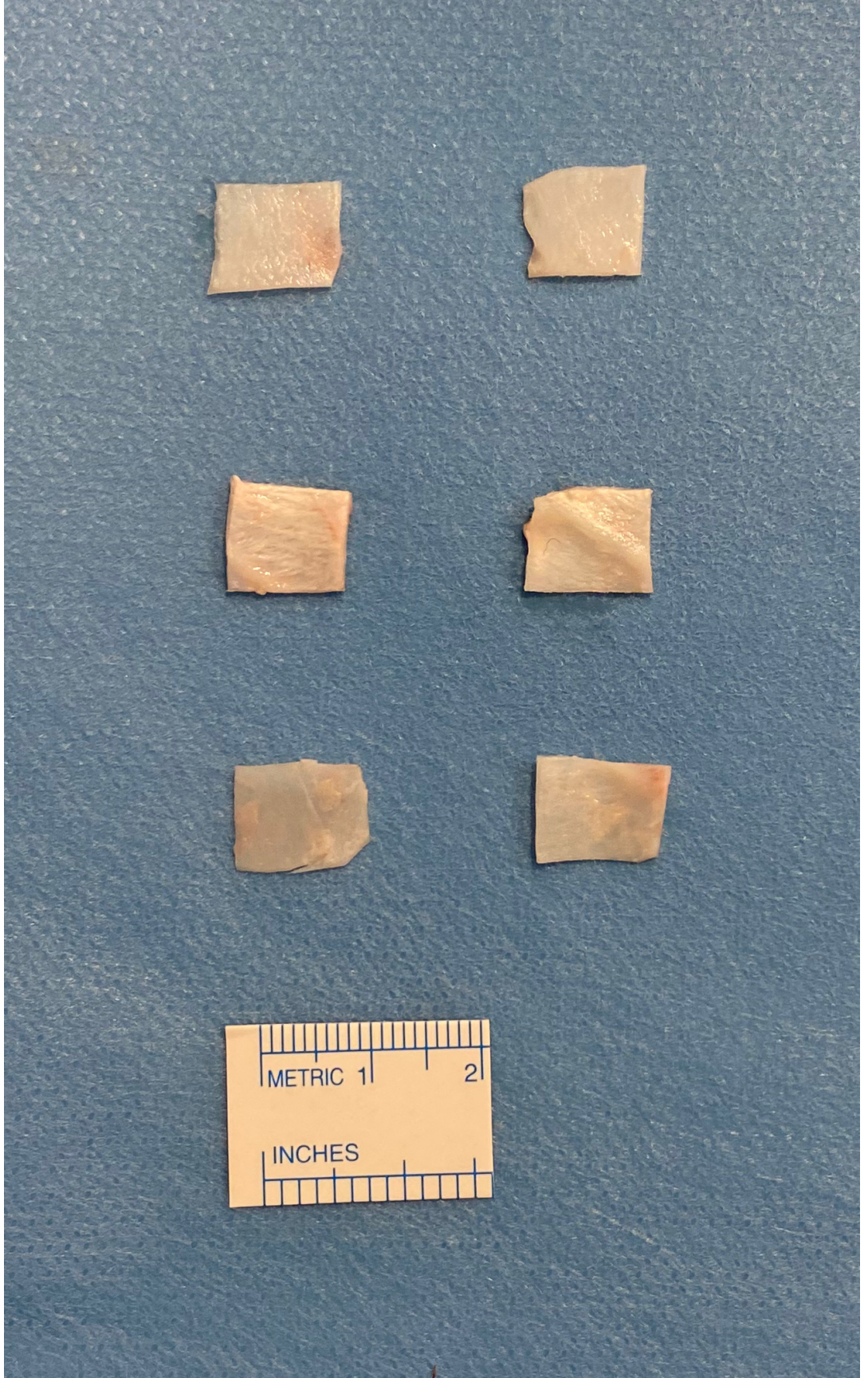
#### **3.2 Kıkırdak Greftlerinin Hazırlanması**

Yeterli anestezi sağlandıktan sonra deney hayvanlarının sağ dış kulakları ile sırt bölgesi paraspinal alandaki derisi geniş bir şekilde tıraş edildi. İşlem sahası povidon iyodin (Betadine; Purdue Pharma LP, Connecticut, Amerika Birleşik Devletleri) solüsyonu ile uygun bir şekilde dezenfekte edildikten sonra cerrahi prosedürler aseptik koşullar altında gerçekleştirildi. Kıkırdak greftleri hazırlanmadan önce deneklere 30 mg/kg sefazolin sodyum (Sefazol, Gensenta İlaç, İstanbul, Türkiye) antibiyotik profilaksisi olarak uygulandı. Hazırlıklar tamamlandıktan sonra dış kulak

yolunun 4 cm distalinden yapılan kesi ile subperikondriyal planda diseksiyon yapılarak bir kulaktan 3x2 cm ebatlarında perikondrium içermeyen kıkırdak grefti alındı (Resim 3.1). Bu kıkırdak greftinden altı adet 1x1 cm ebatlarında kıkırdak greftleri elde edildi (Resim 3.2). Bu greftler kullanılarak ikişer adet 1x1 cm ebatlarında blok kıkırdak, her biri 1 mm<sup>3</sup> hacminde olacak şekilde doğranmış kıkırdak ve orta seviyede ezilmiş kıkırdak greftleri Çakmak tarafından tanımlanmış sınıflandırmaya uygun şekilde hazırlandı. Kıkırdak bölme ve doğrama işlemi 11 numara bistüri; kıkırdak ezme işlemi Cottle kıkırdak ezici yardımıyla yapıldı (23, 213, 341, 348, 349) (Resim 3.3).



**Resim 3.1:** Deney hayvanının kulak kıkırdağından elde edilen 3x2 cm ebatlarındaki kıkırdak grefti



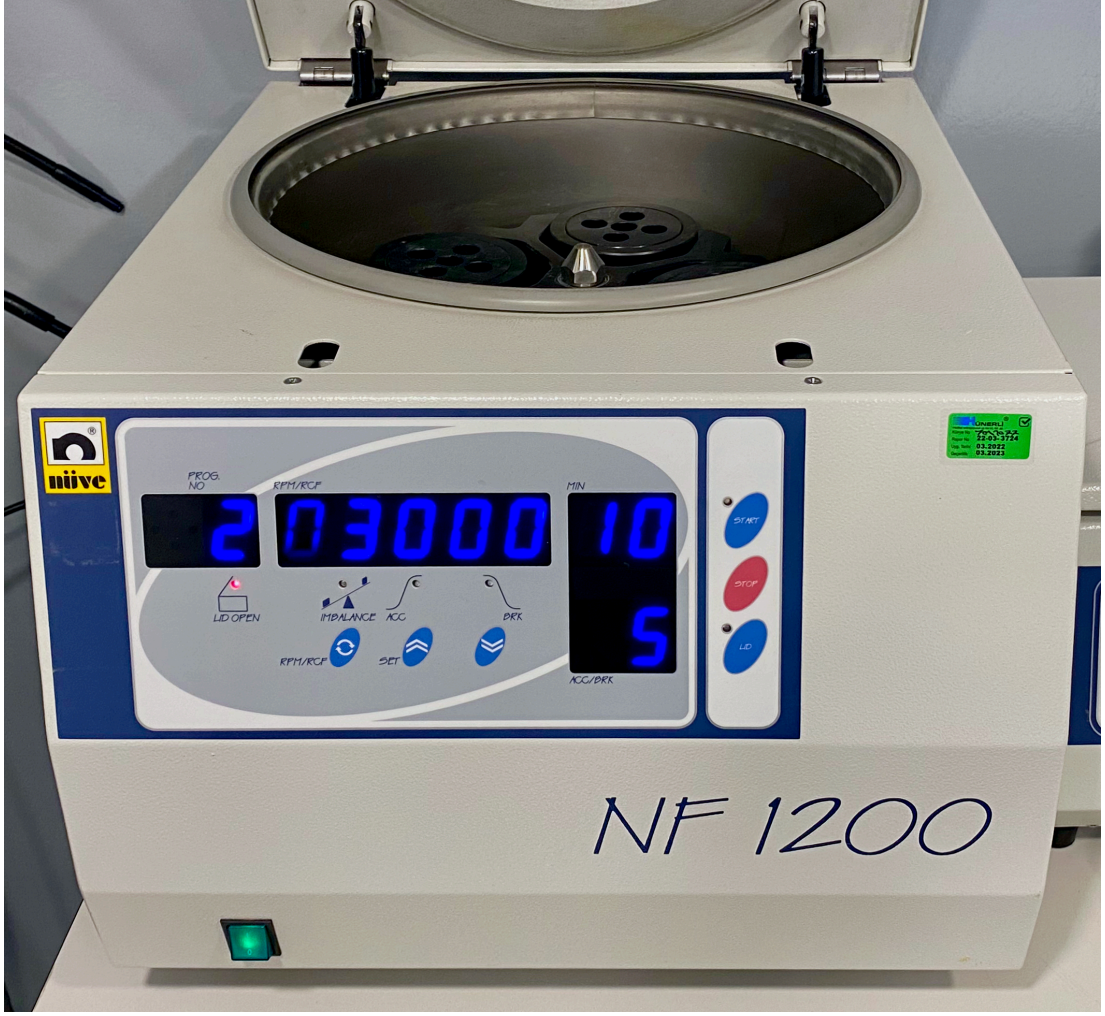
**Resim 3.2:** 3x2 cm ebatlarındaki kıkırdak greftinden elde edilen altı adet 1x1 cm ebatlarındaki kıkırdak grefti



**Resim 3.3:** Cottle kıkırdak ezici

### **3.3 Trombositten Zengin Fibrin (TZF) Eldesi ve Kıkırdak Greftleri ile Kombine Edilmesi**

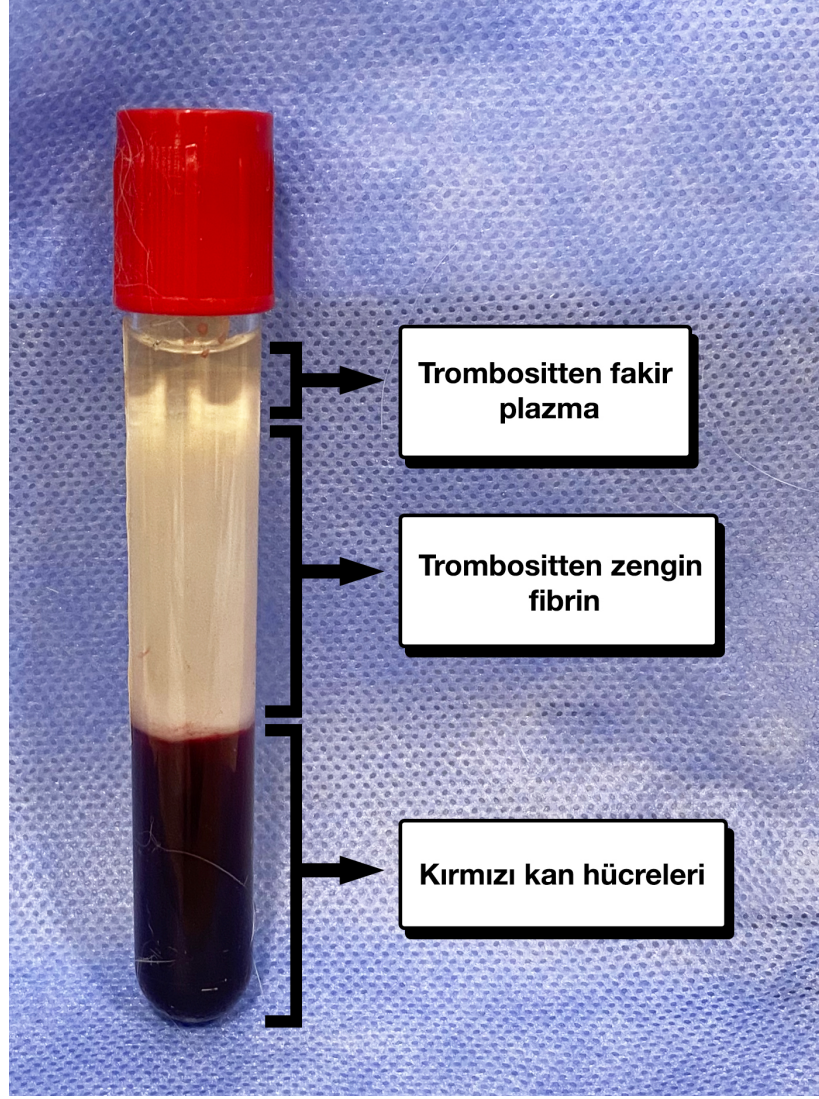
Choukroun yöntemi kullanılarak tavşanlardan alınacak kan örnekleri antikoagülsüz 10 cc'lik venöz kan tüplerine konuldu. Tüpler 3.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi (Nüve NF-800, Ankara, Türkiye)(Resim 3.4). Santrifüj sonrası elde edilen tüpün ortasında biriken TZF, penset yardımı ile tüplerden alınarak kırmızı kan hücrelerinden ayrıldı (16, 313)(Resim 3.5, 3.6). Kıkırdak greftlerini sarmak için yeterli bütünlüğe sahip fibrinli bir zar elde edildiğinden emin olduğunda TZF, 1 cm'ye 1 cm'lik parçalar halinde kesildi ve ardından blok, ezilmiş ve doğranmış kıkırdaklar ile eşit şartlarda kombine edildi (23).



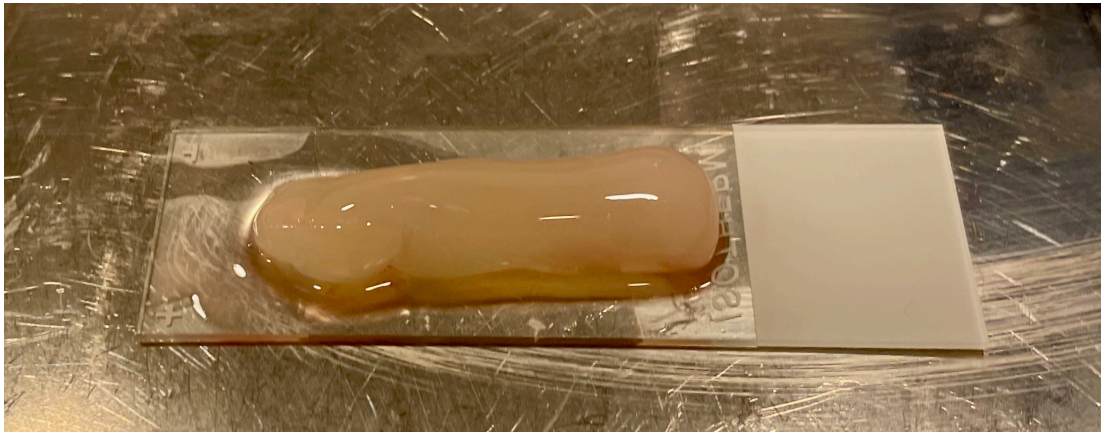
**Resim 3.4:** Çalışmada kullanılan santrifüj cihazı

### **3.4 Kıkırdak Greftlerinin Yerleştirilmesi**

Sırtta paraspinal bölgede orta hattın 3 cm birbirlerinden 5 cm uzakta 1,5 cm uzunluğunda sağ tarafta üç, sol tarafta üç adet olmak üzere subkütan cepler oluşturuldu (Resim 3.7). Blok, ezilmiş ve doğranmış kıkırdak greftleri üç grup çıplak, üç grup TZF ile kombine edilmiş şekilde oluşturulan subkütan ceplere sırasıyla üst, orta ve alt sıralara yerleştirildi. Sol tarafa yerleştirilen çıplak kıkırdak greftleri kontrol grubu olarak kabul edildi. TZF ile kombine edilen greftler ise her hayvanın sağ tarafına belirtilen sıra ile yerleştirildi (Resim 3.8). Toplam altı adet otolog kıkırdak grefti subkütan ceplere implante edildi. İmplantasyondan sonra sırttaki cilt insizyonları 3/0 multifilaman eriyen sütürler (Vicryl, Ethicon, New Jersey, Amerika Birleşik Devletleri) ile suture edildi (23, 213, 341, 348).



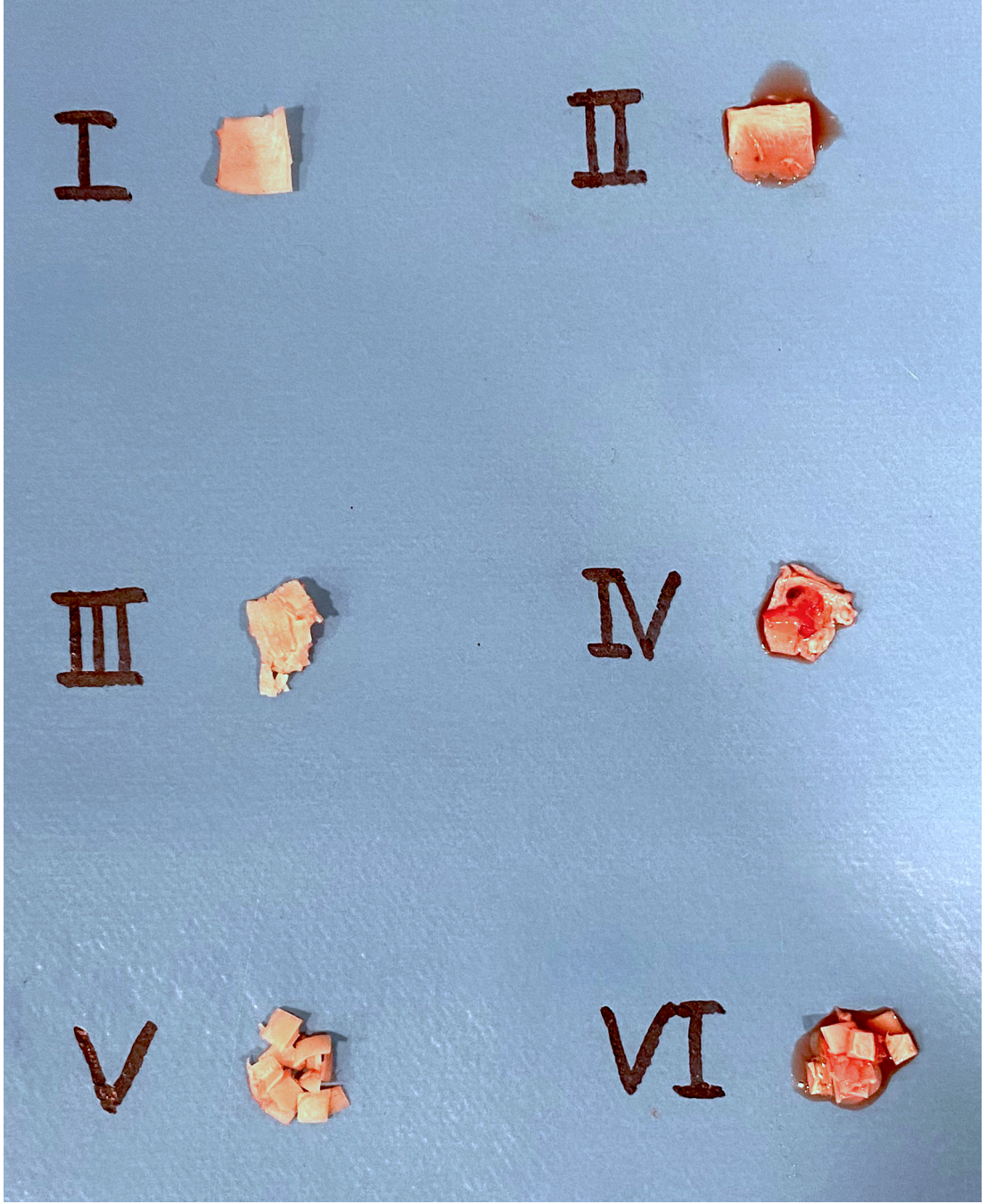
**Resim 3.5:** Santrifüj sonrası elde edilen tüpün içeriği



**Resim 3.6:** Tüpten alınarak kırmızı kan hücrelerinden ayrılan trombositten zengin fibrin örneği



**Resim 3.7:** Deney hayvanlarının sırtında paraspinal bölgede açılacak subkütan ceplerin işaretlemeleri



**Resim 3.8:** Çıplak blok (I), ezilmiş (III) ve doğranmış (V) otolog kıkırdak greftleri ile TZF ile kombine edilmiş blok (II), ezilmiş (IV) ve doğranmış (VI) otolog kıkırdak greftleri

**Grup 1 (Kontrol): Blok kıkırdak (sol üst)**

Tavşan kulak kıkırdağından elde edilen 1x1 cm boyutlarındaki blok kıkırdak grefti tavşanın sırtında paraspinal bölgede sol üst kısımda açılan subkütan cebe implante edildi.

**Grup 2: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak (sağ üst)**

Tavşan kulak kıkırdağından elde edilen 1x1 cm boyutlarındaki blok kıkırdak grefti ile tavşan venöz kanından santrifüj yoluyla elde edilen, standardizasyonu ve eşit dağılımı sağlanan TZF 1x1 cm boyutlarında kesilerek hazırlanan kıkırdak grefti ile kombine edildi ve tavşanın sırtında paraspinal bölgede sağ üst kısımda açılan subkütan cebe implante edildi.

**Grup 3 (Kontrol): Ezilmiş kıkırdak (sol orta)**

Tavşan kulak kıkırdağından elde edilen 1x1 cm boyutlarındaki kıkırdak greftinden orta seviyede ezilmiş kıkırdak grefti hazırlanarak tavşanın sırtında paraspinal bölgede sol orta kısımda açılan subkütan cebe implante edildi.

**Grup 4: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak (sağ orta)**

Tavşan kulak kıkırdağından elde edilen 1x1 cm boyutlarındaki kıkırdak greftinden orta seviyede ezilmiş kıkırdak grefti hazırlandı. Tavşan venöz kanından santrifüj yoluyla elde edilen, standardizasyonu ve eşit dağılımı sağlanan TZF 1x1 cm boyutlarında kesilerek hazırlanan kıkırdak grefti ile kombine edildi ve tavşanın sırtında paraspinal bölgede sağ orta kısımda açılan subkütan cebe implante edildi.

**Grup 5 (Kontrol): Doğranmış kıkırdak (sol alt)**

Tavşan kulak kıkırdağından elde edilen 1x1 cm boyutlarındaki kıkırdak greftinden her biri 1mm<sup>3</sup> partikül boyutlarında olacak şekilde doğranmış kıkırdak grefti hazırlandı ve tavşanın sırtında paraspinal bölgede sol alt kısımda açılan subkütan cebe implante edildi.

**Grup 6: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak (sağ alt)**

Tavşan kulak kıkırdağından elde edilen 1x1 cm boyutlarındaki kıkırdak greftinden her biri 1mm<sup>3</sup> partikül boyutlarında olacak şekilde doğranmış kıkırdak grefti hazırlandı. Tavşan venöz kanından santrifüj yoluyla elde edilen, standardizasyonu ve eşit dağılımı sağlanan TZF 1x1 cm boyutlarında kesilerek hazırlanan kıkırdak grefti ile kombine edildi ve tavşanın sırtında paraspinal bölgede sağ alt kısımda açılan subkütan cebe implante edildi.

### 3.5 Kıkırdak Greftlerinin Çıkartılması

İşlemden sekiz hafta sonra, deney hayvanları daha önce tarif edilen uygun şartlarda yeniden işleme alındı. İmplantasyon yerleri tekrar tıraş edildi. Gruplardaki örnekler eski insizyon hatları açılarak doku bütünlüğü bozulmadan subkütan ceplerden çıkartıldı (Resim 3.9, 3.10). Tüm tavşanlara lethal dozda 150 mg/kg sodyum tiyopental (Pentothal, Sigma-Aldrich Company, Almanya) uygulanarak ötenazi gerçekleştirildi.



**Resim 3.9:** Otolog kıkırdak greftinin yerleştirildiği subkütan cepten çıkartılması



Assay, Thermofisher Scientific, Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak 595 nm'de ölçüldü.

### **Biyokimyasal parametrelerin ölçümü**

HPR (hidroksiprolin), GAG (glukozaminoglikan), COL2A1 (Tip II kollajen alfa-1 zinciri), TGF  $\beta$ -1 (dönüştürücü büyüme faktörü beta-1), bFGF (fibroblast büyüme faktörü), EGF (epidermal büyüme faktörü), VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü), HIF-1 $\alpha$  (hipoksi ile indüklenen faktör-1), PDGF (platelet kaynaklı büyüme faktörü), COMP (kıkırdak oligomerik matriks proteini) ve STK-18 M30 (sitokeratin-18 M30) belirteçleri satın alınan ELISA kitleri ile kendi prospektüslerindeki direktifler doğrultusunda 450 nm'de ölçüldü ve standart grafiğine göre greftlerdeki biyobelirteçlerin konsantrasyonları bulunup mg protein başına normalize edilip sonuçları verildi.

Tüm gruplarda total antioksidan seviyesi (TAS) ve total oksidan seviyesi (TOS) ölçümleri Erel yöntemine göre yapıldı. Total antioksidan durum ölçümü yönteminin prensibi örnekteki antioksidanların koyu mavi-yeşil renkli 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit (ABTS) radikalini renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır (350). Standartlar, greft yerine 0 (standart 1) ve 1 (standart 2) milimolar Trolox ekivalan/litre (mmol Trolox Eq/L) konsantrasyonlarındaki standart çözeltileri kullanılarak çalışıldı. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi ( $\Delta$ Abs) hesaplandı. Greftlerdeki TAS düzeyleri (mmol Trolox Eq/L) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$TAS = (\Delta Abs \text{ standart 1}) - (\Delta Abs \text{ numune}) / (\Delta Abs \text{ standart 1}) - (\Delta Abs \text{ standart 2})$$

Total oksidan seviye ölçümü yönteminin prensibi ise, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır (351). Standart, doku yerine 20 mikromolar hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ekivalan/ litre (mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq/L) içeren dilüe standart çözeltisi kullanılarak çalışıldı. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi ( $\Delta$ Abs) hesaplandı. Greftlerdeki TOS düzeyleri (mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq/L) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$TOS = (\Delta Abs \text{ serum}) / (\Delta Abs \text{ standart}) \times 20$$

Oksidatif Stres İndeksi (OSI) ise  $OSI=TOS/TAS$  formülü ile elde edildi.

Gruplar arasında tüm parametrelerin kantitatif analizleri yapıldı. Yapılan ölçümler istatistiksel olarak değerlendirildi.

### **3.7 Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme**

#### **Örneklerin hazırlanması**

Sakrifiye edilen deneklerden alınan ve ikiye bölünen doku örneklerinin diğer yarısı ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal incelemeler için takibe alındı. Dokular fosfat tamponu (PBS) içinde hazırlanmış %10 tamponlu nötral formaldehitte 1 gün tespit edildikten sonra rutin ışık mikroskop doku takip yöntemine göre dereceli alkollerden geçirilerek dehidrate edilip, ksilolde şeffaflandırıldıktan sonra parafine gömüldü. Doku takibi sırasında optimizasyonun sağlanabilmesi için sabit vakumlu bir doku takip cihazı kullanıldı (Leica, Model TP 1020, Almanya). Parafin bloklardan rotary mikrotom ile 3-4 µm kalınlığında kesitler krom alüm jelatin ile kaplı rodajlı lamlara alınarak histolojik boyamalar yapıldı. Kesitler kıkırdak dokusunun genel yapısını, kondrosit canlılığını, matriks proteoglikan oranını, kollajen ve elastik fibrillerin dağılımını göstermek üzere hematoksilen-eozin (H&E), masson trikrom, orsein ve safranin ile boyandı. İmmünohistokimyasal olarak kıkırdak dokusunun proliferasyonunu ve rejenerasyonunu göstermek için glial fibriler asidik protein (GFAP) bakıldı.

#### **Hematoksilen- Eozin boyama**

Pozitif şarjlı lamlara alınan 3-4 µm kalınlığındaki parafin kesitler 1 gece boyunca etüvde deparafinize edildikten sonra 3 kere 15 dakika ksilolde bekletilip sırasıyla dereceli alkol serisi olan % 96, % 96 ve % 80' lik alkollerde 10'ar dakika bekletilerek rehidrate edildi. Akan su altında 10 dakika yıkandıktan sonra hematoksilende 15 dakika bekletilip akan su altında 10 dakika yıkandı. Yıkama işleminin ardından 2 kere asit alkole batırılıp çıkartılan kesitler akan suyun altında 10 dakika yıkandı. Devamında 2 kere amonyaklı suya batırılıp çıkarıldı ve ardından 60 saniye eozinde bekletilerek boyandı. Dereceli alkol serisinden ( % 80, % 96, % 96' lık alkollerden)

geçirilerek dehidrate edilen kesitler kurutulup, 45 dakika ksilolde bekletildikten sonra Kanada balsamı ile kapatıldı.

### **Masson Trikrom boyama**

Rodajlı lamlara alınan 3-4 µm kalınlığındaki parafin kesitler 1 gece etüvde deparafinize edildikten sonra Masson-Goldner boyama kiti (Sigma- Aldrich, SLBH4504) ile sırayla boyama işlemi yapıldı. 3 kere 15' er dakika ksilolde bekletildikten sonra sırasıyla %96, %96 ve %80' lik alkollerde 10'ar dakika bekletilerek rehidrate edildikten sonra akan suda 10 dakika yıkanıp kullanılmadan önce süzülen Weigert'in Hematoksileni'nde 5 dakika bekletildi. Önce akan suda ardından distile suda 10 dakika yıkandıktan sonra Biebrich Scarlet-asit fuksinde 5 dakika bekletilip akan suda çalkalandı ve fosfotungstik/fosfomolibdik asit solüsyonunda 5 dakika bekletildikten sonra Anilin mavisi solüsyonunda 5 dakika bekletildi ve ardından %1' lik asetik asitte 2 dakika daha bekletildi. Sırasıyla %80, %96, %96' lık alkollerden geçirildikten sonra kurutulup, 45 dakika ksilolde bekletildikten sonra Kanada balsamı ile lamlar kapatıldı.

### **Orsein boyama**

Pozitif şarjlı lamlara alınan 3-4 µm kalınlığındaki parafin kesitler 1 gece etüvde deparafinize edildikten sonra 3 kere 15 dakika ksilolde bekletilip sırasıyla dereceli alkol serisi olan % 96, % 96 ve % 80'lik alkollerde 10' ar dakika bekletilerek rehidrate edildi. Akan su altında 10 dakika yıkandıktan sonra orseinde 30 dakika bekletilip 3 kere 10' ar dakika %70'lik alkolde bekletildi. Ardından akan su altında 10 dakika yıkanıp daha sonra kullanılmadan önce süzülen Weigert' in Hematoksileni' nde 1 dakika bekletildi ve akan su altında 10 dakika yıkandı. Yıkama işleminin ardından 2 kere asit alkole batırılıp çıkartılan kesitler akan suyun altında 10 dakika yıkandı. Devamında 2 kere amonyaklı suya batırılıp çıkarıldı ve ardından 1 dakika eozinde bekletilerek boyandı. Dereceli alkol serisinden (% 80, % 96, % 96' lık alkollerden) geçirilerek dehidrate edilen kesitler kurutulup, 5 dakika ksilolde bekletildikten sonra Kanada balsamı ile kapatıldı.

**Safranin-O boyama:**

Rodajlı lamlara alınan parafin kesitler 1 gece boyunca etüvde deparafinize edildikten sonra 3 kere 15 dakika ksilolde bekletilip sırasıyla dereceli alkol serisi olan % 96, % 96 ve % 80' lik alkollerde 10' ar dakika bekletilerek rehidrate edildi. Akan su altında 10 dakika yıkandıktan sonra hematoksilende 5 dakika bekletilip tekrardan akan su altında 10 dakika yıkandı. Yıkama işleminin ardından 1 kere asit alkole batırılıp çıkartılan kesitler akan suyun altında 10 dakika yıkandı. Devamında 2 kere amonyaklı suya batırılıp çıkarıldı ve ardından 5 dakika Fast Green'de bekletilerek boyandı. Ardından 1 kere asit alkole batırılıp çıkartılan kesitler 15 dakika Safranin O' da tutuldu ve sonrasında musluk suyu altında yıkandı. Dereceli alkol serisinden ( % 80, % 96, % 96' lık alkollerden) geçirilerek dehidrate edilen kesitler kurutulup, 7 dakika ksilolde bekletildikten sonra Kanada balsamı ile kapatıldı.

**GFAP immünohistokimyasal yöntem**

Pozitif şarjlı lamlara alınan 3-4 µm kalınlığındaki paraffin kesitler 1 saat etüvde deparafinize edildikten sonra iki kere 10' ar dakika ksilolden geçirildi ve iki kere %90'lık alkolde bekletildi. Ardından 10 dakika H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' de bekletilerek distile suda 10 dakika yıkandı. %10'luk sitrat bufferda 20 dakika tutuldu, blocking serum damlatıldı ve 15 dakika oda ısısında bekletildi. Blocking serum uzaklaştırıldıktan sonra 1/1000 dilüsyonunda hazırlanan poliklonal GFAP primer antikoru (PA3- 16727, Invitrogen, anada) damlatıldı ve +4C' de bir gece beklendi. Ertesi gün PBS ile yıkandıktan sonra sekonder antikor damlatıldı ve 1 saat beklendi. Tekrar PBS ile yıkandı, HRP damlatıldı ve 20 dakika beklendi. DAB ile Mayer hematoksilin ile boyanarak kapatıldı.

Boyanıp kapatılan tüm kesitler 2 bağımsız histolog tarafından ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse 920248, Amerika Birleşik Devletleri) değerlendirildi ve görüntüler Nikon Marka DS-Fi2-U3 Model kamera ile tam uyumlu görüntüleme yazılımı ile bilgisayar ortamına aktarıldı.

### **3.8 İstatistiksel analiz**

Verilerin analizi için IBM SPSS Statistics 26.0 programı kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu çarpıklık ve basıklık değerleri kullanılarak kontrol edilmiştir. Bu değerler  $\pm 1$  arasında ise veriler normal olarak kabul edilmiştir. Tanımlayıcı bulgular için veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Tek yönlü Anova testi kullanılmıştır. Varyans homojenliği Levene testi ile kontrol edilmiştir. Anova testi sonrasında farklılıkları belirlemek üzere tamamlayıcı post-hoc analizi olarak Tukey ve Games-Howell testleri kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Biyokimyasal İnceleme Bulguları

Tablo 4.1’de tüm grupların biyokimyasal analizlerinin tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları görülmektedir.

**Tablo 4.1:** Gruplar arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması.

Parametreler	Gruplar	$\bar{X}$	SS	Var. K.	KT	Sd	KO	F	$p^a$	Farklılık
COL2A1	KBK	7,81	2,19	Gİ	842,66	5	168,53	28,55	<b>0,000*</b>	6>5; 6>4; 6>3; 6>2; 6>1; 4>3; 4>2; 4>1
	KEK	7,66	1,75							
	KDK	8,08	1,33	GA	779,33	132	5,90			
	TZF-BK	10,43	3,22							
	TZF-EK	8,93	3,20							
	TZF-DK	14,72	2,28	T	1621,99	137				
	Toplam	9,60	3,44							
HPR	KBK	573,68	136,63	Gİ	309647,47	5	961929,49	187,74	<b>0,000*</b>	6>1; 6>5; 6>4> 3>2; 5>1; 5>3> 2; 4>1;
	KEK	513,91	82,15							
	KDK	615,87	93,89	GA	379455,02	132	10450,42			
	TZF-BK	1020,39	104,86							
	TZF-EK	985,03	107,34							
	TZF-DK	1223,87	77,15	T	189102,48	137				
	Toplam	822,12	285,78							
VEGF	KBK	40,76	4,31	Gİ	40231,46	5	8046,29	115,95	<b>0,000*</b>	6>5> 3>2; 6>4> 3>2; 6>4> 1;
	KEK	39,93	8,96							
	KDK	48,56	4,07	GA	9160,16	132	69,40			
	TZF-BK	71,90	12,28							
	TZF-EK	62,70	10,67							
	TZF-DK	86,68	6,02	T	49391,62	137				
	Toplam	58,42	18,99							
GAG	KBK	43,48	8,82	Gİ	21480,05	5	4296,01			6>5> 3; 6>5> 2;
	KEK	40,84	6,12							
	KDK	48,83	13,93	GA	10536,98	132	79,83			



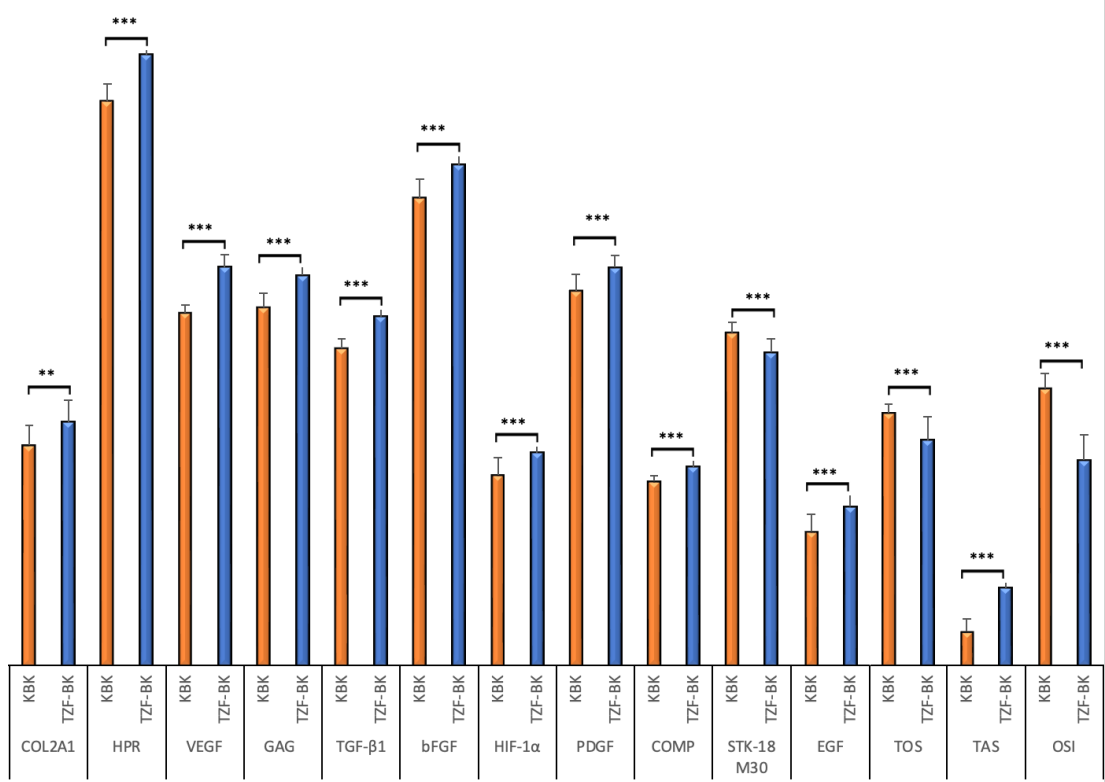
	TZF-BK	5,95	0,70					60,33	<b>0,0</b>	1;
	TZF-EK	5,78	0,86						<b>00*</b>	6>5>
	TZF-DK	7,80	0,91	T	225,64	137				3;
	Toplam	5,68	1,28							6>5>
										2;
										6>5>
										1
STK-18 M30	KBK	31,85	4,33	Gi	3645,36	5	729,07			
	KEK	37,45	4,81							2>1>
	KDK	29,47	3,11	GA	3609,04	132	27,34			6;
	TZF-BK	24,83	4,51					26,67	<b>0,0</b>	2>1>
	TZF-EK	27,81	4,18						<b>00*</b>	4;
	TZF-DK	21,24	8,64	T	7254,40	137				2>1>
	Toplam	28,78	7,28							5>6;
										2>3>
										4;
										2>1>
										5>6;
										2>3>
										4;
										3>6
TOS	KBK	11,72	1,28	Gi	625,26	5	125,05			
	KEK	13,16	1,92							
	KDK	10,52	2,89	GA	620,99	132	4,70			2>3>
	TZF-BK	8,33	2,83					26,58	<b>0,0</b>	6;
	TZF-EK	9,57	2,45						<b>00*</b>	2>4;
	TZF-DK	6,68	0,72	T	1246,24	137				1>4;
	Toplam	10,00	3,02							1>5>
										6;
										2>5>
										6
TAS	KBK	0,76	0,13	Gi	14,17	5	2,83			
	KEK	0,64	0,13							
	KDK	0,89	0,13	GA	2,29	132	0,02			6>4>
	TZF-BK	1,31	0,12					163,5	<b>0,0</b>	5>3>
	TZF-EK	1,07	0,15						<b>00*</b>	1>2
	TZF-DK	1,58	0,13	T	16,46	137				
	Toplam	1,04	0,35							
OSI	KBK	15,81	3,29	Gi	4602,20	5	920,44			
	KEK	21,37	5,93							
	KDK	12,04	3,67	GA	1533,25	132	11,62			2>1>
	TZF-BK	6,48	2,41					79,24	<b>0,0</b>	3>5>
	TZF-EK	8,97	2,02						<b>00*</b>	4>6
	TZF-DK	4,27	0,66	T	6135,45	137				
	Toplam	11,49	6,69							
EGF	KBK	2,65	0,64	Gi	88,54	5	17,71			6>5>
	KEK	2,07	0,42							2;
	KDK	2,69	0,86	GA	88,95	132	0,67			6>3>
										2;
										6>1>

TZF-BK	3,63	0,59				26,28	<b>0,00*</b>	2; 4>3>
TZF-EK	2,75	0,58						2; 4>5>
TZF-DK	4,53	1,42	T	177,48	137			2; 4>1>
Toplam	3,05	1,14						2

$\bar{X}$ : Ortalama, SS: Standart sapma, Var. K.: Varyans kaynağı, GI: Grup içi, GA: Gruplar arası, T: Toplam, KT: Kareler toplamı, KO: Kareler ortalaması, Sd: Serbestlik derecesi,  $\alpha$ : Tek yönlü varyans analizi (ANOVA), \*:  $p < 0,01$ . KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak, TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak

### **Kontrol blok kıkırdak ve TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak gruplarının karşılaştırılması**

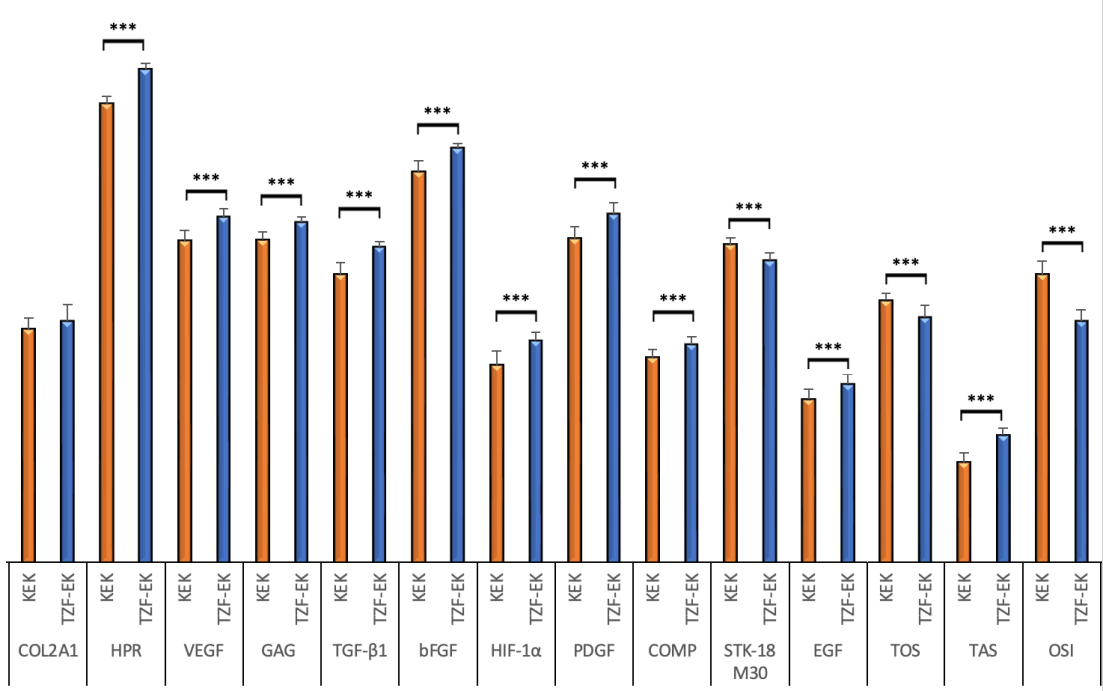
Sonuçlara göre STK-18 M30, TOS ve OSI parametrelerinin TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak grubunda kontrol blok kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu görülmüştür ( $p < 0,01$ ). COL2A1, HPR, VEGF, GAG, TGF- $\beta$ 1, bFGF, HIF-1 $\alpha$ , PDGF, COMP, TAS ve EGF değerleri ise TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak grubunda kontrol blok kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ( $p < 0,01$ )(Şekil 4.1).



**Şekil 4.1:** Kontrol blok kıkırdak grubu ve TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak grubu arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması \*\*\*:  $p < 0,001$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*:  $p < 0,05$ ; KBK: Kontrol blok kıkırdak, TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak

#### **Kontrol ezilmiş kıkırdak ve TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak gruplarının karşılaştırılması**

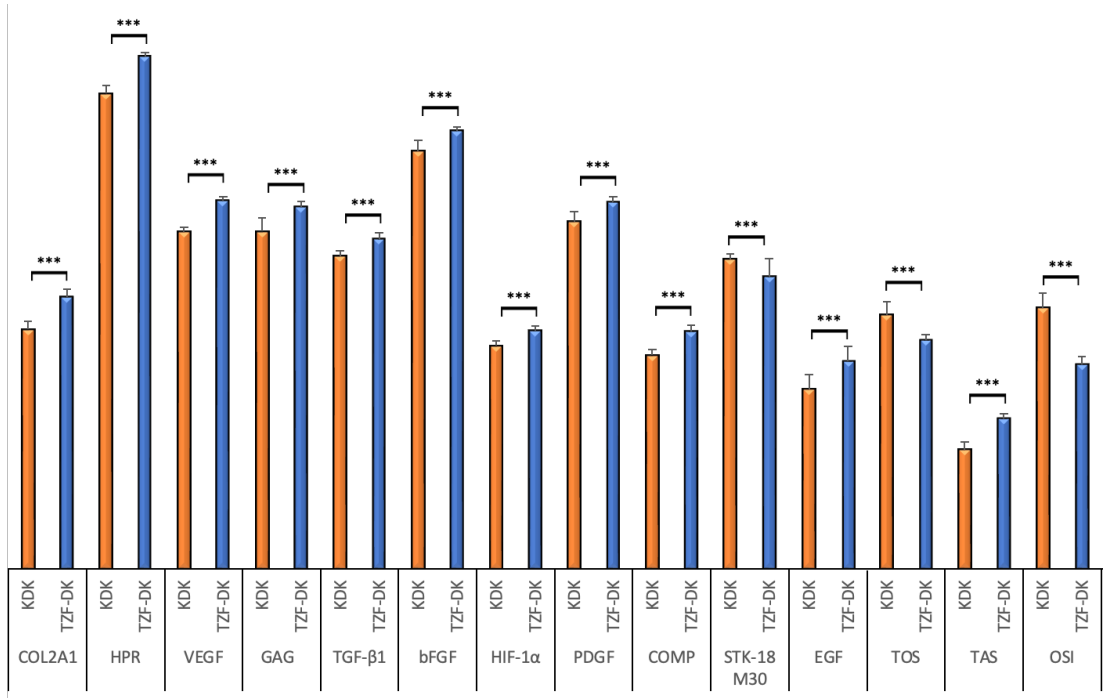
Sonuçlara göre STK-18 M30, TOS ve OSI parametrelerinin TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak grubunda kontrol ezilmiş kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu görülmüştür ( $p < 0,01$ ). HPR, VEGF, GAG, TGF-β1, bFGF, HIF-1α, PDGF, COMP, TAS ve EGF değerleri ise TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak grubunda kontrol ezilmiş kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ( $p < 0,01$ ). COL2A1 seviyeleri ise her iki grupta benzer şekildedir (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2:** Kontrol ezilmiş kıkırdak grubu ve TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak grubu arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması, \*\*\*:  $p < 0,001$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*:  $p < 0,05$ , KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, TZF-KEK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak

#### **Kontrol doğranmış kıkırdak ve TZF ile doğranmış edilmiş ezilmiş kıkırdak gruplarının karşılaştırılması**

Sonuçlara göre STK-18 M30, TOS ve OSI parametrelerinin TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak grubunda kontrol doğranmış kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu görülmüştür ( $p < 0,001$ ). COL2A1, HPR, VEGF, GAG, TGF-β1, bFGF, HIF-1α, PDGF, COMP, TAS ve EGF değerleri ise TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak grubunda kontrol doğranmış kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir ( $p < 0,001$ ) (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3:** Kontrol doğranmış kıkırdak grubu ve TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak grubu arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması, \*\*\*:  $p < 0,001$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*:  $p < 0,05$ , KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak, TZF-KDK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak

#### **Kontrol kıkırdak grupları arasındaki parametrelerin karşılaştırılması**

HPR, KDK grubunda KEK' kıyasla daha fazladır ( $p < 0,05$ ).

VEGF, KDK grubunda KEK ( $p < 0,001$ ) ve KBK'ya ( $p < 0,01$ ) kıyasla daha fazladır.

TGF-β1, KDK grubunda KEK ve KBK grubuna kıyasla daha fazladır ( $p < 0,001$ ).

KBK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,01$ ).

bFGF, KDK grubunda KEK ve KBK'ya kıyasla daha fazladır ( $p < 0,001$ ).

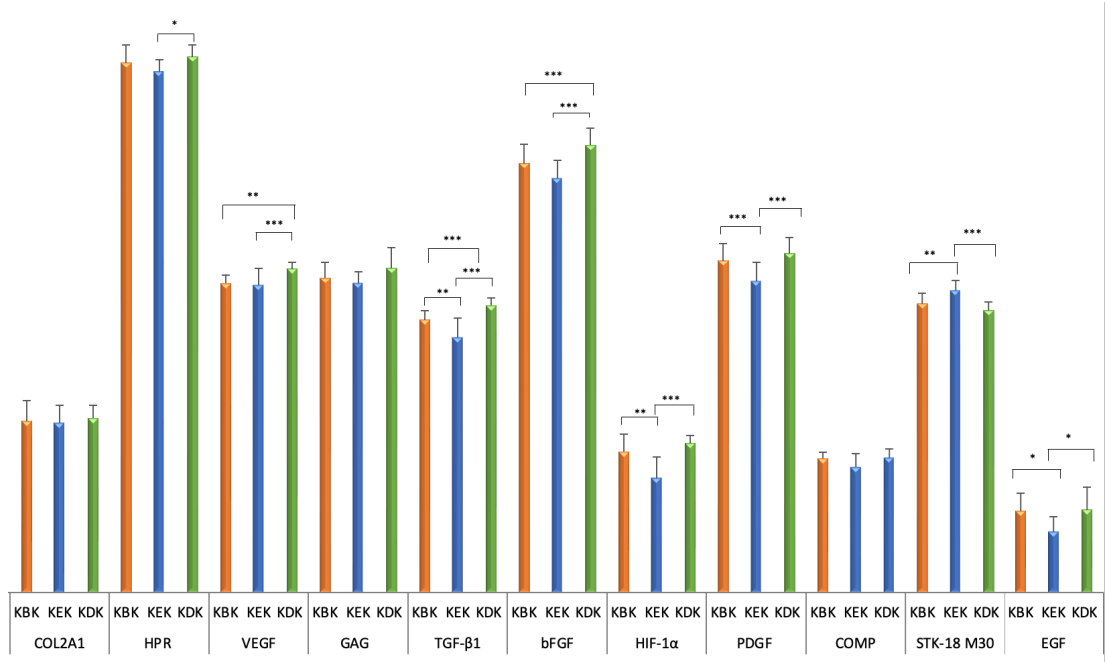
HIF-1α, KDK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,001$ ). KBK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,01$ ).

PDGF, KDK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,001$ ). KBK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,001$ ).

STK-18 M30, KDK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,001$ ). KBK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,01$ ).

EGF, KDK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,05$ ). KBK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,05$ ).

COL2A1 ve COMP değerleri 3 grupta da benzer şekildedir ( $p < 0,05$ )(Şekil 4.4).



**Şekil 4.4:** Kontrol kıkırdak grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması, \*\*\*:  $p < 0,001$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*:  $p < 0,05$ , KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak

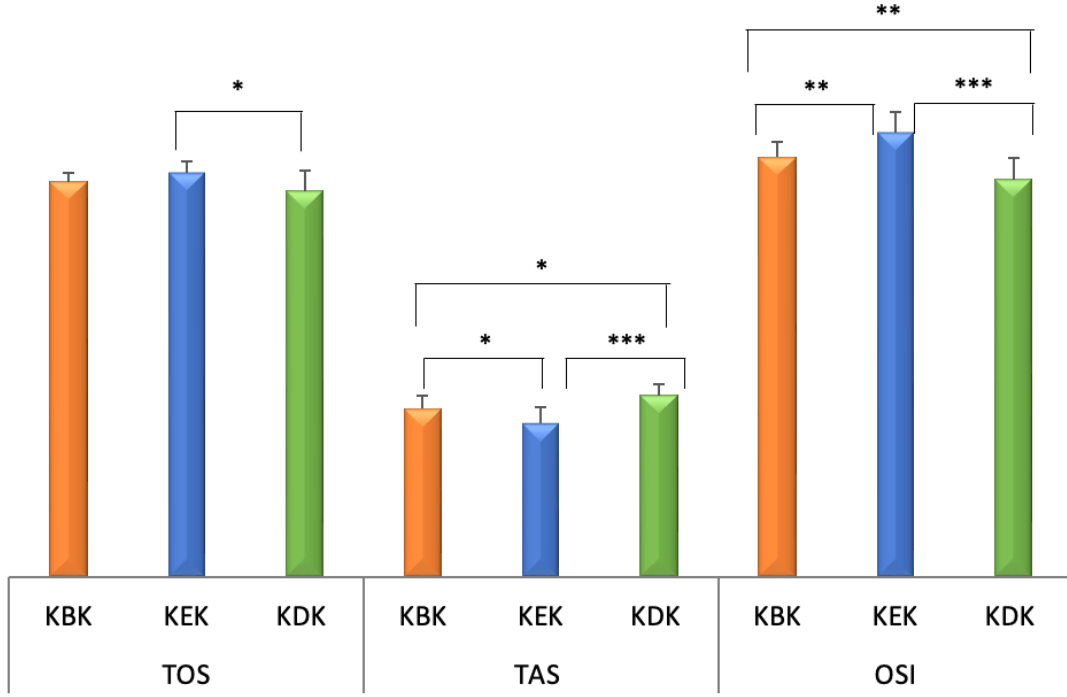
TOS, KEK grubunda KDK'ye kıyasla daha fazladır ( $p < 0,05$ ).

TAS, KDK grubunda KEK'e ( $p < 0,001$ ) ve KBK'ye ( $p < 0,05$ ) kıyasla daha fazladır.

KBK grubunda KEK'e kıyasla daha fazladır ( $p < 0,05$ ).

OSI, KEK grubunda KDK ( $p < 0,001$ ) ve KBK'ye ( $p < 0,01$ ) kıyasla daha fazladır.

KBK grubunda KDK'ye kıyasla daha fazladır ( $p < 0,01$ )(Şekil 4.5).



**Şekil 4.5:** Kontrol kıkırdak grupları arasındaki oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması, \*\*\*:  $p < 0,001$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*:  $p < 0,05$ , KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak

#### 4.1.5 TZF uygulanmış kıkırdak grupları arasındaki parametrelerin karşılaştırılması

COL2A1, TZF-DK'da TZF-EK'ya ve TZF-BK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ).

HPR, TZF-DK'da TZF-EK'ya ve TZF-BK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ).

VEGF, TZF-DK'da TZF-EK'ya ve TZF-BK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ).

GAG, TZF-DK'da TZF-EK'ya ve TZF-BK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ).

TZF-BK'da TZF-EK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,01$ ).

TGF- $\beta$ 1, TZF-DK'da TZF-EK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ).

bFGF, TZF-DK'da TZF-EK'ya ve TZF-BK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ).

TZF-BK'da TZF-EK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,05$ ).

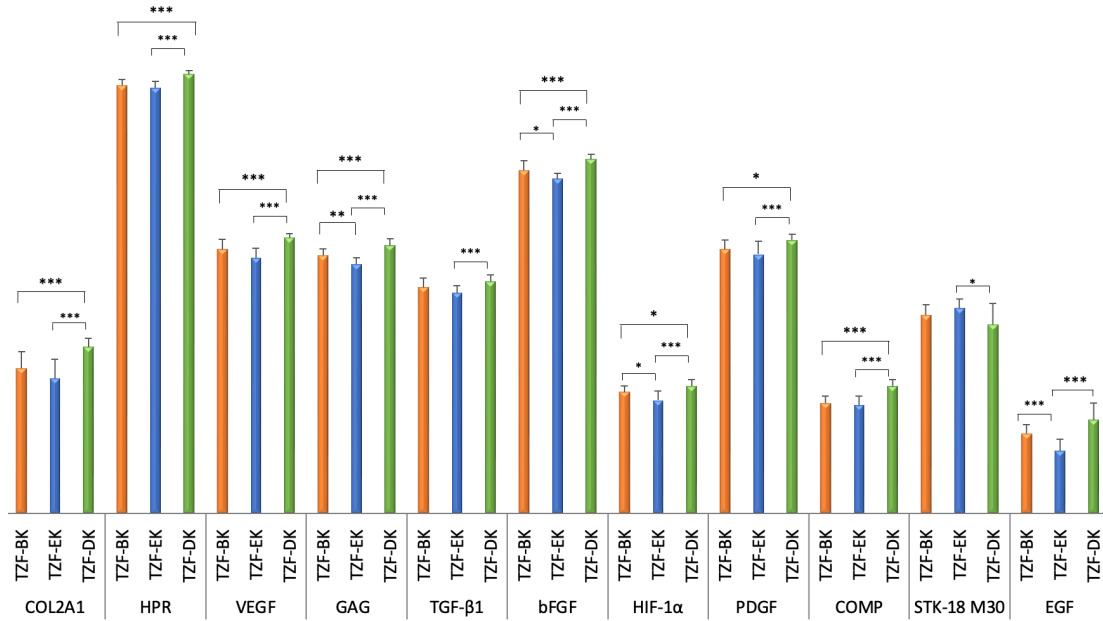
HIF-1 $\alpha$ , TZF-DK'da TZF-EK'ya ( $p < 0,001$ ) ve TZF-BK'ya ( $p < 0,05$ ). kıyasla daha yüksektir. TZF-BK'da TZF-EK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,05$ ).

PDGF, TZF-DK'da TZF-EK'ya ( $p < 0,001$ ) ve TZF-BK'ya ( $p < 0,05$ ) kıyasla daha yüksektir.

COMP, TZF-DK'da TZF-EK'ya ve TZF-BK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ).

STK-18 M30, TZF EK'da TZF-DK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,05$ ).

EGF, TZF-DK'da TZF-EK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ). TZF-BK'da TZF-EK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ )(Şekil 4.6).

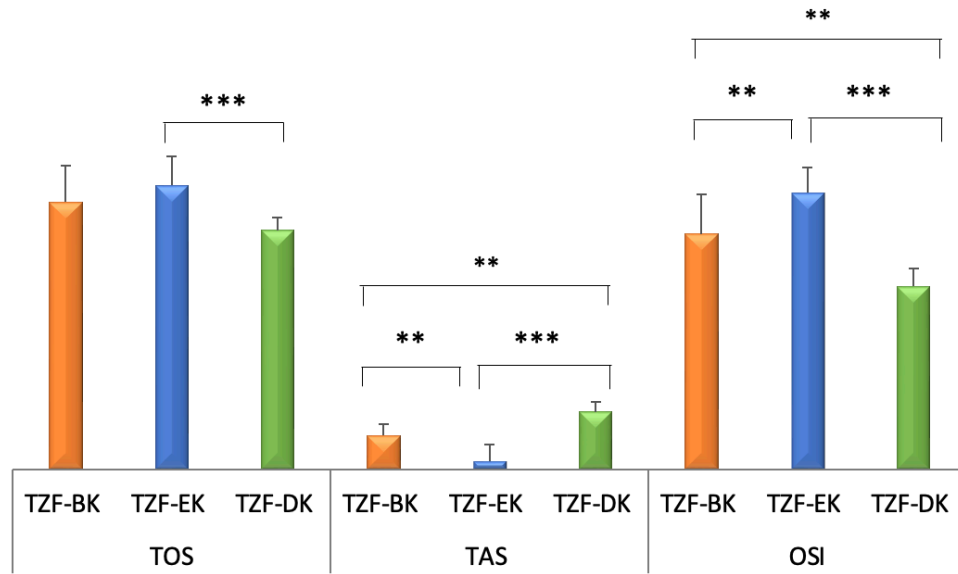


**Şekil 4.6:** TZF ile kombine edilmiş kırık grupları arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması, \*\*\*:  $p < 0,001$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*:  $p < 0,05$ , TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kırık, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kırık, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kırık

TOS, TZF-EK'da TZF-DK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,001$ ).

TAS, TZF-DK'da TZF-EK ( $p < 0,001$ ) ve TZF-BK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,01$ ). TZF-BK'da TZF-EK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,01$ ).

OSI, TZF-EK'da TZF-DK'ya ( $p < 0,001$ ) ve TZF-BK'ya ( $p < 0,01$ ) kıyasla daha yüksektir. TZF-BK'da TZF-DK'ya kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,01$ )(Şekil 4.7).



**Şekil 4.7:** TZF ile kombine edilmiş kırıkdağ grupları arasındaki oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması, \*\*\*:  $p < 0,001$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*:  $p < 0,05$ , TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kırıkdağ, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kırıkdağ, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kırıkdağ

#### 4.1.6 Tüm gruplar arasındaki parametrelerin karşılaştırılması

COL2A1 değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

HPR değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

VEGF değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

GAG değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

TGF- $\beta$ 1 değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. TZF-BK hariç diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

bFGF değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

HIF-1 $\alpha$  değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

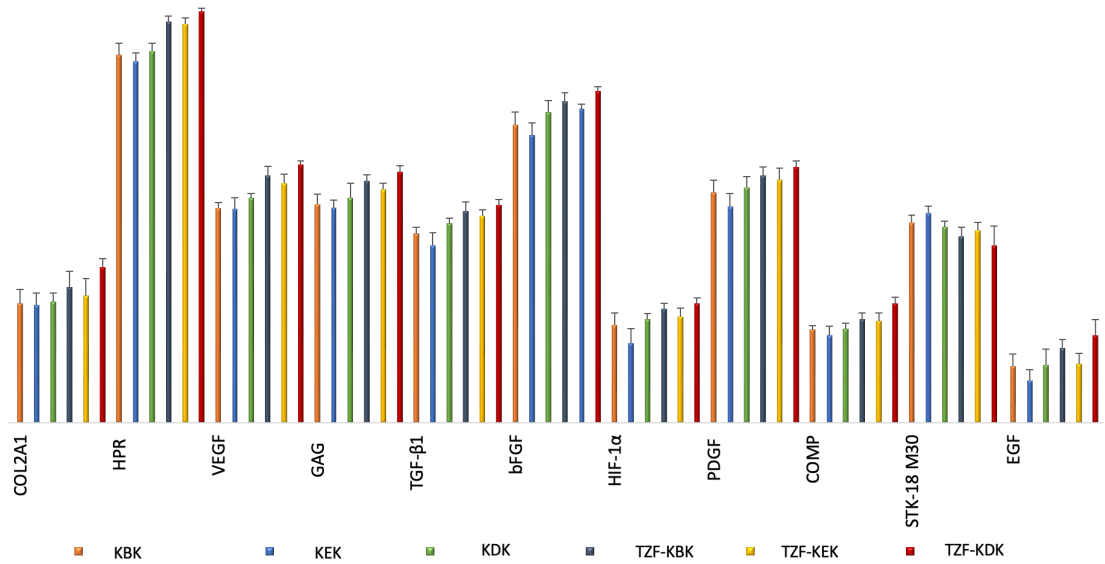
PDGF değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

COMP değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

STK-18 M30 değerinin en yüksek olduğu grup KEK'tir. İstatistiksel olarak KBK ( $p < 0,01$ ), KDK ( $p < 0,001$ ), TZF-BK ( $p < 0,001$ ), TZF-EK ( $p < 0,001$ ) ve TZF-DK ( $p < 0,001$ ) gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur.

STK 18 değerleri tüm gruplarda benzer şekildedir ( $p > 0,05$ ).

EGF değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. TZF-BK hariç diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ) (Şekil 4.8).

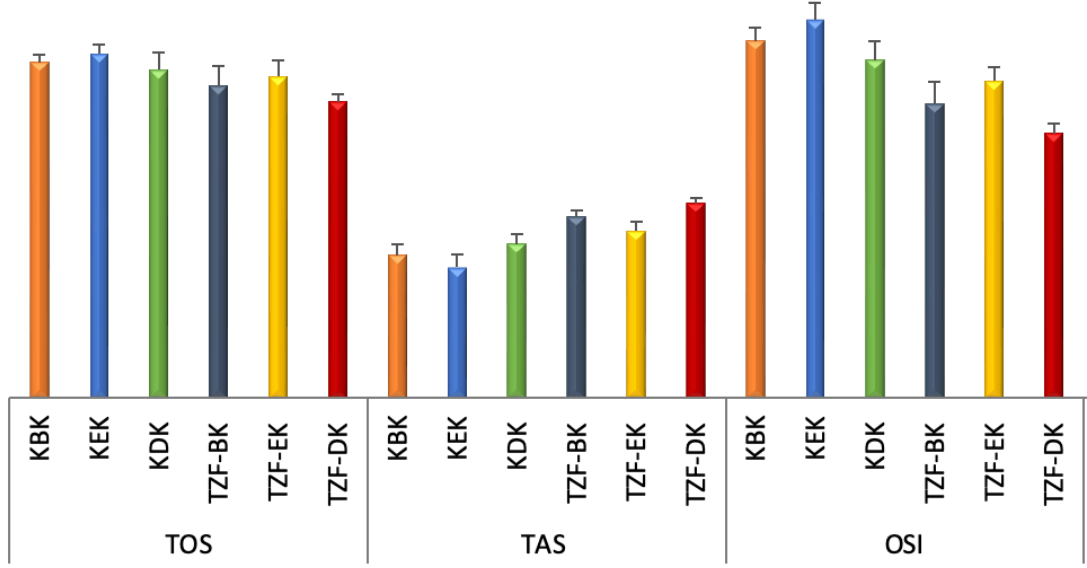


**Şekil 4.8:** Tüm grupların biyokimyasal parametrelerinin değerleri, KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmış kıkırdak, TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak

TOS değerinin en yüksek olduğu grup KEK'tir. İstatistiksel olarak KDK ( $p < 0,01$ ), TZF-BK ( $p < 0,001$ ), TZF-EK ( $p < 0,001$ ) ve TZF-DK ( $p < 0,001$ ) gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur.

TAS değerinin en yüksek olduğu grup TZF-DK'dır. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

OSI değerinin en yüksek olduğu grup KEK'tir. Tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (KBK:  $p < 0,01$  diğerleri:  $p < 0,001$ )(Şekil 4.9).



**Şekil 4.9:** Tüm grupların oksidatif stres parametrelerinin değerleri, KBK: Kontrol blok kıkırdak, KEK: Kontrol ezilmiş kıkırdak, KDK: Kontrol doğranmiş kıkırdak, TZF-BK: TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak, TZF-EK: TZF ile kombine edilmiş kıkırdak, TZF-DK: TZF ile kombine edilmiş doğranmiş kıkırdak

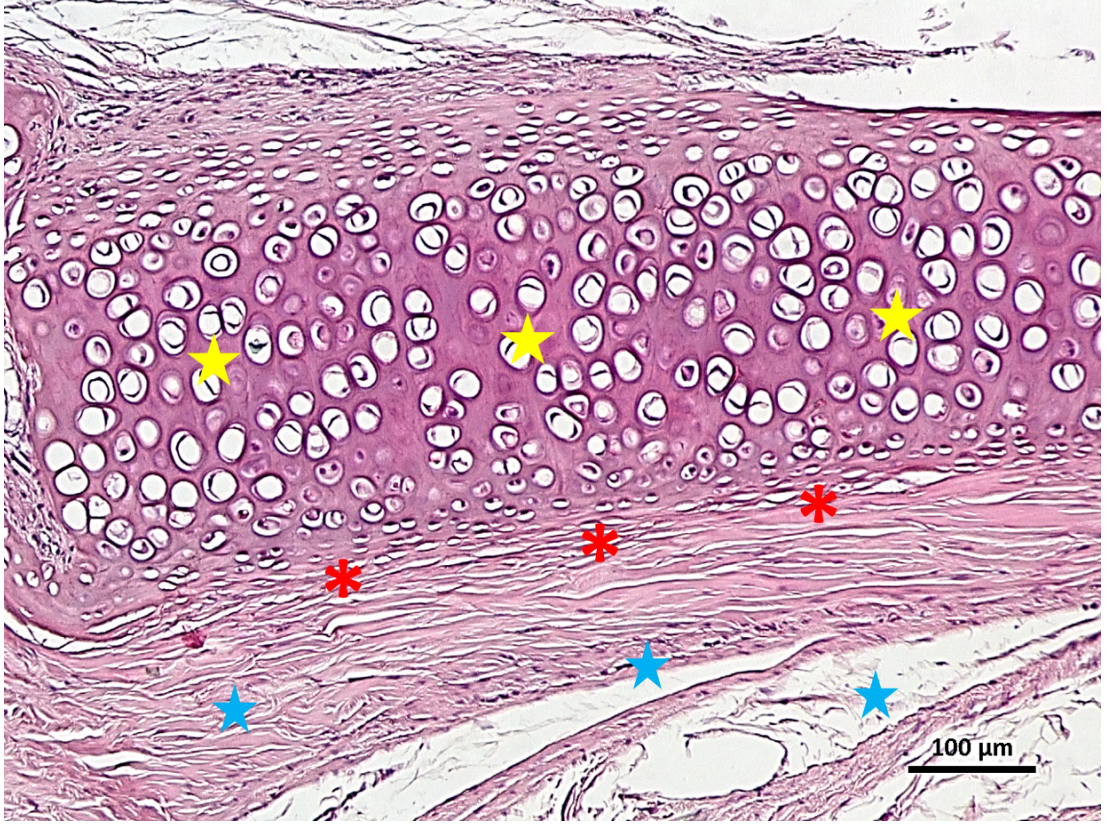
## 4.2 Histopatolojik İnceleme Bulguları

### Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları

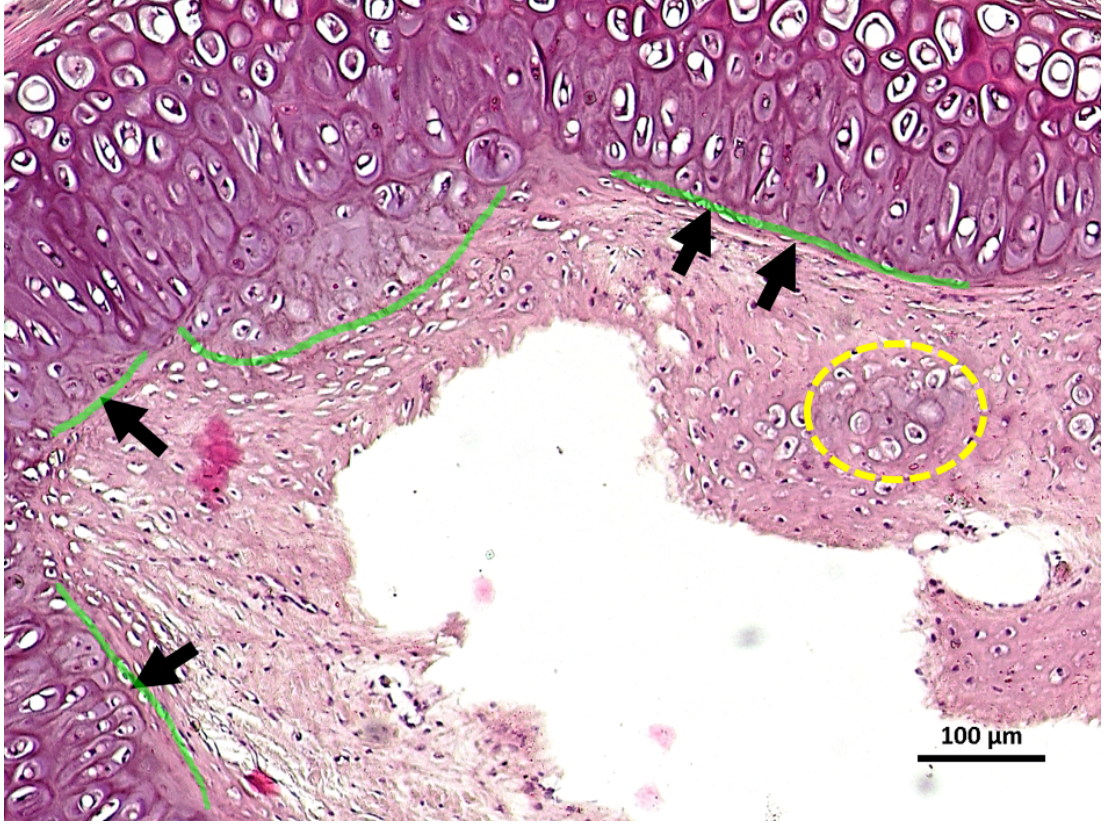
#### Kontrol blok kıkırdak grubu

Transfer edilen kıkırdak dokularının yaklaşık yarısı sağlam görünmekteydi. Yer yer özellikle kıkırdağın periferik bölümlerinde artmış proliferasyon görüldü (Şekil 4.10). Örneklerin diğer yarısında hafif veya şiddetli dejenerasyon mevcuttu. Bazı alanlarda ise proliferasyon alanlarının iyice genişleyerek bağ dokusuna doğru uzandığı

saptandı. Bu alanlarda kıkırdak dokusunun normal histolojik görünümünü yer yer kaybettiği izlendi. Kıkırdak çevresinde bağ dokusu içinde izole kıkırdaklaşma odakları görüldü (Şekil 4.11, 4.12).



**Şekil 4.10:** KBK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) ve perikondrium (kırmızı asteriksler) ve çevre bağ doku (mavi yıldızlar) görülmekte (H&E, X100).



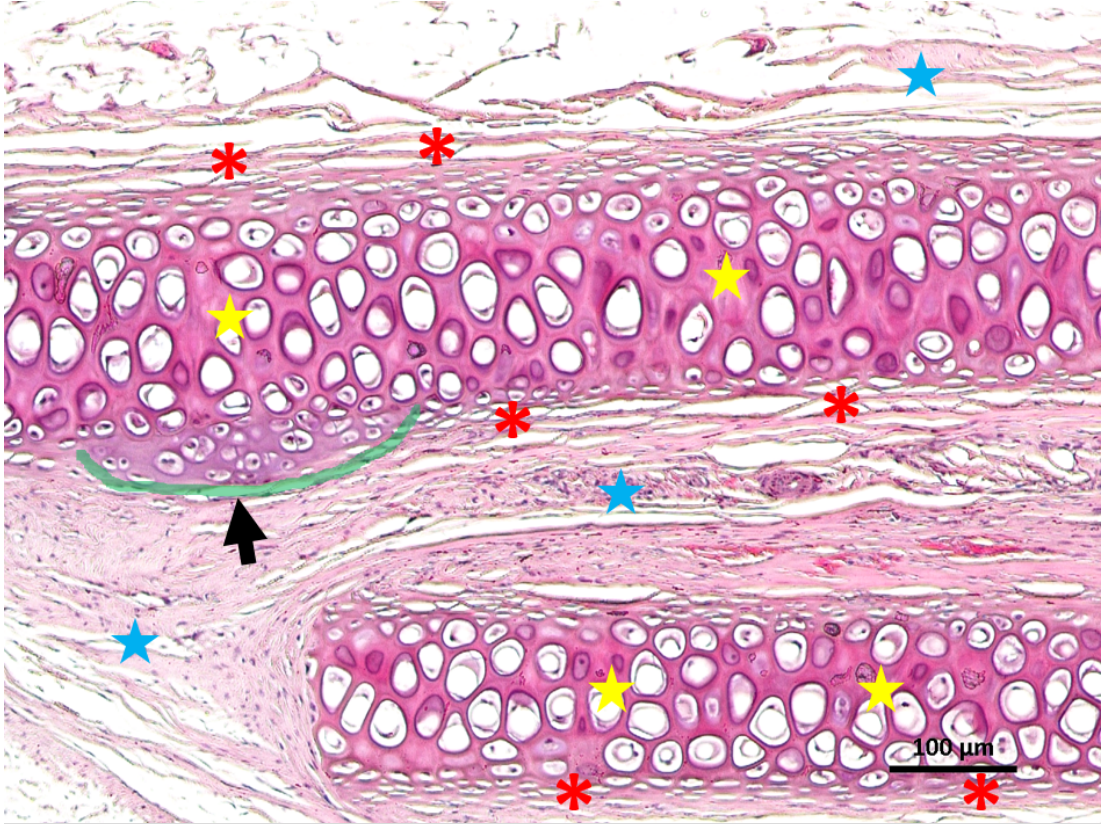
**Şekil 4.11:** KBK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Bağ dokusuna doğru uzanan (yeşil hatla sınırlanan), genişlemiş ve kıkırdak dokusunun normal histolojik görünümünü yer yer kaybettiği proliferasyon alanları görülmekte (siyah oklar). Kıkırdak çevresindeki bağ dokusu içinde bulunan izole kıkırdaklaşma odakları (sarı kesikli çizgili daire ile işaretlenen alan) izlenmekte (H&E, X100).



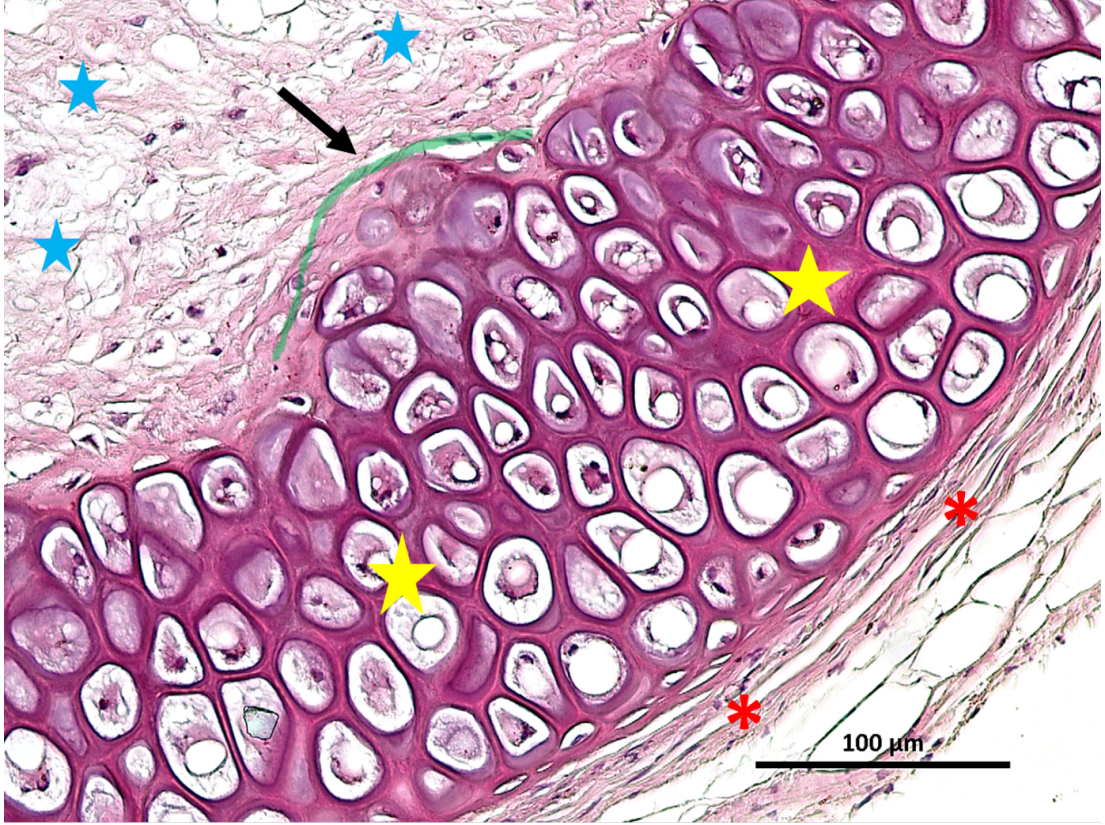
**Şekil 4.12:** KBK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Bağ dokusuna doğru uzanan (yeşil hatla sınırlanan) ve genişlemiş proliferasyon alanları görülmekte. Kıkırdak çevresindeki bağ dokusu içinde bulunan izole kıkırdaklaşma odakları (sarı kesikli çizgili daire ile işaretlenen alan) izlenmekte (H&E, X100).

#### **TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak grubu**

Transfer edilen kıkırdak dokularının bir çoğu sağlam görünmekteydi. Kıkırdağın periferik bölümlerinde artmış proliferasyon görüldü (Şekil 4). Nadiren proliferasyon alanlarının hafifçe genişleyerek bağ dokusuna doğru uzandığı saptandı (Şekil 4.13, 4.14). Bağ dokusu içinde kıkırdaklaşma odakları yoktu.



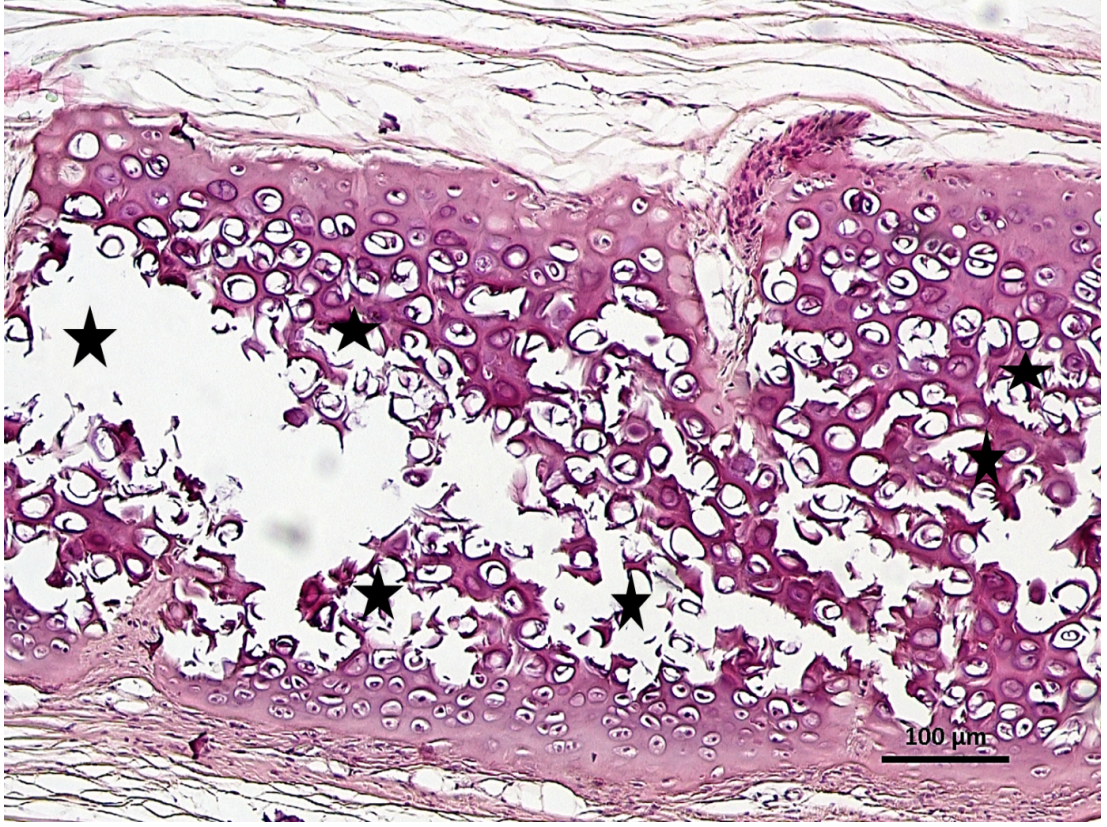
**Şekil 4.13:** TZF-BK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) etrafında perikondrium (kırmızı asteriks) ve kıkırdağın periferik bölümlerinde artmış proliferasyon görülmekte. Mavi yıldızlar çevre bağ dokuyu göstermekte (H&E, X100).



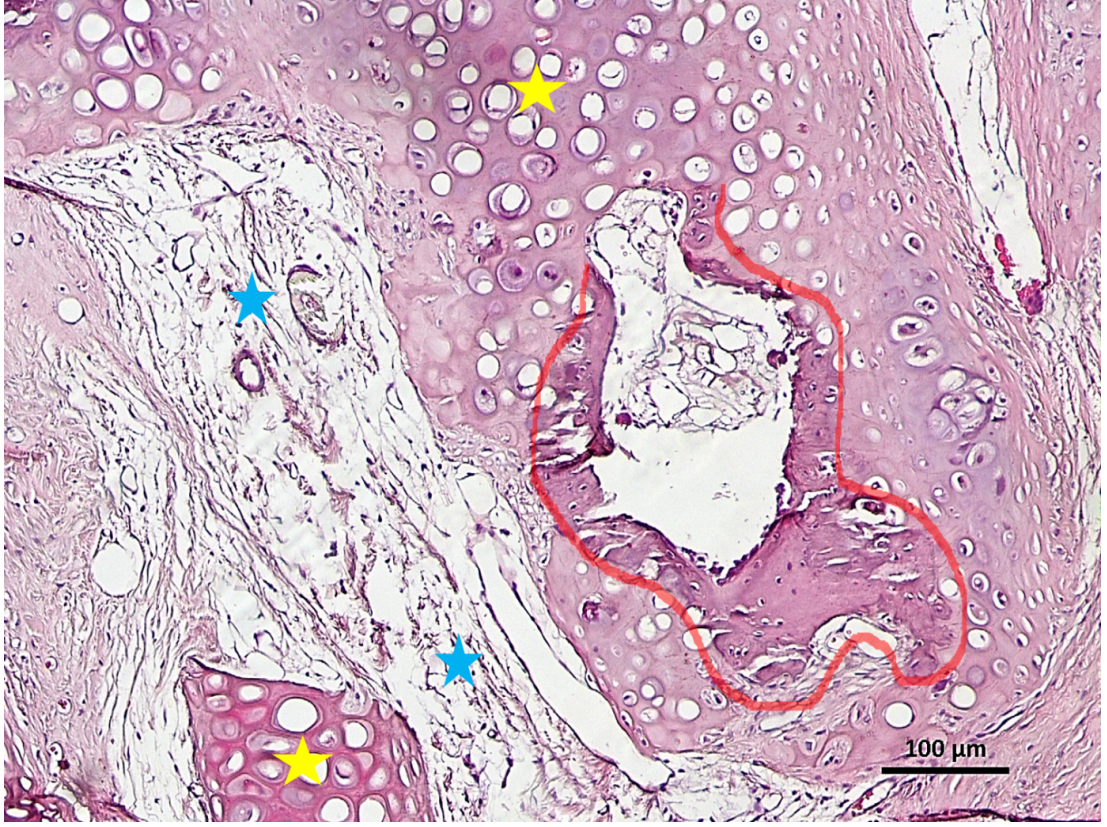
**Şekil 4.14:** TZF-BK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) etrafında perikondrium (kırmızı asteriks) ve kıkırdağın periferik bölümlerinde artmış proliferasyon görülmekte. Mavi yıldızlar çevre bağ dokuyu göstermekte (H&E, X200).

#### **Kontrol ezilmiş kıkırdak grubu**

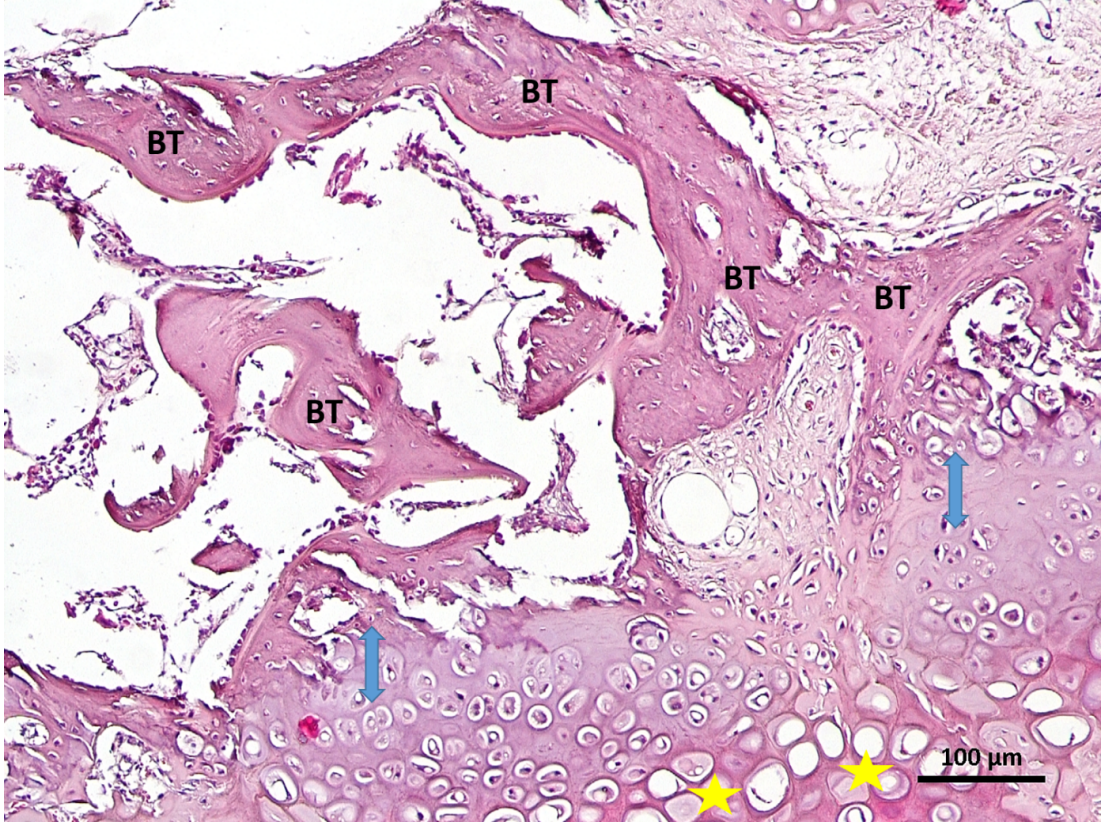
Transfer edilen kıkırdak dokusu histopatolojik yönden belirgin değişikliğe uğramıştı, dokuda dejenerasyon hakimdi. Çoğu örnekte kıkırdak dokusunun parçalandığı görüldü (Şekil 4.15). Bu alanların çoğunda kıkırdak dokusunun yerine spongiyöz kemik dokusunun yapılandığı saptandı (Şekil 4.16). Bağ dokusuna uzanan kemik trabekülleri bulunmaktaydı. Kemik trabeküllerinin yüzeyinde osteoblastların sıralandığı, yer yer osteoklastların bulunduğu izlendi. Trabeküller arasında kemik iliği kavitesinde olduğu gibi hemopoetik hücre alanlarının ortaya çıktığı görüldü (Şekil 4.17, 4.18).



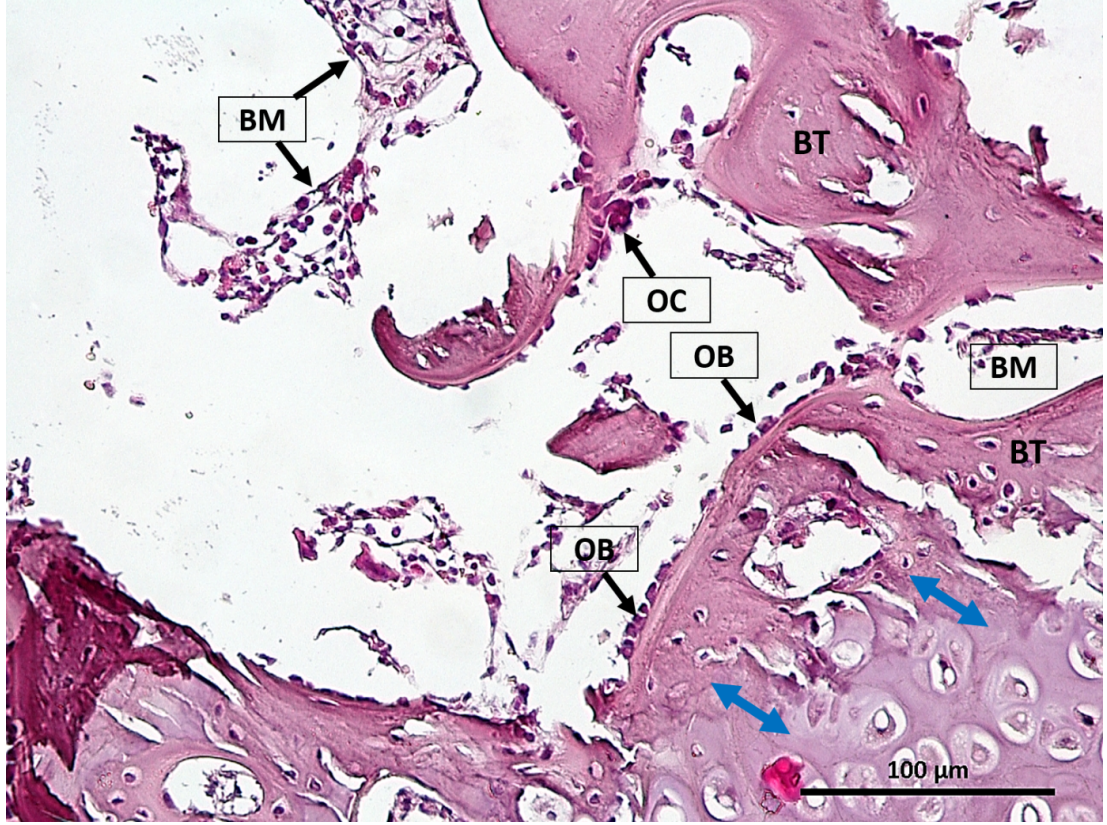
**Şekil 4.15:** KEK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Kıkırdak dokusunun dejenere olduğu (siyah yıldızlar) görülmekte (H&E, X100).



**Şekil 4.16:** KEK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Dejenere olan kıkırdak dokusunun yerinde spongiyoz kemik dokusunun (kırmızı çizgi ile sınırlanan alan) yapılandığı saptandı(H&E, X100).



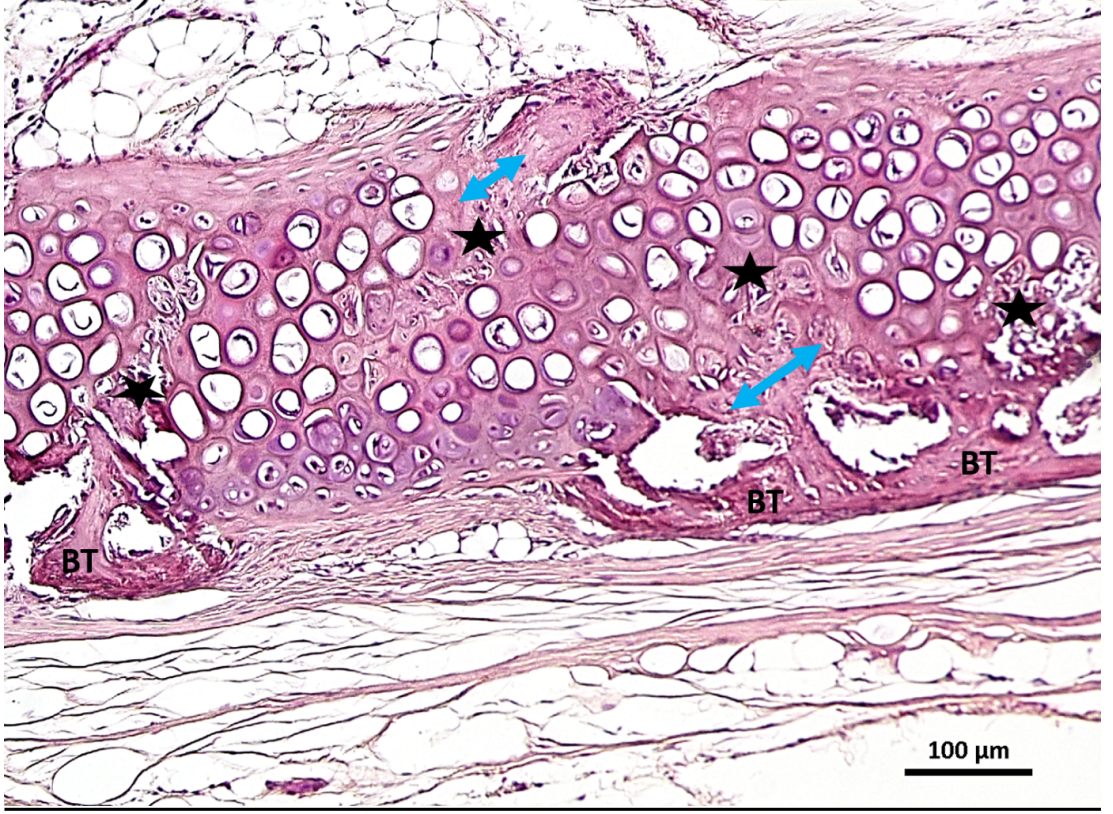
**Şekil 4.17:** KEK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun yerini almaya başlayan spongiyöz kemik dokuları işaretlenmiştir. Ayrıca kesitte osteoblastlar ile döşeli kemik dokuları da (BT) görülmekte (H&E, X100).



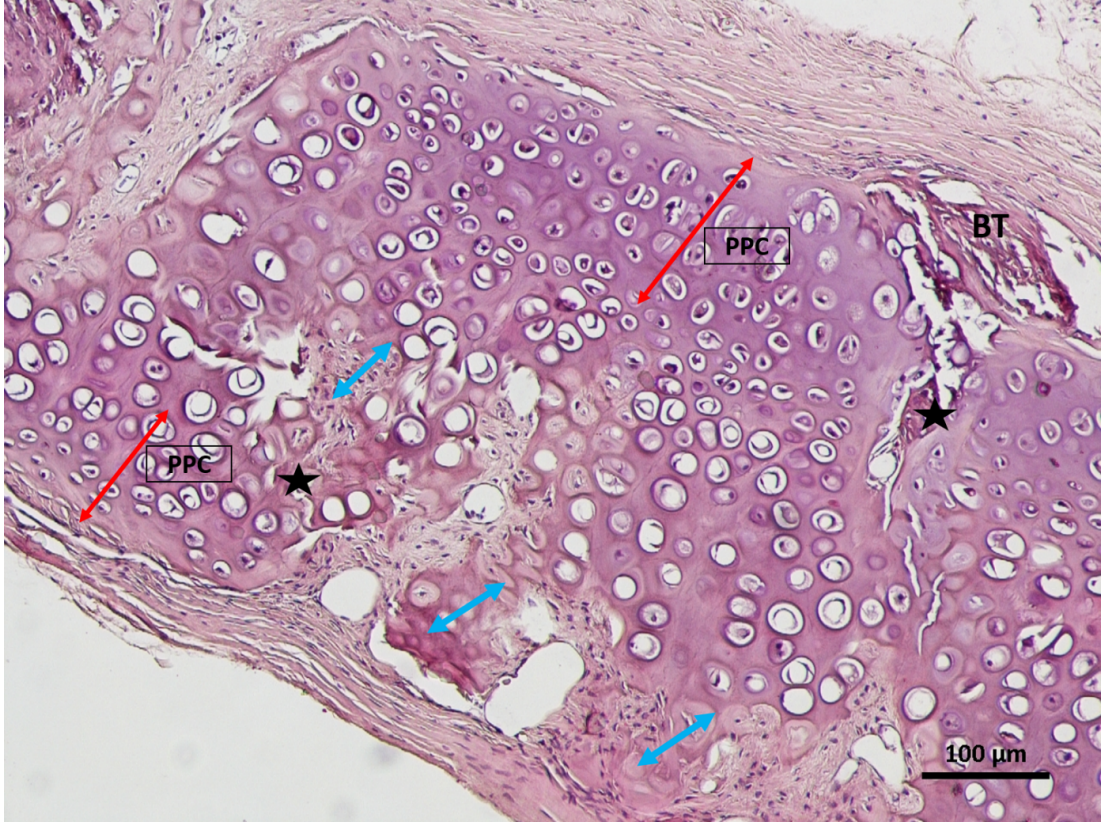
**Şekil 4.18:** KEK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun yerini almaya başlayan spongiyoz kemik dokuları işaretlenmiştir. Kesitte osteoblastlar (OB) ile döşeli kemik dokuları (BT) ve yer yer osteoklastlar (OC) ve trabeküller arasında yerleşen kemik iliği (BM) görülmektedir (H&E, X200).

#### **TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak grubu**

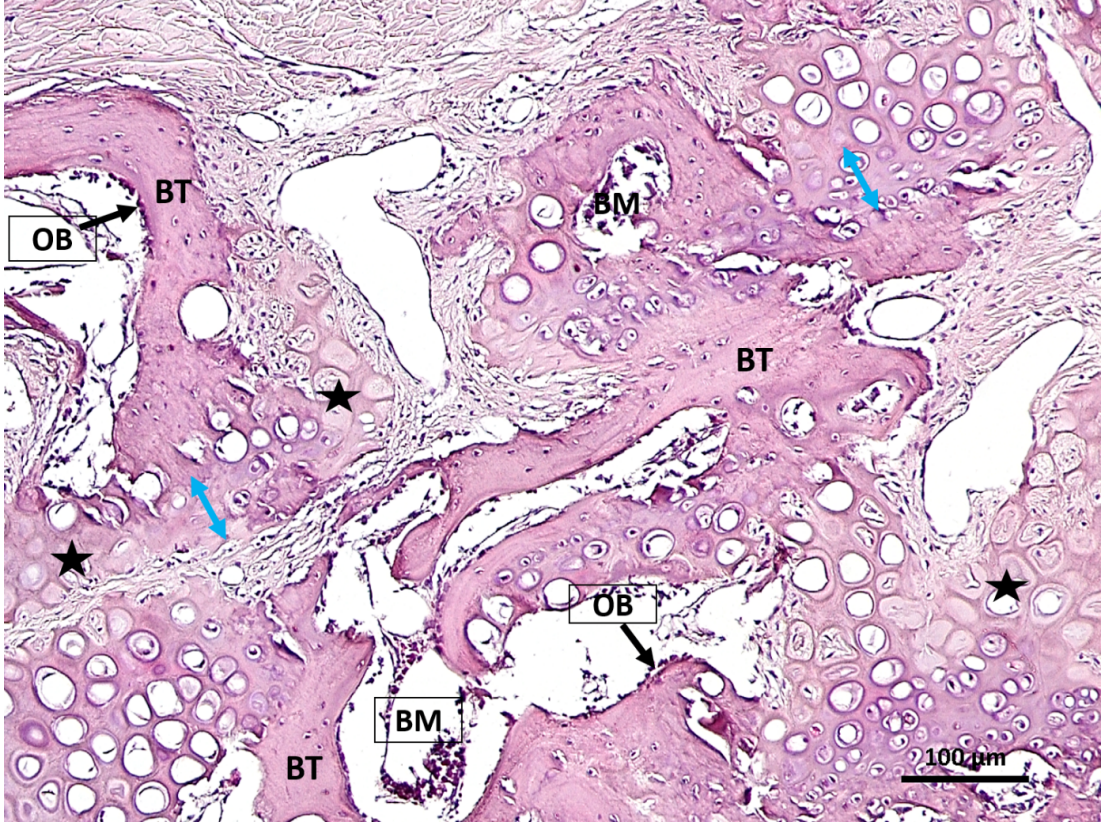
Transfer edilen kıkırdak dokusu histopatolojik yönden değişikliğe uğramıştı, dokuda dejenerasyon belirgindi (Şekil 4.19). Bu alanların çoğunda kıkırdak dokusunun yerine spongiyoz kemik dokusunun yapılandığı saptandı (Şekil 4.20). Kıkırdak yüzeyine yakın proliferasyon KEK grubuna göre daha belirgindi. Bu alanları takiben bağ dokusuna uzanan kemik trabekülleri bulunmaktaydı. Kemik trabeküllerinin yüzeyinde osteoblastların sıralandığı, yer yer osteoklastların bulunduğu izlendi. Trabeküller arasında kemik iliği kavitesinde olduğu gibi hemopoetik hücre alanlarının ortaya çıktığı görüldü (Şekil 4.21).



**Şekil 4.19:** TZF-EK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun (siyah yıldızlar) yerini almaya başlayan spongiyöz kemik dokuları (BT) işaretlenmiştir. (H&E, X100).



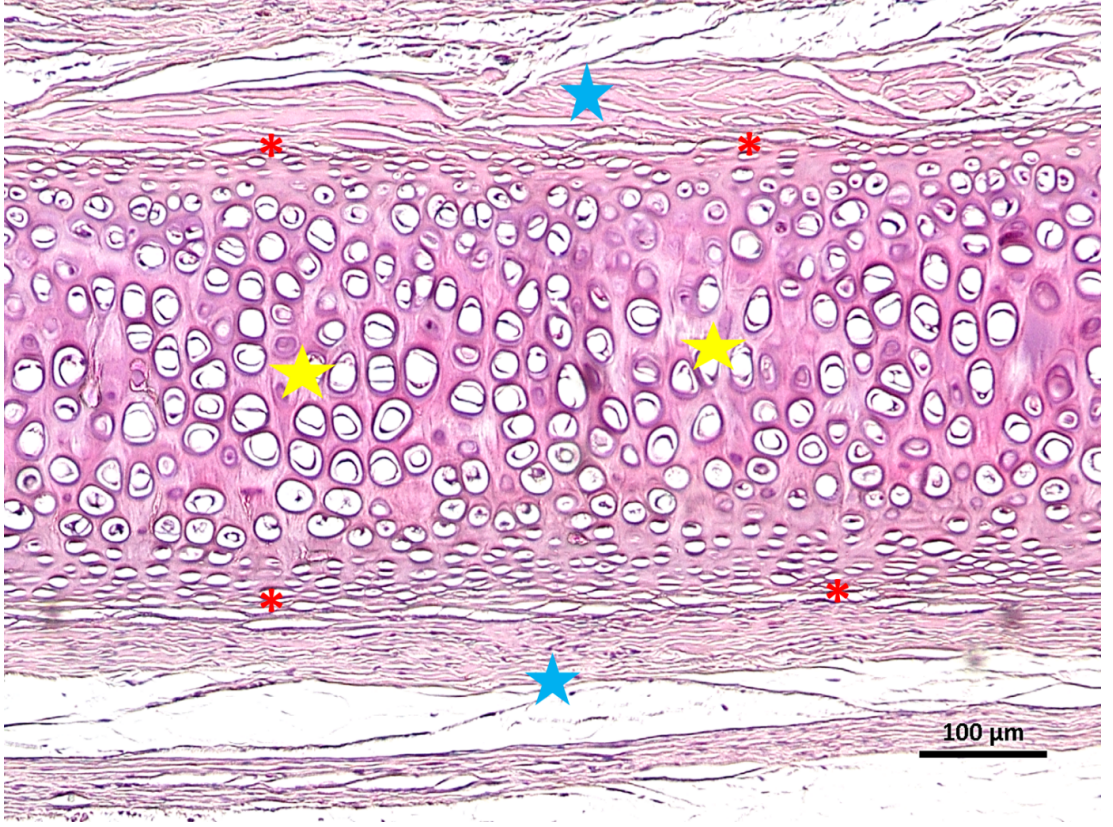
**Şekil 4.20:** TZF-EK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun (siyah yıldızlar) yerini almaya başlayan spongiyoz kemik dokuları (BT) işaretlenmiştir. Kıkırdak yüzeyine yakın proliferasyon bölgeleri (PPC) çift taraflı kırmızı okla işaretlendi (H&E, X100).



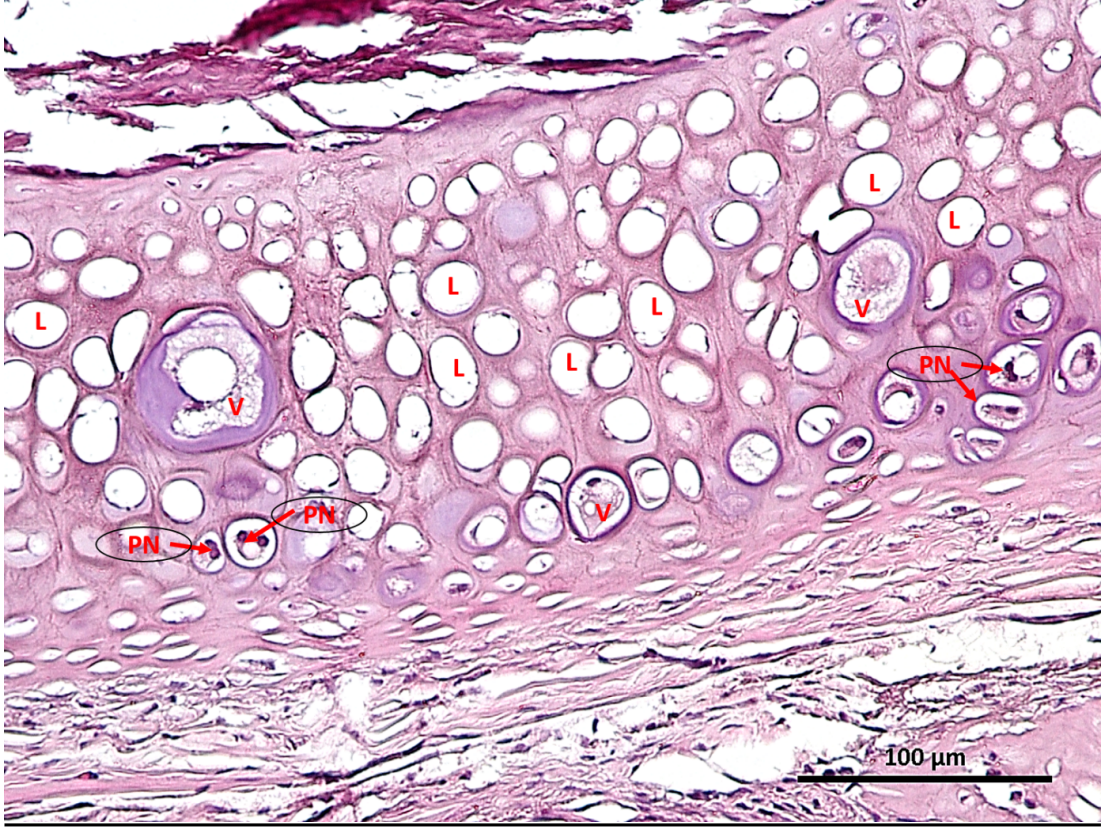
**Şekil 4.21:** TZF-EK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun (siyah yıldızlar) yerini almaya başlayan spongiyöz kemik (BT) dokuları işaretlenmiştir. Kesitte osteoblastlar (OB) ile döşeli kemik dokuları (BT) ve trabeküller arasında yerleşen kemik iliği (BM) görülmekte (H&E, X100).

#### **Kontrol doğranmış kıkırdak grubu**

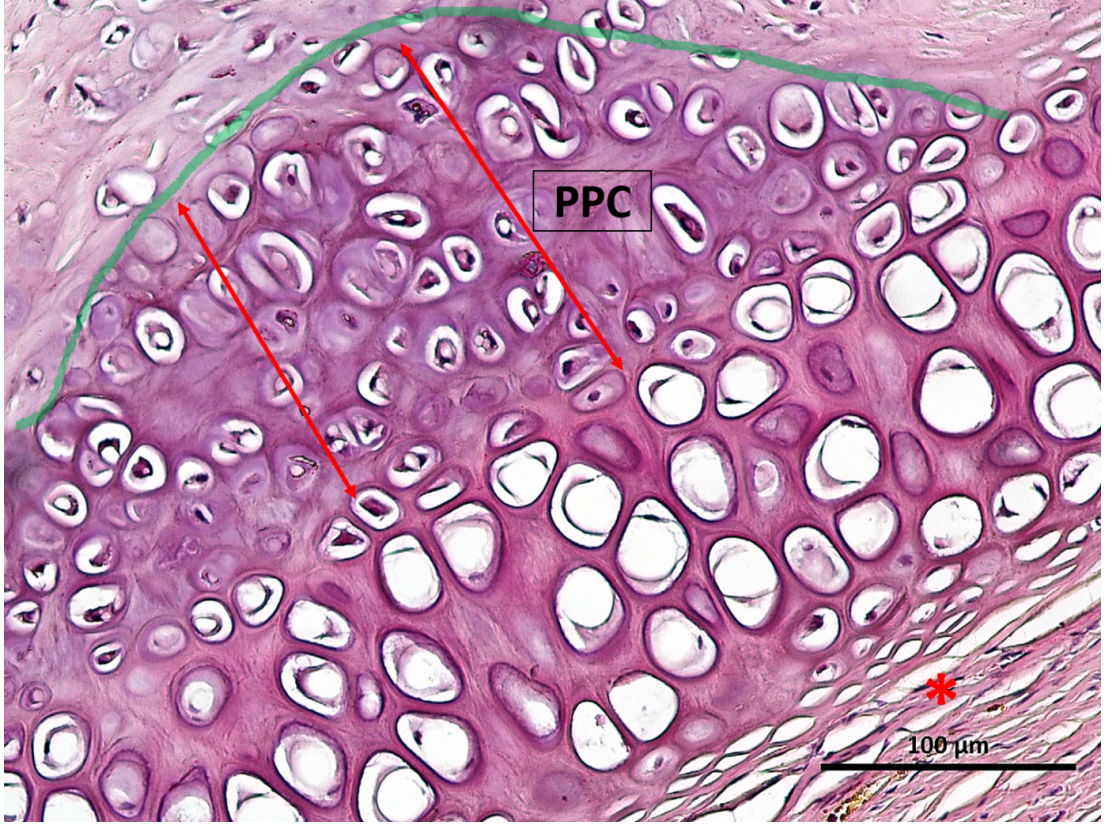
Bu gruptaki hayvanların yarısında transfer edilen kıkırdak dokusu sağlamdı (Şekil 4.22). Diğer yarısında ise hafif veya şiddetli dejenerasyon görüldü. Lakunalar genişlemişti, kondrositlerin sitoplazmalarında irili ufaklı vakuoller görüldü. Piknotik veya parçalanmış nükleuslara rastlandı (Şekil 4.23). Sağlıklı kıkırdakların periferik bölümlerinde proliferasyon alanları görülmekteydi (Şekil 4.24). Dejenere olmuş kıkırdak alanlarının yer yer sıkı bağ dokusu ile istila edildiği gözlemlendi. Bu alanlar fibrotik alanlar olarak değerlendirildi (Şekil 4.25).



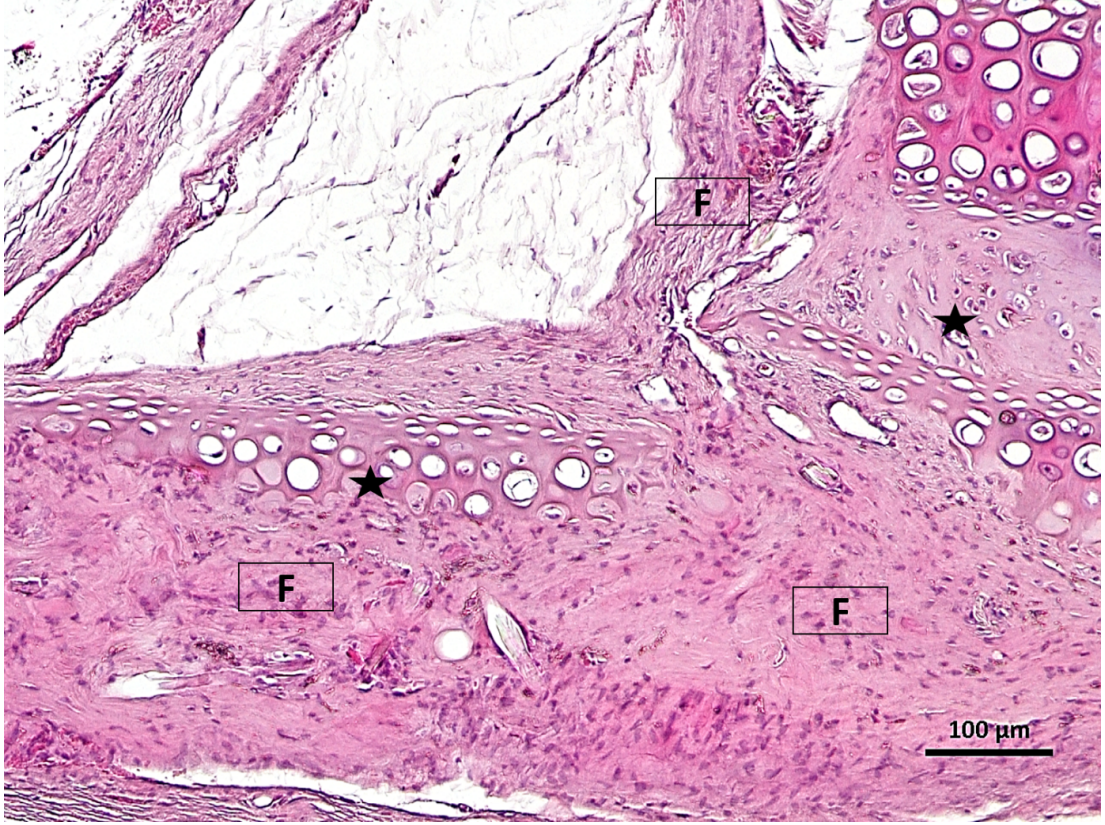
**Şekil 4.22:** KDK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) ve perikondrium (kırmızı asteriksler) ve çevre bağ doku (mavi yıldızlar) görülmektedir (H&E, X100).



**Şekil 4.23:** KDK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Dejenere olan kıkırdak dokusu içinde bulunan genişlemiş lakunalar (Kırmızı L), kondrositlerin sitoplazmalarında bulunan irili ufaklı vakuoller (kırmızı V), piknotik nükleuslar (kırmızı PN) görülmekte (H&E, X200).



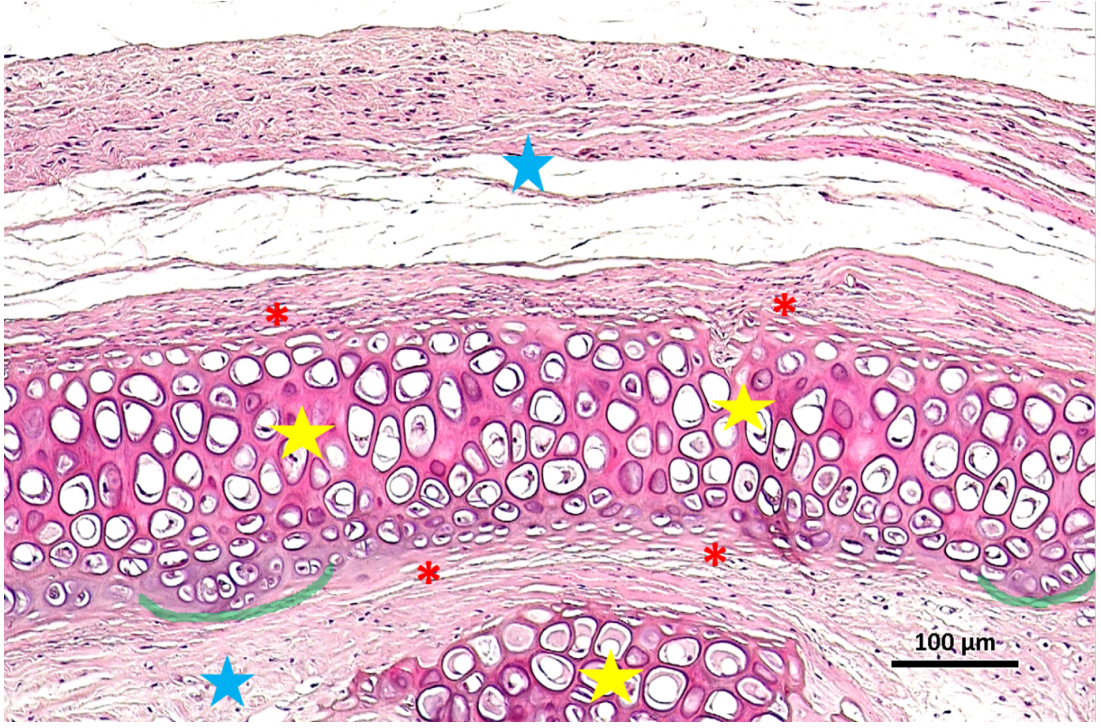
**Şekil 4.24:** KDK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Kıkırdağın periferik bölümlerindeki proliferasyon alanları (çift taraflı kırmızı ok ve yeşil renk ile sınırlandırılan alan PPC) görülmektedir (H&E, X200).



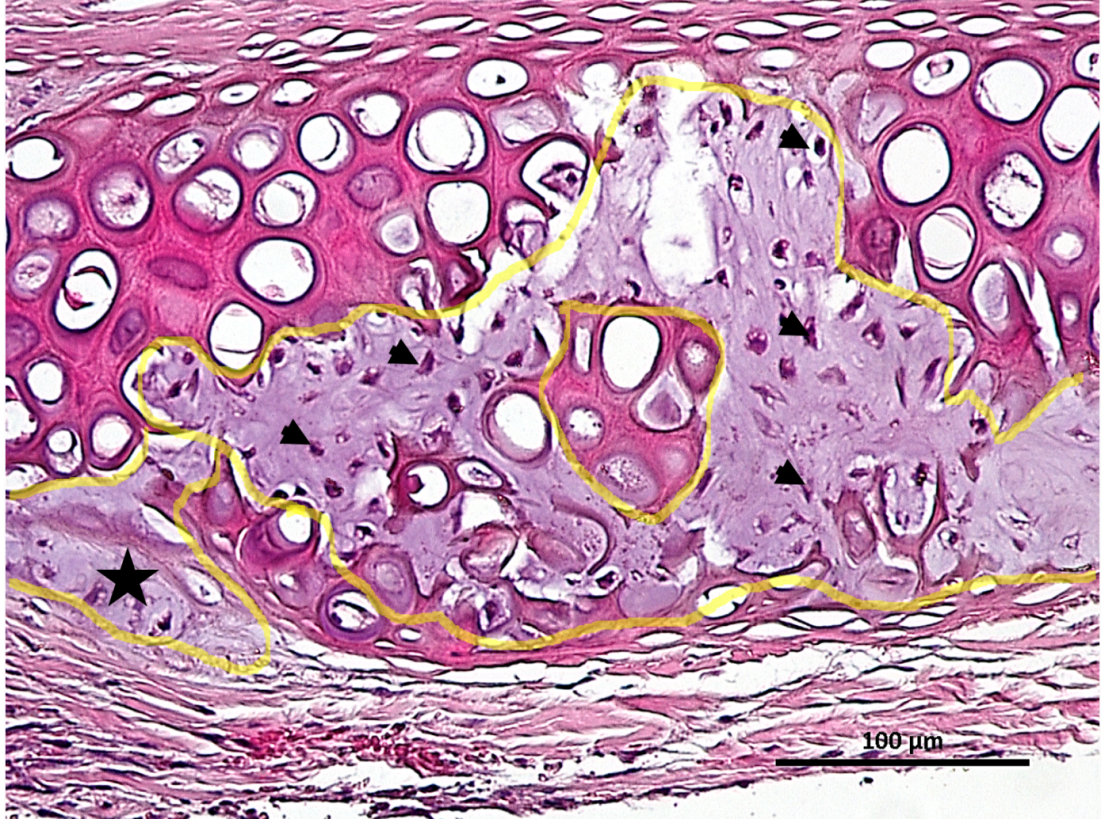
**Şekil 4.25:** KDK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Dejenere olmuş kıkırdak alanlarının (siyah yıldızlar) sıkı bağ dokusu (F) ile istila edildiği alanlar görülmekte (H&E, X100).

#### **TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak grubu**

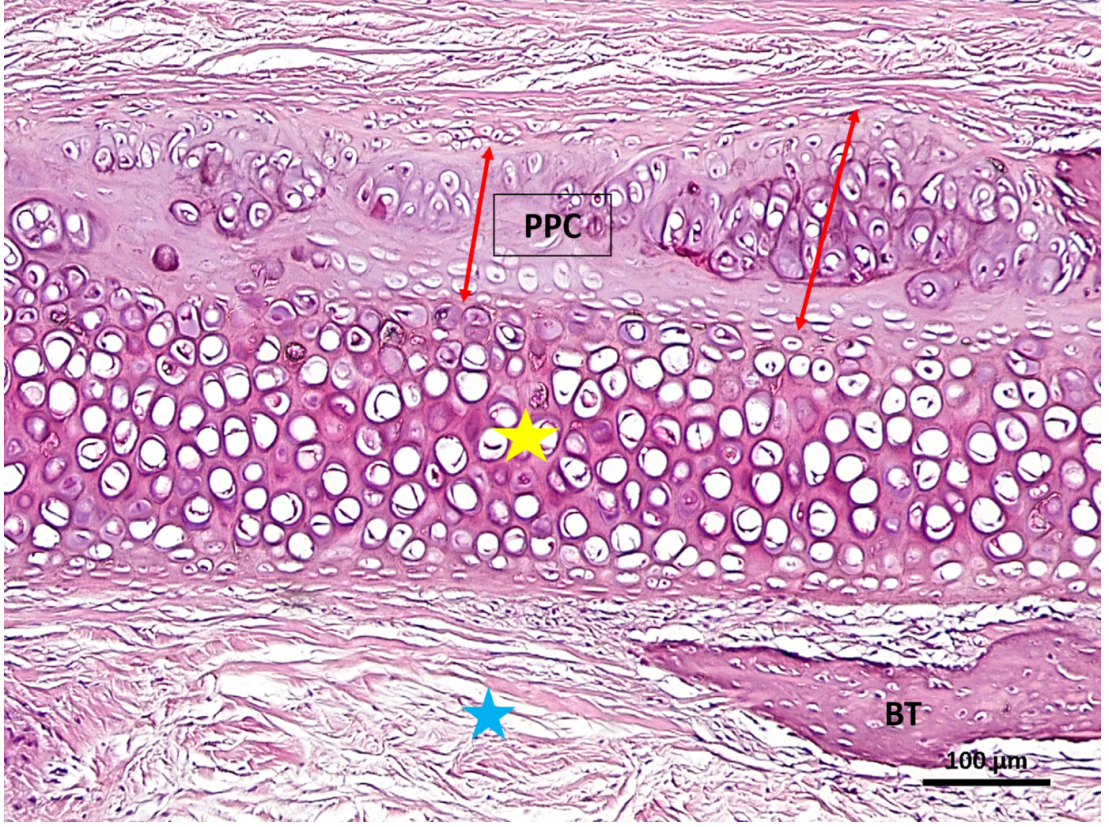
Bu gruptaki hayvanların bir çoğunda transfer edilen kıkırdak dokusu sağlamdı ve periferik proliferasyon alanları görülmekteydi (Şekil 4.26). Az sayıda örnekte dejenere kıkırdak alanında piknotik nükleuslar ve hücre artıkları vardı (Şekil 4.27). Kıkırdağın periferinden bağ dokusuna uzanan geniş proliferasyon alanları bir çok örnekte mevcuttu (Şekil 4.28). Sıkı bağ dokusu içinde geniş kıkırdaklaşma merkezlerine rastlandı (Şekil 4.29).



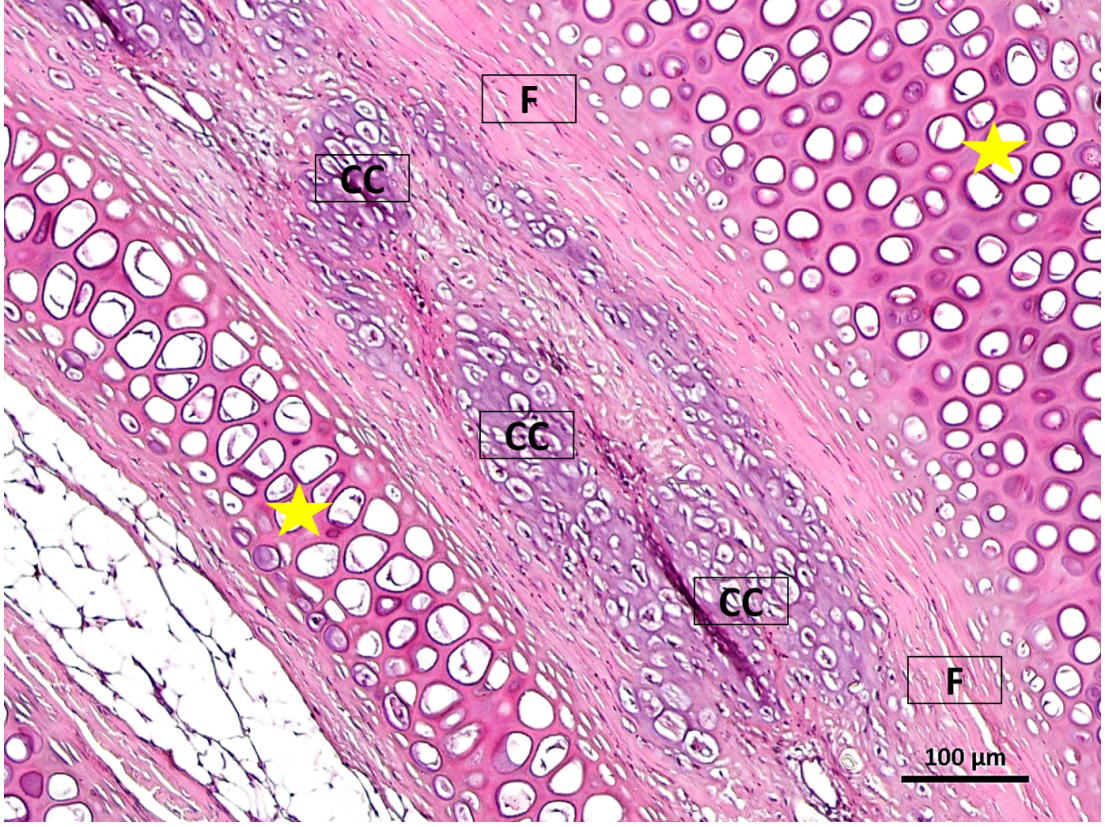
**Şekil 4.26:** TZF-DK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Yer yer periferik proliferasyon (yeşil çizgi ile sınırlanan) olan sağlam kıkırdak dokusu (sarı yıldızlar) görülmekte (H&E, X100).



**Şekil 4.27:** TZF-DK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna ait kesit. Dejenere kıkırdak alanında (siyah yıldız, sarı çizgi ile sınırlandırılan alanlar) bulunan piknotik nükleuslar (siyah ok başları) ve hücre artıkları görülmekte (H&E, X200).



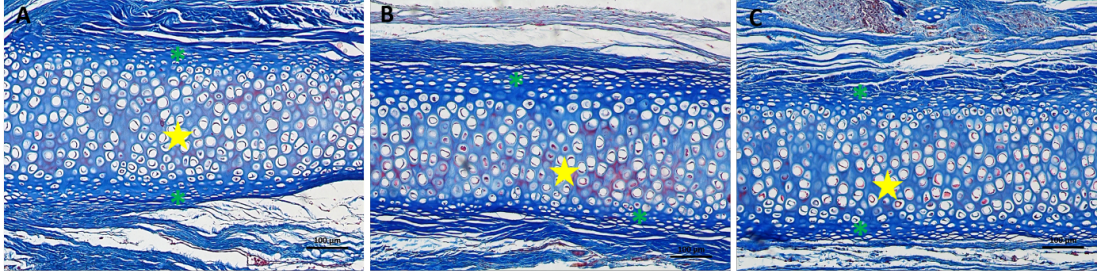
**Şekil 4.28:** TZF-DK grubu transfer edilen kıkırdağ dokusuna ait kesit. Kıkırdağın (sarı yıldız) periferinden bağ dokusuna ilerleyen geniş proliferasyon alanları (çift taraflı kırmızı ok, PPC) ve bağ dokusu (mavi yıldız) içinde nadir olarak bulunan kemik doku (BT) görülmekte (H&E, X100).



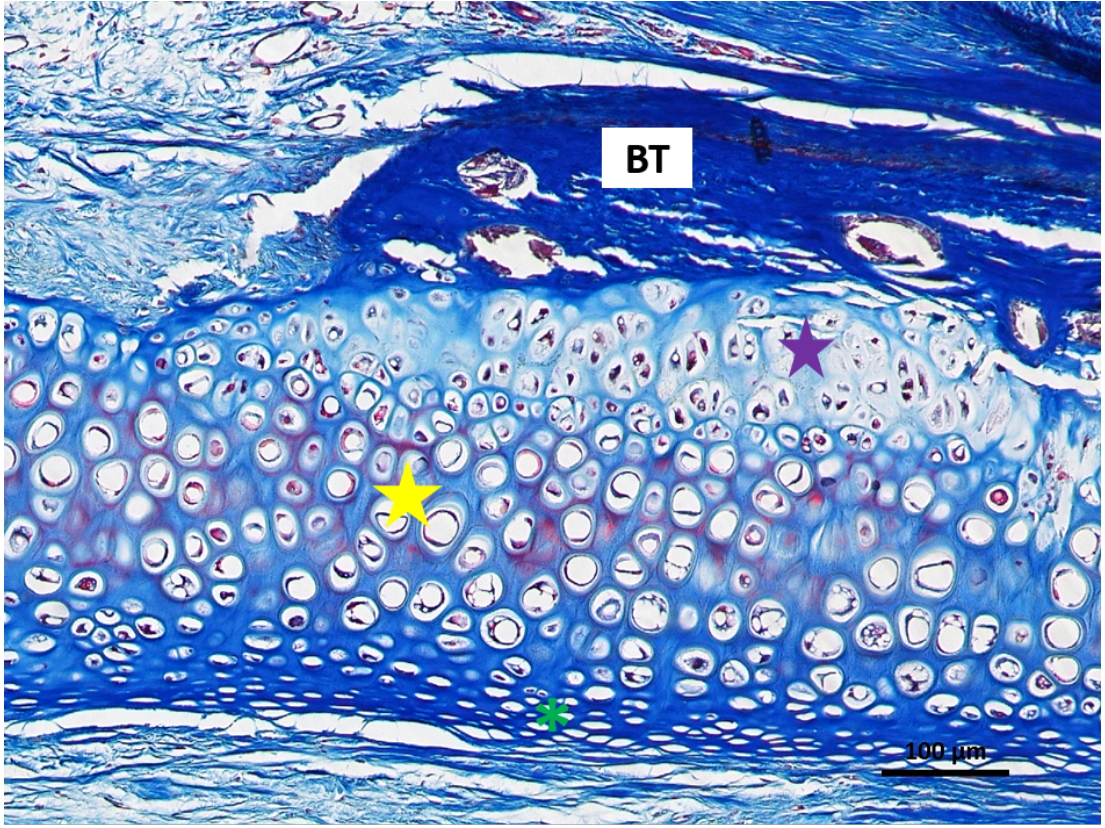
**Şekil 4.29:** TZF-DK grubu transfer edilen kıkırdak dokusuna (sarı yıldızlar) ait kesit. Sıkı bağ dokusu (F) etrafında geniş kıkırdaklaşma merkezlerine (CC) rastlandı (H&E, X100).

### **Masson Trikrom Boyama Bulguları**

Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları incelendiğinde kontrol blok kıkırdak grubunda ve doğranmış kıkırdak grubunda, ezilmiş kıkırdak grubundan daha yoğun (daha mavi) bir matriks boyanması olduğu görüldü. Ayrıca tüm kontrol gruplarında (KBK, KEK ve KDK) periferik proliferasyon alanlarının daha yoğun, kıkırdak dokusunun orta kısımlarının daha soluk boyandığı izlendi (Şekil 4.30). Bununla birlikte oluşan lokal proliferatif kıkırdak alanlarının neredeyse boyanmadığı ve çok soluk olduğu dikkati çekti (Şekil 4.31).



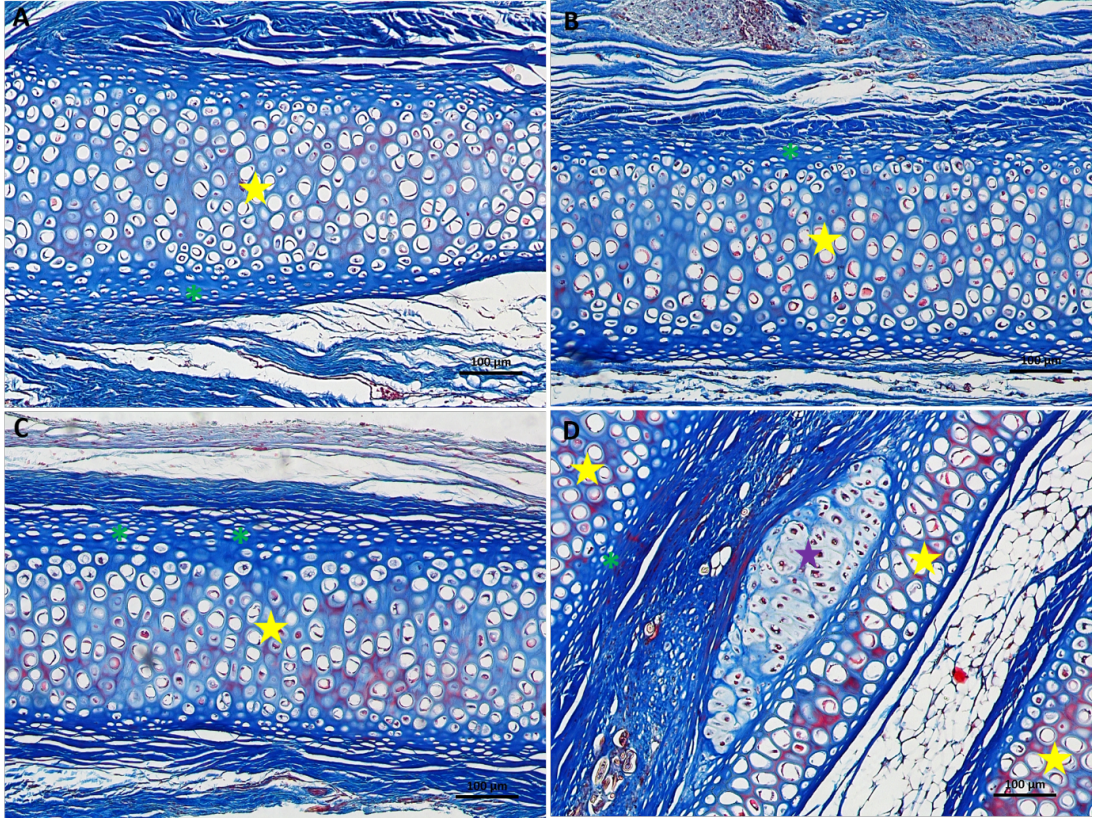
**Şekil 4.30:** A: KBK Grubu, B: KDK Grubu, C: KEK Grubu. Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları görülmekte. Kıkırdak dokusunun orta kısımları (sarı yıldızlar) daha soluk, periferik proliferasyon alanlarının (yeşil asteriksler) daha koyu mavi boyandığı izlenmektedir (Masson Trikrom, X100).



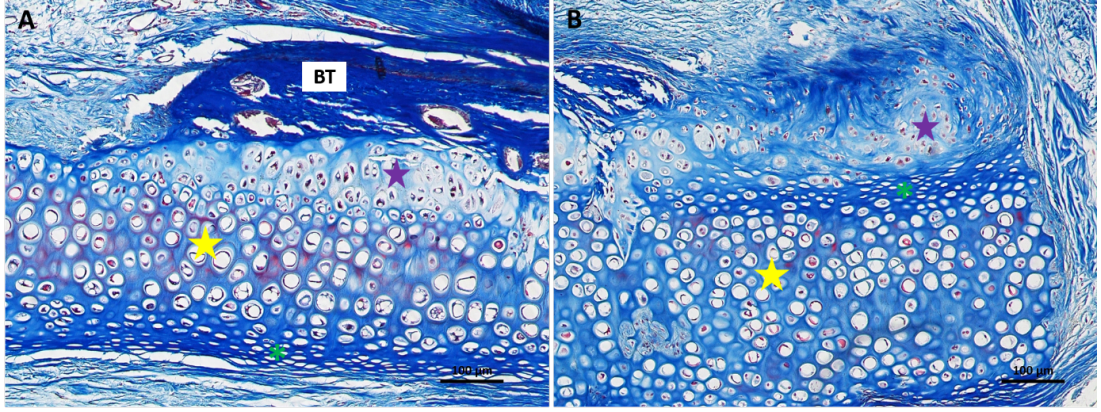
**Resim 4.31:** Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları görülmekte. Kıkırdak dokusunun orta kısımları (sarı yıldızlar) daha soluk, periferik proliferasyon olan kısımlarının (yeşil asteriksler) daha koyu mavi olduğu ve lokal proliferatif kıkırdak alanlarının (mor yıldız) neredeyse boyanmadığı ve çok soluk mavi boyandığı izlenmektedir. BT: Kemik doku (Masson Trikrom, X100).

Kontrol grupları ile TZF verilen gruplar karşılaştırıldığında TZF ile kombine edilmiş blok ve doğranmış kıkırdak gruplarının kıkırdak matriksinin kontrol blok ve doğranmış kıkırdak gruplarına göre daha koyu boyandığı görüldü (Şekil 4.32). TZF verilen blok ve doğranmış kıkırdak gruplarının kontrollerine göre daha çok boyanması TZF' nin kollajen lif içeriğinin devamlılığında katkısı olduğunu göstermektedir.

Kontrol ve TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak gruplarının kıkırdak matriksleri birbiri ile karşılaştırıldığında boyanma açısından TZF'nin etkisinin blok ve doğranmış gruplardakine göre daha az olduğu, ezilmiş kıkırdak gruplarının diğer gruplardan daha soluk boyandığı görüldü (Şekil 4.32 ve 4.33).



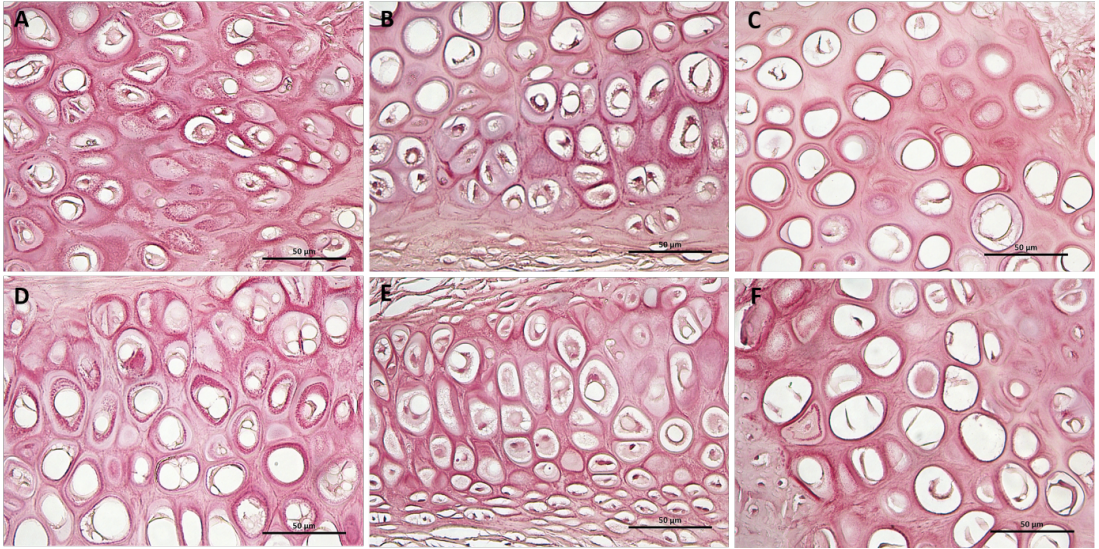
**Şekil 4.32:** Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları görülmekte. A: KBK Grubu, B: TZF-BK Grubu, C: KDK Grubu, D: TZF-DK Grubu. TZF-BK ve TZF-DK gruplarında kıkırdak dokusunun (sarı yıldızlar) KBK ve KDK gruplarına göre daha koyu boyandığı görülmektedir. Yeşil asteriksler periferik proliferasyon alanlarını, mor yıldız lokal proliferasyon alanlarını göstermektedir (Masson Trikrom, X100).



**Şekil 4.33:** Masson trikrom ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları görülmekte. A: KEK Grubu, B: TZF-EK Grubu. KEK ve TZF-EK gruplarında kıkırdak dokusunun (sarı yıldızlar) Şekil 4.32’ de gösterilen blok ve doğranmış kıkırdak gruplarına göre daha soluk boyandığı görülmektedir. Yeşil asteriksler periferik proliferasyon alanlarını, mor yıldız lokal proliferatif kıkırdak alanlarını göstermektedir (Masson Trikrom, X100).

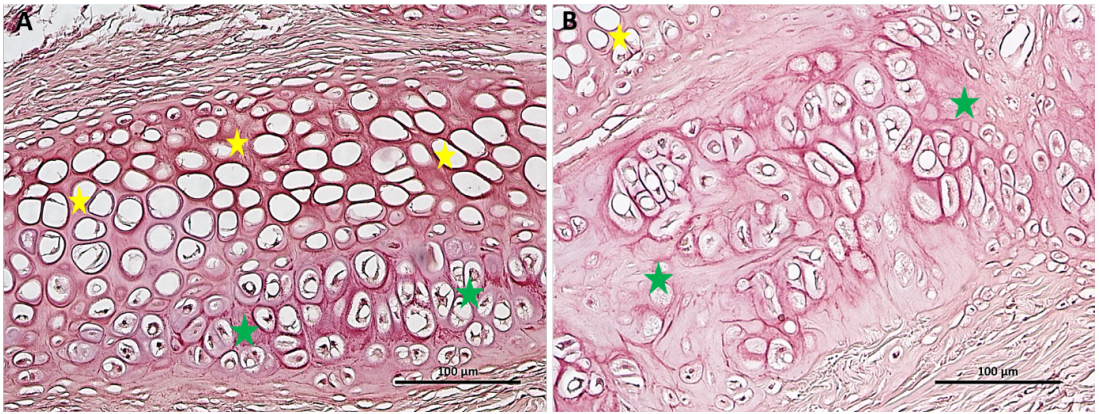
#### **Orsein Boyama Bulguları**

Orsein ile boyanmış transfer edilen kıkırdak dokuları incelendiğinde kontrol gruplarından blok kıkırdak (Şekil 4.34A) ve doğranmış kıkırdak grubunda (Şekil 4.34B), ezilmiş kıkırdak (Şekil 4.34C) grubuna göre daha çok elastik fibril olduğu olduğu net bir şekilde görüldü. Kontrol grupları ile TZF ile kombine edilen gruplar genel olarak karşılaştırıldığında TZF ile kombine edilmiş grupların kontrollerine göre daha çok orsein ile boyanan alan yani elastik fibril içerdiği tespit edildi (Şekil 4.34D, E ve F). Ezilmiş kontrol grubunda elastik fibrillerde azalma olduğu (Şekil 4.34C), TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak grubunda ise nispeten elastik fibril kaybının kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü (Şekil 4.34F).



**Şekil 4.34:** A: KBK, B: KDK, C: KEK, D: TZF-BK, E: TZF-DK, F: TZF-EK. Orsein ile boyanmış kıkırdak greft dokuları görülmektedir (Orsein, X400).

Doğranmış gruplar yani KDK ve TZF-DK gruplarına ait kesitlerde periferde meydana gelen kıkırdak proliferasyon alanlarında da orsein ile boyanma olduğu dikkati çekti (Şekil 4.35A ve 4.35B).

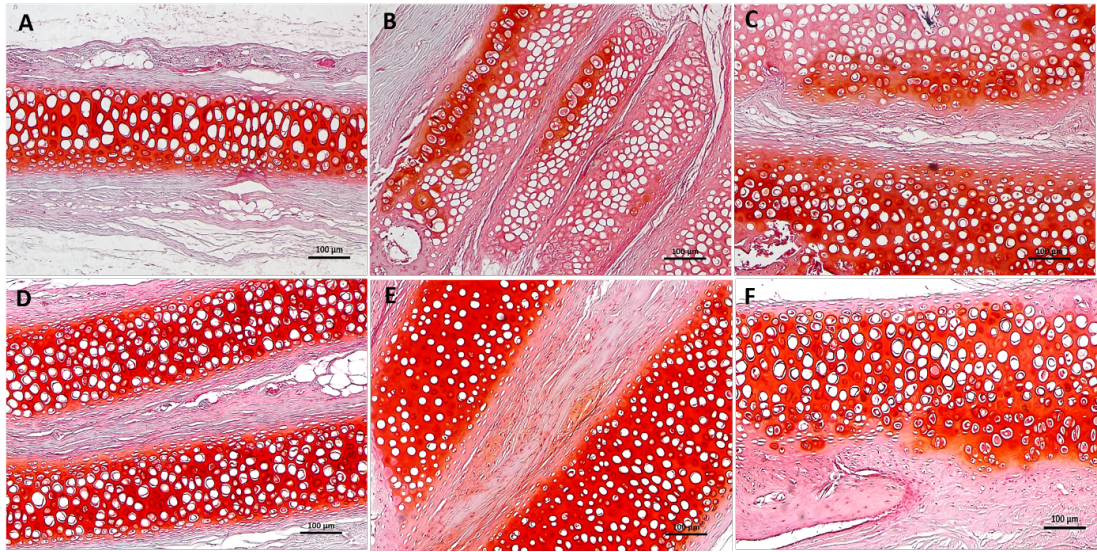


**Şekil 4.35:** A: KDK ve B: TZF-DK. Sarı yıldızlar Orsein ile boyanmış kıkırdak greft dokusunu, yeşil yıldızlar ise periferde yeni oluşan kıkırdak dokusunu göstermektedir. Yeni oluşan kıkırdak dokuda elastik lifler görülmektedir. (Orsein, X200).

### **Safranin-O Boyama Bulguları**

Safranin ile boyanmış kıkırdak greft dokuları incelendiğinde kontrol blok kıkırdak ve (Şekil 4.36A) kontrol doğranmış (Şekil 4.36B) kıkırdak grubunda, ezilmiş kıkırdak

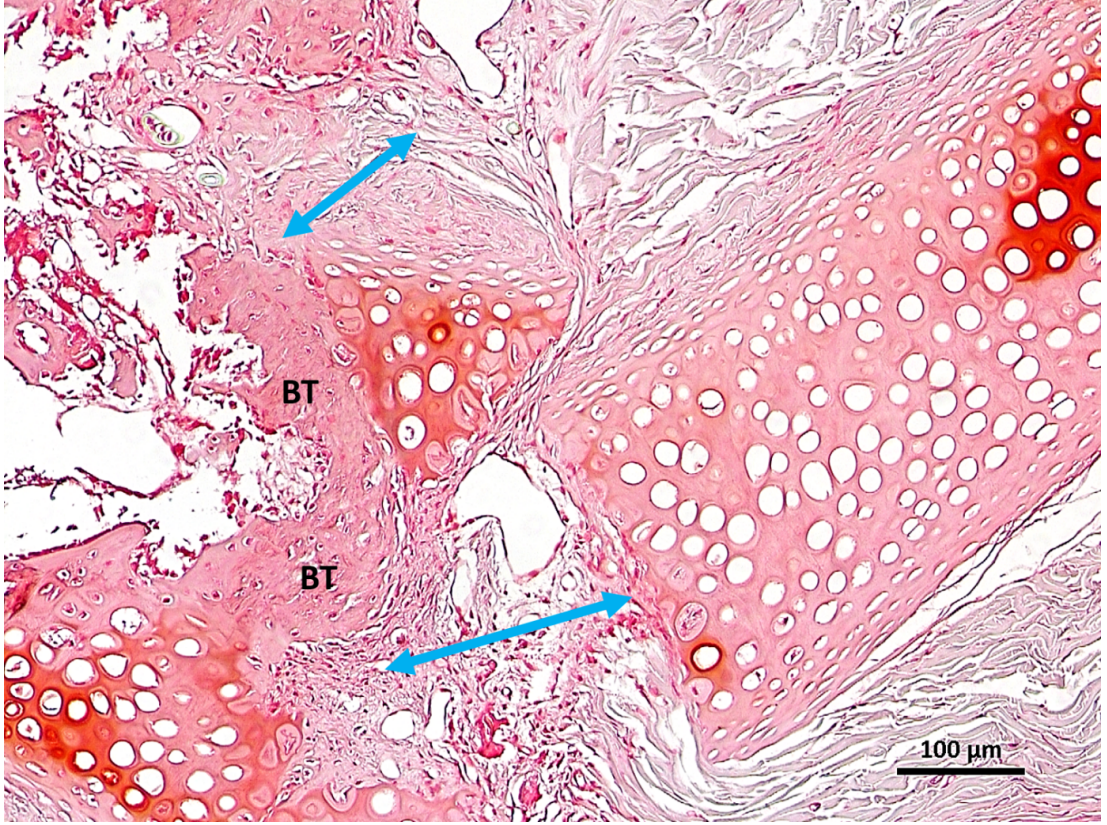
grubundan (Şekil 4.36C) daha koyu boyandığı, yani proteoglikan oranının daha yoğun olduğu net bir şekilde görüldü. Kontrol grupları ile TZF ile kombine edilen gruplar genel olarak karşılaştırıldığında TZF ile kombine edilmiş grupların kontrollerine göre daha yoğun olarak safranin ile boyandığı tespit edildi (Şekil 4.36D, E ve F). TZF ile kombine edilmiş blok ve doğranmış kıkırdak grefti gruplarının safranin ile oldukça yoğun boyandığı, yani kondrosit canlılığının ve kıkırdak matriks proteoglikan miktarının fazla olduğu görüldü (Şekil 4.36D ve E).



**Şekil 4.36:** A: KBK, B: KDK, C: KEK, D: TZF-BK, E: TZF-DK, F: TZF-EK.

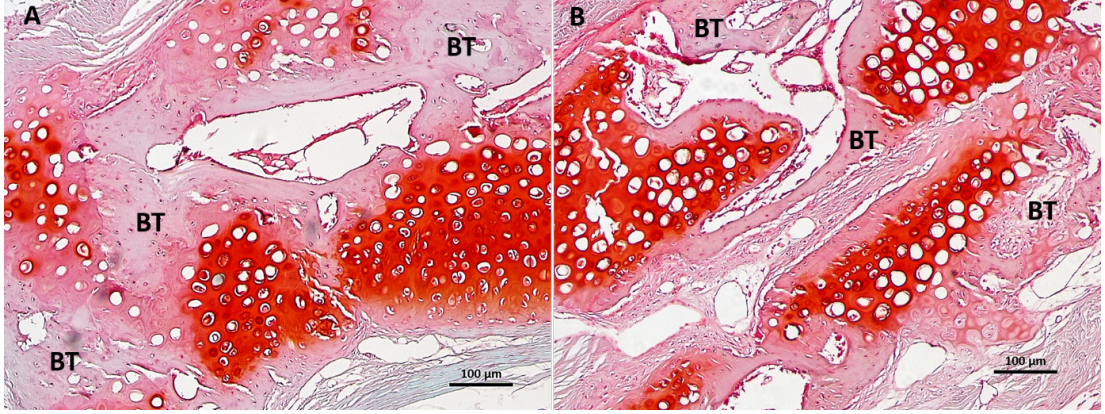
Safranin ile boyanmış kıkırdak greft dokuları görülmektedir (Safranin- O, X100).

Kontrol ve TZF grupları arasındaki farka dikkat çekmek adına kontrol ve TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak gruplarının safranin ile farklı derecelerde boyandığı Şekil 4.36' da görülmektedir (Şekil 4.36B ve E). Kontrol doğranmış kıkırdak grubunda kıkırdak greftlerinin çoğunda safranin ile zayıf boyanma olduğu görüldü. Kontrol kıkırdak gruplarına ait kesitlerde özellikle kemik doku oluşumu başlayan kıkırdak alanlarında safraninin zayıf boyandığı tespit edildi (Şekil 4.37). TZF ile kombine edilmiş doğranmış kıkırdak grubunda ise TZF ile kombine edilmiş blok kıkırdak gruplarında olduğu gibi safranin ile boyanmanın oldukça yoğun olduğu görüldü.



**Şekil 4.37:** KDK Grubu. Safranin ile boyanmış kıkırdak greft dokusu görülmektedir. Mavi çift taraflı oklar ile dejenere olan kıkırdak dokusunun yerini almaya başlayan spongiyöz kemik dokuları (BT) işaretlenmiştir. Mavi oklara ve kemik dokuya yakın kıkırdak doku matriksinin safranin ile oldukça zayıf boyandığı izlenmektedir (Safranin- O, X100).

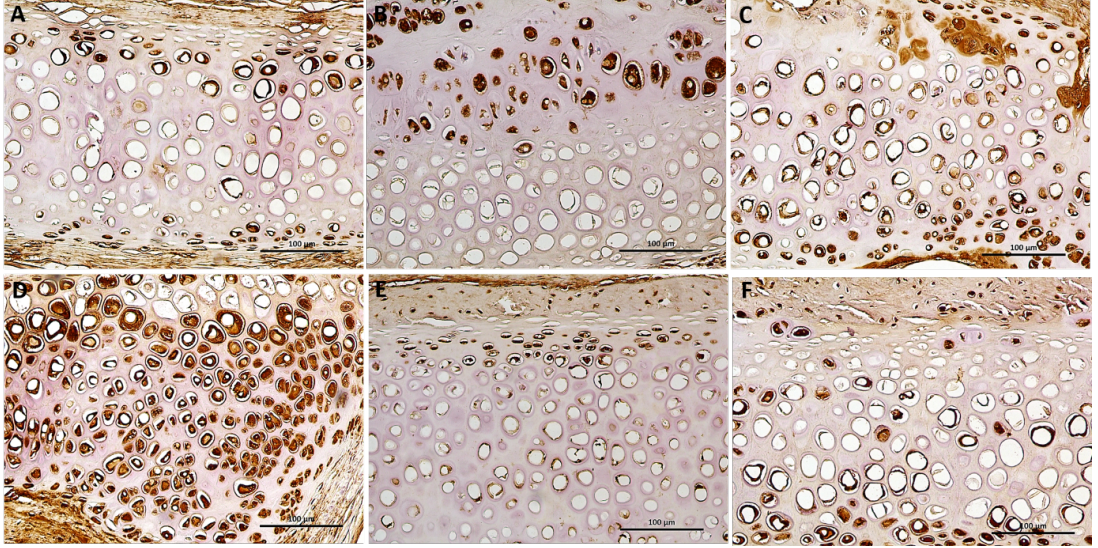
Ezilmiş kıkırdak grefti gruplarında kemik oluşumunun daha fazla olduğu görüldü. Ezilmiş olan gruplarda kemik dokuya yakın olan kıkırdak dokusunun safranin ile zayıf boyandığı, kemik doku oluşumu başlayan komşu bölgelerde ise boyanmadığı tespit edilmiştir. TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak grubunun kesitlerinde safranin ile boyanmanın diğer gruplara göre az da olsa kendi kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.38).



**Şekil 4.38:** A: KEK, B: TZF-EK. Safranin ile boyanmış kıkırdak grefti dokuları görülmektedir. Kemik dokuya (BT) yakın kıkırdak doku matrisinin safranin ile oldukça zayıf boyandığı, komşu kısımlarının ise safranin ile boyanmadığı izlenmektedir (Safranin- O, X100).

#### **GFAP İmmünohistokimyasal İnceleme Boyama Bulguları**

Tsai ve arkadaşlarının yapmış olduğu derecelendirme (%0 boyanma:-, %1-30: +, %31-60: ++, %61-100: +++) örnek alınarak değerlendirme yapıldı (352). GFAP poliklonal antikorunu kullanılarak yapılan ve immünohistokimyasal reaksiyon sonucu DAB ile kahverengi boyanan kıkırdak doku hücreleri incelendi (Şekil 4.39). KBK grubunda özellikle periferik yani perikondriyuma yakın alanlarda olan hücrelerde orta derecede (++) reaksiyon izlenirken, kıkırdak merkezindeki hücrelerde zayıf reaksiyon (+) bulunmaktaydı (Şekil 4.39A). TZF-BK grubuna ait kıkırdak dokusunda ise hem periferde hem de merkezde bulunan hücrelerde kuvvetli (+++) reaksiyon izlenmekteydi (Şekil 4.39D). KDK grubunda merkezdeki hücrelerde reaksiyon izlenmezken özellikle periferik proliferasyon olan kısımlarda kuvvetli (+++) reaksiyon görüldü (Resim 4.39B). TZF-DK grubuna ait kesitlerde periferde proliferasyon olan alanlarda orta derecede (++) reaksiyon ve KDK grubundan farklı olarak merkezdeki hücrelerde zayıf derecede (+) reaksiyon olduğu görüldü (Şekil 4.39E). KEK ve TZF-EK grubu kesitlerinde hem perifer hem merkezdeki hücrelerde kuvvetli reaksiyon (+++) olduğu dikkati çekti (Şekil 4.39C ve 4.39F).



**Şekil 4.39:** A: KBK, B: KDK, C: KEK, D: TZF-BK, E: TZF-DK, F: TZF-EK. GFAP poliklonal antikoruna ile immünohistokimyasal olarak boyanmış kıkırdak greft dokuları görülmektedir (GFAP- Hematoksilen, X200).

## 5. TARTIŞMA

Burun estetiği ameliyatlarının sonuçları, farklı teknikler ve biyomalzemeler kullanılarak önemli ölçüde iyileştirilebilir. Yetersiz yapısal destek ve hacim gibi iki temel sorun, çeşitli greftler ve implantlar kullanılarak restore edilebilir. Son yıllarda paradigma, geleneksel rinoplastideki aşırı agresif yöntemlerden koruyucu teknikler ve augmentasyon tekniklerine doğru kaymıştır (353, 354). Bunun sonucunda ameliyatlarda greft ve implantların kullanımları da artmıştır. Ancak bu bağlamda kullanılan implant ve greft seçimi tartışma konusu olmaya devam etmektedir.

Burun ameliyatlarında septum ile üst ve alt lateral kıkırdakların aşırı rezeksiyonu yapısal desteğin kaybolmasına neden olur (355). Ameliyat sonrası burnun yapısal desteğinin önemli ölçüde kaybı cilt ve yumuşak dokuda küçülme ve hacim kaybı ile sonuçlanabilir. Düşük çatı, osteokartilajinöz dorsumun tedbirsiz rezeksiyonu sonrası meydana gelebilir. Burun ucu projeksiyonunun ve rotasyonunun düşmesi ve burun uzunluğunun kısılması; iskelet yapı desteği, doku desteği ve iyileşme dinamiklerinin kaybına sekonder olabilir. Burun ucu ve dorsal kontürdeki düzensizlikler ve alar retraksiyon sıklıkla burun iskeletine yapılan aşırı ve asimetrik müdahalelerden kaynaklanır (93, 120). Benzer şekilde, iç ve/veya dış nazal valvlerin işlevi, üst ve/veya alt lateral kıkırdak aşırı agresif rezeksiyonu ile tehlikeye girebilir.

Bu komplikasyonlar, zorlu rekonstrüksiyon ihtiyaçlarını beraberinde getirir ve genellikle fonksiyonel ve kozmetik sorunları ele almak için ilk veya akabindeki ameliyatlarda çeşitli greftlerin ve implantların dikkatlice planlanmasını gerektirir.

Greftler ve implantlar, hem yer çekiminden ve yaşlanmadan kaynaklanan statik kuvvetlere hem de doku kontraksiyonu, skarlaşma ve solunum esnasında meydana gelen basınç değışikliklerinden kaynaklanan dinamik kuvvetlere direnç sağlar.

Greftler ve implantlar, aşırı redüksiyonun etkilerini en aza indirmek, burun iskeletini desteklemek, açık çatı deformitelerini ve kontür düzensizliklerini kamufle etmek ya da çökmüş bir kıkırdak çatının veya daralmış bir nazal valvin neden olduğu hava yolu darlığını düzeltmek için kullanılabilir.

Otolog kıkırdak, çok iyi bir elastikiyete sahiptir. Basınca karşı dirençlidir ve kolay şekillendirilebilir. Yüksek biyouyumluluk, düşük enfeksiyon riski ve ekstrüzyon oranları ile burun ameliyatlarında ideal greft materyali olarak kabul edilmektedir (187, 356-362).

Otolog kıkırdakların greft materyali olarak kullanılması dorsal burun düzensizliklerinin önlenmesinde ve onarımında klinik ve deneysel çalışmalarda altın standart olarak kabul edilmektedir. Tarhan ve arkadaşları burun kontür düzensizliklerini düzeltmek için ideal greft materyalinin kıkırdak olduğunu bildirmişlerdir (363). Lin ve Lawson da rinoplastide kullanılan greft ve implant materyallerini komplikasyonları yönünden karşılaştırmış ve otolog kıkırdak greftlerinin hala en iyi seçenek olduğu kanısına varmışlardır (362).

Elde edilme şekillerine, yöntemlerine, kullanıldıkları forma ve kullanım amaçlarına göre farklılık arzeden otolog kıkırdak greftlerinin değişimlerinin ve kalıcılıklarının ameliyat sonrası dönemde istenmeyen fonksiyonel ve estetik sonuçlara yol açabilmesi söz konusudur. Bu nedenle burun ameliyatlarında ideal kıkırdak greftinin, uygun yöntem ile birlikte kullanılması uzun dönem başarı için son derece önemlidir. Dolayısıyla günümüzde bu alanda birçok araştırma yapılmaktadır.

Primer rinoplasti vakalarında kontür düzensizlikleri ve asimetrielerin meydana gelmesi, yapısal desteğin kaybı sonucu burun ucu ya da burun dorsumunun düşmesi veya nazal valvin daralması sonucu solunum problemleri görülmesi gibi istenmeyen estetik ve fonksiyonel sonuçlarla karşılaşılabilir. Aynı zamanda sekonder veya tersiyer rinoplasti vakalarında yapısal destek ve hacim sağlama gibi rekonstrüksiyonun birincil amaç olduğu ameliyatlarda kıkırdak greftlerinin rezorbsiyonu çoğunlukla tolere edilmez (364).

1900'lerin başlarında, burun ameliyatlarında kullanılan homolog ve ksenojen greftlerin öngörülemeyen sonuçları cerrahları otolog kıkırdak kullanımına doğru yöneltmiştir (178, 180, 182, 365, 366). Ancak o dönemde kullanılan otolog kıkırdak greftlerinin blok halinde kullanılması özellikle kostal kıkırdaktan elde edilen otolog blok kıkırdakların kullanımı ile zaman içerisinde görünürlük, rezorbsiyon, eğrilme ve

bükülme gibi komplikasyonlarının görülmesine, dolayısıyla kullanımlarının kısıtlanmasına neden olmuştur (97, 99, 200, 201, 363, 367-369).

Bu durum, çeşitli endikasyonlarda kullanılmak üzere zaman içerisinde doğranmış kıkırdak greftlerinin keşfine yol açmıştır. Küçük parçalar halinde doğranan kıkırdak greftleri, eğilme ve bükülme gibi blok kıkırdak ile karşılaşılan istenmeyen sonuçların üstesinden gelmekteydi, ancak doğranmış kıkırdak greftlerinin bir arada tutulamaması, şeklini kontrol etmedeki zorluk, alıcı alana yerleştirme ve manipülasyon esnasında ve sonrasında yaşanan dağılma gibi problemler nedeniyle uzun yıllar boyunca kendine geniş bir kullanım alanı bulamamıştır. Aynı zamanda yapısal destek sağlamak amacıyla kullanımı uygun bir greft materyali olmadığı gösterilmiştir (187, 217, 218, 341, 364, 370-372).

Cottle tarafından nazal rekonstrüksiyonda ilk defa kullanılması ile literatüre kazandırılan ezilmiş kıkırdak greftleri, istenilen şekle getirilebilmesi, birden fazla katman halinde kullanılabilmesi ve ezme kuvvetine bağlı olarak sertlik ve yumuşaklık kıvamının ayarlanabilmesi sayesinde özellikle burun dorsumu ve burun ucunda kontür düzensizliğini, olası bir asimetriyi ve greft görünürlüğü en aza indirmekte idi. Yapısal destek olarak kullanılamaması, kullanımını sınırlandırmakla birlikte günümüzde literatürdeki sınırlı sayıda çalışmanın çelişkili sonuçlar sebebi ile ezilmiş kıkırdak greftlerin canlılığı veya klinik öngörülebilirliği hakkında kesin bir sonuca varmak mümkün değildir (184, 199, 214, 220, 373).

Breadon ve arkadaşları kıkırdak greftlerinin ezilmesinin korunmasının rezorbsiyon açısından anlamlı bir fark yaratmadığını göstermiştir (374). Buna karşılık, Brown ve arkadaşları kıkırdak greftlerinin ezilmesinin rezorbsiyon miktarını önemli ölçüde artırdığını bulmuşlardır (375). Ezilmiş ve ezilmemiş kıkırdağı karşılaştıran bir çalışmada, ezilmiş kıkırdağın önemli ölçüde rezorbsiyonunun 6 hafta sonra ortaya çıktığı gösterilmiştir (375). Ezilme yoğunluğunun rezorbsiyon üzerine etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise, kırma şiddeti arttıkça kıkırdak canlılığının azaldığı ve daha fazla kıkırdak dokusunun bağ dokusuna dönüştüğü gösterilmiştir (348).

Biz de çalışmamızda ezilmiş otolog kıkırdak greftlerini, literatürdeki çalışmalarını baz alarak, günümüzde sıkça kullanılan Cottle kıkırdak ezici yardımıyla daha önce tariflendiği şekilde orta şiddette ezerek standardize ettik (349, 376, 377).

Doğranmış kıkırdak greftlerinin canlılığı yıllar önce deneysel olarak Young tarafından gösterilmiştir (179). Daha sonra yapılan deneysel çalışmalar, doğranmış kıkırdağın canlılığı konusunda çelişkili sonuçlar sunmuşlardır. Bazı araştırmacılar greftlerde yaygın dejenerasyon gözlemlemişler ve bunu greft rezorbsiyonuna atfetmişlerdir. Benzer çalışmalarda bazı yazarlar ise, kıkırdak canlılığının sürdürüldüğünü ve hacim sağ kalım oranlarının %70 ila %90'dan fazla olduğunu bildirmiştir (218, 360, 370, 378-381). Yine yakın zamanda yapılan benzer çalışmalarda, az travmatize olmuş ve iyi vaskülarize olan bölgelerde doğranmış kıkırdakların canlılıklarını koruyabildikleri gösterilmiştir (219, 348, 379, 382, 383).

20. yüzyılın başlarında blok kıkırdak kullanımı, kıkırdağın eğilme ve bükülme etiyojisine ilişkin bilgi eksikliği nedeniyle sınırlıydı. Kıkırdağın biyomekanik özelliklerinin anlaşılması ve insizyon teknikleriyle kıkırdakta eğrilme ve bükülmenin kontrolü, önce blok, daha sonra doğranmış ve ezilmiş otolog kıkırdağın klinik uygulamalarının artmasıyla sonuçlanmıştır.

Blok ve doğranmış kıkırdak greftleri, deneysel ve klinik çalışmalarda canlılık ve rezorbsiyon oranları açısından farklı sonuçlar göstermiştir. Bazı çalışmalarda blok kıkırdak greftleri, önemli ölçüde sağ kalım göstermiş ve hatta proliferasyon yoluyla yeni kıkırdak oluşumu gözlenmiştir. Bazı çalışmalarda ise literatürde ideal greft materyali olarak kabul edilmesine rağmen otolog blok kıkırdak greftinin bildirilen ortalama rezorbsiyon oranı %10 ile %30 arasında gösterilmiştir (8). Bununla birlikte, doğranmış veya ezilmiş kıkırdak greftleri şeklinde kullanıldıklarında, kıkırdak matriksinde büyük bir yıkım meydana geldiğini, bunun da kıkırdak canlılığının büyük ölçüde kaybına yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. (371, 384).

Kıkırdak greftlerinin implante edilen bölgedeki plazmadan imbibisyon ile beslendiği bilinmektedir. Kıkırdak greftleri küp küp doğrandığında kondrositlerin çevre doku ile temasa geçtikleri yüzey alanı ve dolayısıyla difüzyon hızı artmaktadır. Difüzyon yoluyla beslenmenin etkisinin değerlendirildiği Brent, Lee ve Butler tarafından yapılan çalışmalarda yazarlar blok kıkırdaktan ziyade doğranmış kıkırdakta difüzyon

ile beslenmenin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarda, kıkırdak grefti doğrandığında yüzey alanının arttığını, dolayısıyla doğranmış kıkırdak materyallerinin daha fazla yüzey alanına sahip olduğunu, daha iyi bir difüzyon kapasitesine ulaştığını, daha iyi beslenmesinin bir sonucu olarak blok kıkırdak greftlerine kıyasla daha fazla canlı kondrosit içerdiğini ve daha az rezorbsiyon gösterdiğini sunmuşlardır (385, 386).

Çeşitli kıkırdak tiplerinin canlılık, sağ kalım ve rezorbsiyon oranlarının incelendiği çalışmalar zaman içerisinde otolog kıkırdak greftlerinin kullanım alanlarını ve endikasyonlarını belirlemiştir. Ancak bu çalışmalar doğranmış ve ezilmiş kıkırdak greftlerinin özellikle dorsal augmentasyon ve kontür düzeltme amacıyla gerçekleştirilen uygulamalarında yer değiştirme, şekil bozukluğu, kıkırdak parçalarının dağılması, migrasyon gibi önemli potansiyel risk ve komplikasyonlarına tam olarak çözüm sağlamamıştır (217, 341, 364, 371, 372).

Erol tarafından 'Türk lokumu' adını verdiği teknik ile, doğranmış kıkırdak greftleri 1990'lı yıllarda tekrardan popülerize edilmiştir. Bu teknik ile otolog doğranmış kıkırdak materyallerinin oksidize rejenere selüloz (Surgicel; Johnson & Johnson, Somerville, N.J.) yapısındaki ince tül benzeri hemostatik ajana sarılmasıyla elde edilen 'Türk lokumu', primer veya sekonder nazoplasti ameliyatlarında burun dorsumuna yerleştirilerek uzun dönemde görülebilecek dorsal nazal düzensizliklerin engellenmesi ve düzeltilmesi için kullanılmıştır. Bu sayede doğranmış kıkırdakların bir materyale sarılarak olası yer değiştirme ve migrasyonu engellenecek, aynı zamanda yapısal bütünlükleri sağlanmış olacaktır. Erol bu tekniği 10 yılda 2365 hastada primer ve sekonder rinoplastilerde başarıyla uygulamış, erken ve geç ameliyat sonrası sonuçların başarılı olduğunu ve dorsal düzensizliklerin kamufle edildiğini belirtmiştir (9, 185-187). Elahi ve arkadaşları da 67 hastanın retrospektif incelemesinde, selülozun doğranmış kıkırdak ile beraber kullanımında etkinliğinde benzer başarı gösterdiğini bildirmişlerdir (360).

Buna karşın, Daniel ve Calvert, selüloza sarılı doğranmış kıkırdakları burun ameliyatlarında kullandıklarında birkaç ayda bile beklenmedik bir şekilde greftin çok büyük bir kısmının rezorbe olduğunu gözlemlemiştir (381). Ardından bu durumu destekleyen birçok deneysel çalışma yapılmıştır (347, 379, 387, 388). İnsanlarda

selülozu metabolize edecek hidrolitik bir enzim bulunmadığından, selüloz insan vücudunda hidrolize edilip absorbe edilmek yerine 4-8 haftada yabancı cisim reaksiyonuyla parçalanmaktadır (389-391). Selülozun insan vücuduna yerleştirildikten sonra, fibrillerinin uzun süre kaybolmadığını belirten yayınlar da bulunmaktadır (392-394). Klinik sonuçlardaki bu başarısızlığın hipotezi olarak selülozun yabancı cisim reaksiyonu oluşturması sonucunda greft enflamasyonuna ve bunu takiben kırıkta emilimi ve rezorbsiyonuna yol açması gösterilmiştir. Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da oksidize rejenere selülozun en az 48 saat kırıkta doku oksijenlenmesini engellediğini ve bu rölatif hipoksinin kondrositlerin canlılığı için önemli olan rejenerasyon potansiyelini olumsuz etkilenmesiyle sonuçlandığı savunulmuştur (347). Başka bir çalışmada ise selülozun kırıkta sağ kalımını azaltmasının yanında kırıkta proliferasyonunu da inhibe ettiği gösterilmiştir (380).

Daniel ve Calvert tarafından yapılan 546 vakalık bir seride, doğranmış kırıkta greftleri otolog olmayan selüloz yerine otolog fasyaya sarılarak çalışılmıştır. Fasyanın önemli ölçüde yüksek gerilme mukavemetine sahip bir doku olduğuna ve konak-doku birlikteliği için güvenilir bir yapı iskelesi görevi gördüğüne inanıyorlardı (218, 380, 381). Perikondriumun kırıkta greftlerinin yaşayabilirliğini artırdığı varsayılarak, Daniel ve Calvert, doğranmış kırıkta greftleri fasya ile sarıldığında perikondriyuma benzer bir şekilde işlev göreceğine ve kondrositlerin yaşayabilirliğine katkı sağlayacağını hipotez olarak sunmuşlardı. Nitekim, doğranmış kırıkta fasyaya sarıldığında takip süresi boyunca belirgin bir rezorbsiyonunun olmadığını gösterdiler (218, 379, 381). Yine başka çalışmalarda da fasyanın hücre koruyucu bir özelliğin bulunduğu, yeni bir perikondrium gibi davranarak kırıkta genel rejeneratif potansiyelini koruduğu ve doğranmış kırıkta fasya ile birlikte kullanımlarında estetik sonuçlarının başarılı olduğu sonucuna varmışlardır (347, 348, 360, 378-380, 395, 396).

Bazı deneysel çalışmalarda ise, çıplak kırıkta greftlerinin fasya ile sarılmış greftlere göre daha az rezorbsiyona uğradığı gösterilmiştir (371, 397). Topkara ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada fasyanın kırıkta greftlerinin canlılığına ve beslenmelerine etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada fasya ve delikli fasyayla sarılan

kıkırdak greftleri ile kontrol grubunda herhangi bir malzemeyle sarılmamış çıplak kıkırdak greftleri karşılaştırılmıştır. Çalışmanın histopatolojik bulgularına göre fasya ve delikli fasya gruplarında tüm parametrelerin benzer olduğu ve fasyadaki deliklerin varlığının kıkırdak canlılığını etkilemediği gösterilmiştir. Ancak her iki fasya grubunda kontrol grubuna göre kıkırdak rezorbsiyonu, kalsifikasyon, enflamasyon ve dev hücre oluşumunun anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu bulgulara göre yazarlar, fasya veya delikli fasya ile sarılmış doğranmış kıkırdak greftlerinin, greftlerin yerleştirildiği konaktan zayıf besin difüzyonuna maruz kalmaları nedeniyle yetersiz beslendiklerini savunmuşlardır. Sonucunda doğranmış kıkırdak greftlerinin fasya ile sarılmasının besin difüzyonunu azaltarak kıkırdak greftlerinin canlılığını olumsuz etkilediğini, fasyaya delik açılmasının kıkırdak greftlerinin canlılığını pozitif yönde etkilemediğini belirtmişlerdir (10).

Hafezi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise fasya lata kullanılarak sarılan doğranmış kıkırdak grefti ve fasyaya sarılmadan kullanılan çıplak doğranmış kıkırdak greftinin implantasyondan önceki ve 3 ay sonraki ağırlıkları ölçülmüştür. Sonucunda fasya lata'ya sarılarak kullanılan doğranmış kıkırdak greftinin ağırlığındaki azalmanın çıplak doğranmış kıkırdak greftine göre daha fazla olduğu ve bu farkın anlamlı olduğu gösterilmiştir. Yine bu çalışmada da, fasya ve diğer sargılama materyallerinin, kıkırdak greftleri ile konak arasında plazma geçişine bir engel oluşturduğu, bunun da kondrosit canlılığını etkilediği savunulmuştur (398).

Özetle otojen fasyaya sarılı greftler tartışmalı olsa da selüloz gibi alternatiflere göre daha kabul edilebilir rezorbsiyon oranları, enflamasyona yol açmaması, zaman içerisinde tahmin edilebilir ve uniform bir kontraksiyonun akabinde stabil kalabilmesi sebebi ile zaman içerisinde popüler bir uygulama haline gelmiştir. Ancak otojen fasya kullanılan olgularda donör alanda ek insizyona ihtiyaç duyulması operasyon süresini uzatmakta ve olası komplikasyon riskini artırmakta, donör alanda skar formasyonuna ve skatrisyel alopesi gibi ciddi morbiditelere neden olabilmektedir (341, 379). Aynı zamanda otojen fasya ile sarılan doğranmış kıkırdaklar özellikle minimal kontür deformitesi ya da düzensizliği olan bölgelere her zaman kolaylıkla adapte edilememektedirler (10, 213).

Günümüze kadar, otolog kıkırdak greftlerinin canlılığını ve sağ kalımını artırmak, rezorbsiyonunu önlemek, alıcı alanda dağılmasını ve yer değiştirmesini minimuma indirmek için çeşitli metotlar kullanılmıştır. Otolog kıkırdak greftinin, oksidize rejenere selüloz veya otolog fasya ile beraber kullanılmasının dışında; asellüler dermal matriks (ADM), fibrin yapıştırıcısı, perikondrium, tutopatch ile işlenmiş fasya, esterlenmiş hyalüronik asit, yağ grefti, kan pıhtısı ve konsantre kan ve trombosit ürünleri ile beraber yerleştirildiği çalışmalar literatürde bildirilmiştir (4-13).

ADM harici olarak kullanıldığında özellikle burun dorsumunda zaman içerisinde greftin kısmi rezorbsiyonu gösterilmiştir. Literatürde hastaların yarısında ilk 12 ay içinde klinik olarak fark edilebilir rezorbsiyonu gösterilmiştir (75). Bir çalışmada kemik dorsum üzerinde yüzde 20 ila 30, burun ucu üzerinde yüzde 10 ila 15 oranında rezorbsiyon görüldüğü bildirilmiştir (79). İnce derili hastalar ve nazal telenjiektazi gibi vasküler bozukluk belirtileri olan hastalar gözle görülebilir greft rezorbsiyonuna daha yatkındır. Asellüler dermis greftleri, bitişiğindeki alıcı dokuya kolayca yapışır ve implantasyondan yaklaşık bir ay sonra dahi greftin çıkarılmasını çok zorlaştırır. İlk dört ay belirgin ödemin gözlenmesi ve yüksek miktarda greft gereken deformitelere kullanılamaması ADM'nin uygulanabilirliğini kısıtlamaktadır (76).

ADM'nin otolog kıkırdak greftleri ile kombinasyon uygulamalarında da aynı şekilde rezorbsiyon oranlarının yüksek olduğu literatürde bildirilmiştir. Kim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ADM'nin fasyaya sarılı kıkırdaklara kıyasla daha üstün sonuçlar bildirmesine rağmen olgularda ADM'nin belirgin fibrozise yol açtığını, aynı zamanda maliyetinin yüksek olmasının bir dezavantaj olarak dikkate alınması gerektiğini belirtmişlerdir (4, 23, 341, 399).

Bazı klinik çalışmalarda ise kıkırdak greftlerinin sarılması yerine iskelet görevi gören materyaller kullanılmıştır. Bu sayede greft stabilizasyonu sağlanmış ve greft difüzyonuna engel olmadan uzun vadede iyi sonuçlar alınmıştır.

Bu çalışmalarda ilk olarak fibrin doku yapıştırıcılarının kolay uygulanabilir olduğunu, şekil verilebilme özelliklerinin olduğunu, kıkırdak dokusu ve çevre dokular için doku iyileşmesinde potansiyel yararları olduğunu öne sürmüşlerdir.

Bracaglia ve arkadaşları, 2012 yılında bir dergiye gönderdiği mektupta doğranmış kıkırdak ve fibrin yapıştırıcıdan oluşan "nuga grefti"ni tanıtmıştır (400). Bir yıl sonra, Tasman ve arkadaşları, "Tasman tekniği" adını verdikleri doğranmış kıkırdak ve fibrin yapıştırıcının birlikte yerleştirilmesine yardımcı olacak bir teknik tarif etmiştir. Tasman ve arkadaşları nazal dorsum veya radikte augmentasyon uygulanan 28 hastayı 4-26 ay izlemiş ve yapılan sonografi ve histopatolojik analizler sonucunda greftlerin erken postoperatif dönemde küçüldüğünü ve fibrin doku yapıştırıcısının rezorbe olduğunu gözlemlemiştir. Ancak küçülmenin sınırlı olduğunu ve tüm greftlerin postoperatif 3. ve 15. aylar arasında stabilize olduğunu bildirmiştir (401). Stevenson ve Hodgkinson ise rinoplasti yapılan 19 hastada fibrin yapıştırıcı ve doğranmış kıkırdaktan oluşan "kıkırdak macun" greftlerini tariflemişlerdir. Yazarlar, çalışma gruplarına kompleks rinoplasti vakalarını dahil etmelerine rağmen, 1 yıllık takip boyunca hiçbir rezorbsiyon vakası ile karşılaşmadıklarını belirtmişlerdir (402).

Ancak fibrin yapıştırıcı ile kombine edilen kıkırdak greftlerinin maliyetinin yüksek olduğu, grefte uygulanacak kompresyonun en aza indirilmesi amacıyla alıcı alanda geniş bir cep açılması gerekliliği ve bu yüzden yüksek migrasyon riskinin bulunduğu belirtilmiştir (403). Aynı zamanda üretici firma fibrin yapıştırıcılarının havuzlanmış insan plazmasından elde edilmesi sebebiyle alerjik reaksiyon ve olası hipersensitivite reaksiyonlarını tetikleyebileceğini ve bulaşıcı enfeksiyon riskinin göz önünde bulundurulması gerekliliğinin altını çizmiştir (341).

Literatürde tanımlanmış başka bir yöntem ise trombosit zengin ve trombosit fakir plazma karışımına sığır trombini ve kalsiyum klorid eklenmesi ile elde edilen otolog doku yapıştırıcısının doğranmış kıkırdak greftleri ile kombinasyonudur. Bullocks ve arkadaşları nazal dorsal augmentasyon vakalarında bu yöntem ile doğranmış kıkırdakları otolog doku yapıştırıcısı ile beraber uyguladılar ve elde edilen yapının greft stabilizasyonunun yanı sıra trombosit zengin plazma tarafından salınan büyüme faktörlerinin greftlerin sağ kalımlarını artırmasında etkisi olabileceğini öne sürmüşlerdir (404). Bu ürünün ticari fibrin yapıştırıcısına göre avantajı bulaşıcı enfeksiyon riskinin olmamasıdır fakat yapısında bulunan sığır

trombini nedeniyle çapraz reaksiyon veya hipersensitivite reaksiyonu meydana gelme riski hala mevcuttur ve üretimi için özel ekipmanlar gerekmektedir (404, 405).

Kemaloğlu ve arkadaşları perikondriyuma sarılmış doğranmış kıkırdığın kondrosit canlılığı ve sağ kalımının fasya ile sarılmış olanlardan daha yüksek olduğunu göstermiştir (406). Yine Duncan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, perikondriyumu korunan kıkırdak greftlerinin iyileşme periyotlarının ve canlılıklarının kontrol grubuna göre daha iyi olduğu gösterilmiştir (407). Ayrıca, tutoplast ile işlenmiş fasya lata(TPFL)'nin ezilmiş kıkırdak greftleri ile beraber kullanılması ya da ve amniyotik membranın doğranmış kıkırdak sargı materyalleri olarak kullanılmasının canlılığı ve stabiliteyi artırabileceği de literatürde bildirilmiştir (7, 408, 409).

Can ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise perikondriyumundan ayrılmamış kıkırdak greftlerinin kemikleşmeye uğradığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, perikondriyumsuz taraftaki kıkırdaklarda yeni kıkırdak oluşumu formasyonunun görüldüğü, perikondriyuma sarılı kıkırdaklarda ise yeni kıkırdak oluşumunun yanı sıra belirgin bir kemikleşme formasyonunun görüldüğü belirtilmiştir. Bu sonuçlar ile birlikte perikondriyumun travmaya verdiği yanıtın sadece yeni kıkırdak oluşumu değil aynı zamanda kemikleşme de olduğu savunulmuştur (410). Başka bir çalışmada da, kıkırdak greftleri üzerinde perikondriyumun korunmasının rezorbsiyon açısından anlamlı bir fark yaratmadığı gösterilmiştir (374). Kıkırdak greftinin kemikleşmesi, burun ameliyatları, septal cerrahiler, kulak rekonstrüksiyonu gibi kıkırdak dokusunun önemli rol aldığı ameliyatlarda zorlu bir engel olmaktadır. Kıkırdak greftlerinin kalınlaşma ve kemikleşerek sert düzensizlikler oluşturabilme ihtimali, ikincil veya ileri revizyon prosedürleri gerekebileceğini göstermektedir.

Perikondriyumun klinik pratikte kıkırdak grefti ile beraber alınabilmesinin her zaman mümkün olmaması, ek donör alan ve morbidite yaratma ihtimali bulunması, sığır perikardından elde edilen tutopatch'in enfeksiyon, çapraz reaksiyon ve hipersensitivite riski taşınması, insan amniyotik membranının olası bulaşıcı enfeksiyon ihtimali bulunması ve kıkırdak greftleri ile beraber kullanımı ile ilgili

yeterli literatür bilgisinin henüz mevcut olmaması günümüzde kullanımlarını sınırlamaktadır.

Esterlenmiş hyaluronik asitle sarılmış kıkırdak greftlerinin yaşayabilirliğini inceleyen deneysel çalışmalar, hyaluronik asidin kıkırdak greftlerinin canlılığını, bütünlüğünü ve sağ kalımını önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir (387, 411). Ancak, Öztürk ve arkadaşlarının yaptığı güncel bir çalışmada hyalüronik asitin kıkırdak greftlerinde önemli oranda nükleus kaybına yol açarak sağ kalımlarını azalttığını göstermiştir. Yağ grefti ve kan pıhtısının da kıkırdak greftlerine sarılarak değerlendirildiği aynı çalışmada, en fazla kalınlık ve ağırlık kaybının yağ grefti ile sarılan grupta olduğunu, her iki grubun da belirgin yabancı cisim reaksiyonuna yol açarak kıkırdak greftlerinin canlılıklarını olumsuz etkilediğini savunmuşlardır (412).

Öreroğlu ve arkadaşları periferik venden alınan venöz kanı kıkırdak grefti ve kemik tozu karışımına uygulamışlar ve bu kolay şekillendirilebilen jelatinimsi kan pıhtısı greft karışımının burun sırtı için kullanıldığı bir yöntem tariflemişlerdir. Ancak ilgili çalışmada histopatolojik inceleme yapmamışlardır (413). Topkara ve arkadaşlarının yaptığı deneysel histopatolojik çalışmada kan pıhtısının kıkırdak greftleri ile birlikte kullanımında kıkırdakların canlılıkları üzerine olumlu ya da olumsuz bir etkisinin olmadığını, kolay ve ulaşılabilir bir yöntem olması sebebiyle yapı iskeleti olarak günlük pratikte kullanılabileceğini savunmuşlardır (10).

Alternatif yöntemler üzerine bir çok çalışma yayınlanmış olmasına rağmen, otolog kıkırdak greftlerinde canlılığı ve aynı zamanda istenen stabiliteyi artırmak için kullanılabilecek en uygun kıkırdak materyali üzerinde bir fikir birliği yoktur. Bahsi geçen materyallerin hiçbiri, kıkırdak greftleri ile beraber kullanılmak için altın standart olarak kabul edilmemektedir.

Mevcut doku mühendisliği teknikleri, üç kritik bileşenin herhangi bir kombinasyonunu kullanmaktadır; hücresel bir bileşen, biyouyumlu ve mekanik olarak stabil bir taşıyıcı yapı ve biyoaktif bileşen. Kıkırdak greftleri için de ideal taşıyıcı, materyalleri bir arada tutan bir iskelet görevi görmeli, şekillendirmeye izin

vermeli, enflamasyonu sınırlandırmalı, olası enfeksiyon ve reaksiyon gibi riskler barındırmamalı ve kıkırdağın canlılık ve sağ kalımını desteklemelidir.

TZP birinci kuşak trombosit konsantresidir ve donör kanına antikoagülan, kalsiyum klorür ve sığır trombinini katılarak elde edilir (16). TZP tedavisinin yaygın olarak kabul edilen mekanizması, trombosit alfa granüllerinden büyüme faktörü salgılanmasıdır. Yaralanma ve pıhtı oluşumu yoluyla *in vivo* olarak aktive edildiğinde, alfa granülleri trombosit yüzeyine bağlanır ve trombosit kaynaklı büyüme faktörlerini serbest bırakır (16, 237, 414, 415). Toplu olarak, bu sinyaller pıhtı oluşumu bölgesinde mezenkimal kök hücre (MKH) göçünü ve farklılaşmasını uyarmaya yardımcı olur. İndüklenen pıhtı oluşumu, büyüme faktörü salgısını uygulanan bölgeye lokalize eder (415-418).

Trombosit konsantreleri, hücrelerdeki etkilerini spesifik reseptörler aracılığıyla düzenleyen büyüme faktörlerini içerir (16, 18, 19). TGF $\beta$ -1 fibrozisi tetikler, VEGF anjiyogenezini uyarır, PDGF mezenkimal hücre sağ kalımı ve hücre göçünde rol oynar, IGF- I hücre apoptozunu geciktirir, EGF hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını destekler, FGF yara iyileşmesinde ve hücre proliferasyonunda aktif rol oynar (241, 242, 419-421).

TZP'nin hedeflenen büyüme faktörü salgısı, fibroblast proliferasyonunu ve kollajenezi uyaran gen ekspresyonunu destekler (422). Bunun gerçekleşebilmesi için, TZP önce antikoagülan kullanılarak üretilmelidir (16, 17, 237). İkincisi, trombosit aktivasyonunun ve fibrin pıhtı oluşumunun gerçekleşmesini sağlamak için , kalsiyum klorür ve genellikle sığır türevi olan trombin TZP preparatına eklenmelidir (16, 237, 418, 423). Sığırdan elde edilen trombinin kullanılması, olumsuz immünolojik reaksiyonları tetikleme riski taşır (424). Literatürde bir çok TZP elde etme prosedürü bulunmaktadır, ancak herhangi bir yöntem üzerinde henüz bir fikir birliği yoktur. Alternatif olarak, katkı maddeleri atlanabilir ve aktivasyonun ve pıhtı oluşumunun *in vivo* olarak kendiliğinden meydana gelmesi beklenebilir. Ancak katkı maddeleri olmadan gerçekleşmesi beklenen *in vivo* spontan aktivasyonun başarısı hakkında belirsizlikler bulunmaktadır (418). Dolayısıyla iki seçenekte de elde edilen TZP ya otolog olmayacaktır ya da etkinliği garanti edilemeyecektir.

Son yıllarda kıkırdak dejenerasyonu ve osteoartrit (OA) tedavisinde TZP kullanımına büyük bir ilgi vardır. TZF'nin eklem kıkırdakları, sinoviyositler ve menisküs hücreleri üzerindeki proliferatif etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Manafi ve arkadaşları, bir tavşan modelinde TZP eklenmiş doğranmış kıkırdakların daha yüksek hayatta kalma oranı ve rejenerasyon kapasitesi elde ettiklerini göstermişlerdir (425). Otolog kıkırdak greftleri üzerine Bulam ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları başka bir çalışmada ise, subkütan TZP enjeksiyonunun kıkırdak greftlerinin canlılığı üzerine bir etkisinin olmadığını göstermişlerdir (8). Diğer bazı tartışmalı bulguların yanı sıra, literatürde TZP uygulaması ile ilgili genel olarak kıkırdak iyileşmesini artırdığı yönünde olumlu sonuçlar bildirilmiştir (324, 325, 328, 426, 427).

TZP'nin kıkırdak canlılığı üzerindeki etkileri çalışma konusu olmaya devam etmekle beraber potansiyel immünojenite riskleri ve jel formunda olmaması sebebi ile kıkırdak greftleri için iskelet görevi görememesi TZP'nin bir dezavantajı olarak dikkate alınmalıdır (16).

Trombositten zengin fibrin (TZF), ikinci nesil trombosit konsantresidir ve TZP'nin aksine TZF, herhangi bir katkı maddesi olmaksızın tam kanın santrifüjlenmesiyle elde edilir (16).

TZF; TZP'nin tüm klinik faydalarının yanı sıra pıhtı oluşumuna rehberlik eden, doku rejenerasyonu için destekleyici görevi gören, büyüme faktörlerini ve kök hücreleri bir arada tutan doğal yollarla meydana gelmiş bir fibrin yapı iskeleti sunar (237, 423, 424). Antikoagülan olmadan, spontan olarak fibrin matriksli jelatinimsi bir pıhtı oluşturur ve büyüme faktörü salınımını pıhtılaşma bölgesine hapseder (16, 290, 423). Doku onarımında fibroblastlar bu fibrin matriksi yeniden düzenler ve kollajen sentezini başlatır. Böylece, büyüme faktörü salgılanmasının ve fibroblastların etkileri, kollajenezi ve doku rejenerasyonunu destekleyerek sinerjik olarak çalışır (428).

Santrifüj işlemi sırasında TZF'nin kademeli polimerizasyonu, bozulmamış ve esnek bir fibrin matriks ağı oluşturmasını sağlar (16, 18, 19). Üretiminde hiçbir katkı maddesi gerektirmez. Aktivasyon ve fibrin pıhtısı oluşumu, kanın bilinen fizyolojik özelliklerine dayanır ve aktivasyonun zamanlaması nispeten iyi anlaşılmıştır. Ayrıca,

TZF'nin tamamen otolog olması sebebiyle immünojenik reaksiyon ve hastalık bulaşma riski düşüktür (424). TZF; jel, antikoagülan ve aktivasyon katkı maddelerinin maliyetininin hesaba katılması gereken TZF'ye nazaran hem uygulayıcı hem de hasta için daha düşük maliyetler ile elde edilebilmektedir.

TZP ve diğer eski jenerasyon trombosit konsantrelerindeki aktivasyonun hemen akabinde başlangıçta bol ve hızlı salınan, rölatif olarak kısa ömürlü büyüme faktörü salınımının aksine TZF'de çoğu büyüme faktörü 7 güne kadar, bazı büyüme faktörleri ise daha uzun bir süre boyunca salınmaktadırlar (323, 423). TZF'nin bu uzun süreli büyüme faktörü salınım periyoduna sahip olmasının nedeni olarak bileşiminin büyüme faktörlerinin hızlı proteolizini engellemesi gösterilmektedir. Bu çalışmalarda TZP büyüme faktörlerinin çoğunu ilk saatlerde salmış ve maksimum yapay fibrin polimerizasyonunda bile 3 günün sonunda tamamen erimiştir (16, 17, 423). Büyüme faktörlerinin nispeten kısa yarı ömürleri ve TZP aktivasyonunu takiben hızlı ve bol salınımlarının doku reseptör doygunluğunu etkileyerek, ek büyüme faktörlerinin bozunmadan önce bir reseptöre bağlanmasına engel olduğunu düşündürmektedir (311, 418, 429).

TZF süpernatantında da büyüme faktörleri bulunmaktadır. Bu yüzden membran olarak kullanıldıktan sonra TZF'den geriye kalan sıvı bile greft materyalleri için büyüme faktörü kaynağı olarak kullanılabilir. TZF membranı elde ederken uygulanan basınçla birlikte salınan sıvının incelendiği bir çalışmada, bu sıvının hala büyüme faktörü içerdiği anlaşılmıştır (19). Aynı zamanda TZF eldesini takiben kuru gazlı bezle TZF membranının manipülasyonu, çevresinde toplanan eksüdayı tamamen ortadan kaldırır ve büyüme faktörlerinin içeriğini önemli ölçüde azaltır (430).

Biz de çalışmamızda, TZF eldesi sağlandıktan hemen sonra TZF'yi herhangi bir basınca maruz bırakmadık ve eşit şekilde gruplara dağılımını gerçekleştirdik. Kuru gazlı bez ya da eksüdatı emecek herhangi bir materyal ile temas ettirmeden, daha önceden açılmış olan subkütan ceplere otolog kıkırdak greftleri ile kombine ederek yerleştirdik.

TZF eldesindeki yavaş santrifüj işleminin faydalı hücre içeriklerinin korunması açısından TZP eldesi esnasında uygulanan hızlı santrifüj işlemine olan üstünlüğü üzerinde de durulmuştur (237, 312, 331, 431). Ayrıca TZP'nin hızlı ve rastgele polimerizasyonuna nazaran TZF'nin yavaş polimerizasyon özelliği ve fibrin matriks remodelinginin büyüme faktörlerinin ve diğer kritik hücrelerin devamlılığının sağlanmasına yardımcı olduğu literatürde bildirilmiştir (311, 418, 423, 429, 432, 433).

Dohan ve arkadaşlarının bir çalışmasında, trombosit ve lökositlerin çoğunun TZF membranı içerisine hapsediği, TZF'nin tıpkı yaşayan bir doku gibi davrandığı gösterilmiştir. Bu anlamda TZF yalnızca bir trombosit konsantrasyonu değil aynı zamanda iyileşme düzenleyici ve indükleyici olarak da görev yapmaktadır (17).

Başka bir çalışmada ise incelenen TZF'nin hemostazda kilit rol oynayan birtakım faktörleri bir hafta boyunca ortama saldırdığı görülmüş ve TZF'nin uygulandığı alanda hemostatik ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (423).

TZF ve TZP'nin karşılaştırmalı analizinin yapıldığı bir çalışmada TZF'de büyüme faktörlerinin TZP'den daha fazla bulunduğu ve anjiyojenez, doku rejenerasyonu ve yara iyileşmesinde belirgin faydaları olduğu gösterilmiştir. Büyüme faktörlerinin MKH'leri kemotaksis yoluyla uyardığı bilinmektedir. Daha önceki *in vitro* çalışmalarda da desteklendiği üzere TZF'nin devamlı ve uzun süreli büyüme faktörü salınımının TZP'ye kıyasla uygulama alanına MKH migrasyonunu daha kuvvetli bir şekilde uyardığı düşünülmektedir (323, 430, 434). Di Liddo ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise TZF'deki hücrelerin bir kısmının MKH'lerin tanımlayıcı fenotipik özelliklerini taşıdığını gösterdiler. Bu nedenle, TZF; MKH göçüne elverişli bir yerel ortam oluşturur ve ayrıca bir kök hücre kaynağı olarak da hizmet edebilir sonucuna vardılar (435).

MKH'ler uygun ortamda kondrosit de dâhil olmak üzere birçok hücre tipine evrilebilir. Morfojenler ve büyüme faktörleri MKH proliferasyonu, kondroprogenitör hücre farklılaşması ve terminal kondrosit farklılaşması gibi kondrojenez aşamalarında elzemdir (436). TGF- $\beta$ 1, PDGF-B, IGF-1, bFGF ve FGF-18 gibi faktörler aynı zamanda kırıldak tamirinde de rol oynarlar (437).

Tavşan kondrositlerinin *in vitro* hücre kültürünün yapıldığı bir çalışmada, TZF kültür ortamlarında kullanılmış ve sonucunda TZF'nin kondrositlerin çoğalmasını, yaşayabilirliğini ve farklılaşmasını artırdığı gösterilmiştir. Böylece TZF'nin kıkırdak rejenerasyonunda etkin olduğu söylenmiştir (438). Yine 2017 yılında erişkin tavşanların femoral kondilinden alınan kıkırdakların kondrositlerinin izole edilmesiyle kültür ortamında gerçekleştirilen TZP ve TZF'nin karşılaştırıldığı bir çalışmada, her iki deney grubunun da kontrol grubuna göre kondrosit proliferasyonunu belirgin bir şekilde artırdığı, TZF grubunun aynı zamanda TZP grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazla kondrosit proliferasyonuna sebep olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada kondrojenez ilişkili gen olan COL2A1 mRNA ekspresyon seviyeleri incelenmiş, en yüksek ekspresyonun anlamlı bir şekilde TZF grubunda görüldüğü belirtilmiştir (431).

Klinik öncesi araştırmalar, TZF/i-TZF tedavisinden sonra kıkırdak rejenerasyonunda önemli gelişmeler olduğunu ortaya koymuş ve bu kan ürünlerini otolog kıkırdak ile kombine ettikten sonra iyileşmenin arttığını göstermiştir (438-440). Bu çalışmalarda, TZP ve TZF ile tedavi edilen gruplarda normal hücre dağılımı ve kıkırdak mineralizasyonu, daha yüksek sayıda kondrosit benzeri hücre, hiyalin kıkırdak benzeri oluşum, subkondral anormalliklerin olmaması ve çevreleyen kıkırdak doku ile iyi entegrasyon açısından TZF ile kombine edilen gruplarda daha yüksek puanlar kaydedilmiştir (431, 439-448). TZF'nin çoğu durumda kıkırdak iyileşmesini desteklemekte TZP'den üstün olduğu kanıtlanmıştır (431, 443, 445). Yine başka çalışmalarda da kondrojenik belirteç ekspresyonu ile ilgili olarak; SOX9 ve tip II kollajenin TZF tedavisinden sonra kıkırdak dokusunun onarımında arttıkları gösterilmiştir (443, 449). Bu çalışmalar, dikkat çekici bir şekilde, TZF uygulanan gruplarda özellikle tip II kollajen ile boyanmanın olduğunu göstererek TZF'nin defekt bölgesinde fibrokartilaj yerine hiyalin benzeri kıkırdak oluşumuna destek olduğunu bildirmiştir (445, 450).

Göral ve arkadaşları, TZF'nin doğranmış kıkırdak canlılığı üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada, histopatolojik incelemelerde TZF'nin kıkırdak canlılığını

etkin bir şekilde artırdığını ve jel formundan dolayı bir greft taşıyıcı görevi üstlendiğini göstermişlerdir (341).

Güler ve arkadaşları, tavşan modelinde yaptıkları başka bir çalışmada TZF ile sarılmış doğranmış kıkırdağın çıplak, ADM veya selüloz ile sarılmış doğranmış kıkırdak ile karşılaştırmışlardır. Kıkırdak canlılığını histopatolojik olarak kondrosit çekirdeklerinin kaybı ve periferik kondrosit proliferasyonuna bakarak değerlendirdikleri çalışmada, TZF'nin uygulandığı grupta kıkırdak canlılığının diğer tüm gruplardan daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca TZF ile sarılmış greftlerin en düşük enflamasyon ve fibrozis oranları sergilediğini bildirmişlerdir (23).

Gode ve arkadaşları, 40 hasta üzerinden yaptıkları klinik bir çalışmada dorsuma yerleştirdikleri doğranmış kıkırdağa enjekte edilebilir TZF uygulamışlardır. Operasyon sonrası birinci haftada ve üçüncü ayda yüzeysel ultrason ile kıkırdak kalınlığını ölçmüşlerdir. Sonuçlar değerlendirildiğinde TZF enjeksiyonunun, rezorbsiyon oranını azalttığını ve kıkırdak canlılığını artırdığını göstermişlerdir (451).

İçerdiği büyüme faktörleri dahilinde TZF; MKH ve çeşitli hücre tiplerinin çoğalmasında olumlu yönde destekler (323, 452). Mezenkimal hücre aktivitesi, fibrinojen konsantrasyonuna bağlı olarak tutunma, yayılma ve çoğalma anlamında pozitif yönde etkilenir (453).

TZF ile kombine edilmiş kemik iliği kaynaklı MKH'lerin osteokondral defekt onarım ve eklem kıkırdak rejenerasyonu üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, kombine tedavi yöntemi ile tedavi edilen osteokondral kusurlarda görülen onarım dokusunun kalitesi, hem makroskopik hem histolojik kriterler açısından kontrol grubuna kıyasla daha üstün olduğu gösterilmiştir. Çalışmanın, kıkırdak onarımında yeni bir strateji olarak bir tür trombosit konsantresi ile kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin kombinasyonunun kullanılmasının fizibilitesini başarıyla kanıtladığı belirtilmiştir. Bu çalışmada, kök hücrelerin kıkırdak kusurlarına implante edilirken otolog bir biyomalzeme iskeleti olarak TZF'nin kullanımının uygunluğu da gösterilmiştir (444).

MKH ve TZF'nin kıkırdak rejenerasyonu üzerine etkisini araştıran başka bir çalışmada TZF+kök hücre enjeksiyonunun kıkırdak defektlerinde hiyalin kıkırdakta iyileşme sağladığını ve morbiditesi yüksek olan otolog kıkırdak implantasyonu işlemine alternatif olabileceğini gösterilmiştir (447)

Otolog kıkırdak implantasyonu kök hücre uygulamalarına nazaran daha riskli olması ile birlikte bazı rekonstrüktif amaçlarla kullanılabilir. Domuzlarda yapılan bir çalışmada her iki femoral medial kondilde oluşturulan osteokondral defektlere ayrı ayrı ve kombine olarak kıkırdak parçaları ve TZF uygulamaları yapılmış. 6. ay sonunda yapılan incelemede kıkırdak+TZF uygulanan grubun; kontrol grubu, yalnızca kıkırdak ve yalnızca TZF uygulanan gruplara göre hiyalin kıkırdak oluşumu yönünde daha iyi bir matriks ve daha düzgün bir hücre dağılımı gösterdiği, kıkırdak mineralizasyonu gibi parametrelerde daha önde olduğu ve TZF'nin otolog kıkırdak ile kombine edildiğinde iyileşme ve cerrahi başarı yönünden anlamlı fark yarattığı öne sürölmüştür (454).

Başka bir çalışmada TZF membranına hapsolmuş lökositlerden kaynaklanan sitokinler (IL 1-β, IL-6, TNF-alfa, IL-4 ve VEGF) incelenmiş. Çalışma sonucunda bütün sitokinlerin miktarının yüksek olduğu gösterilmiş, bu durumun sebebi olarak da TZF'nin immün sistemi indüklemesi ve cerrahi sonrası iyileşmeyi artırması gösterilmiştir (18). Masuki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da, ölçölen sitokin miktarlarının yüksek gelmesinin sebebi; TZF membranlarının yüksek miktarda lökosit içermesi ve sitokinlerin birçoğunun bu lökositler tarafından salınması olarak gösterilmiştir (430).

TZF ile yapılan çalışmalarda yeni kemik formasyonunun arttığı, doku iyileşme süresinin kısaltıldığı, ödem ve ağrı gibi bulguların daha az şiddette olduğu, bunun yanı sıra yerleştirilen implantın stabilitesinin ve osteointegrasyonunun olumlu etkilendiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (455-461). Özellikle diş çekimi ve kist enöklasyonu sonrası oluşan kavitenin kan pıhtısı yerine TZF ile doldurulan hastalarda iyileşme periyodunun 6-12 ay yerine 2 ay sürdüğu ortaya konulmuştur. Yine bu çalışmada tariflenen ağrıların daha kısa sürede kaybolduğu ve yara yeri enfeksiyonunun daha az göröldüğu gösterilmiştir (14, 15).

2022 yılında yapılan 11 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analiz çalışmasında, gömülü üçüncü molar diş çekimini takiben uygulanan TZF ve G-TZF'nin ödem ve ağrı kontrolü üzerindeki etkileri incelenmiştir. Ödem ve ağrı kontrolünde her iki grubunda kontrol grubuna göre daha iyi sonuçlar verdiği ancak kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir (462).

TZF'nin yara iyileşmesi, ağrı kontrolü ve ameliyat sonrası kanama parametrelerinin değerlendirildiği randomize klinik çalışmaların sistematik analizinin yapıldığı bir çalışmada, TZF'nin ağrı kontrolü üzerinde olumlu etkileri olduğunu gösteren anlamlı birçok araştırmanın yapıldığı belirtilmiş ancak bu durumun TZF'ye bağlı hızlı yara iyileşmesinin bir sonucu mu yoksa trombosit konsantrisindeki spesifik içeriklere mi bağlı olduğu konusunda atfedilecek kesin bir nedene ulaşılamamıştır (463, 464).

Kim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 34 hastadan 26'sında TZF tedavisinden sonra ilaca bağlı çenede gelişen osteonekrozun tam rezolüsyonu görülmüştür (465). Giudice ve arkadaşları ise TZF'nin cerrahi sonrası etkinliğini, tek başına cerrahi etkinliği ile karşılaştırmıştır. 1 aylık takipte bulguların gruplar arasında TZF lehine mukozal bütünlük, enfeksiyon ve ağrı iyileşmesinde önemli farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir (466).

Şençimen ve arkadaşları daha önce iki kez başarısız ameliyat geçirmiş 21 yaşında bir erkek hastada TZF ile sarılmış kemik greftinin yerleştirilmesinin unilateral alveoler yarığı kapatmada başarılı olduğu bir vakayı tanımlamışlardır (320).

Jorgensen ve arkadaşları alt ekstremitelerinde kronik yaralarla başvuran 15 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada TZF'nin güvenliliğini ve etkililiğini değerlendirmiştir. Çeşitli etiyolojilere sahip kronik yaralara TZF uygulaması, çalışma grubunda ortalama yara alanında önemli bir azalmaya yol açmış ve bu yaraların bir kısmı tedavi süreci sonunda tam iyileşme ile sonuçlanmıştır (20, 22).

Üçüncü jenerasyon trombosit konsantrisi olan KBF'nin yara iyileşmesi üzerine etkisini araştıran az sayıda klinik çalışma mevcuttur. 2020 yılında 104 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, TZF ve KBF'nin yumuşak doku iyileşmesine etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak KBF'nin yumuşak doku iyileşmesi üzerinde TZF kadar

etkili olduğu ve her iki grupta da yara iyileşmesi ve enflamasyon parametrelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha iyi olduğu bildirilmiştir (467).

2022 yılında gingivektomi ve gingivoplasti operasyonu gerçekleştirilmiş hastalarda yapılan randomize kontrollü bir çalışmada TZF ve KBF'nin yara iyileşmesi üzerinde pozitif etkileri olduğu gösterilmiştir. Ancak her iki grubun kendi arasında yara iyileşmesi üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği belirtilmiştir (468).

Yeni jenerasyon trombosit konsantrelerinin fibrin matrikslerindeki aktif trombosit konsantrasyonları ve dağılımlarının incelendiği 2022 yılında yapılan bir çalışmada ise G-TZF, TZF ve KBF karşılaştırılmıştır. G-TZF'de trombositlerin fibrin matriks içerisinde homojen olarak dağıldığı, TZF ve KBF'de ise distal tüp kısmında yoğunlaştığı gösterilmiştir. Ancak kantitatif aktifleşmiş trombosit ölçüm analizlerinde her üç grupta da istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadığı gösterilmiştir. Bu bulgularla yazarlar, trombosit aktivasyonunun, santrifüj hızına bakılmaksızın fibrin matrikslerde benzer şekilde indüklendiğini göstermişlerdir (469).

Yeni nesil bir trombosit konsantre ürünü olan KBF'nin özel santrifüjleme işlemi nedeniyle daha fazla büyüme faktörüne sahip olduğu hipotezi ile gerçekleştirilen Qiao ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada KBF, TZF ve TZF; trombositlerdeki önemli beş büyüme faktörünün (PDGF, TGF- $\beta$ 1, IGF-1, VEGF ve bFGF) ELISA ile karşılaştırmalı analizi yapılmıştır. Bu çalışmadaki sonuçlar, KBF ve TZF'deki FGF seviyelerinin aktif TZF'dekinden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. PDGF, TGF- $\beta$ 1, IGF-1 ve VEGF gibi büyüme faktörleri için ise seviyeler, aktif TZF, TZF ve KBF arasında önemli ölçüde farklılık göstermemiştir (470). Literatürde sıkça bahsedilen TZF ve KBF'deki yavaş ve uzun süreli büyüme faktörü salınımının aksine TZF'nin hızlı ve kısa süreli büyüme faktörü salınımını göz önünde bulundurarak; Qiao ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada, büyüme faktörü ölçümlerinin gerçekleştirilme zamanı hakkında net bir bilgilendirme yapılmamıştır. Dolayısıyla trombosit konsantreleri arasında ilgili büyüme faktörlerinin salınma başlangıç-bitiş ve etki sürelerinin karşılaştırmasına dair bir yorum yapılamamıştır.

Oral antitrombotik tedavi alan 102 hastada diş çekimini takiben hemostatik ajan olarak uygulanan TZF, G-TZF ve oksidize rejenere selüloz'un sadece sütürasyon yapılan kontrol grubu ile karşılaştırıldığı çalışmada, gruplar ilk 30 dakikada ameliyat sonrası kanama, 1 ve 2. haftada ise yara iyileşmesi ve potansiyel komplikasyonlar açısından değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, TZF ve G-TZF gruplarının kontrol grubuna göre kanama riskini istatistiksel anlamlı olarak daha fazla azalttığı, TZF grubunun ayrıca yara iyileşmesinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha başarılı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile yazarlar, TZF ürünlerinin diş çekimini takiben uygulanan geleneksel hemostatik ürünlere göre alternatif olarak kullanılabileceğini tavsiye etmişlerdir (471).

Literatürdeki bilgiler ışığında, trombosit konsantrlerinin çok sayıda büyüme faktörü içerdiği bilinmektedir. Büyüme faktörlerinin salınımları ve etki süreleri konusunda trombosit konsantrleri arasında farklar olmakla birlikte doku iyileşmesi ve rejenerasyonu için önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Yeni jenerasyon trombosit konsantrlerinde fibrin membran ve jel benzeri yapının da sağlayabileceği potansiyel faydalar göz önüne alındığında, günümüzde bu ürünlerin klinik pratikte çeşitli prosedürlerde kullanımları ile daha sık karşımıza çıkacağını düşünmekteyiz.

Otolog yağ transferi, ofis bazlı dolgu madde uygulamalarından biraz daha invaziv olmasına rağmen, hacim kaybını etkili bir şekilde geri kazandırır. Geleneksel dermal dolgu maddelerinin aksine, yağ greftleri potansiyel olarak kalıcı hacim restorasyonu sağlar; ancak, transfer edilen hücrelerin kabaca sadece yarısı hayatta kalır. TZF, yağ grefti sağ kalımını iyileştirme konusunda umut vaat etmektedir (316, 472).

Yağ doku istisnai bir kök hücre kaynağı olarak kabul edilir (473). Bununla birlikte, yağ enjeksiyonunda transfer sırasında kök hücre canlılığının yeterince sürdürülmesi zor olabilir. Liu ve meslektaşları, TZF takviyesi ile yağ transferinin kalıcılığının artırılmasını amaçladığı çalışmada, TZF uygulamasının yağ greftlerinin rezorbsiyonunu azalttığını ve retansiyonunu artırdığını gösterdiler. TZF'nin yağ sağ kalımı üzerindeki etkisinin muhtemelen uzun süreli büyüme faktörü salınımından ve otolog fibrin matriksinin kök hücre transferini destekleme yeteneğinden kaynaklandığını düşündüler (474). Keyhan ve arkadaşları tarafından yapılan başka

bir çalışma da, TZF'nin yağ grefti tutulmasını TZP'den daha etkili bir şekilde iyileştirdiğini bildirerek ilgili çalışmanın sonuçlarını desteklemiştir (21). Braccini ve Dohan, Coleman tekniği ile yüze yağ enjeksiyonu uygulanan 32 hastada yağ greftlerine TZF uygulamışlardır. Bu çalışmada TZF'nin skatrizasyon, anjiyojenez ve adiposit proliferasyonu üzerinde faydalı etkileri olduğunu bulmuşlardır (475).

Yu ve arkadaşlarının 2020'de yaptığı çalışmada ise, 12 donörden alınan venöz kandan elde edilen TZF ve yağ greftleri 1:5 oranında karıştırılarak 120 atimik fare'ye subkütan olarak yerleştirilmiş. 0,3,7,14,21 ve 28'inci günlerde örnekler alınarak büyüme faktörü salınımı, anjiyojenez, adipojenez, hücrel apoptoz oranları ve kollajen üretimleri açısından değerlendirilmiş. TZF uygulanan gruplarda 28. gün dahil tüm değerlendirmelerde yüksek VEGF salınımı, düşük COL1A1, yüksek damar yoğunluğu, düşük fibrozis ve canlılığı daha yüksek adipositler izlenmiş. Yine proapoptotik bir belirteç olan BAX geninin TZF uygulanan yağ greftlerinde kontrol grubuna göre özellikle 3. ve 4. haftada ekspresyonunun daha düşük olduğu izlenmiş. Bu bulgulara göre, TZF'nin yağ greftinin otokrin fonksiyonunu destekleyebileceği savunulmuştur. TZF'nin vaskülarizasyon ve adipojenik farklılaşmayı teşvik ederek, hücrel apoptozu inhibe ederek ve kollajen üretimini düzenleyerek yağ grefti tutma oranını büyük ölçüde artırdığı gösterilmiştir (476).

Yaşlanan cilt doğal olarak kollajen, elastikiyet ve hacim kaybeder. Dermis incelik ve fibroblastlar azalır, kollajen ve hyalüronik asit üretimi azalır (477). Kollajen yılda yaklaşık %1 oranında azalarak cilt gevşekliği ve kırışıklığı belirginleşir (422, 478). Hidrofilik hyalüronik asit konsantrasyonu düştüğü için cilt de nem kaybeder (479). Sonuç olarak, dermis turgozitesini kaybeder, bu da hacim kaybına ve estetik açıdan istenmeyen değişikliklere neden olur (480). Yaşlanan ciltte kollajenez ve hyalüronik asit içeriğinin uyarılması bu değişikliklerin üstesinden gelebilir. Burada da TZF umut umut vadetmektedir.

Fibroblastik büyüme faktörlerinin yüksek konsantrasyonları ve yavaş salınımı ile TZF, derinin altına enjekte edildiğinde fibroblast oluşumunu uyarır ve kollajen ve hyalüronik asit içeriğini artırır. Aynı zamanda hyalüronik asidin de etrafını sararak enjekte edildiği bölgede kalmasını sağlar (17). TZF membranöz bir jel oluşturduğu

için anında bir hacim etkisi yaratır; bu hacim sadece birkaç hafta sürse de, tekrarlanan tedaviler uzun süreli kollajen üretimi ve lokalize rejeneratif aktiviteden uzun vadeli etkiler sağlar (316).

Karimi ve arkadaşları çalışmalarında doğal, otolog bir dolgu maddesi olarak tek başına TZF enjeksiyonunun, tear trough'a hacim restorasyonunda, tekrarlanan tedavilerle pigmentasyon düzensizliklerinin homojenizasyonunda ve ince kırışıklık çizgilerinde iyileşme ile sonuçlandığını göstermişlerdir; ayrıca, TZF ve hyalüronik asit dolgu maddesinin kombinasyonun sinerjistik olarak su tutmayı artırdığını ve kollajen üretimi için bir yapı iskeleti sağladığını göstermişlerdir (316). Literatürde nazolabial sulkusta dolgu maddesi olarak kullanımı ve intradermal enjeksiyonlarında başarılı sonuçların bildirildiği çalışmalar mevcuttur. Akne ve skar tedavisi için subdermal uygulamaları giderek yaygınlaşmaktadır (319, 481). Başka bir çalışmada ise, TZF enjeksiyonunun skar görünümünün iyileşmesinde ve saç foliküllerinin bulunduğu ancak inaktif olduğu durumlarda saç uzamasında uyarıcı rol üstlendiği bildirilmiştir (316).

Yapılan çalışmalarda TZP'nin kondrosit ve MKH proliferasyonunu, proteoglikan üretimini ve tip II kollajen birikimini artırdığı gösterilmiştir (482, 483). TZP ve TZF'nin kırıkta rejenerasyonu üzerine etkisinin incelendiği başka bir çalışmada 3., 5. ve 7. günlerde TZP ve TZF'nin kondrosit proliferasyonunu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla artırdığı, TZF'nin de 5. ve 7. günde TZP'ye göre kondrosit proliferasyonunu anlamlı olarak daha fazla artırdığı gösterilmiştir. Kondrojenez ile ilişkili genlerden olan COL2A1'in düzeylerinin de ELISA yöntemi ile değerlendirildiği aynı çalışmada, TZF anlamlı olarak daha fazla olmak üzere TZP ve TZF'nin bu genlerin düzeylerini 7.günde artırdığı belirtilmiştir (431).

Artiküler kondral defektlerde TZF ve otolog kırıkta greftleri için uygun bir prosedür geliştirmek amacıyla gerçekleştirilen başka bir çalışmada, tavşan kondrositleri, farklı konsantrasyonlarda TZF ortamı ile kültürlendi ve hücre proliferasyonu, kondrojenik gen ekspresyonu, hücre canlılığı ve hücre dışı matriks sentezi açısından değerlendirildi. TZF'nin kondrositler üzerindeki kemotaktik etkileri *in vitro* olarak kontrol gruplarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu.

Hücre morfolojisi, hücre çoğalma hızı, birikmiş GAG seviyesi, kondrojenik gen ekspresyonu ve kondrojenik protein birikimi değerlendirildi. Farklı TZF konsantrasyonlarının, doza bağımlı bir şekilde kondrosit sayısını artırdığı gözlemlendi. Hücre anabolik aktivitesi 3. günden 9. güne kadar birikmiş GAG düzeylerinde artış göstererek, yüksek TZF matris konsantrasyonunun uyarıcı etkisi olduğunu gösterdi. %100 TZF matrisinde kültürlenmiş kondrositler kontrol grubuna göre 5 kat daha fazla anabolik kapasite sergilediler. TZF'nin kondrositler üzerindeki kondrojenik potansiyelini göstermek için, COL2A1 spesifik kondrojenez belirteci, farklı zamanlarda (3, 6 ve 9. günler) tek tabakalı hücre kültürlerinde test edildi ve TZF matris grupları doza bağımlı bir şekilde 3. günden 9. güne kadar önemli ölçüde yüksek COL2A1 seviyeleri gösterdi. TZF matrisi, 6. ve 9. günlerde önemli ölçüde COL2A1 ekspresyonunu indükledi. 9. günde, %100 TZF matris grubu hücreleri, kontrol grubundan 15 kat daha fazla COL2A1 ekspresyonu gösterdi. Sonuçlar, kondrojenez belirteçlerin ekspresyonunun, konsantrasyonlara ve inkübasyon süresine uygun olarak TZF matris kültüründe arttığını gösterdi. Bu çalışmada TZF, hücre canlılığını sürdürmede kontrollere göre daha iyi bir etkiye sahipti. TZF'nin hücre apoptozu üzerindeki inhibitör etkisi kademeli olarak azalmasına rağmen, hücre apoptozu hala kontrollerdekinden daha düşüktü (%83.08'e karşı %44.58). Sonuç olarak bu çalışma, TZF'nin kondrositlerin apoptozunu önleyebileceği ve böylece transplantasyon sonrası canlılıklarını artırabileceği hipotezini desteklemiştir (438).

Tip II kollajen, kıkırdığın omurgasını oluşturarak stabilite ve gerilme mukavemeti sağlar. Hidrate proteoglikan bileşeni, kıkırdığın tensil kuvvetinden sorumludur. Tip II kollajen, kondrojenez için gerekli olan temel bileşendir. TZF ile kombine edilen kondrositlerin, COL2A1 ekspresyonunu artırarak TZF'nin kıkırdak onarımında etkin rol üstlendiği başka bir çalışmada da gösterilmiştir (484).

Bizim çalışmamızda, ELISA ile yapılan ölçümlerde tip II kollajen biyobelirteci olan COL2A1'in TZF'li gruplarda düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. COL2A1, TZF ile kombine edilmiş doğranmış ve blok kıkırdak gruplarında tüm kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$  ve  $p < 0,01$ ). En düşük COL2A1 düzeyleri ise kontrol ezilmiş kıkırdak grubunda bulunmuştur.

TZF'nin, bir kondrojenez biyobelirteci olan COL2A1 düzeylerini artırdığını gösteren çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgular literatürle uyumludur.

Başka bir çalışmada da, TZF'nin tip I ve tip II kollajen gibi hücre kondrojenik belirteçlerini up-regüle ettiği ve ayrıca kıkırdak matriksinde GAG birikimini uyardığı gösterilmiştir (450). Yine TZF'nin kondrojenik potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, kondrositler TZF eksüdatları ile kültürlendiğinde hücre büyüme hızı ve tip II kollajen düzeylerinin yanı sıra GAG ve proteoglikan birikimlerini önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir (485).

Domuz eklem kıkırdağı onarımı için TZF ve otolog kıkırdak greftlerini kombine ederek tek aşamalı bir yöntem geliştirmek amacıyla 2020 yılında yapılan başka bir çalışmada, domuz kondrositleri, farklı konsantrasyonlarda TZF ile şartlandırılmış ortamla muamele edilmiş ve altı günlük kültürasyon sırasında hücre canlılığı ve hücre dışı GAG sentezi açısından değerlendirilmiş. Sonuçlar, TZF'nin kültürlenmiş kondrositlerin yaşayabilirliğini ve GAG düzeylerini artırdığını göstermiştir. Ek olarak, TZF ile şartlandırılmış ortam, kıkırdak greftlerinde kondrositlerin hücre sel göçü ve büyümesini indüklediğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada yapılan immünohistokimyasal incelemelerde, her iki tedavi grubu da kontrollerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha fazla tip II kollajen boyanması ve minimal tip I kollajen boyanması göstermiştir. Bu durumun daha fazla hiyalin benzeri kıkırdak ve daha az fibröz dokuya işaret ettiği belirtilmiştir. Sonuç olarak bu bulgular ile, TZF'nin kondrositlerin canlılığını, farklılaşmasını ve göçünü artırdığı, böylece kıkırdak onarımını olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir. TZF'nin bu avantajları sayesinde kıkırdak otogreftlerinin etkinliğini basit bir şekilde güçlendirerek klinik uygulamalara fayda sağlayabileceği belirtilmiştir(24).

Bizim çalışmamızda da GAG birikiminin incelendiği ELISA ölçümlerinde TZF ile kombine edilmiş tüm grupların GAG düzeylerinin karşılaştırmalı aynı tip kıkırdakların kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir ( $p < 0,001$ ). Grup içi karşılaştırmalarda ise GAG düzeyleri TZF'li doğranmış kıkırdak grubunda TZF'li blok kıkırdak grubundan ( $p < 0,001$ ), TZF'li blok kıkırdak grubunda da TZF'li ezilmiş kıkırdak grubundan istatistiksel olarak

anlamli şekilde daha yuiksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kontrol grupları arasında grup içi karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamli bir fark bulunmamıştır. Elde ettiğimiz bu bulgular literatür ile uyumludur.

Çalışmamızdaki histopatolojik incelemelerde kondrosit canlılığı ve kıkırdak dokusunun genel durumunun incelemek amacıyla başvurduğumuz Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi ile gruplar arası karşılaştırmada; özellikle TZF ile kombine edilmiş doğranmış ve blok kıkırdakların, hem kendi kontrolleri hem de ezilmiş kıkırdak gruplarına göre genel anlamda daha sağlıklı bir kıkırdak dokusuna sahip olduğu, daha az fibrotik bağ dokusu içerdiği, daha az dejenerasyon ve daha yoğun periferik proliferasyon alanlarına sahip olduğu gösterilmiştir.

Masson trikrom ile yapılan boyamada kontrol grupları ile TZF verilen gruplar karşılaştırıldığında TZF ile kombine edilmiş blok ve doğranmış kıkırdak gruplarının kıkırdak matriksinin kontrol blok ve doğranmış kıkırdak gruplarına göre daha koyu boyandığı görüldü. TZF ile kombine edilmiş blok ve doğranmış kıkırdak gruplarının kontrollerine göre daha çok boyanması TZF' nin kollajen lif içeriğinin devamlılığında katkısı olduğunu göstermektedir.

Orsein ile yaptığımız boyamada ise her iki kıkırdak grefti tipinde de yeni kıkırdak oluşumunun gerçekteştiği periferik proliferasyon alanlarında daha belirgin olmak üzere daha fazla elastik lif oluşumunun görüldüğü dikkat çekmiştir. Örneklerde ezilmiş kıkırdak grefti grupları histopatolojik yönden belirgin değişikliğe uğramıştır. Dokuda şiddetli dejenerasyonun hakim olduğu ve çoğu örnekte kıkırdak dokusunun parçalandığı görülmüştür. Parçalanan kıkırdak dokusunun yerine belirgin bir şekilde spongiyöz kemik dokusu oluşumunun meydana geldiği izlenmiştir. Bu dokularda bağ dokusuna uzanan kemik trabeküllerinin bulunduğu, trabeküller arasında ise kemik iliği kavitesinde olduğu gibi hemopoetik hücre alanlarının görüldüğü izlenmiştir.

Kıkırdak matriks proteoglikan miktarını gösteren bir parametre olarak kullandığımız safranin boyama yöntemi ile TZF ile kombine edilmiş blok ve doğranmış kıkırdak grefti gruplarının safranin ile oldukça yoğun boyandığı, yani kıkırdak matriks proteoglikan miktarının kendi kontrol gruplarına ve diğer gruplara göre daha fazla

olduğu görülmüştür. Ezilmiş kıkırdak grefti gruplarında matriks hasarının diğer gruplara göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ezilmiş kıkırdak grefti gruplarında yoğun olarak izlenen kemik dokuya yakın olan kıkırdak dokusunun zayıf boyandığı, kemik doku oluşumu başlayan bölgelerde ise hiç boyanmadığı izlenmiştir. TZF ile kombine edilmiş ezilmiş kıkırdak grubunun kesitlerinde boyanmanın diğer gruplara göre az da olsa kendi kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülmüştür.

Bu sonuçlara dayanarak çalışmamızda TZF'nin tüm kıkırdak gruplarında kıkırdak matriks kollajen içeriğine, proteoglikan oranına ve kondrosit canlılığı ve sağ kalımına olumlu yönde etki yaptığı gösterilmiştir. Ancak bu etkinin dejenerasyon oranının yüksek olduğu ezilmiş kıkırdak grubunun TZF ile kombinasyonunda göreceli olarak daha az gerçekleştiği gözlenmiştir. Çalışmamızda yaptığımız histopatolojik ve immünohistokimyasal analizlerde istatistiksel bir değerlendirme yapılmamıştır ancak gerçekleştirdiğimiz analizlerin bulguları biyokimyasal analiz sonuçlarımızı destekleyecek niteliktedir.

Doku yaralanmasından sonra yaranın tamamen iyileşme sürecinin bir işareti hücre dışı matriksin normal ve kararlı hücresel yapıda olmasıdır. Kollajenin yıkımı, serbest hidroksiprolin ve peptitlerini serbest bırakır ve bu nedenle, yara iyileşmesi sırasında biyokimyasal bir belirteç olarak hidroksiprolin, doku kollajen içeriğini değerlendirmek için ve yara iyileşmesinden sonra kollajen döngüsünün bir göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılır (486). Granülasyon dokusundaki artan hidroksiprolin içeriği, yara iyileşmesi sırasında kollajenin maturasyonunun, proliferasyonunun ve artan kollajen dönüşümünün göstergesidir (487). Kollajende bol miktarda bulunduğu ve yara iyileşmesinde hayati bir rol oynadığından, yara iyileşme sürecinden sonra dokulardaki kollajen içeriğinin bir biyobelirteci olarak hidroksiprolin kullanılabilir (488).

Kollajenin ana yapısal bileşeni olan hidroksiprolin düzeylerinin ELISA yöntemiyle ölçümlerinin yapıldığı çalışmamızda, COL2A1 ve GAG düzeyleri gibi, HPR düzeyleri de TZF'li gruplarda kontrol gruplarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Kontrol gruplarında grup içi karşılaştırmada ise doğranmış kıkırdak grubundaki HPR düzeyleri, ezilmiş kıkırdak grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). TZF ile kombine edilen gruplarda grup içi karşılaştırmada ise en yüksek düzeyler doğranmış kıkırdak grubunda, en düşük düzeyler ezilmiş kıkırdak grubunda gösterilmiştir ( $p < 0,01$ ). Çalışmamızdaki bulgulara dayanarak, TZF'nin kıkırdak dokuda kollajenin ana yapısal bileşeni olan HPR düzeylerini artırdığını gösterdik. Bu bulgu, literatürde daha önce TZF ve otolog kıkırdak greftlerinin kullanıldığı herhangi bir çalışmada gösterilmemiş bir bulgudur.

COMP'nin, tip II kollajen ve agrekan dahil olmak üzere kıkırdak ESM proteinleri ile etkileşime girdiği ve bu haliyle matriks oluşumunda ve doku homeostazında rol oynadığı gösterilmiştir. Son araştırmalarda, COMP'nin yalnızca farklı ESM bileşenlerine bağlanmadığını, aynı zamanda büyüme faktörleriyle [TGF- $\beta$ 1 ve kemik morfogenetik protein(BMP) gibi] de etkileşime girdiğini ve "kafes" görevi görerek bunları hücreler tarafından kullanılmak üzere sunduğu gösterilmiştir. (60, 489). COMP bu görevi ile, ESM'yi ve hücrelerle büyüme faktörü etkileşimini modüle ederek hücre bağlanması, proliferasyonu ve farklılaşması gibi hayati hücre fonksiyonlarını etkilemedeki olası rolünü göstermektedir. TGF- $\beta$ 1'in aktivitesinin, COMP'ye bağlandığında güçlendiği gösterilmiştir. Bu da potansiyel olarak COMP'nin prokondrojenik ve hipertrofi baskılayıcı özelliklerini açıklamaktadır (60). COMP, kollajen fibrilleri ve matriks bileşenleriyle etkileşimi ile hücre dışı matriksin oluşması ve stabilizasyonunda yapısal bir role sahiptir. COMP'nin, kollajen moleküllerinin erken bir araya gelmesini teşvik ederek tip I ve II kollajenin fibril oluşumunu etkilediği ve böylece fibrilojenezi hızlandırdığı gösterilmiştir. (490). COMP'nin kıkırdak hücre dışı matriksinin ana bileşeni olan agrekana bağlandığı da gösterilmiştir. Bu COMP'nin, yük taşıma işlevi için kıkırdak matriksini düzenlemek amacıyla gereken matriks molekül etkileşimlerindeki aracılık rolünü desteklemektedir. (491). Ayrıca, COMP seviyelerinin yükselmesinin, insan kemik iliği kök hücrelerinin kondrojenik farklılaşmasını artırdığı gösterilmiştir (62). Günümüzde COMP ile ilgili yapılan çalışmaların büyük bir kısmı osteoartrit tedavisi üzerine yoğunlaşmıştır. ELISA yöntemi ile otolog kıkırdak dokularındaki COMP

düzeylerini incelediğimiz bu çalışmada, kondrosit proliferasyonu ve matriks homeostazında önemli bir belirteç olan COMP'nin düzeyleri, TZF ile kombine edilen tüm gruplarda kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). TZF'nin COMP seviyesini artırarak otolog kıkırdakların proliferasyonunda ve matriks hücresel elemanlarının stabilizasyonundaki muhtemel rolünü göstermeye çalıştığımız bu bulgu literatürde daha önce gösterilmemiştir.

GFAP ile gösterilen pozitif boyanma, kondrositlerin rejenerasyon potansiyelini ifade eder. Sitoplazmadaki kahverengi birikim, kondrositlerin dış kuvvetlere karşı koyduğu mekanotransdüksiyon sisteminde görev alan ara filamentlerin pozitif boyanmasını gösterir (492). GFAP, ayrıca genç ve gelişmekte olan hücrelerde de var olan bir proteindir (181). Klinik olarak bu immünohistokimyasal boyama yöntemi kistik teratomların kıkırdak komponentinin matür olup olmadığının ayırımında kullanılmaktadır (184, 493).

Yılmaz ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada GFAP'ı, rejenere olan ve yeniden oluşan genç kıkırdak hücrelerinin varlığını gösterebilmek amacıyla kullandı. Bu çalışmada selüloz ile çıplak kıkırdak greftlerini karşılaştırdı. Sonuç olarak; Selüloz ile sarılan kıkırdak dokularında hiç birinde pozitif boyanma yani genç hücre görmezken, selüloz ile sarılmamış blok ve doğranmış kıkırdak grubunda özellikle kıkırdak dokusunun periferlerinde kuvvetli pozitif boyanma olduğunu gösterdi. Kıkırdak greftlerinin selüloz ile sarılmasının yeni kıkırdak oluşumunu engellediği sonucuna vardı. Yılmaz, bu çalışması ile immunohistokimyasal bir yöntem olarak GFAP boyamasının yeni kıkırdak oluşumunu ve genç hücreleri göstermede güvenilir bir yöntem olabileceğini bildirdi (347). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda bu anlamda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (218, 360, 379, 381, 396). Klinik ve deneysel çalışmalarda da uyumsuzlukların bulunması üzerine Yılmaz, 5-65 yaşları arasındaki hastalardan elde edilen kıkırdak parçalarının GFAP boyalarını karşılaştırmış ve insan kıkırdaklarının GFAP boyanması açısından oldukça farklı davrandıklarını, yaşlılarda güçlü GFAP pozitifliğinin olabildiği, tam tersine çocuklarda ise bunun negatif olabildiğini gözlemlemiş ve GFAP pozitifliğinin kıkırdak rejenerasyonunu göstermede standart bir yöntem olabileceği yönünde kuşkuları olduğunu dile getirmiştir (494).

Bizim çalışmamızda TZF ile kombine edilmiş doğranmış ve blok kıkırdak gruplarının kontrollerine göre GFAP'a daha kuvvetli reaksiyon verdiği gösterilmiştir. Ancak çalışmamızda dejenerasyonun baskın olduğunu düşündüğümüz ezilmiş kıkırdak grupları da GFAP'a kuvvetli reaksiyon göstermiştir. Bu anlamda GFAP'ın kıkırdak hücrelerinde proliferasyonu ve genç hücreleri tek başına ayırt eden spesifik bir yöntem olarak kabul edilmesinin hatalı sonuçlara yol açabileceğini düşünmekle birlikte, elde ettiğimiz bulgular literatür ile uyumludur.

PDGF, yaralanma yerinde bulunan ilk büyüme faktörlerinden biridir. Trombositlerden salınan PDGF, mezenkimatöz hücre göçünü, çoğalmasını ve hayatta kalmasını sağlar (17). Anjiyojeneze yardımcı olur. Makrofaj kemotaksisi ve aktivasyonun yanı sıra makrofajlardan TGF- $\beta$ 1 salgılanmasını sağlar (495). Her trombosit yaklaşık 1.200 PDGF molekülü içerdiğinden, TZF'de bulunan bol miktarda PDGF'nin yara iyileşmesi üzerinde daha etkili olabileceği bilinmektedir (496).

Bu çalışmada, PDGF düzeylerinin tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak en yüksek olduğu grup TZF ile kombine edilen doğranmış kıkırdak grubudur ( $p < 0,001$ ). Aynı zamanda tüm TZF'li gruplarda PDGF düzeyleri kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). TZF uygulanan gruplarda ise grup içi karşılaştırmada doğranmış ve blok kıkırdak grubunda ezilmiş kıkırdak grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$  ve  $p < 0,05$ ). Kontrol gruplarında da grup içi karşılaştırmada doğranmış ve blok kıkırdak gruplarında ezilmiş kıkırdak grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksektir ( $p < 0,001$ ). Elde ettiğimiz bulgular literatür ile uyumludur.

Aktif trombositler tarafından salgılanan TGF- $\beta$ 1, fibroblast kemotaksisini ve fibronektin üretimini sağlar. ESM ve kollajen sentezini uyarır ve kollajenin parçalanmasını önler. Ek olarak, TGF- $\beta$ 1, immün hücrelerin anjiyojenezini ve kemotaksisini indükler (497). Hücresel farklılaşma ve hücre çoğalmasını uyarır. Ayrıca, osteoklast oluşumunun ve kemik dejenerasyonunun inhibisyonu ile birlikte osteoblast proliferasyonunu ve birikimini artırır (496).

Çalışmada, TGF- $\beta$ 1 değerinin en yüksek olduğu grup TZF ile kombine edilen doğranmış kıkırdak grubudur. TZF'li blok kıkırdak grubu hariç diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Kontrol

gruplarının grup içi karşılaştırmasında ise kontrol doğranmış kıkırdak grubunda ezilmiş ve blok grubuna göre daha yüksektir ( $p < 0,001$ ). Kontrol blok kıkırdak grubunda ise ezilmiş kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek gösterilmiştir ( $p < 0,01$ ). Bulgular literatür ile uyumludur.

Kıkırdağın avasküler doğasının bir sonucu olarak, kondrositlerin bulunduğu mikro ortam düşük oksijen seviyelerinin olduğu zor koşullarla karakterizedir. Son yıllarda, kıkırdak gelişimi ve hastalıklarında hipoksinin rolü hakkında literatürde çok sayıda makale yayınlandı. Hipoksiye hücrel adaptasyonun ana düzenleyicisi olan transkripsiyon faktörü hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfa(HIF-1  $\alpha$ )'nın, kıkırdak gelişimi esnasında kondrositlerin sağ kalımı, büyümesinin kontrolü, enerji üretimi ve matriks sentezi için çok önemli olduğu bilinmektedir (498).

HIF-1 $\alpha$ , dokudaki hücrel oksijenizasyon azalmalarına yanıt veren bir transkripsiyon faktörüdür (499). HIF-1 $\alpha$ ; hipoksi kaynaklı transkripsiyondaki merkezi rolü ile embriyonik gelişim, metabolizma, hücre proliferasyonu, enflamasyon ve anjiyojenez gibi çeşitli hücrel süreçlerde yer alır (500). Glikoz taşınması ve metabolizması gibi metabolik fonksiyonlara sahip genleri, VEGF gibi anjiyojenez faktörlerini, hücre döngüsü proteinlerini ve apoptotik mekanizmayı kontrol ederek hipoksik yanıtı düzenler (501).

VEGF, aktive edilmiş trombositler ve makrofajlar tarafından salınır ve anjiyojenez ile ilgili süreçler için ana düzenleyici moleküldür. Damar geçirgenliğini artırır. Endotel hücre proliferasyonu, göçü ve hayatta kalmasında anahtar bir role sahiptir (18, 496). Çalışmalar, PDGF ve EGF'nin VEGF sekresyonunu belirgin şekilde artırabileceğini göstermiştir (250). TZF içerisindeki trombositlerden salınan VEGF, TGF- $\beta$ 1 ve PDGF gibi büyüme faktörleri anjiyojenik etkilere sahiptir ve hücre sağ kalımında önemli roller üstlenirler (502).

Nakavt (knock-out) farelerin incelendiği bir çalışmada, HIF-1 $\alpha$ 'nın embriyonik gelişim ve hayatta kalma için gerekli olduğu savunulmuştur (503). Vaskülojenez ve anjiyojenezde hayati önem taşıyan VEGF'nin moleküler yolunda önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (504). Yine bir başka çalışmada, hipoksiye yanıt olarak artan HIF-1 $\alpha$ 'nın, VEGF ekspresyonunu ve kan damarı üretimini desteklediği gösterilmiştir (505). Lafont ve Li 2010 ve 2018'de yaptıkları çalışmalarda, tip II kollajen ve

agrekan ekspresyonunu kontrol eden anahtar transkripsiyon faktörü olan SOX-9'un, kondrosit farklılaşmasını ve çoğalmasını hipoksi ortamında HIF-1 $\alpha$ 'ya bağımlı bir şekilde düzenlediğini belirtmişlerdir (506, 507). Aynı zamanda Yudoh ve arkadaşları , HIF-1 $\alpha$ 'nın, kondrositlerin otofaji ve apoptozunu regüle ederek kondrositleri hücre ölümünden koruyabildiğini bulmuşlardır (508, 509).

Anjiyojenez, hücre canlılığı ve sağ kalımı için çok önemli olmakla birlikte aynı zamanda yara iyileşmesinde rol oynayan temel faktörlerden biridir (510). Biz bu çalışma ile üç kıkırdak grefti tipinde de TZF'nin HIF-1 $\alpha$  biyobelirteçi düzeylerine ve VEGF üretimine, dolayısı ile hücrelerin anjiyojenez ve apoptotik sürecine olası etkilerini araştırmayı amaçladık. Sonuçlarımıza göre, HIF-1 $\alpha$  düzeyleri TZF'li gruplarda kontrol gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Gruplar arası karşılaştırmada en yüksek HIF-1 $\alpha$  düzeyleri TZF'li doğranmış kıkırdak grubunda, istatistiksel anlamda en düşük düzeyler kontrol ezilmiş kıkırdak grubunda gösterilmiştir. Grup içi karşılaştırmalarda ise doğranmış kıkırdak tipleri blok kıkırdak tiplerine ( $p < 0,05$  ve  $p < 0,001$ ), blok kıkırdak tipleri de ezilmiş kıkırdak tiplerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek HIF-1 $\alpha$  düzeyleri göstermiştir ( $p < 0,01$ ).

ELISA yöntemi ile incelediğimiz VEGF biyobelirteci düzeyleri ise TZF'li gruplarda kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). TZF ile kombine edilmiş gruplarda en yüksek VEGF düzeyleri doğranmış ardından blok kıkırdak grubunda olmakla birlikte en düşük seviyeler ezilmiş kıkırdak grubunda izlenmiştir.

Çalışmalar, VEGF'nin anjiyojenezin en ayrıntılı şekilde incelenen spesifik düzenleyicisi olduğunu göstermiştir (511). Ancak günümüzde otolog kıkırdak greftleri ve yeni nesil kan konsantreleri ile ilgili bu konuda yeterli sayıda çalışmanın bulunmadığı görülmektedir. TZF'nin farklı tipte kıkırdak greftleri üzerindeki anjiyojenik etkilerini karşılaştırmak amacıyla VEGF ve HIF-1 $\alpha$ 'nın incelendiği başka bir çalışma daha önce literatürde gösterilmemiştir. Bu çalışma bize, otolog kıkırdak greftleri ile kombine edilen TZF'nin, proanjiyojenik faktörler olan VEGF ve HIF-1 $\alpha$  biyobelirteçlerinin düzeylerini artırdığını ve bu faktörlerin otolog kıkırdak

greftlerinin anjiyojeneziyi teşvik ettiği mekanizmanın bir parçası olabileceğini bize göstermiştir.

bFGF, kıkırdakta endojen olarak üretilir ve eklem kıkırdağının ESM'sinde lokalize olan bir heparan sülfat proteoglikan olan perlekan tarafından tutulduğu gösterilmiştir (512). Çeşitli türlerden bFGF üzerine yapılan çalışmalar, eklem kıkırdağı homeostazında ve ESM üretimi açısından çelişkili sonuçlar vermiştir ve bFGF'nin kıkırdak homeostazı üzerindeki spesifik rolü tartışmalı olmaya devam etmektedir. Bir dizi çalışma, bFGF'nin insan yetişkin eklem kıkırdağında bir katabolik indükleyici olarak da işlev gördüğünü belirlemiştir. bFGF, hem *in vitro* hem de *ex vivo* (insan eklem kıkırdağı eksplantlarının organ kültürü) çalışmalarında eklem kondrositlerinde proteoglikan birikimini inhibe eder (513-515). Eklem kondrositlerinde, bir dizi transkripsiyonel yanıt ortaya çıkarır; en güçlü kollajen tip II parçalayıcı enzim olan matriks MMP-13'ü indükleyerek kollajenin parçalanmasına neden olur (514, 516).

bFGF'nin insan eklem kıkırdağındaki rolü, murin kıkırdağındaki rolüyle çelişmektedir. Murin kıkırdağında bFGF ablasyonunun, spontan ve cerrahi kaynaklı OA gelişimini hızlandırdığı ve rekombinant bFGF uygulamasıyla kurtarılabildiği bildirilmiştir (517). Yapılan çalışmalarda, bFGF'nin murin OA'da kondroprotektif bir büyüme faktörü olarak hareket ettiği gösterilmiştir. Farklı hayvan modellerinde bFGF veya bFGF içeren kombinasyon ajanları kullanılarak kıkırdak onarımındaki başarıları da rapor edilmiştir (518-522). Bu tür tutarsızlıkların, bFGF'nin eklem kıkırdağındaki işlevinin türler arasında temelde farklılık gösterip göstermediğini araştıran Yan ve arkadaşları, bFGF'ye verilen yanıtlardaki farklılıkların büyük olasılıkla eklem kıkırdağındaki iki ana FGF reseptörü arasındaki dengedeki değişikliklerden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. FGF2'nin katabolik ve anti-anabolik etkilerini FGFR1 aracılığıyla sağladığını, faydalı etkilerini ise FGFR3 aracılığıyla gerçekleştirdiğini ve bu dengenin dinamik olduğunu göstermişlerdir (515, 523).

TGF- $\beta$ 1 ve bFGF'nin kondrosit çoğalma hızını uyardığı bilinmektedir. Doku mühendisliği uygulaması yapılan bir çalışmada, insan kulak kıkırdağından elde edilen ve izole edilen kondrositler FGF ve TGF- $\beta$ 1'li ortamlarda ayrı ayrı kültüre edilmiştir. Sonuç analizinde bFGF'de kültürlenmiş doku mühendisliği ürünü kıkırdak,

en çok normal, doğal kıkırdağa benzeyen kıkırdak olarak gösterilmiştir. TGF- $\beta$ 1 içinde kültürlenmiş örnekler, yetersiz kıkırdak morfolojisi üretmiştir (524). Başka bir çalışmada normal ve mikrotia'lı hastaların kulak kıkırdağından izole edilen kondrositler bFGF ve osteojenik protein 1 (OP-1)'li kültür ortamlarına bırakılmış. Sonucunda, bFGF'nin diğer gruplara göre normal ve mikrotia kondrositleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde proliferasyonu artırdığı gösterilmiştir (525). Kondrositlerde hücrelerel farklılaşma olmaksızın bFGF'nin indüklediği hızlı hücre genişlemesi, birkaç çalışma tarafından da gösterilmiştir (526-528) Hücrelerin tamamen farklılaşmasını önleyerek proliferasyon hızını artırdığını göstererek büyüme plağı kondrositleri üzerine yapılan bir çalışma önceki çalışmalarını desteklemektedir (529). Büyüme faktörlerinin siklinleri uyardığı bilinmektedir ve bFGF, *in vitro* olarak kondrositlerin hücre döngüsünün dinlenme fazına (Go) girmesini önleyebilir (529, 530). Bu yüzden ortaya çıkan hızlı hücre genişlemesi, matriks üreten genlerin transkripsiyonunu engelleyebilir hipotezi ortaya atılmıştır. Nitekim, bu çalışmalarda sunulan sonuçlar, FGF'nin hücre proliferasyonuna etkisini doğrulamakta ancak kıkırdak ESM oluşumunu baskılayıp baskılamadığı konusunda fikir birliğine varılamamakta olduğunu göstermiştir (525).

Fibroblast büyüme faktörünün (bFGF), büyüme plağı veya eklem kıkırdağındaki kondrositler için güçlü bir mitojen olarak rolü iyi bilinmektedir (513, 529, 531-534). Buna karşılık, kıkırdak üzerindeki metabolik etkisi hala karmaşık ve çelişkili görülmektedir: Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kondrojenik farklılaşma esnasında matriks oluşumunun yanı sıra matriks degradasyonunda da rol oynadığı görülmektedir. Örneğin, kıkırdakta deneysel veya patolojik olarak yüksek bFGF seviyeleri, eklem yıkımına yol açan artrit hastalıklarıyla ilişkilidir (514, 535-538). Buna karşılık bFGF'nin, kültürlenmiş domuz eklem kondrositleri veya tavşanlarda implante edilmiş greftler yoluyla kıkırdak rejenerasyonuna veya kıkırdak doku oluşumuna aracılık ettiği görülmektedir (539, 540).

Bu çalışmada, tüm TZF'li gruplarda bFGF biyobelirteci düzeyleri kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). TZF'li doğranmış kıkırdak grubunda TZF'li blok ve ezilmiş kıkırdak grubuna göre daha yüksek olmakla birlikte ( $p < 0,001$ ), TZF'li blok kıkırdak grubunda da TZF'li ezilmiş

kıkırdak grubuna kıyasla daha yüksektir ( $p < 0,05$ ). Kontrol gruplarının grup içi karşılaştırmasında ise doğranmış kıkırdak grubunun bFGF düzeyleri blok ve ezilmiş kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

Kıkırdakta hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi daha önce gösterilmiş olan bFGF ile ilgili çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular literatür ile uyumludur (541, 542). Önemli bir perlanan ligandı olan FGF kondroprotektiftir ve agrekanazları inhibe eder. Osteoartritte kıkırdak degradasyonunu önler (543). Aynı zamanda kondrojenik farklılaşma esnasında proteoglikan sentezi ve ESM oluşumunu uyardığı gösterilen bFGF'nin yapılan çalışmalarda matriks proteinlerini baskılayıcı etkisi olma ihtimalinin bulunduğunu belirten çalışmalar ortaya atılmıştır (525, 541, 544). Çalışmamızda herhangi bir FGF reseptörüne yönelik spesifik bir inceleme yapılmamıştır, bu çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak kabul edilebilir. Ancak çalışmamızdaki matriks bileşenlerinin biyobelirteç düzeyleri, histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelerin bulguları dikkate alındığında TZF ile kombine edilen otolog kıkırdak grefti gruplarında matriks üretimi ve yapısal proteinlerin arttığını gözlemledik.

EGF; trombositler, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından salgılanır (250). Anjiyojenezi, endotel hücrelerinin kemotaksisini, proliferasyonunu ve epitelizasyonunu teşvik eder, granülasyon dokusunun oluşumunu hızlandırır, iyileşme süresini kısaltır ve bu şekilde yara iyileşmesinde rol alır (272-277). Literatürde kronik yaraların tedavisinde epidermal büyüme faktörü uygulamalarının başarılı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (545-551). Kıkırdakta matriks proteoglikan sentezini indüklediği ve kıkırdak gelişiminde de görev aldığı gösterilmiştir (552, 553). Ayrıca epitelyal ve mezenkimal hücrelerden sitokin sekresyonunu artırır (554).

Çalışmamızda ELISA yöntemi ile incelediğimiz EGF biyobelirteci düzeyleri de aynı şekilde tüm TZF'li gruplarda karşılıklı kontrol gruplarından yüksek olmakla birlikte TZF ile kombine edilen doğranmış ve blok kıkırdak gruplarının EGF biyobelirteci düzeyleri ezilmiş kıkırdak grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Kontrol grupları arasında ise düzeyleri yüksekten

düşüğe doğru; doğranmış-blok-ezilmiş sıralaması şeklinde istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0,05$ ).

Onlarca yıllık çalışmalarda, EGF'nin kıkırdak üzerindeki etki mekanizmasında bulunan EGFR sinyal yolunun kıkırdak homeostazında önemli bir rol oynadığı ve bu nedenle kıkırdak hastalıklarının tedavisi için yeni bir hedef sunduğu sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, mevcut veriler eklem kıkırdağı oluşumu ve büyümesinde EGFR sinyalinin anabolik rolünü desteklemektedir. Bununla birlikte, mevcut literatürde daha çok OA konusunda yapılan; EGFR inhibisyonunun OA'nın kemirgen modelleri üzerindeki etkilerinin çok daha az net olduğunu ve genellikle çelişkili görüldüğünü, bunun da OA tedavisi için bu yolu hedeflemeye yönelik daha ileri çalışmaların yapılmasını engellediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (553). Bu nedenle, OA üzerine EGFR yolu etki ve eylemlerinin bağlama özgü olduğunu düşünüyoruz.

Tüm bu parametreleri ele almak, her bir ligand ve reseptörün rolünü öğrenebilmek için gelecekte insan kıkırdağı ve hayvan modelleri üzerinde kapsamlı araştırmalar yapılmasının faydalı olacağını düşünüyoruz. Bu tür kapsamlı çalışmalar, FGF ve EGF gibi hücresel süreçlerde görev alan moleküllerin bilinmeyen sinyal yollarının etkilerini ve bunların terapötik hedeflerde uygunluğunu aydınlatmamıza yardımcı olacaktır.

FGF ve EGF'nin, hücreler için güçlü bir kemotaktik ve mitojenik etkinin yanı sıra ektodermal ve mezenkimal kaynaklı hücrelerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (555). VEGF, yara iyileşmesi sırasında neoanjiyogenez için kritiktir ve aynı zamanda kan damarının endotelial hücre bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur (556). Bu örnekler gibi büyüme faktörlerinin çeşitli eylemleri, yara iyileşmesinde, hücre proliferasyonu ve yenilenmesinde ya da hücre sağ kalımında kilit bir rol üstlendiklerini göstermektedir (557).

Büyüme faktörlerinin kantitatif salınımı literatürdeki çeşitli araştırmalarda değerlendirilmiştir. Büyüme faktörlerinin hızlı salınımı, Lucarelli ve arkadaşları 2010 yılında yakın zamanda yapılan TZF, G-TZF ve TZP'nin karşılaştırıldığı bir çalışmada incelenmiştir. Burada TZF'nin büyüme faktörlerini kademeli ve sürekli bir şekilde saldığı gösterilmiştir. Miron ve arkadaşları 2017 yılında TZF'nin enjekte edilebilir

formülasyonunu TZP ile karşılaştırarak değerlendirmiştir. Bu çalışmada PDGF, EGF, IGF-1, TGF- $\beta$ 1 ve VEGF değerleri 10 günlük bir süre boyunca incelenmiştir. Bu süre zarfında TZF'nin büyüme faktörlerinin salınımı zaman içerisinde önemli bir artış göstermiştir. Literatürde 2019 yılında yapılan bir çalışmada ise, altı önemli büyüme faktörünün tümünün kantitatif salınımları incelenmiş ve rejeneratif potansiyeli değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda, salınımda 19.güne kadar sabit ve kademeli bir artış sergileyen TZF membranı, 23. güne kadar ise art arda yavaş ve sabit bir salınım sağlamıştır. Kantitatif olarak büyüme faktörlerinde en yüksek artış ilk haftada olmuştur. Bu çalışmada altı önemli büyüme faktörünün de 23 günlük bir süre boyunca salındığı gözlemlenmiştir (558). Başka çalışmalarda da TGF- $\beta$ 1, PDGF, VEGF gibi büyüme faktörleri kültür ortamında 28. güne kadar değerlendirilmiş ve 28. günde dahi büyüme faktörleri miktarları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (502, 559).

Deney hayvanlarının iyiliğini gözeterek gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda büyüme faktörlerinin salınım paternleri değerlendirilmemiştir. Bu anlamda çalışmamızda birden fazla aşamalı ölçüm (ilk hafta ve 8. hafta gibi) yapılmaması bu çalışmanın bir kısıtlılığı olarak kabul edilebilir. Ancak yaptığımız deneysel çalışmanın bulgularına göre kontrol grupları ve TZF ile kombine edilen otolog kıkırdak grefti grupları karşılaştırıldığında, ilgili farkın istatistiksel olarak anlamlı olması bu anlamda büyüme faktörlerinin uzun süreli salınımlarının da ileri araştırmalarla desteklenebileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda yaptığımız oksidatif stres belirteçlerinin analizi sonucunda, TZF'li gruplar kontrol gruplarından istatistiksel olarak daha az oksidatif stres skorları sergilemiştir. TZF'li grupların istatistiksel olarak daha yüksek TOS skoru ve daha düşük TAS ve OSI skorlarına sahip olduğu gösterilmiştir. TOS/TAS formülü ( $OSI=TOS/TAS$ ) kullanılarak elde edilen OSI değerleri ise, en düşük TZF'li doğranmış kıkırdak grubunda, en yüksek kontrol ezilmiş kıkırdak grubunda izlenmiştir. Gruplar arası yüksekten düşüğe oksidatif stres skorlarının sıralaması ise şu şekildedir: KEK>KBK>KDK>TZF-EK>TZF-BK>TZF-DK. Bu bulgu, otolog kıkırdak greftleri ve TZF uygulamaları ile ilgili daha önceki araştırmalarda çalışılmamış bir analiz ve gösterilmemiş bir bulgudur.

Yine TZF'nin otolog kıkırdak greftleri üzerine apoptotik etkileri daha önce hiç araştırılmamış olmasına rağmen, çalışmamızda STK-18 M30 seviyeleri ezilmiş kıkırdak gruplarında grup içi karşılaştırmalarda istatistiksel olarak daha yüksek düzeyde bulunmuş olup, doğranmış kıkırdak grupları bu çalışmada en düşük biyobelirteç düzeylerini göstermiştir. Gruplar arası karşılaştırmada ise apoptoz belirteci seviyeleri kontrol gruplarında TZF ile kombine edilen gruplara kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

Oksidatif stresin insan eklem kıkırdaklarında erken kondrosit yaşlanmasına etkilerinin araştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada; kondrosit yaşlanmasının, hücrelerin dokuyu koruma ve onarma yeteneğini azaltarak kıkırdak dejenerasyonuna katkıda bulunduğunu ve oksidatif hasarın, kondrosit yaşlanmasının veya hücreleri apoptoza götüren sürecin başlıca nedenlerinden biri olduğu gösterilmiştir. Düşük oksijen basıncına ve düşük metabolik aktivite düzeyine uyum sağlamış kondrositlerin ilerleyici yaşlanmasının veya apoptozunun, bu hücrelerin kıkırdak dokuyu korumasını giderek zorlaştırabileceği belirtilmiştir (560). Daha önceki çalışmalarda anti-apoptotik etkileri gösterilmiş olan TZF'nin hangi büyüme faktörünün spesifik olarak bu etkilere neden olabileceği literatürde net bir şekilde gösterilememiş olsa da, TZF tarafından antioksidan özelliklere sahip PDGF, IGF, FGF ve VEGF gibi sitokinlerin üretiminin, muhtemelen TZF'nin oksidatif stresi azaltmasının altında yatan neden olabileceğini belirtmişlerdir (298, 476, 561-566). Nötrofiller ve makrofajlar enflamasyon sürecinde çok fazla serbest radikal ürettikleri için, TZF'nin enflamasyonu azaltarak oksidatif stresi dolaylı olarak azaltabileceği savunulmuştur (563, 565). Ovaryan greftler üzerine TZF'nin etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada da TZF'nin antiapoptotik ve antiinflamatuvar etkilerine ek olarak iskemi süresini azaltarak ve anjiyojenezi hızlandırarak foliküler havuzu iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyabileceği gösterilmiştir ve sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur (460, 502, 567, 568). Bu bulgulardan yola çıkarak TZF'nin; kıkırdak greftlerinde veya iskemik dokuda meydana gelen serbest radikal hasarını iyileştirme konusunda faydaları olabilir. TZF'nin yüksek miktarda büyüme faktörleri içermesi ve bu büyüme faktörlerinin uzun süreli salınımları TZF'li gruplardaki

otolog kıkırdak greftlerini oksidatif stres ve DNA hasarına karşı korumada etkili kılıyor olabilir (560, 569).

Rudderman ve arkadaşları tavşan kıkırdakları üzerinde 3 aylık izlem süresinin insan ömründeki 1 yıllık izleme eşdeğer olduğunu göstermiştir (570). Zalzal ve arkadaşları ise tavşanlarda kıkırdak greft çalışmalarında 2 ay ile 4 ay arasında herhangi bir fark olmadığını ve 2 aylık izlem süresinin yeterli olduğunu savunmuştur (181). Literatürde kıkırdak grefti incelemeleri için 8 haftalık izlem süresinin kullanıldığı başka çalışmalar da mevcuttur (379). Ayrıca klinik çalışmalarda kıkırdak greftlerindeki değişikliklerin 6 hafta gibi kısa bir sürede gözlemlendiği kaydedilmiştir (218). Bu nedenle, biz de çalışmamızda son noktayı 8 hafta olarak belirledik.

Çalışmamızda otolog kıkırdak greftlerinin TZF ile kombinasyonlarından önce, sonra ve çıkartılmalarının akabinde ağırlık ve hacim ölçümleri yapılmamıştır, bunu çalışmanın bir kısıtlılığı olarak kabul edebiliriz.

## **6. SONUÇ VE ÖNERİLER**

Çalışmamızda yapılan histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal incelemeler sonucunda TZF'nin otolog kıkırdak greftlerinde canlılık, hücre sağ kalımı ve hücre proliferasyonu gibi parametrelerde kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak, TZF'nin, hücrelerin anjiyojenez sürecinde önemli ölçüde etkileri olduğu, kıkırdak dokusu ESM molekülleri üzerinde düzenleyici rol aldığı ve otolog kıkırdak greftleri üzerinde daha önce gösterilmemiş olan oksidatif stres belirteçleri ve apoptotik süreçte hücre sağ kalımı lehine görev üstlendiği gösterilmiştir. Yaptığımız grup içi karşılaştırmalarda hem TZF ile kombine edilen grupta hem de kontrol grubunda otolog doğranmış kıkırdak greftleri ve blok kıkırdak greftlerinin, otolog ezilmiş kıkırdak greftlerine göre hücre sağ kalımlarının daha iyi olduğu, dejenerasyon oranlarının daha az olduğu ve doku ESM matriks bileşenleri yönünden daha zengin oldukları gösterilmiştir. Bu sonuçlar ışığında, primer ve sekonder burun ameliyatlarında sıkça kullanılan otolog kıkırdak greftlerinin olası komplikasyonlarının en aza indirilebilmesi ve daha öngörülebilir sonuçlar elde edilebilmesi için özellikle doğranmış ve blok otolog kıkırdak greftlerinin uygun

endikasyonlarda TZF ile birlikte başarılı bir şekilde kullanılabileceğini düşünüyoruz. Bu çalışma aynı zamanda farklı otolog kıkırdak grefti tiplerinin, kıkırdak formları açısından kendi aralarında karşılaştırıldığı ve TZF'nin farklı kıkırdak tiplerine olan etkilerinin bu kapsamda incelendiği literatürde gösterilen ilk deneysel çalışmadır. Otolog doku ile onarımın avantajlarıyla harmanlanarak bütünsel bir yaklaşım ile ele alınan bu çalışmanın doku mühendisliği ve hücre yenileme çalışmalarına da katkı sağlayabileceğini düşünüyoruz. TZF içerisindeki hücrelerin kaderini belirleyen temel biyomoleküllerin tam olarak anlaşılammış olması ve TZF'nin moleküler karmaşıklığının henüz netleştirilememiş olması gibi zorluklar ilgili tedavi alanlarında yapılacak olan deneysel ve klinik araştırmalar ile aydınlatıldıkça bizlere yol gösterici olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Brenner MJ, Hilger PA. Grafting in rhinoplasty. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. 2009;17(1):91-113.
2. Rohrich RJ, Ahmad J. Rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 2011;128(2):49e-73e.
3. Koehler J, McLain L. Grafting in cosmetic rhinoplasty. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics*. 2012;24(1):59-66.
4. Kim HK, Chu LS, Kim JW, et al. The viability of diced cartilage grafts wrapped in autogenous fascia and AlloDerm® in a rabbit model. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2011;64(8):e193-e200.
5. Beriat GK, Akmansu SH, Dogan C, et al. The effect of subcutaneous Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) injection on rabbit auricular cartilage autograft viability. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 2012;12(4):213.
6. Orbay H, Tobita M, Hyakusoku H, Mizuno H. Effects of adipose-derived stem cells on improving the viability of diced cartilage grafts. *Plastic and reconstructive surgery*. 2012;129(2):369-377.
7. Ozturk M, Aydin O. Use of diced cartilage grafts wrapped with amniotic membrane in soft tissue augmentation: experimental study. *Annals of Otolaryngology & Laryngology*. 2013;122(1):66-70.
8. Bulam H, Ayhan S, Yilmaz G, et al. The effect of subcutaneous platelet-rich plasma injection on viability of auricular cartilage grafts. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2015;26(5):1495-1499.
9. Erol OO. Long-term results and refinement of the Turkish delight technique for primary and secondary rhinoplasty: 25 years of experience. *Plastic and reconstructive surgery*. 2016;137(2):423-437.
10. Topkara A, Özkan A, Özcan RH, Öksüz M, Akbulut M. Effect of concentrated growth factor on survival of diced cartilage graft. *Aesthetic Surgery Journal*. 2016;36(10):1176-1187.
11. Tasman A-J. Dorsal augmentation-diced cartilage techniques: the diced cartilage glue graft. *Facial Plastic Surgery*. 2017;33(02):179-188.
12. Motamed S, Torbati PM, Arani HZ, Motabar AR, Zabolian A, Madadi Z. Effects of the human amniotic membrane on the cartilage graft: prognosis and absorption in white rabbits. *World Journal of Plastic Surgery*. 2019;8(2):219.
13. Firat C, Bekircan K, Algan MF. Use of an autologous diced cartilage graft and fat graft combination to improve regeneration in rhinoplasty. *Aesthetic plastic surgery*. 2021:1-12.
14. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006;101(3):e56-e60.
15. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects

- on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006;101(3):299-303.
16. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006;101(3):e37-e44.
  17. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006;101(3):e45-e50.
  18. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006;101(3):e51-e55.
  19. Su CY, Kuo YP, Tseng YH, Su C-H, Burnouf T. In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2009;108(1):56-61.
  20. Jørgensen B, Karlsmark T, Vogensen H, Haase L, Lundquist R. A pilot study to evaluate the safety and clinical performance of Leucopatch, an autologous, additive-free, platelet-rich fibrin for the treatment of recalcitrant chronic wounds. *The international journal of lower extremity wounds*. 2011;10(4):218-223.
  21. Keyhan SO, Hemmat S, Badri AA, Abdeshahzadeh A, Khiabani K. Use of platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in combination with fat graft: which is more effective during facial liposuction? *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2013;71(3):610-621.
  22. Lundquist R, Holmstrøm K, Clausen C, Jørgensen B, Karlsmark T. Characteristics of an autologous leukocyte and platelet-rich fibrin patch intended for the treatment of recalcitrant wounds. *Wound Repair and Regeneration*. 2013;21(1):66-76.
  23. Güler I, Billur D, Aydin S, Kocatürk S. Efficacy of platelet-rich fibrin matrix on viability of diced cartilage grafts in a rabbit model. *The Laryngoscope*. 2015;125(3):E104-E111.
  24. Wong C-C, Ou K-L, Lin Y-H, et al. Platelet-rich fibrin facilitates one-stage cartilage repair by promoting chondrocytes viability, migration, and matrix synthesis. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(2):577.
  25. Junqueira LCU, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. Appleton & Lange; 1995.
  26. Guettler JH, Demetropoulos CK, Yang KH, Jurist KA. Osteochondral defects in the human knee: influence of defect size on cartilage rim stress and load redistribution to surrounding cartilage. *The American journal of sports medicine*. 2004;32(6):1451-1458.
  27. Ross MH, Pawlina W. Histoloji konu anlatımı ve atlas. Çev Ed: Baykal B. 2014;6:784-785.

28. Brodsky B, Eikenberry EF. Determinants of Collagen Fibril Structure. *Biophysical journal*. 1986;49(1):78.
29. Fosang AJ, Beier F. Emerging Frontiers in cartilage and chondrocyte biology. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2011;25(6):751-766.
30. Watanabe H, Yamada Y, Kimata K. Roles of aggrecan, a large chondroitin sulfate proteoglycan, in cartilage structure and function. *The journal of biochemistry*. 1998;124(4):687-693.
31. Chang LR, Marston G, Martin A. Anatomy, Cartilage. *StatPearls*. StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
32. Salter DM. Cartilage. *Current Orthopaedics*. 1998;12(4):251-257.
33. Pawlina W, Ross MH. *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2018.
34. Sheng F, Slate P, Miller T. Augmentation of the Nose. *Daniel RK Ed Rhinoplasty Newport Beach: Little, Brown and Company*. 1993:59-68.
35. Kierszenbaum AL, Tres L. *Histology and Cell Biology: an introduction to pathology E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2015.
36. Gelse K, Mark Kvd, Schneider H. Cartilage regeneration by gene therapy. *Current Gene Therapy*. 2003;3(4):305-317.
37. Afratis N, Gialeli C, Nikitovic D, et al. Glycosaminoglycans: key players in cancer cell biology and treatment. *Febs j*. Apr 2012;279(7):1177-97. doi:10.1111/j.1742-4658.2012.08529.x
38. Raman R, Sasisekharan V, Sasisekharan R. Structural insights into biological roles of protein-glycosaminoglycan interactions. *Chem Biol*. Mar 2005;12(3):267-77. doi:10.1016/j.chembiol.2004.11.020
39. Prydz K. Determinants of Glycosaminoglycan (GAG) Structure. *Biomolecules*. Aug 21 2015;5(3):2003-22. doi:10.3390/biom5032003
40. Sajdera SW, Hascall VC. Proteinpolysaccharide complex from bovine nasal cartilage: A comparison of low and high shear extraction procedures. *Journal of Biological Chemistry*. 1969;244(1):77-87.
41. Hardingham TE, Muir H. The specific interaction of hyaluronic acid with cartilage proteoglycans. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1972;279(2):401-405.
42. Heinegård D, Hascall VC. Aggregation of cartilage proteoglycans: III. Characteristics of the proteins isolated from trypsin digests of aggregates. *Journal of Biological Chemistry*. 1974;249(13):4250-4256.
43. Wight TN, Kinsella MG, Qwarnström EE. The role of proteoglycans in cell adhesion, migration and proliferation. *Current opinion in cell biology*. 1992;4(5):793-801.
44. Kiani C, Chen L, Wu YJ, Yee AJ, Yang BB. Structure and function of aggrecan. *Cell research*. 2002;12(1):19-32.
45. Roughley P, Martens D, Rantakokko J, Alini M, Mwale F, Antoniou J. The involvement of aggrecan polymorphism in degeneration of human intervertebral disc and articular cartilage. *Eur Cell Mater*. 2006;11(1):1-7.
46. Park K-S, Park M-J, Cho M-L, et al. Type II collagen oral tolerance; mechanism and role in collagen-induced arthritis and rheumatoid arthritis. *Modern rheumatology*. 2009;19(6):581-589.

47. Aigner T, Stöve J. Collagens—major component of the physiological cartilage matrix, major target of cartilage degeneration, major tool in cartilage repair. *Advanced drug delivery reviews*. 2003;55(12):1569-1593.
48. Klatt AR, Zech D, Kühn G, et al. Discoidin domain receptor 2 mediates the collagen II-dependent release of interleukin-6 in primary human chondrocytes. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2009;218(2):241-247.
49. Garamszegi N, Garamszegi S, Samavarchi-Tehrani P, et al. Extracellular matrix-induced transforming growth factor- $\beta$  receptor signaling dynamics. *Oncogene*. 2010;29(16):2368-2380.
50. Xin W, Heilig J, Paulsson M, Zaucke F. Collagen II regulates chondrocyte integrin expression profile and differentiation. *Connective Tissue Research*. 2015;56(4):307-314.
51. Van den Berg W. Osteoarthritis year 2010 in review: pathomechanisms. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2011;19(4):338-341.
52. Kumar Srivastava A, Khare P, Kumar Nagar H, Raghuvanshi N, Srivastava R. Hydroxyproline: a potential biochemical marker and its role in the pathogenesis of different diseases. *Current Protein and Peptide Science*. 2016;17(6):596-602.
53. Freeman MAR. *Adult articular cartilage*. Pitman Medical; 1979.
54. Woessner Jr J. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1961;93(2):440-447.
55. Briggs MD, Rasmussen IM, Weber JL, et al. Genetic linkage of mild pseudoachondroplasia (PSACH) to markers in the pericentromeric region of chromosome 19. *Genomics*. 1993;18(3):656-660.
56. Newton G, Weremowicz S, Morton CC, et al. Characterization of human and mouse cartilage oligomeric matrix protein. *Genomics*. 1994;24(3):435-439.
57. Mankin H. Articular cartilage structure, composition, and function. *Orthopaedic basic science: biology and biomechanics of the musculoskeletal system*. 2000:443-470.
58. Poole AR, Kojima T, Yasuda T, Mwale F, Kobayashi M, Lavery S. Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 2001;391:S26-S33.
59. Moreira-Teixeira LS, Georgi N, Leijten J, Wu L, Karperien M. Cartilage tissue engineering. *Cartilage and Bone Development and Its Disorders*. 2011;21:102-115.
60. Haudenschild DR, Hong E, Yik JH, et al. Enhanced activity of transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) bound to cartilage oligomeric matrix protein. *Journal of Biological Chemistry*. 2011;286(50):43250-43258.
61. Roughley PJ, Mort JS. The role of aggrecan in normal and osteoarthritic cartilage. *Journal of experimental orthopaedics*. 2014;1(1):1-11.
62. Acharya C, Yik JH, Kishore A, Van Dinh V, Di Cesare PE, Haudenschild DR. Cartilage oligomeric matrix protein and its binding partners in the cartilage extracellular matrix: interaction, regulation and role in chondrogenesis. *Matrix Biology*. 2014;37:102-111.

63. DiCesare P, Hauser N, Lehman D, Pasumarti S, Paulsson M. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is an abundant component of tendon. *FEBS letters*. 1994;354(2):237-240.
64. Di Cesare PE, Fang C, Leslie MP, Tulli H, Perris R, Carlson CS. Expression of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) by embryonic and adult osteoblasts. *Journal of Orthopaedic Research*. 2000;18(5):713-720.
65. Fuchs E, Weber K. Intermediate filaments: structure, dynamics, function and disease. *Annual review of biochemistry*. 1994;63(1):345-382.
66. Dolman C. Glial fibrillary acidic protein and cartilage. *Acta neuropathologica*. 1989;79(1):101-103.
67. Kasantikul V, Shuangshoti S. Positivity to glial fibrillary acidic protein in bone, cartilage, and chordoma. *Journal of surgical oncology*. 1989;41(1):22-26.
68. Moore K, Persaud T. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi (2. Baskı). *H Dalçık, M Yıldırım (Çev) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri*. 2009;
69. Alberts B, Bray D, Hopkin K, et al. *Essential cell biology*. Garland Science; 2015.
70. Caplan AI, Elyaderani M, Mochizuki Y, Wakitani S, Goldberg VM. Overview: Principles of cartilage repair and regeneration. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 1997;342:254.
71. Mandelbaum BR, Browne JE, Fu F, et al. Articular cartilage lesions of the knee. *The American journal of sports medicine*. 1998;26(6):853-861.
72. Årøen A, Løken S, Heir S, et al. Articular cartilage lesions in 993 consecutive knee arthroscopies. *The American journal of sports medicine*. 2004;32(1):211-215.
73. Widuchowski W, Lukasik P, Kwiatkowski G, et al. Isolated full thickness chondral injuries. Prevalance and outcome of treatment. A retrospective study of 5233 knee arthroscopies. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*. 2008;75(5):382-386.
74. Kridel RW, Foda H, Lunde KC. Septal perforation repair with acellular human dermal allograft. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 1998;124(1):73-78.
75. Gryskiewicz JM, Rohrich RJ, Reagan BJ. The use of AlloDerm for the correction of nasal contour deformities. *Plastic and reconstructive surgery*. 2001;107(2):561-570.
76. Jackson I, Yavuzer R. AlloDerm for dorsal nasal irregularities. *Plastic and reconstructive surgery*. 2001;107(2):553-558.
77. Tohin H, Karas N. Lip augmentation using an alloderm graft. *J Oral Maxillofac Surg*. 1998;56:722-727.
78. Lohmann C, Schwartz Z, Niederauer G, Boyan B. Degree of differentiation of chondrocytes and their pretreatment with platelet-derived-growth factor. Regulating induction of cartilage formation in resorbable tissue carriers in vivo. *Der Orthopade*. 2000;29(2):120-128.
79. Gryskiewicz JM. Waste not, want not: the use of AlloDerm in secondary rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 2005;116(7):1999-2004.

80. Livesey SA, Herndon DN, Hollyoak MA, Atkinson YH, Nag A. Transplanted acellular allograft dermal matrix. Potential as a template for the reconstruction of viable dermis. *Transplantation*. 1995;60(1):1-9.
81. Mühlbauer WD, Doz US-T, Glaser M. Long-term behaviour of preserved homologous rib cartilage in the correction of saddle nose deformity. *British Journal of Plastic Surgery*. 1971;24:325-333.
82. Krause CJ. Augmentation rhinoplasty. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 1975;8(3):743-752.
83. Welling DB, Maves MD, Schuller DE, Bardach J. Irradiated homologous cartilage grafts: Long-term results. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1988;114(3):291-295.
84. Lefkovits G. Irradiated homologous costal cartilage for augmentation rhinoplasty. *Annals of plastic surgery*. 1990;25(4):317-327.
85. Kridel RW, Konior RJ. Irradiated cartilage grafts in the nose: a preliminary report. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1993;119(1):24-31.
86. Rohrich RJ, Ranieri Jr J, Ha RY. The alar contour graft: correction and prevention of alar rim deformities in rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 2002;109(7):2495-2505.
87. Strauch B, Wallach SG. Reconstruction with irradiated homograft costal cartilage. *Plastic and reconstructive surgery*. 2003;111(7):2405-2411.
88. Donald PJ. Cartilage grafting in facial reconstruction with special consideration of irradiated grafts. *The Laryngoscope*. 1986;96(7):786-807.
89. Burke AJ, Wang TD, Cook TA. Irradiated homograft rib cartilage in facial reconstruction. *Archives of Facial Plastic Surgery*. 2004;
90. Donald PJ, Deckard-Janatpour K, Sharkey N, Lagunas-Solar M. The effects of irradiation dose on the stiffness of cartilage grafts. *Annals of plastic surgery*. 1996;36(3):297-303.
91. Mohan R, Krishnan RRS, Rohrich RJ. Role of fresh frozen cartilage in revision rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 2019;144(3):614-622.
92. Staffel G, Shockley W. Nasal implants. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 1995;28(2):295-308.
93. Costantino PD, Friedman CD, Lane A. Synthetic biomaterials in facial plastic and reconstructive surgery. *Facial Plastic Surgery*. 1993;9(01):1-15.
94. Costantino PD. Synthetic biomaterials for soft-tissue augmentation and replacement in the head and neck. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 1994;27(1):223-262.
95. Lupton JR, Alster TS. Cutaneous hypersensitivity reaction to injectable hyaluronic acid gel. *Dermatologic surgery*. 2000;26(2):135-137.
96. Toriumi DM. Autogenous grafts are worth the extra time. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 2000;126(4):562-564.
97. Lovice DB, Mingrone MD, Toriumi DM. Grafts and implants in rhinoplasty and nasal reconstruction. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 1999;32(1):113-141.
98. Braley SA. The use of silicones in plastic surgery: A retrospective view. *Plastic and reconstructive surgery*. 1973;51(3):280-288.

99. Maas CS, Monhian N, Shah SB. Implants in rhinoplasty. *Facial plastic surgery*. 1997;13(04):279-290.
100. Maas C, Denton A. Synthetic soft tissue substitutes: 2001. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. 2001;9(2):219-27, viii.
101. Silver F, Maas C. Biology of synthetic facial implant materials. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 1994;2(3):241-253.
102. Niechajev I. Porous polyethylene implants for nasal reconstruction: clinical and histologic studies. *Aesthetic plastic surgery*. 1999;23(6):395-402.
103. Shirakabe Y, Shirakabe T, Takayanagi S. A new type of prosthesis for augmentation rhinoplasty: our experience in 1600 cases. *British Journal of Plastic Surgery*. 1981;34(3):353-357.
104. Shirakabe Y, Shirakabe T, Kishimoto T. The classification of complications after augmentation rhinoplasty. *Aesthetic plastic surgery*. 1985;9:185-192.
105. Peled IJ, Wexler MR, Ticher S, Lax EE. Mandibular resorption from silicone chin implants in children. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 1986;44(5):346-348.
106. Davis P, Jones S. The complications of silastic implants: Experience with 137 consecutive cases. *British Journal of Plastic Surgery*. 1971;24:405-411.
107. Hegggers JP, Kossovsky N, Parsons RW, Robson MC, Pelley RP, Raine TJ. Biocompatibility of silicone implants. *Annals of plastic surgery*. 1983;11(1):38-45.
108. Pak MW, Chan ESY, van Hasselt CA. Late complications of nasal augmentation using silicone implants. *The Journal of Laryngology & Otolaryngology*. 1998;112(11):1074-1077.
109. Vuyk H, Adamson P. Biomaterials in rhinoplasty. *Clinical otolaryngology and allied sciences*. 1998;23(3):209-217.
110. Beekhuis GJ. Use of silicone-rubber in nasal reconstructive surgery. *Archives of Otolaryngology*. 1967;86(1):88-91.
111. Milward T. The fate of Silastic and Vitratene nasal implants. *British Journal of Plastic Surgery*. 1972;25:276-278.
112. Mutou Y. The complications of augmentation rhinoplasty in Orientals. *British Journal of Plastic Surgery*. 1975;28(3):160-163.
113. Mackay I, Bull T. The fate of silastic in the management of saddle deformity in the nose. *The Journal of Laryngology & Otolaryngology*. 1983;97(1):43-47.
114. Straith RE. Five long-term case reports (average 15 years) of saddlenose correction using cast Silastic implants. *Plastic and reconstructive surgery*. 1991;88(6):1064-1075.
115. McCurdy Jr JA. The Asian nose: augmentation rhinoplasty with L-shaped silicone implants. *Facial plastic surgery*. 2002;18(04):245-252.
116. Hiraga Y. Complications of augmentation rhinoplasty in the Japanese. *Annals of Plastic Surgery*. 1980;4(6):495-499.
117. Wang J. A new pattern of silastic prosthesis for augmentation rhinoplasty. *Zhonghua zheng xing shao shang wai ke za zhi= Zhonghua zheng xing shao shang waikf [ie waike] zazhi= Chinese journal of plastic surgery and burns*. 1987;3(4):284-320.

118. Deva A, Merten S, Chang L. Silicone in nasal augmentation rhinoplasty: a decade of clinical experience. *Plastic and reconstructive surgery*. 1998;102(4):1230-1237.
119. Shanbhag A, Friedman H, Augustine J, Von Recum A. Evaluation of porous polyethylene for external ear reconstruction. *Annals of plastic surgery*. 1990;24(1):32-39.
120. Kridel R, Kraus W. Grafts and implants in revision rhinoplasty. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. 1995;3:473-486.
121. Sclafani AP, Thomas JR, Cox AJ, Cooper MH. Clinical and histologic response of subcutaneous expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex) and porous high-density polyethylene (Medpor) implants to acute and early infection. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1997;123(3):328-336.
122. Frodel JL, Lee S. The use of high-density polyethylene implants in facial deformities. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1998;124(11):1219-1223.
123. Romo T, Sclafani AP, Sabini P. Reconstruction of the major saddle nose deformity using composite allo-implants. *Facial plastic surgery*. 1998;14(02):151-157.
124. Romo III T, Sclafani AP, Jacono AA. Nasal reconstruction using porous polyethylene implants. *Facial plastic surgery*. 2000;16(01):55-62.
125. Neel HB. Implants of Gore-Tex: comparisons with Teflon-coated polytetrafluoroethylene carbon and porous polyethylene implants. *Archives of Otolaryngology*. 1983;109(7):427-433.
126. Godin MS, Waldman SR, Johnson CM. The use of expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex) in rhinoplasty: a 6-year experience. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1995;121(10):1131-1136.
127. Ham J, Miller PJ. Expanded polytetrafluoroethylene implants in rhinoplasty: literature review, operative techniques, and outcome. *Facial plastic surgery*. 2003;19(04):331-340.
128. Konior RJ. Facial paralysis reconstruction with Gore-Tex soft-tissue patch. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1992;118(11):1188-1194.
129. Petroff MA, Goode RL, Levet Y. Gore-Tex® implants: Applications in facial paralysis rehabilitation and soft-tissue augmentation. *The Laryngoscope*. 1992;102(10):1185-1189.
130. Berman M, Pearce WJ, Tinnin M. The use of gore-tex® E-ptfe bonded to silicone rubber as an alloplastic implant material. *The Laryngoscope*. 1986;96(5):480-483.
131. Rothstein S. The use of Gore-Tex implants in nasal augmentation operations. *Entechnology*. 1989;40:44-45.
132. Waldman SR. Gore-Tex for augmentation of the nasal dorsum: a preliminary report. *Annals of plastic surgery*. 1991;26(6):520-525.
133. Mole B. The use of Gore-Tex implants in aesthetic surgery of the face. *Plastic and reconstructive surgery*. 1992;90(2):200-206.
134. Owsley TG, Taylor CO. The use of Gore-Tex for nasal augmentation: a retrospective analysis of 106 patients. *Plastic and reconstructive surgery*. 1994;94(2):241-242.

135. Conrad K, Gillman G. A 6-year experience with the use of expanded polytetrafluoroethylene in rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 1998;101(6):1675-1683.
136. Godin MS, Waldman SR, Johnson Jr CM. Nasal augmentation using Gore-Tex. *Archives of facial plastic surgery*. 1999;
137. Stoll W. The use of polytetrafluoroethylene for particular augmentation of the nasal dorsum. *Aesthetic plastic surgery*. 1991;15:233-236.
138. Mendelsohn M, Dunlop G. Gore-tex augmentation grafting in rhinoplasty--is it safe? *Journal of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1998;27(6):337.
139. Hobar PC, Pantaloni M, Byrd HS. Porous hydroxyapatite granules for alloplastic enhancement of the facial region. *Clinics in plastic surgery*. 2000;27(4):557-569.
140. Artzi Z, Nemcovsky CE, Dayan D. Nonceramic hydroxyapatite bone derivative in sinus augmentation procedures: clinical and histomorphometric observations in 10 consecutive cases. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 2003;23(4):381-390.
141. Browaeys H, Bouvry P, De Bruyn H. A literature review on biomaterials in sinus augmentation procedures. *Clinical implant dentistry and related research*. 2007;9(3):166-177.
142. Kanchwala SK, Holloway L, Bucky LP. Reliable soft tissue augmentation: a clinical comparison of injectable soft-tissue fillers for facial-volume augmentation. *Annals of plastic surgery*. 2005;55(1):30-35.
143. Daniel RK. Rhinoplasty: dorsal grafts and the designer dorsum. *Clinics in plastic surgery*. 2010;37(2):293-300.
144. Daniel RK, Sajadian A. Secondary rhinoplasty: management of the overresected dorsum. *Facial plastic surgery*. 2012;28(04):417-426.
145. Malone M, Pearlman S. Dorsal augmentation in rhinoplasty: a survey and review. *Facial Plastic Surgery*. 2015;31(03):289-294.
146. Sajjadian A, Naghshineh N, Rubinstein R. Current status of grafts and implants in rhinoplasty: Part II. Homologous grafts and allogenic implants. *Plastic and reconstructive surgery*. 2010;125(3):99e-109e.
147. Sajjadian A, Rubinstein R, Naghshineh N. Current status of grafts and implants in rhinoplasty: part I. Autologous grafts. *Plastic and reconstructive surgery*. 2010;125(2):40e-49e.
148. Lee MR, Unger JG, Rohrich RJ. Management of the nasal dorsum in rhinoplasty: a systematic review of the literature regarding technique, outcomes, and complications. *Plastic and reconstructive surgery*. 2011;128(5):538e-550e.
149. Robotti E, Leone F. The SPF-SPLF graft: building the ideal dorsum in revision rhinoplasty. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2020;145(6):1420-1424.
150. Romo T, Shapiro AL. Aesthetic reconstruction of the platyrrhine nose. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1992;118(8):837-841.
151. Cárdenas JC, Carvajal J. Refinement of rhinoplasty with lipoinjection. *Aesthetic plastic surgery*. 2007;31:501-505.

152. Toriumi DM. Dorsal augmentation using autologous costal cartilage or microfat-infused soft tissue augmentation. *Facial Plastic Surgery*. 2017;33(02):162-178.
153. Guerrerosantos J. Temporoparietal free fascia grafts in rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 1984;74(4):465-474.
154. Miller TA. Temporalis fascia grafts for facial and nasal contour augmentation. *Plastic and reconstructive surgery*. 1988;81(4):524-533.
155. Guerrerosantos J. Nose and paranasal augmentation: autogenous, fascia, and cartilage. *Clinics in plastic surgery*. 1991;18(1):65-86.
156. Erdogan B, Tuncel A, Adanali G, Deren O, Ayhan M. Augmentation rhinoplasty with dermal graft and review of the literature. *Plastic and reconstructive surgery*. 2003;111(6):2060-2068.
157. Leaf N. SMAS autografts for the nasal dorsum. *Plastic and reconstructive surgery*. 1996;97(6):1249-1252.
158. Baker TM, Courtiss EH. Temporalis fascia grafts in open secondary rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 1994;93(4):802-810.
159. Reich J. The application of dermis grafts in deformities of the nose. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1983;71(6):772-781.
160. Bruning P. Cited by Broeckaert TJ, Contribution a l'etude des greffes adipeuses. *Bull Acad Roy Med Belgique*. 1914;28:440.
161. Kononas TC, Bucky LP, Hurley C, May Jr JW. The fate of suctioned and surgically removed fat after reimplantation for soft-tissue augmentation: a volumetric and histologic study in the rabbit. *Plastic and reconstructive surgery*. 1993;91(5):763-768.
162. Citardi MJ, Friedman CD. Nonvascularized autogenous bone grafts for craniofacial skeletal augmentation and replacement. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 1994;27(5):891-910.
163. Thomassin J-M, Paris J, Richard-Vitton T. Management and aesthetic results of support grafts in saddle nose surgery. *Aesthetic plastic surgery*. 2001;25:332-337.
164. Dresner HS, Hilger PA. An overview of nasal dorsal augmentation. © Thieme Medical Publishers; 2008:065-073.
165. Tessier P. Autogenous bone grafts taken from the calvarium for facial and cranial applications. *Clinics in plastic surgery*. 1982;9(4):531-538.
166. Romo III T, Jablonski RD. Nasal reconstruction using split calvarial grafts. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 1992;107(5):622-630.
167. Jackson IT. Long-term follow-up of cranial bone graft and dorsal nasal augmentation. *Plastic and reconstructive surgery*. 1999;104(3):882.
168. Parsa FD. Nasal augmentation with split calvarial grafts in Orientals. *Plastic and reconstructive surgery*. 1991;87(2):245-253.
169. Cheney ML, Gliklich RE. The use of calvarial bone in nasal reconstruction. *Archives of Otolaryngology—Head & Neck Surgery*. 1995;121(6):643-648.
170. Sherris DA, Kern EB. The versatile autogenous rib graft in septorhinoplasty. *American Journal of Rhinology*. 1998;12(3):221-228.
171. Goodman W, Gilbert R. Augmentation in rhinoplasty--a personal view. *The Journal of Otolaryngology*. 1985;14(2):107-112.

172. Gurlek A, Askar I, Bilen BT, Aydogan H, Fariz A, Alaybeyoglu N. The use of lower turbinate bone grafts in the treatment of saddle nose deformities. *Aesthetic plastic surgery*. 2002;26:407-412.
173. Celik M, Haliloğlu T, Bayçın N. Bone chips and diced cartilage: an anatomically adopted graft for the nasal dorsum. *Aesthetic plastic surgery*. 2004;28:8-12.
174. Hodgkinson DJ. The Eurasian nose: aesthetic principles and techniques for augmentation of the Asian nose with autogenous grafting. *Aesthetic plastic surgery*. 2007;31:28-31.
175. Emsen IM, Benlier E. Autogenous calvarial bone graft versus reconstruction with alloplastic material in treatment of saddle nose deformities: a two-center comparative study. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2008;19(2):466-475.
176. García-Díez E, Guisantes E, Fontdevila J, Raigosa M, Serra-Renom J. Cortical tibial bone graft for nasal augmentation: donor site short scar. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery*. 2009;62(6):747-754.
177. Sadooghi M, Kouhi A. Mastoid bone as a new graft material in rhinoplasty. *American Journal of Rhinology & Allergy*. 2009;23(6):e42-e46.
178. Goodale J. A Case of Nasal Deformity from a Median Furrow, Corrected by Subcutaneous Implantation of a Portion of the Septal Cartilage. *The Boston Medical and Surgical Journal*. 1901;145(4):93-93.
179. Young F. Autogenous cartilage grafts. *Surgery*. 1941;10:7.
180. Peer LA. Diced cartilage grafts: new method for repair of skull defects, mastoid fistula and other deformities. *Archives of Otolaryngology*. 1943;38(2):156-165.
181. Zalzal GH, Cotton RT, McAdams AJ. Cartilage grafts—present status. *Head & neck surgery*. 1986;8(5):363-374.
182. Peer LA. Reconstruction of the auricle with diced cartilage grafts in a vitallium ear mold. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1948;3(6):653-666.
183. Wilflingseder P. Cranioplasties by means of diced cartilage and split rib grafts. *Minerva chirurgica*. 1983;38(12):837-843.
184. MH C. Nasal surgery in children. *Eye, Ear, Nose & Throat Monthly*. 1951;30(1):32-38.
185. Erol OO. Chopped cartilage graft wrapped with Surgicel in nose surgery (plasticine-like graft). 1992:195-195.
186. Erol Ö. New approach in secondary rhinoplasty for short nose immediate expansion and cartilage graft. 1993:
187. Erol ÖO. The Turkish delight: a pliable graft for rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 2000;105(6):2229-2241.
188. Chua DYK, Park SS. Posttraumatic nasal deformities: Correcting the crooked and saddle nose. *Facial Plastic Surgery*. 2015;31(03):259-269.
189. Ortiz-Monasterio F, Olmedo A, Osoy LO. The use of cartilage grafts in primary aesthetic rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 1981;67(5):597-605.
190. Bateman N, Jones N. Retrospective review of augmentation rhinoplasties using autologous cartilage grafts. *The Journal of Laryngology & Otology*. 2000;114(7):514-518.

191. Tardy Jr ME, Denny III J, Fritsch MH. The versatile cartilage autograft in reconstruction of the nose and face. *The Laryngoscope*. 1985;95(5):523-533.
192. Allcroft RA, Friedman CD, Quatela VC. Cartilage grafts for head and neck augmentation and reconstruction. Autografts and homografts. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 1994;27(1):69-80.
193. Murrell GL. Auricular cartilage grafts and nasal surgery. *The Laryngoscope*. 2004;114(12):2092-2102.
194. Gruber RP, Pardun J, Wall S. Grafting the nasal dorsum with tandem ear cartilage. *Plastic and reconstructive surgery*. 2003;112(4):1110-1122.
195. Porter JP. Grafts in rhinoplasty: alloplastic vs autogenous. *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*. 2000;126(4):558-561.
196. Kim JH, Jang YJ. Use of diced conchal cartilage with perichondrial attachment in rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 2015;135(6):1545-1553.
197. Gunter JP, Cochran CS, Marin VP. Dorsal augmentation with autogenous rib cartilage. © Thieme Medical Publishers; 2008:074-089.
198. Robotti E, Penna WB. Current practical concepts for using rib in secondary rhinoplasty. *Facial Plastic Surgery*. 2019;35(01):031-046.
199. Gunter JP, Friedman RM. Lateral crural strut graft: technique and clinical applications in rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 1997;99(4):943-952.
200. Brent B. The versatile cartilage autograft: current trends in clinical transplantation. *Clinics in Plastic Surgery*. 1979;6(2):163-180.
201. Agaoglu G, Erol OO. In situ split costal cartilage graft harvesting through a small incision using a gouge. *Plastic and reconstructive surgery*. 2000;106(4):932-935.
202. Gibson T, Davis WB. The distortion of autogenous cartilage grafts: its cause and prevention. *British Journal of Plastic Surgery*. 1957;10:257-274.
203. Taştan E, Yırcel İT, Aydın E, Aydoğan F, Beriat K, Ulusoy MG. The oblique split method: a novel technique for carving costal cartilage grafts. *JAMA facial plastic surgery*. 2013;15(3):198-203.
204. Mowlem R. Bone and cartilage transplants their use and behaviour. *British Journal of surgery*. 1941;29(114):182-193.
205. Harris S, Pan Y, Peterson R, Stal S, Spira M. Cartilage warping: an experimental model. *Plastic and reconstructive surgery*. 1993;92(5):912-915.
206. Adams Jr WP, Rohrich RJ, Gunter JP, Clark CP, Robinson Jr JB. The rate of warping in irradiated and nonirradiated homograft rib cartilage: a controlled comparison and clinical implications. *Plastic and reconstructive surgery*. 1999;103(1):265-270.
207. Sarifakioglu N, Cigsar B, Aslan G. K-wire: A simple and safe method for internal stabilization of costal cartilage in L-strut grafts. *Annals of plastic surgery*. 2002;49(4):444.
208. Guyuron B, Afrooz PN. Correction of cocaine-related nasal defects. *Plastic and reconstructive surgery*. 2008;121(3):1015-1023.
209. Eren F, Öksüz S, Melikoğlu C, Karagöz H, Ülkür E. Saddle-nose deformity repair with microplate-adapted costal cartilage. *Aesthetic plastic surgery*. 2014;38:733-741.

210. Ohara K, Nakamura K, Ohta E. Chest wall deformities and thoracic scoliosis after costal cartilage graft harvesting. *Plastic and reconstructive surgery*. 1997;99(4):1030-1036.
211. Clark JM, Cook TA. Immediate reconstruction of extruded alloplastic nasal implants with irradiated homograft costal cartilage. *The laryngoscope*. 2002;112(6):968-974.
212. Halepas S, Lee KC, Castiglione C, Ferneini EM. Grafting in modern rhinoplasty. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics*. 2021;33(1):61-69.
213. Özkan A, Topkara A, Akbulut M, Özcan RH. Survival of Minced Cartilage Grafts with Comparison Surgicel® Original and Fibrillar. *Aesthetic plastic surgery*. 2016;40:602-612.
214. Boccieri A, Marianetti TM, Pascali M. Crushed cartilage: a rescue procedure in rhinoplasty. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2018;29(3):614-617.
215. Ledo TO, Ramos HHA, Buba CM, et al. Outcome of free diced cartilage grafts in rhinoplasty: a systematic review. *Facial Plastic Surgery*. 2021;37(01):117-121.
216. Yoo SH, Jang YJ. Rib cartilage in Asian rhinoplasty: new trends. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*. 2019;27(4):261-266.
217. Jang YJ. Dorsal augmentation using costal cartilage: what is the best way? *Clinical and experimental otorhinolaryngology*. 2019;12(4):327-328.
218. Daniel RK, Calvert JW. Diced cartilage grafts in rhinoplasty surgery. *Plast Reconstr Surg*. Jun 2004; 113(7):2156-71. doi:10.1097/01.prs.0000122544.87086.b9
219. Yılmaz S. Diced cartilage grafts in rhinoplasty. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2005;116(2):678.
220. Cakmak O, Buyuklu F. Crushed cartilage grafts for concealing irregularities in rhinoplasty. *Arch Facial Plast Surg*. Sep-Oct 2007;9(5):352-7. doi:10.1001/archfaci.9.5.352
221. Dohan DM, Choukroun J. PRP, cPRP, PRF, PRG, PRGF, FC... How to find your way in the jungle of platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2007;103(3):305-306.
222. Junior JAY, Dos Santos JBG, Xavier BR, Fernandes M, Valente SG, Leite VM. Quantification of platelets obtained by different centrifugation protocols in SHR rats. *Revista Brasileira de Ortopedia (English Edition)*. 2015;50(6):729-738.
223. Broos K, Feys HB, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Platelets at work in primary hemostasis. *Blood reviews*. 2011;25(4):155-167.
224. Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2005;16(6):1043-1054.
225. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plastic and reconstructive surgery*. 2006;118(6):147e-159e.
226. Reed GL, Fitzgerald ML, Polgár J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the "secrete" life of thrombocytes. *BLOOD-NEW YORK*. 2000;96(10):3334-3342.

227. Davidovitch Ze, Murphy N, Kishnan V, Davidovitch Z. The adaptation and development of biological concepts in orthodontics. *Biological Mechanisms of Tooth Movement Wiley-Blackwell, Oxford, UK*. 2009:1-18.
228. Kosaki G. In vivo platelet production from mature megakaryocytes: does platelet release occur via proplatelets? *International journal of hematology*. 2005;81:208-219.
229. Jedlitschky G, Greinacher A, Kroemer HK. Transporters in human platelets: physiologic function and impact for pharmacotherapy. *Blood*. Apr 12 2012;119(15):3394-402. doi:10.1182/blood-2011-09-336933
230. Wasterlain AS, Braun HJ, Dragoo JL. Contents and formulations of platelet rich plasma. *Platelet Rich Plasma in musculoskeletal practice*. 2016:1-29.
231. Leitner G, Gruber R, Neumüller J, et al. Platelet content and growth factor release in platelet-rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox sanguinis*. 2006;91(2):135-139.
232. Mazzucco L, Balbo V, Cattana E, Borzini P. Platelet-rich plasma and platelet gel preparation using Plateltex®. *Vox sanguinis*. 2008;94(3):202-208.
233. Cieslik-Bielecka A, Gazdzik TS, Bielecki TM, Cieslik T. Why the platelet-rich gel has antimicrobial activity? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. 2007;3(103):303-305.
234. Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound repair and regeneration*. 2009;17(2):153-162.
235. Ehrenfest DMD, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte M-P, Charrier J-B. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2009;108(3):341-352.
236. Bielecki T, M Dohan Ehrenfest D, A Everts P, Wiczkowski A. The role of leukocytes from L-PRP/L-PRF in wound healing and immune defense: new perspectives. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2012;13(7):1153-1162.
237. Ehrenfest DMD, Andia I, Zumstein MA, Zhang C-Q, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, ligaments and tendons journal*. 2014;4(1):3.
238. Miron RJ, Choukroun J. *Platelet rich fibrin in regenerative dentistry: biological background and clinical indications*. John Wiley & Sons; 2017.
239. Marx RE. Platelet-rich plasma: a source of multiple autologous growth factors for bone grafts. *Tissue engineering*. 1999;
240. Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2003;18(1)
241. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor  $\beta$  in tissue fibrosis. *New England journal of medicine*. 1994;331(19):1286-1292.

242. Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, et al. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials*. 2003;24(18):3095-3100.
243. Yu J-H, Ustach C, ChoiKim H-R. Platelet-derived growth factor signaling and human cancer. *Bmb Reports*. 2003;36(1):49-59.
244. Martande SS, Kumari M, Pradeep A, Singh SP, Suke DK, Guruprasad C. Platelet-rich fibrin combined with 1.2% atorvastatin for treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *Journal of periodontology*. 2016;87(9):1039-1046.
245. Lindahl P, Johansson BR, Leveen P, Betsholtz C. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. *Science*. 1997;277(5323):242-245.
246. Rosenkranz S, Kazlauskas A. Evidence for distinct signaling properties and biological responses induced by the PDGF receptor  $\alpha$  and  $\beta$  subtypes. *Growth Factors*. 1999;16(3):201-216.
247. Ray AK, Jones AC, Carnes DL, Cochran DL, Mellonig JT, Oates Jr TW. Platelet-derived growth factor-BB stimulated cell migration mediated through p38 signal transduction pathway in periodontal cells. *Journal of periodontology*. 2003;74(9):1320-1328.
248. Rhee S, Grinnell F. P21-activated kinase 1: convergence point in PDGF-and LPA-stimulated collagen matrix contraction by human fibroblasts. *The Journal of cell biology*. 2006;172(3):423-432.
249. Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Repair and Regeneration*. 1996;4(4):411-420.
250. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*. 2008;16(5):585-601.
251. Miyazono K, Olofsson A, Colosetti P, Heldin C-H. A role of the latent TGF-beta 1-binding protein in the assembly and secretion of TGF-beta 1. *The EMBO journal*. 1991;10(5):1091-1101.
252. Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in wound healing. *Clinics in dermatology*. 1994;12(1):157-169.
253. Robson MC. The role of growth factors in the healing of chronic wounds. *Wound repair and regeneration*. 1997;5(1):12-17.
254. Marx R. *Dental& Craniofacial Applications Of Platelet-Rich Plasma*. Quintessence books; 2005.
255. Riedel K, Riedel F, Goessler UR, Germann G, Sauerbier M. TGF- $\beta$  antisense therapy increases angiogenic potential in human keratinocytes in vitro\*. *Archives of medical research*. 2007;38(1):45-51.
256. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone: biology and clinical applications. *JBJS*. 2002;84(6):1032-1044.
257. Schliephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2002;31(5):469-484.
258. Robak E, Sysa-Jędrzejewska A, Robak T. Vascular endothelial growth factor and its soluble receptors VEGFR-1 and VEGFR-2 in the serum of patients

- with systemic lupus erythematosus. *Mediators of inflammation*. 2003;12(5):293-298.
259. Ruiz de Almodovar C, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. *Physiological reviews*. 2009;89(2):607-648.
  260. Harry LE, Paleolog EM. From the cradle to the clinic: VEGF in developmental, physiological, and pathological angiogenesis. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*. 2003;69(4):363-374.
  261. Ruhrberg C. Growing and shaping the vascular tree: multiple roles for VEGF. *Bioessays*. 2003;25(11):1052-1060.
  262. Mackenzie F, Ruhrberg C. Diverse roles for VEGF-A in the nervous system. *Development*. 2012;139(8):1371-1380.
  263. Keleş M, Türkel M. İnsülin benzeri büyüme faktörü sistemi ve kanser. *Tip Araştırmaları Dergisi*. 2005;3(2):39-43.
  264. Miyao M, Hosoi T, Inoue S, et al. Polymorphism of insulin-like growth factor I gene and bone mineral density. *Calcified tissue international*. 1998;63:306-311.
  265. Hsu C, Chang J. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. *The Journal of hand surgery*. 2004;29(4):551-563.
  266. Dereka X, Markopoulou C, Vrotsos I. Role of growth factors on periodontal repair. *Growth Factors*. 2006;24(4):260-267.
  267. Winkler R, Pasleau F, Boussif N, Hodzic D. The IGF system: summary and recent data. *Revue medicale de Liege*. 2000;55(7):725-739.
  268. Owino V, Yang SY, Goldspink G. Age-related loss of skeletal muscle function and the inability to express the autocrine form of insulin-like growth factor-1 (MGF) in response to mechanical overload. *FEBS letters*. 2001;505(2):259-263.
  269. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *Journal of Biological chemistry*. 1962;237(5):1555-1562.
  270. Kajikawa K, Yasui W, Sumiyoshi H, et al. Expression of epidermal growth factor in human tissues: immunohistochemical and biochemical analysis. *Virchows Archiv A*. 1991;418:27-32.
  271. Konturek JW, Brzozowski T, Konturek SJ. Epidermal growth factor in protection, repair, and healing of gastroduodenal mucosa. *Journal of clinical gastroenterology*. 1991;13:S88-97.
  272. Marti U, Burwen SJ, Jones AL. Biological effects of epidermal growth factor, with emphasis on the gastrointestinal tract and liver: an update. *Hepatology*. 1989;9(1):126-138.
  273. Malcherek P, Schultz G, Wingren U, Franzén L. Formation of healing tissue and angiogenesis in repair of connective tissue stimulated by epidermal growth factor. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery*. 1994;28(1):1-7.
  274. Aral İL, Güngör N, Oygür T, Cinel L. Epidermal Büyüme Faktörünün (EGF) Deri Allogreftleri Üzerine Olan Etkilerinin Histopatolojik olarak

- Araştırılması. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 1995;12(1):47-53.
275. Babül A, Gönül B, Özoğul C, et al. 'EGF accelerates mice skin wound healing. 1996:9-11.
  276. Cribbs R, Luquette M, Besner GE. Acceleration of partial-thickness burn wound healing with topical application of heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF). *The Journal of burn care & rehabilitation*. 1998;19(2):95-101.
  277. Su Z, Ma H, Wu Z, et al. Enhancement of skin wound healing with decellularized scaffolds loaded with hyaluronic acid and epidermal growth factor. *Materials Science and Engineering: C*. 2014;44:440-448.
  278. Noronha I, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1995;10(6):775-786.
  279. Gaur U, Aggarwal BB. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochemical pharmacology*. 2003;66(8):1403-1408.
  280. Dinarello CA. Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Current opinion in pharmacology*. 2004;4(4):378-385.
  281. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends in cell biology*. 2001;11(9):372-377.
  282. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2014;6(10):a016295.
  283. Flick MJ, Du X, Degen JL. Fibrin (ogen)- $\alpha$ M $\beta$ 2 interactions regulate leukocyte function and innate immunity in vivo. *Experimental biology and medicine*. 2004;229(11):1105-1110.
  284. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. A second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101:299-303.
  285. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *Journal of periodontology*. 2010;81(4):546-555.
  286. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 1997;55(11):1294-1299.
  287. Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001;936(1):11-30.
  288. van HINSBERGH VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001;936(1):426-437.
  289. Laurens N, Koolwijk Pd, De Maat M. Fibrin structure and wound healing. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2006;4(5):932-939.

290. Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in biotechnology*. 2009;27(3):158-167.
291. Ivanovic A, Nikou G, Miron RJ, Nikolidakis D, Sculean A. Which biomaterials may promote periodontal regeneration in intrabony periodontal defects? A systematic review of preclinical studies. *Quintessence international*. 2014;45(5)
292. KASNAK G. Trombositten Zengin Fibrinlerin Yarımları ve Biyolojik Durumları. *Turkiye Klinikleri J Periodontol-Special Topics*. 2017;3(3):169-72.
293. Demling RH. The role of anabolic hormones for wound healing in catabolic states. *Journal of burns and wounds*. 2005;4
294. Kasnak G, Tunalı M, Fıratlı H. Geçmişten günümüze kan kaynaklı ürünler ve trombositten zengin fibrinler. *Turkiye Klinikleri J Periodontol-Special Topics*. 2017;3(3):109-12.
295. Choukroun J, Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *European journal of trauma and emergency surgery*. 2018;44:87-95.
296. Kingsley C. Blood coagulation: evidence of an antagonist to factor VI in platelet-rich human plasma. *Nature*. 1954;173:723-724.
297. Jalowiec JM, D'Este M, Bara JJ, et al. An in vitro investigation of platelet-rich plasma-gel as a cell and growth factor delivery vehicle for tissue engineering. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2016;22(1):49-58.
298. Agrawal AA. Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. *World journal of clinical cases*. 2017;5(5):159.
299. Özkaynak C. *Deneyisel Olarak Diabet Oluşturulmuş Tavşanlarda Trombositten Zengin Plazma (TZP) Uygulamasının Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisinin Histolojik Olarak İncelenmesi*. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene ...; 2007.
300. Alsousou J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2009;91(8):987-996.
301. Alves R, Grimalt R. A review of platelet-rich plasma: history, biology, mechanism of action, and classification. *Skin appendage disorders*. 2018;4(1):18-24.
302. Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(20):7794.
303. Arshad S, Tehreem F, Ahmed F, Marya A, Karobari MI. Platelet-rich fibrin used in regenerative endodontics and dentistry: current uses, limitations, and future recommendations for application. *International journal of dentistry*. 2021;2021

304. Textor J. Platelet-rich plasma (PRP) as a therapeutic agent: platelet biology, growth factors and a review of the literature. *Platelet-Rich Plasma: Regenerative Medicine: Sports Medicine, Orthopedic, and Recovery of Musculoskeletal Injuries*. 2013;61-94.
305. M Dohan Ehrenfest D, Bielecki T, Mishra A, et al. In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2012;13(7):1131-1137.
306. Freire MO, Van Dyke TE. Natural resolution of inflammation. *Periodontology 2000*. 2013;63(1):149-164.
307. Borzini P, Balbo V, Mazzucco L. Platelet concentrates for topical use: bedside device and blood transfusion technology. Quality and versatility. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2012;13(7):1138-1144.
308. Redler LH, Thompson SA, Hsu SH, Ahmad CS, Levine WN. Platelet-rich plasma therapy: a systematic literature review and evidence for clinical use. *The Physician and sportsmedicine*. 2011;39(1):42-51.
309. Reddy SHR, Reddy R, Babu NC, Ashok G. Stem-cell therapy and platelet-rich plasma in regenerative medicines: A review on pros and cons of the technologies. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*. 2018;22(3):367.
310. Saluja H, Dehane V, Mahindra U. Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. *Annals of maxillofacial surgery*. 2011;1(1):53.
311. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical oral investigations*. 2016;20:2353-2360.
312. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *Journal of Oral Implantology*. 2014;40(6):679-689.
313. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie*. 2001;42(55):e62.
314. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis*. 2004;91(01):4-15.
315. Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert F, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2013;66(3):301-311.
316. Karimi K, Rockwell H. The benefits of platelet-rich fibrin. *Facial Plastic Surgery Clinics*. 2019;27(3):331-340.
317. Fan Y, Perez K, Dym H. Clinical uses of platelet-rich fibrin in oral and maxillofacial surgery. *Dental Clinics*. 2020;64(2):291-303.
318. Gupta S, Paliczak A, Delgado D. Evidence-based indications of platelet-rich plasma therapy. *Expert Review of Hematology*. 2021;14(1):97-108.
319. Sclafani AP. Applications of platelet-rich fibrin matrix in facial plastic surgery. *Facial Plastic Surgery*. 2009;25(04):270-276.

320. Şençimen M, Gülses A, Özkaynak Ö, Varol A, Okçu KM, Doğan N. Trombositten zengin fibrin membran kaplı otojen kemik grefti ile tek taraflı alveol yarığı onarımı. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Derg( Clinical Dentistry and Research)*. 2009;33(3):37-42.
321. Jang E-S, Park J-W, Kweon H, et al. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2010;109(6):831-836.
322. Lee E-H, Kim J-Y, Kweon HY, et al. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2010;109(5):e33-e38.
323. He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2009;108(5):707-713.
324. Gaissmaier C, Fritz J, Krackhardt T, Flesch I, Aicher W, Ashammakhi N. Effect of human platelet supernatant on proliferation and matrix synthesis of human articular chondrocytes in monolayer and three-dimensional alginate cultures. *Biomaterials*. 2005;26(14):1953-1960.
325. Akeda K, An H, Okuma M, et al. Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2006;14(12):1272-1280.
326. Mishra A, Tummala P, King A, et al. Buffered platelet-rich plasma enhances mesenchymal stem cell proliferation and chondrogenic differentiation. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2009;15(3):431-435.
327. Lee J-W, Kim S-G, Kim J-Y, et al. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2012;113(4):459-463.
328. Park S-I, Lee H-R, Kim S, Ahn M-W, Do SH. Time-sequential modulation in expression of growth factors from platelet-rich plasma (PRP) on the chondrocyte cultures. *Molecular and cellular biochemistry*. 2012;361:9-17.
329. Krüger JP, Ketzmar AK, Endres M, Pruss A, Siclari A, Kaps C. Human platelet-rich plasma induces chondrogenic differentiation of subchondral progenitor cells in polyglycolic acid–hyaluronan scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2014;102(4):681-692.
330. Strauss F-J, Nasirzade J, Kargarpoor Z, Stähli A, Gruber R. Effect of platelet-rich fibrin on cell proliferation, migration, differentiation, inflammation, and osteoclastogenesis: a systematic review of in vitro studies. *Clinical oral investigations*. 2020;24:569-584.
331. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. *Journal of periodontology*. 2017;88(1):112-121.

332. Miron RJ, Chai J, Zheng S, Feng M, Sculean A, Zhang Y. A novel method for evaluating and quantifying cell types in platelet rich fibrin and an introduction to horizontal centrifugation. *Journal of biomedical materials research Part A*. 2019;107(10):2257-2271.
333. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clinical oral investigations*. 2017;21:2619-2627.
334. Wend S, Kubesch A, Orłowska A, et al. Reduction of the relative centrifugal force influences cell number and growth factor release within injectable PRF-based matrices. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2017;28:1-11.
335. Mourão CFdAB, Valiense H, Melo ER, Mourão NBMF, Maia MD-C. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. 2015;42:421-423.
336. Choukroun J, Aalam AA, Miron RJ. Platelet Rich Fibrin “PRF” and Regenerative Medicine: ‘The Low-Speed Concept’. *MSCs and innovative biomaterials in dentistry*. 2017:21-42.
337. Kim T-H, Kim S-H, Sándor GK, Kim Y-D. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Archives of oral biology*. 2014;59(5):550-558.
338. Ehrenfest DMD, Del Corso M, Inchingolo F, Charrier J-B. Selecting a relevant in vitro cell model for testing and comparing the effects of a Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) membrane and a platelet-rich plasma (PRP) gel: tricks and traps. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. 2010;110(4):409-413.
339. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2013;51(5):438-443.
340. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, et al. A novel platelet concentrate: titanium-prepared platelet-rich fibrin. *BioMed research international*. 2014;2014
341. Göral A, Aslan C, Bolat Küçükzeybek B, Işık D, Hoşnuter M, Durgun M. Platelet-rich fibrin improves the viability of diced cartilage grafts in a rabbit model. *Aesthetic surgery journal*. 2016;36(4):NP153-NP162.
342. Sacco L. Lecture, International academy of implant prosthesis and osteoconnection. *Lecture*. 2006;12:4.
343. Sohn D-S, Heo J-U, Kwak D-H, et al. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant dentistry*. 2011;20(5):389-395.
344. Wang L, Wan M, Li Z, Zhong N, Liang D, Ge L. A comparative study of the effects of concentrated growth factors in two different forms on osteogenesis in vitro. *Molecular Medicine Reports*. 2019;20(2):1039-1048.
345. Bernardi S, Mummolo S, Tecco S, Continenza MA, Marzo G. Histological characterization of Sacco's concentrated growth factors membrane. *Int J Morphol*. 2017;35(01):114-119.

346. Kızıltoprak M, Uslu M. Historical Development and Properties of Platelet Concentrates in Dentistry. *Cumhuriyet Dental Journal*. 2018;21:152-166.
347. Yilmaz S, Erçöçen AR, Can Z, Yenidünya S, Edah N, Yormuk E. Viability of diced, crushed cartilage grafts and the effects of Surgicel (oxidized regenerated cellulose) on cartilage grafts. *Plastic and reconstructive surgery*. 2001;108(4):1054-1060.
348. Cakmak O, Bircan S, Buyuklu F, Tuncer I, Dal T, Ozluoglu LN. Viability of crushed and diced cartilage grafts. *Archives of facial plastic surgery*. 2005;
349. Cakmak O, Altintas H. A classification for degree of crushed cartilage. *Archives of Facial Plastic Surgery*. 2010;12(6):435-436.
350. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. Apr 2004;37(4):277-85. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015
351. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. Dec 2005;38(12):1103-11. doi:10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008
352. Tsai H-D, Chang C-C, Hsieh Y-Y, Lo H-Y. Leukemia inhibitory factor expression in different endometrial locations between fertile and infertile women throughout different menstrual phases. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2000;17:415-418.
353. Constantian MB. Functional effects of alar cartilage malposition. *Annals of plastic surgery*. 1993;30(6):487-499.
354. Tardy M. Dynamics of rhinoplasty. *Rhinoplasty: The Art and the Science Chicago: WB Saunders*. 1997:188-276.
355. Sheen JH. Spreader graft: a method of reconstructing the roof of the middle nasal vault following rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 1984;73(2):230-239.
356. Hamra ST. Crushed cartilage grafts over alar dome reduction in open rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*. 1993;92(2):352-356.
357. Sheen JH. The ideal dorsal graft: a continuing quest. *Plastic and reconstructive surgery*. 1998;102(7):2490-2493.
358. Cárdenas-Camarena L, Guerrero MT. Use of cartilaginous autografts in nasal surgery: 8 years of experience. *Plastic and reconstructive surgery*. 1999;103(3):1003-1014.
359. Gurley JM, Pilgram T, Perlyn CA, Marsh JL. Long-term outcome of autogenous rib graft nasal reconstruction. *Plastic and reconstructive surgery*. 2001;108(7):1895-1905.
360. Elahi MM, Jackson IT, Moreira-Gonzalez A, Yamini D. Nasal augmentation with Surgicel-wrapped diced cartilage: A review of 67 consecutive cases. *Plastic and reconstructive surgery*. 2003;111(3):1309-1318.
361. Araco A, Gravante G, Araco F, et al. Autologous cartilage graft rhinoplasties. *Aesthetic plastic surgery*. 2006;30:169-174.
362. Lin G, Lawson W. Complications using grafts and implants in rhinoplasty. *Operative Techniques in Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2007;18(4):315-323.

363. Tarhan E, Cakmak O, Ozdemir BH, Akdogan V, Suren D. Comparison of AlloDerm, fat, fascia, cartilage, and dermal grafts in rabbits. *Archives of facial plastic surgery*. 2008;
364. Gürsoy K, Teymur H, Göktaş Demircan FB, Tanas Işikçi Ö, Gümüş M, Koçer U. Effect of platelet-derived concentrated growth factor on single-layer, multi-layer, and crushed onlay cartilage grafts. *Aesthetic Surgery Journal*. 2021;41(5):537-547.
365. PEER LA. Cartilage transplanted beneath the skin of the chest in man: Experimental studies with sections of cartilage preserved in alcohol and buried from seven days to fourteen months. *Archives of Otolaryngology*. 1938;27(1):42-58.
366. Peer L. Experimental observations on growth of human cartilage grafts. *Arch Otolaryngol*. 1945;42:384-396.
367. FALCES E, GORXEY M. Use of ear cartilage grafts for nasal tip reconstruction. *Plastic and reconstructive surgery*. 1972;50(2):147-152.
368. Juri J, Juri C, Elías JC. Ear cartilage grafts to the nose. *Plastic and reconstructive surgery*. 1979;63(3):377-382.
369. Joo YH, Jang YJ. Comparison of the surgical outcomes of dorsal augmentation using expanded polytetrafluoroethylene or autologous costal cartilage. *JAMA Facial Plastic Surgery*. 2016;18(5):327-332.
370. Kelly MH, Bulstrode NW, Waterhouse N. Versatility of diced cartilage–fascia grafts in dorsal nasal augmentation. *Plastic and reconstructive surgery*. 2007;120(6):1654-1659.
371. Fatemi MJ, Hasani ME, Rahimian S, Bateni H, Pedram M, Mousavi SJ. Survival of block and fascial-wrapped diced cartilage grafts: an experimental study in rabbits. *Annals of plastic surgery*. 2012;69(3):326-330.
372. Kim SH, Suh JH, Jang YJ. Histomorphological findings of cartilage and surrounding tissues according to thickness and manipulations in rabbits. *Aesthetic Surgery Journal*. 2022;42(7):NP489-NP500.
373. Bujia J. Determination of the viability of crushed cartilage grafts: clinical implications for wound healing in nasal surgery. *Annals of plastic surgery*. 1994;32(3):261-265.
374. Breadon GE, Kern EB, Neel HB. Autografts of uncrushed and crushed bone and cartilage: experimental observations and clinical implications. *Archives of Otolaryngology*. 1979;105(2):75-80.
375. Brown BL, Kern EB, Neel III HB. Transplantation of fresh allografts (homografts) of crushed and uncrushed cartilage and bone: A 1-year analysis in rabbits. *The Laryngoscope*. 1980;90(9):1521-1533.
376. Cakmak O, Buyuklu F, Yilmaz Z, Sahin FI, Tarhan E, Ozluoglu LN. Viability of cultured human nasal septum chondrocytes after crushing. *Arch Facial Plast Surg*. Nov-Dec 2005;7(6):406-9. doi:10.1001/archfaci.7.6.406
377. Garg R, Shaikh M, Foulad A, Wong B. Chondrocyte viability in human nasal septum after morselization. *Arch Facial Plast Surg*. May-Jun 2010;12(3):204-6. doi:10.1001/archfacial.2010.35
378. Uysal A, Özbek S, Özcan M. Comparison of the biological activities of high-density porous polyethylene implants and oxidized regenerated cellulose-

- wrapped diced cartilage grafts. *Plastic and reconstructive surgery*. 2003;112(2):540-546.
379. Brenner KA, McConnell MP, Evans GR, Calvert JW. Survival of diced cartilage grafts: an experimental study. *Plastic and reconstructive surgery*. 2006;117(1):105-115.
  380. Cakmak O, Buyuklu F. Survival of diced cartilage grafts: an experimental study. *Plastic and reconstructive surgery*. 2006;118(7):1658.
  381. Calvert JW, Brenner K, DaCosta-Iyer M, Evans GR, Daniel RK. Histological analysis of human diced cartilage grafts. *Plastic and reconstructive surgery*. 2006;118(1):230-236.
  382. Arslan E, Majka C, Polat A. The fate of diced cartilage grafts of traumatized versus nontraumatized origin. *Aesthetic Plastic Surgery*. 2007;31:365-371.
  383. Buyuklu F, Cakmak O. Histological analysis of human diced cartilage grafts. *Plastic and reconstructive surgery*. 2007;120(1):348-349.
  384. Erdogmuş N, Cingi C, Canaz F, et al. Survival of diced and block cartilage grafts in combination with injectable calcium hydroxylapatite. *The Laryngoscope*. 2013;123(11):E17-E22.
  385. Brent B. Repair and grafting of cartilage and perichondrium. *Plastic Surgery Philadelphia: Saunders*. 1990;559
  386. Lee WA, Butler P. Transplant biology and applications to plastic surgery. *Grabb and Smith's Plastic Surgery Philadelphia: Lippincott-Raven*. 1997:27-37.
  387. Kazikdas KC, Ergur B, Tugyan K, Guneli E, Kaya D, Sahan M. Viability of crushed and diced cartilage grafts wrapped in oxidized regenerated cellulose and esterified hyaluronic acid: an experimental study. *The Laryngoscope*. 2007;117(10):1728-1734.
  388. Hizal E, Buyuklu F, Ozer O, Cakmak O. Effects of different levels of crushing on the viability of rabbit costal and nasal septal cartilages. *Plastic and reconstructive surgery*. 2011;128(5):1045-1051.
  389. Pierce A, Wiebkin O, Wilson D. Surgicel®: its fate following implantation. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 1984;13(6):661-670.
  390. Ertaş N, Hücümenoğlu S, Beşalti O, Ozak A, Celebioğlu S. The effects of oxidized, regenerated cellulose on diced cartilage xenografts: An experimental study. *Annals of plastic surgery*. 2000;45(2):224-225.
  391. Ibrahim MF, Aps C, Young CP. A foreign body reaction to Surgicel® mimicking an abscess following cardiac surgery. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2002;22(3):489-490.
  392. Bradley M, Singh G. Case report: an oxidized cellulose granuloma--another hepatic pseudotumour? *Clinical radiology*. 1991;44(3):206-207.
  393. Kothbauer KF, Jallo GI, Siffert J, Jimenez E, Allen JC, Epstein FJ. Foreign body reaction to hemostatic materials mimicking recurrent brain tumor: Report of three cases. *Journal of neurosurgery*. 2001;95(3):503-506.
  394. Gao H-W, Lin C-K, Yu C-P, Yu M-S, Chen A. Oxidized cellulose (Surgicel™) granuloma mimicking a primary ovarian tumor. *International journal of gynecological pathology*. 2002;21(4):422-423.

395. Coster D, Galbraith J. Diced cartilage grafts to correct enophthalmos. *The British journal of ophthalmology*. 1980;64(2):135.
396. Coskun BU, Seven H, Yigit O, et al. Comparison of diced cartilage graft wrapped in surgicell and diced cartilage graft wrapped in fascia: an experimental study. *The Laryngoscope*. 2005;115(4):668-671.
397. Firat C, Gurlek A, Aydin NE. Viability of cartilage grafts in various forms. *J Craniofac Surg*. Sep 2011;22(5):1666-70. doi:10.1097/SCS.0b013e31822f3b1f
398. Hafezi F, Abbaszadeh A, Naghibzadeh B, Ashtiani AK, Fatemi MJ, Nouhi AH. Comparison of outcomes using diced cartilage with or without tensor fascia latae wrapping in rabbits. *Aesthet Surg J*. Sep 2014;34(7):Np50-60. doi:10.1177/1090820x14529076
399. Gordon CR, Alghoul M, Goldberg JS, Habal MB, Papay F. Diced cartilage grafts wrapped in AlloDerm for dorsal nasal augmentation. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2011;22(4):1196-1199.
400. Bracaglia R, Tambasco D, D'Ettorre M, Gentileschi S. "Nougat graft": diced cartilage graft plus human fibrin glue for contouring and shaping of the nasal dorsum. *Plast Reconstr Surg*. Nov 2012;130(5):741e-743e. doi:10.1097/PRS.0b013e318267d6d8
401. Tasman AJ, Diener PA, Litschel R. The diced cartilage glue graft for nasal augmentation. Morphometric evidence of longevity. *JAMA Facial Plast Surg*. Mar 1 2013;15(2):86-94. doi:10.1001/2013.jamafacial.120
402. Stevenson S, Hodgkinson PD. Cartilage putty: a novel use of fibrin glue with morselised cartilage grafts for rhinoplasty surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. Nov 2014;67(11):1502-7. doi:10.1016/j.bjps.2014.07.017
403. Tasman A-J. Advances in nasal dorsal augmentation with diced cartilage. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*. 2013;21(4):365-371.
404. Bullocks JM, Echo A, Guerra G, Stal S, Yuksel E. A novel autologous scaffold for diced-cartilage grafts in dorsal augmentation rhinoplasty. *Aesthetic Plast Surg*. Aug 2011;35(4):569-79. doi:10.1007/s00266-011-9725-9
405. Wu W, Chen F, Liu Y, Ma Q, Mao T. Autologous injectable tissue-engineered cartilage by using platelet-rich plasma: experimental study in a rabbit model. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2007;65(10):1951-1957.
406. Kemaloğlu CA, Tekin Y. A comparison of diced cartilage grafts wrapped in perichondrium versus fascia. *Aesthetic Plast Surg*. Dec 2014;38(6):1164-8. doi:10.1007/s00266-014-0403-6
407. Duncan MJ, Thomson HG, Mancner JF. Free cartilage grafts: the role of perichondrium. *Plast Reconstr Surg*. Jun 1984;73(6):916-23. doi:10.1097/00006534-198406000-00010
408. Jang YJ, Song HM, Yoon YJ, Sykes JM. Combined use of crushed cartilage and processed fascia lata for dorsal augmentation in rhinoplasty for Asians. *Laryngoscope*. Jun 2009;119(6):1088-92. doi:10.1002/lary.20242
409. Atespare A, Kara H, Ilter E, Boyaci Z, Çelik Ö, Midi A. Utility of Cartilage Grafts Wrapped With Amniotic Membrane in Dorsal Nasal Augmentation. *J Craniofac Surg*. Jun 2016;27(4):938-42. doi:10.1097/scs.0000000000002655

410. Haberal Can İ, Atilla P, Çakar AN, Önerci M. An animal study on cartilage healing using auricular cartilage as a model. *European archives of oto-rhino-laryngology*. 2008;265:307-311.
411. Temiz A, Kazikdas KC, Ergur B, et al. Esterified hyaluronic acid improves cartilage viability in experimental tracheal reconstruction with an auricular graft. *Otolaryngol Head Neck Surg*. Dec 2010;143(6):772-8. doi:10.1016/j.otohns.2010.07.007
412. Ozturk SK, Habesoglu TE, Ihvan A, Palaoglu I, Cokay BI, Habesoglu MO. Effects of Esterified Hyaluronic Acid, Adipose Tissue, and Blood Glue on Survival of Diced Cartilage Grafts. *J Craniofac Surg*. Jul-Aug 01 2022;33(5):1614-1618. doi:10.1097/scs.00000000000008304
413. Öreroğlu AR, Çakır B, Akan M. Bone dust and diced cartilage combined with blood glue: a practical technique for dorsum enhancement. *Aesthetic Plast Surg*. Feb 2014;38(1):90-94. doi:10.1007/s00266-013-0256-4
414. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1998;85(6):638-646.
415. Garg A. Autologous blood concentrates. Batavia (IL). Quintessence Publishing Co. Inc; 2018.
416. De Boer H, Verseyden C, Ulfman L, et al. Fibrin and activated platelets cooperatively guide stem cells to a vascular injury and promote differentiation towards an endothelial cell phenotype. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2006;26(7):1653-1659.
417. Ponte AL, Marais E, Gallay N, et al. The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem cells*. 2007;25(7):1737-1745.
418. Cavallo C, Roffi A, Grigolo B, et al. Platelet-rich plasma: the choice of activation method affects the release of bioactive molecules. *BioMed Research International*. 2016;2016
419. Butt AJ, Firth SM, Baxter RC. The IGF axis and programmed cell death. *Immunol Cell Biol*. Jun 1999;77(3):256-62. doi:10.1046/j.1440-1711.1999.00822.x
420. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004;59(2 Suppl):21-6. doi:10.1016/j.ijrobp.2003.11.041
421. Claesson-Welsh L. VEGF-B taken to our hearts: specific effect of VEGF-B in myocardial ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Sep 2008;28(9):1575-6. doi:10.1161/atvbaha.108.170878
422. Kim DH, Je YJ, Kim CD, et al. Can platelet-rich plasma be used for skin rejuvenation? Evaluation of effects of platelet-rich plasma on human dermal fibroblast. *Annals of dermatology*. 2011;23(4):424-431.
423. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth factors*. 2009;27(1):63-69.

424. Utomo DN, Mahyudin F, Hernugrahanto KD, Suroto H, Chilmi MZ, Rantam FA. Implantation of platelet rich fibrin and allogenic mesenchymal stem cells facilitate the healing of muscle injury: An experimental study on animal. *International Journal of Surgery Open*. 2018;11:4-9.
425. Manafi A, Kaviani Far K, Moradi M, Manafi A, Manafi F. Effects of platelet-rich plasma on cartilage grafts in rabbits as an animal model. *World J Plast Surg*. Jul 2012;1(2):91-8.
426. Anitua E, Sánchez M, Nurden A, et al. Platelet-released growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients. *Rheumatology*. 2007;46(12):1769-1772.
427. Ishida K, Kuroda R, Miwa M, et al. The regenerative effects of platelet-rich plasma on meniscal cells in vitro and its in vivo application with biodegradable gelatin hydrogel. *Tissue engineering*. 2007;13(5):1103-1112.
428. Tuan T-L, Song A, Chang S, Younai S, Nimni ME. In vitro fibroplasia: Matrix contraction, cell growth, and collagen production of fibroblasts cultured in fibrin gels. *Experimental cell research*. 1996;223(1):127-134.
429. Creaney L, Hamilton B. Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. *British journal of sports medicine*. 2008;42(5):314-320.
430. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *International journal of implant dentistry*. 2016;2:1-6.
431. Abd El Raouf M, Wang X, Miusi S, et al. Injectable-platelet rich fibrin using the low speed centrifugation concept improves cartilage regeneration when compared to platelet-rich plasma. *Platelets*. 2019;30(2):213-221.
432. Zumstein MA, Bielecki T, Ehrenfest DMD. The future of platelet concentrates in sports medicine: platelet-rich plasma, platelet-rich fibrin, and the impact of scaffolds and cells on the long-term delivery of growth factors. *Operative Techniques in Sports Medicine*. 2011;19(3):190-197.
433. M Dohan Ehrenfest D, Bielecki T, Jimbo R, et al. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Current pharmaceutical biotechnology*. 2012;13(7):1145-1152.
434. Schär MO, Diaz-Romero J, Kohl S, Zumstein MA, Nestic D. Platelet-rich concentrates differentially release growth factors and induce cell migration in vitro. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 2015;473:1635-1643.
435. Di Liddo R, Bertalot T, Borean A, et al. Leucocyte and platelet-rich fibrin: A carrier of autologous multipotent cells for regenerative medicine. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2018;22(3):1840-1854.
436. Goldring MB, Tsuchimochi K, Ijiri K. The control of chondrogenesis. *Journal of cellular biochemistry*. 2006;97(1):33-44.

437. Fortier LA, Barker JU, Strauss EJ, McCarrel TM, Cole BJ. The role of growth factors in cartilage repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®. 2011;469:2706-2715.
438. Wong C-C, Chen C-H, Chan WP, et al. Single-stage cartilage repair using platelet-rich fibrin scaffolds with autologous cartilaginous grafts. *The American journal of sports medicine*. 2017;45(13):3128-3142.
439. Kuo T-F, Lin M-F, Lin Y-H, et al. Implantation of platelet-rich fibrin and cartilage granules facilitates cartilage repair in the injured rabbit knee: preliminary report. *Clinics*. 2011;66:1835-1838.
440. Sheu SY, Wang CH, Pao YH, et al. The effect of platelet-rich fibrin on autologous osteochondral transplantation: An in vivo porcine model. *Knee*. Dec 2017;24(6):1392-1401. doi:10.1016/j.knee.2017.08.049
441. Kazemi D, Fakhrjou A, Mirzazadeh Dizaji V, Khanzadeh Alishahi M. Effect of autologous platelet rich fibrin on the healing of experimental articular cartilage defects of the knee in an animal model. *BioMed Research International*. 2014;2014
442. Kazemi D, Fakhrjou A. Leukocyte and platelet rich plasma (L-PRP) versus leukocyte and platelet rich fibrin (L-PRF) for articular cartilage repair of the knee: a comparative evaluation in an animal model. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2015;17(10)
443. Bahmanpour S, Ghasemi M, Sadeghi-Naini M, Kashani IR. Effects of platelet-rich plasma & platelet-rich fibrin with and without stromal cell-derived factor-1 on repairing full-thickness cartilage defects in knees of rabbits. *Iranian journal of medical sciences*. 2016;41(6):507.
444. Kazemi D, Asenjan KS, Dehdilani N, Parsa H. Canine articular cartilage regeneration using mesenchymal stem cells seeded on platelet rich fibrin: Macroscopic and histological assessments. *Bone & Joint Research*. 2017;6(2):98-107.
445. Maruyama M, Satake H, Suzuki T, et al. Comparison of the Effects of Osteochondral Autograft Transplantation With Platelet-Rich Plasma or Platelet-Rich Fibrin on Osteochondral Defects in a Rabbit Model. *Am J Sports Med*. Dec 2017;45(14):3280-3288. doi:10.1177/0363546517721188
446. Wong C-C, Kuo T-F, Yang T-L, et al. Platelet-rich fibrin facilitates rabbit meniscal repair by promoting meniscocytes proliferation, migration, and extracellular matrix synthesis. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(8):1722.
447. Wu CC, Sheu SY, Hsu LH, Yang KC, Tseng CC, Kuo TF. Intra-articular Injection of platelet-rich fibrin releasates in combination with bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of articular cartilage defects: An in vivo study in rabbits. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2017;105(6):1536-1543.
448. Hsu YK, Sheu SY, Wang CY, et al. The effect of adipose-derived mesenchymal stem cells and chondrocytes with platelet-rich fibrin releasates augmentation by intra-articular injection on acute osteochondral defects in a rabbit model. *Knee*. Dec 2018;25(6):1181-1191. doi:10.1016/j.knee.2018.10.005

449. Xu F, Yang Y, Yang T, et al. The use of allogenic adipose-derived stem cells in combination with platelet-rich fibrin for the treatment of cartilage defects in rabbit ear. *Am J Transl Res*. 2018;10(6):1900-1907.
450. Barbon S, Stocco E, Macchi V, et al. Platelet-Rich Fibrin Scaffolds for Cartilage and Tendon Regenerative Medicine: From Bench to Bedside. *Int J Mol Sci*. Apr 5 2019;20(7)doi:10.3390/ijms20071701
451. Gode S, Ozturk A, Berber V, Kismalı E. Effect of injectable platelet-rich fibrin on diced cartilage's viability in rhinoplasty. *Facial Plastic Surgery*. 2019;35(04):393-396.
452. Ehrenfest DMD, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier J-B. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Archives of oral biology*. 2010;55(3):185-194.
453. Bensaid M, Gary-Bobo M, Esclangon A, et al. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acrp30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. *Molecular pharmacology*. 2003;63(4):908-914.
454. Sheu S, Wang C, Pao Y, et al. The effect of platelet-rich fibrin on autologous osteochondral transplantation: An in vivo porcine model. *The Knee*. 2017;24(6):1392-1401.
455. Singh A, Kohli M, Gupta N. Platelet rich fibrin: a novel approach for osseous regeneration. *J Maxillofac Oral Surg*. Dec 2012;11(4):430-4. doi:10.1007/s12663-012-0351-0
456. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, et al. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: clinical and histological evaluations. *Int J Med Sci*. 2012;9(10):872-80. doi:10.7150/ijms.5119
457. Hauser F, Gaydarov N, Badoud I, Vazquez L, Bernard JP, Ammann P. Clinical and histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: a prospective randomized controlled study. *Implant Dent*. Jun 2013;22(3):295-303. doi:10.1097/ID.0b013e3182906eb3
458. Hamzacebi B, Oduncuoglu B, Alaaddinoglu EE. Treatment of Peri-implant Bone Defects with Platelet-Rich Fibrin. *Int J Periodontics Restorative Dent*. May-Jun 2015;35(3):415-22. doi:10.11607/prd.1861
459. Kumar N, Prasad K, Ramanujam L, K R, Dexith J, Chauhan A. Evaluation of treatment outcome after impacted mandibular third molar surgery with the use of autologous platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical study. *J Oral Maxillofac Surg*. Jun 2015;73(6):1042-9. doi:10.1016/j.joms.2014.11.013
460. Marenzi G, Riccitiello F, Tia M, di Lauro A, Sammartino G. Influence of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) in the Healing of Simple Postextraction Sockets: A Split-Mouth Study. *Biomed Res Int*. 2015;2015:369273. doi:10.1155/2015/369273
461. Öncü E, Alaaddinoğlu EE. The effect of platelet-rich fibrin on implant stability. *Int J Oral Maxillofac Implants*. May-Jun 2015;30(3):578-82. doi:10.11607/jomi.3897

462. Ramos EU, Bizelli VF, Pereira Baggio AM, Ferriolli SC, Silva Prado GA, Farnezi Bassi AP. Do the New Protocols of Platelet-Rich Fibrin Centrifugation Allow Better Control of Postoperative Complications and Healing After Surgery of Impacted Lower Third Molar? A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Oral Maxillofac Surg*. Jul 2022;80(7):1238-1253. doi:10.1016/j.joms.2022.03.011
463. Yen CA, Griffin TJ, Cheung WS, Chen J. Effects of platelet concentrate on palatal wound healing after connective tissue graft harvesting. *Journal of periodontology*. 2007;78(4):601-610.
464. Meza-Mauricio J, Furquim CP, Geldres A, et al. Is the use of platelet-rich fibrin effective in the healing, control of pain, and postoperative bleeding in the palatal area after free gingival graft harvesting? A systematic review of randomized clinical studies. *Clinical Oral Investigations*. 2021;25:4239-4249.
465. Kim JW, Kim SJ, Kim MR. Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin for the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a prospective feasibility study. *Br J Oral Maxillofac Surg*. Nov 2014;52(9):854-9. doi:10.1016/j.bjoms.2014.07.256
466. Giudice A, Barone S, Giudice C, Bennardo F, Fortunato L. Can platelet-rich fibrin improve healing after surgical treatment of medication-related osteonecrosis of the jaw? A pilot study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. Nov 2018;126(5):390-403. doi:10.1016/j.oooo.2018.06.007
467. Işık G, Yüce MÖ, Özgül S, Günbay S, Günbay T. Trombosit konsantrelerinin yumuşak doku iyileşmesi üzerine etkisinin değerlendirilmesi: Retrospektif çalışma. *Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2020;41(1):1-10.
468. Bozkurt E, Uslu M. Evaluation of the effects of platelet-rich fibrin, concentrated growth factors, and autologous fibrin glue application on wound healing following gingivectomy and gingivoplasty operations: a randomized controlled clinical trial. *Quintessence Int*. Mar 14 2022;53(4):328-341. doi:10.3290/j.qi.b2449819
469. Sato A, Kawabata H, Aizawa H, et al. Distribution and quantification of activated platelets in platelet-rich fibrin matrices. *Platelets*. 2022;33(1):110-115.
470. Qiao J, An N, Ouyang X. Quantification of growth factors in different platelet concentrates. *Platelets*. 2017;28(8):774-778.
471. Brancaccio Y, Antonelli A, Barone S, Bennardo F, Fortunato L, Giudice A. Evaluation of local hemostatic efficacy after dental extractions in patients taking antiplatelet drugs: a randomized clinical trial. *Clin Oral Investig*. Mar 2021;25(3):1159-1167. doi:10.1007/s00784-020-03420-3
472. Peer LA. Loss of weight and volume in human fat grafts: with postulation of a "cell survival theory". *Plastic and reconstructive surgery*. 1950;5(3):217-230.
473. Kobolak J, Dinnyes A, Memic A, Khademhosseini A, Mobasheri A. Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. *Methods*. 2016;99:62-68.

474. Liu B, Tan X-Y, Liu Y-P, et al. The adjuvant use of stromal vascular fraction and platelet-rich fibrin for autologous adipose tissue transplantation. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2013;19(1):1-14.
475. Braccini F, Dohan D. The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) during facial aesthetic liposuction (Coleman's technique): preliminary results. *Revue de Laryngologie-Otologie-Rhinologie*. 2007;128(4):255-260.
476. Yu P, Zhai Z, Lu H, Jin X, Yang X, Qi Z. Platelet-Rich Fibrin Improves Fat Graft Survival Possibly by Promoting Angiogenesis and Adipogenesis, Inhibiting Apoptosis, and Regulating Collagen Production. *Aesthet Surg J*. Aug 14 2020;40(9):Np530-np545. doi:10.1093/asj/sjaa084
477. Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. Characteristics of the aging skin. *Advances in wound care*. 2013;2(1):5-10.
478. Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis CC. Skin anti-aging strategies. *Dermato-endocrinology*. 2012;4(3):308-319.
479. Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermato-endocrinology*. 2012;4(3):253-258.
480. Ghersetich I, Lotti T, Campanile G, Grappone C, Dini G. Hyaluronic acid in cutaneous intrinsic aging. *International journal of dermatology*. 1994;33(2):119-122.
481. Sclafani AP. Platelet-rich fibrin matrix for improvement of deep nasolabial folds. *Journal of cosmetic dermatology*. 2010;9(1):66-71.
482. Smyth NA, Murawski CD, Fortier LA, Cole BJ, Kennedy JG. Platelet-rich plasma in the pathologic processes of cartilage: review of basic science evidence. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 2013;29(8):1399-1409.
483. Zhu Y, Yuan M, Meng H, et al. Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis and cartilage*. 2013;21(11):1627-1637.
484. Wong C-C, Chiu L-H, Lai W-FT, et al. Phenotypic re-expression of near quiescent chondrocytes: The effects of type II collagen and growth factors. *Journal of biomaterials applications*. 2010;25(1):75-95.
485. Chien CS, Ho HO, Liang YC, Ko PH, Sheu MT, Chen CH. Incorporation of exudates of human platelet-rich fibrin gel in biodegradable fibrin scaffolds for tissue engineering of cartilage. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. May 2012;100(4):948-55. doi:10.1002/jbm.b.32657
486. Kumar R, Katoch SS, Sharma S.  $\beta$ -Adrenoceptor agonist treatment reverses denervation atrophy with augmentation of collagen proliferation in denervated mice gastrocnemius muscle. 2006;
487. Veis A, Anesey J. Modes of intermolecular cross-linking in mature insoluble collagen. *Journal of Biological Chemistry*. 1965;240(10):3899-3908.
488. Kowalewski K, Yong S. Hydroxyproline in healing dermal wounds of normal and hypothyroid rats. *European Journal of Endocrinology*. 1967;54(1):1-7.
489. Ishida K, Acharya C, Christiansen BA, Yik JH, DiCesare PE, Haudenschild DR. Cartilage oligomeric matrix protein enhances osteogenesis by directly binding and activating bone morphogenetic protein-2. *Bone*. 2013;55(1):23-35.

490. Halász K, Kassner A, Morgelin M, Heinegard D. COMP acts as a catalyst in collagen fibrillogenesis. *Journal of biological chemistry*. 2007;282(43):31166-31173.
491. Chen FH, Herndon ME, Patel N, Hecht JT, Tuan RS, Lawler J. Interaction of cartilage oligomeric matrix protein/thrombospondin 5 with aggrecan. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(34):24591-24598.
492. Benjamin M, Archer C, Ralphs J. Cytoskeleton of cartilage cells. *Microscopy research and technique*. 1994;28(5):372-377.
493. Notohara K, Hsueh CL, Awai M. Glial fibrillary acidic protein immunoreactivity of chondrocytes in immature and mature teratomas. *Pathology International*. 1990;40(5):335-342.
494. Yilmaz S. Experimental and Clinical Study on the Viability of Diced Cartilage. presented at: The Istanbul International Rhinoplasty Course; June 21-26 2011; Istanbul.
495. Pavlovic V, Ciric M, Jovanovic V, Trandafilovic M, Stojanovic P. Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications. *Open Med (Wars)*. 2021;16(1):446-454. doi:10.1515/med-2021-0259
496. Vinaya Kumar R, Shubhashini N. Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell and tissue banking*. 2013;14:453-463.
497. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008;453(7193):314-321.
498. Pfander D, Swoboda B, Cramer T. The role of HIF-1 $\alpha$  in maintaining cartilage homeostasis and during the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis research & therapy*. 2006;8(1):1-2.
499. Warbrick I, Rabkin SW. Hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1 $\alpha$ ) as a factor mediating the relationship between obesity and heart failure with preserved ejection fraction. *Obesity Reviews*. 2019;20(5):701-712.
500. Marmorstein R, Simon MC. Hypoxia response becomes crystal clear. *Nature*. 2015;524(7565):298-299.
501. Schipani E. Hypoxia and HIF-1 $\alpha$  in chondrogenesis. Elsevier; 2005:539-546.
502. Shojafar E, Mehranjani MS, Shariatzadeh SM. Utilizing platelet-rich fibrin bioscaffold at the graft site improves the structure and function of mice ovarian grafts. *Regenerative Medicine*. 2019;14(5):409-422.
503. Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: control of oxygen homeostasis in health and disease. *Pediatric research*. 2001;49(5):614-617.
504. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development. *Cell*. 2019;176(6):1248-1264.
505. Zhang D, Lv F, Wang G. Effects of HIF-1 $\alpha$  on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(16):5071-5076.
506. Lafont JE. Lack of oxygen in articular cartilage: consequences for chondrocyte biology. *International journal of experimental pathology*. 2010;91(2):99-106.
507. Li H, Li X, Jing X, et al. Hypoxia promotes maintenance of the chondrogenic phenotype in rat growth plate chondrocytes through the HIF-1 $\alpha$ /YAP signaling pathway. *International Journal of Molecular Medicine*. 2018;42(6):3181-3192.

508. Yudoh K, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K. Catabolic stress induces expression of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  in articular chondrocytes: involvement of HIF-1 $\alpha$  in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis research & therapy*. 2005;7(4):1-11.
509. Zhang F-J, Luo W, Lei G-H. Role of HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  in osteoarthritis. *Joint bone spine*. 2015;82(3):144-147.
510. Satish L, Kathju S. Cellular and molecular characteristics of scarless versus fibrotic wound healing. *Dermatology research and practice*. 2010;2010
511. Xiang B, Liu T, Sun F, Ai H, Wang W. Advances in research on VEGF-related signaling pathways in angiogenesis. *Chinese Journal of Comparative Medicine*. 2015:81-86.
512. Vincent T, McLean C, Full L, Peston D, Saklatvala J. FGF-2 is bound to perlecan in the pericellular matrix of articular cartilage, where it acts as a chondrocyte mechanotransducer. *Osteoarthritis and cartilage*. 2007;15(7):752-763.
513. Loeser RF, Chubinskaya S, Pacione C, Im HJ. Basic fibroblast growth factor inhibits the anabolic activity of insulin-like growth factor 1 and osteogenic protein 1 in adult human articular chondrocytes. *Arthritis & Rheumatism*. 2005;52(12):3910-3917.
514. Im H-J, Muddasani P, Natarajan V, et al. Basic fibroblast growth factor stimulates matrix metalloproteinase-13 via the molecular cross-talk between the mitogen-activated protein kinases and protein kinase C $\delta$  pathways in human adult articular chondrocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(15):11110-11121.
515. Yan D, Chen D, Cool SM, et al. Fibroblast growth factor receptor 1 is principally responsible for fibroblast growth factor 2-induced catabolic activities in human articular chondrocytes. *Arthritis research & therapy*. 2011;13:1-13.
516. Wang X, Manner PA, Horner A, Shum L, Tuan RS, Nuckolls GH. Regulation of MMP-13 expression by RUNX2 and FGF2 in osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis and cartilage*. 2004;12(12):963-973.
517. Chia SL, Sawaji Y, Burleigh A, et al. Fibroblast growth factor 2 is an intrinsic chondroprotective agent that suppresses ADAMTS-5 and delays cartilage degradation in murine osteoarthritis. *Arthritis & rheumatism: official Journal of the American College of rheumatology*. 2009;60(7):2019-2027.
518. Chuma H, Mizuta H, Kudo S, Takagi K, Hiraki Y. One day exposure to FGF-2 was sufficient for the regenerative repair of full-thickness defects of articular cartilage in rabbits. *Osteoarthritis and cartilage*. 2004;12(10):834-842.
519. Yokoo N, Saito T, Uesugi M, et al. Repair of articular cartilage defect by autologous transplantation of basic fibroblast growth factor gene-transduced chondrocytes with adeno-associated virus vector. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*. 2005;52(1):164-170.
520. Ishii I, Mizuta H, Sei A, Hirose J, Kudo S, Hiraki Y. Healing of full-thickness defects of the articular cartilage in rabbits using fibroblast growth factor-2

- and a fibrin sealant. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2007;89(5):693-700.
521. Madry H, Orth P, Kaul G, et al. Acceleration of articular cartilage repair by combined gene transfer of human insulin-like growth factor I and fibroblast growth factor-2 in vivo. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*. 2010;130:1311-1322.
  522. Maehara H, Sotome S, Yoshii T, et al. Repair of large osteochondral defects in rabbits using porous hydroxyapatite/collagen (HAp/Col) and fibroblast growth factor-2 (FGF-2). *Journal of Orthopaedic Research*. 2010;28(5):677-686.
  523. Vincent TL. Fibroblast growth factor 2: good or bad guy in the joint? : Springer; 2011. p. 1-2.
  524. Kamil S, Aminuddin B, Bonassar L, et al. Tissue-engineered human auricular cartilage demonstrates euploidy by flow cytometry. *Tissue engineering*. 2002;8(1):85-92.
  525. Shasti M, Jacquet R, McClellan P, et al. Effects of FGF-2 and OP-1 in vitro on donor source cartilage for auricular reconstruction tissue engineering. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2014;78(3):416-422.
  526. Martin I, Vunjak-Novakovic G, Yang J, Langer R, Freed L. Mammalian chondrocytes expanded in the presence of fibroblast growth factor 2 maintain the ability to differentiate and regenerate three-dimensional cartilaginous tissue. *Experimental cell research*. 1999;253(2):681-688.
  527. Arévalo-Silva CA, Cao Y, Vacanti M, Weng Y, Vacanti CA, Eavey RD. Influence of growth factors on tissue-engineered pediatric elastic cartilage. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2000;126(10):1234-1238.
  528. Mandl E, Jahr H, Koevoet J, et al. Fibroblast growth factor-2 in serum-free medium is a potent mitogen and reduces dedifferentiation of human ear chondrocytes in monolayer culture. *Matrix biology*. 2004;23(4):231-241.
  529. Wroblewski J, Edwall-Arvidsson C. Inhibitory effects of basic fibroblast growth factor on chondrocyte differentiation. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1995;10(5):735-742.
  530. de la Fuente R, Abad JL, García-Castro J, et al. Dedifferentiated adult articular chondrocytes: a population of human multipotent primitive cells. *Experimental Cell Research*. 2004;297(2):313-328.
  531. Hill D, Logan A, Ong M, Sousa Dd, Gonzalez A. Basic fibroblast growth factor is synthesized and released by isolated ovine fetal growth plate chondrocytes: Potential role as an autocrine mitogen. *Growth Factors*. 1992;6(4):277-294.
  532. Coffin JD, Florkiewicz RZ, Neumann J, et al. Abnormal bone growth and selective translational regulation in basic fibroblast growth factor (FGF-2) transgenic mice. *Molecular biology of the cell*. 1995;6(12):1861-1873.
  533. Nagai H, Tsukuda R, Mayahara H. Effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on bone formation in growing rats. *Bone*. 1995;16(3):367-373.
  534. Trippel SB. Growth factor actions on articular cartilage. *The Journal of Rheumatology Supplement*. 1995;43:129-132.
  535. Nataf V, Tsagris L, Dumontier M, Bonaventure J, Corvol M. Modulation of sulfated proteoglycan synthesis and collagen gene expression by

- chondrocytes grown in the presence of bFGF alone or combined with IGF1. *Reproduction Nutrition Development*. 1990;30(3):331-342.
536. Qu Z, Huang X-N, Ahmadi P, et al. Expression of basic fibroblast growth factor in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis and degenerative joint disease. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1995;73(3):339-346.
  537. Manabe N, Oda H, Nakamura K, Kuga Y, Uchida S, Kawaguchi H. Involvement of fibroblast growth factor-2 in joint destruction of rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology*. 1999;38(8):714-720.
  538. Yamashita A, Yonemitsu Y, Okano S, et al. Fibroblast growth factor-2 determines severity of joint disease in adjuvant-induced arthritis in rats. *The Journal of Immunology*. 2002;168(1):450-457.
  539. Fujimoto E, Ochi M, Kato Y, Mochizuki Y, Sumen Y, Ikuta Y. Beneficial effect of basic fibroblast growth factor on the repair of full-thickness defects in rabbit articular cartilage. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*. 1999;119(3-4):139-145.
  540. Weisser J, Rahfoth B, Timmermann A, Aigner T, Bräuer R, Von der Mark K. Role of growth factors in rabbit articular cartilage repair by chondrocytes in agarose. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2001;9:S48-S54.
  541. Stewart AA, Byron CR, Pondenis H, Stewart MC. Effect of fibroblast growth factor-2 on equine mesenchymal stem cell monolayer expansion and chondrogenesis. *Am J Vet Res*. Sep 2007;68(9):941-5. doi:10.2460/ajvr.68.9.941
  542. Ellman MB, An HS, Muddasani P, Im HJ. Biological impact of the fibroblast growth factor family on articular cartilage and intervertebral disc homeostasis. *Gene*. Aug 15 2008;420(1):82-9. doi:10.1016/j.gene.2008.04.019
  543. Hayes AJ, Whitelock J, Melrose J. Regulation of FGF-2, FGF-18 and Transcription Factor Activity by Perlecan in the Maturation Development of Transitional Rudiment and Growth Plate Cartilages and in the Maintenance of Permanent Cartilage Homeostasis. *Int J Mol Sci*. Feb 9 2022;23(4)doi:10.3390/ijms23041934
  544. Barry F, Boynton RE, Liu B, Murphy JM. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow: differentiation-dependent gene expression of matrix components. *Experimental cell research*. 2001;268(2):189-200.
  545. Tsang MW, Wong WKR, Hung CS, et al. Human epidermal growth factor enhances healing of diabetic foot ulcers. *Diabetes care*. 2003;26(6):1856-1861.
  546. Acosta JB, Savigne W, Valdez C, et al. Epidermal growth factor intralesional infiltrations can prevent amputation in patients with advanced diabetic foot wounds. *International wound journal*. 2006;3(3):232-239.
  547. Hong JP, Jung HD, Kim YW. Recombinant human epidermal growth factor (EGF) to enhance healing for diabetic foot ulcers. *Annals of plastic surgery*. 2006;56(4):394-398.

548. Fernández-Montequín JI, Valenzuela-Silva CM, Díaz OG, et al. Intra-lesional injections of recombinant human epidermal growth factor promote granulation and healing in advanced diabetic foot ulcers: multicenter, randomised, placebo-controlled, double-blind study. *International wound journal*. 2009;6(6):432-443.
549. Tuyet HL, Nguyen Quynh TT, Vo Hoang Minh H, et al. The efficacy and safety of epidermal growth factor in treatment of diabetic foot ulcers: the preliminary results. *International wound journal*. 2009;6(2):159-166.
550. Yera-Alos IB, Alonso-Carbonell L, Valenzuela-Silva CM, et al. Active post-marketing surveillance of the intralesional administration of human recombinant epidermal growth factor in diabetic foot ulcers. *BMC Pharmacology and Toxicology*. 2013;14(1):1-11.
551. Ertugrul BM, Buke C, Ersoy OS, Ay B, Demirez DS, Savk O. Intralesional epidermal growth factor for diabetic foot wounds: the first cases in Turkey. *Diabetic Foot & Ankle*. 2015;6(1):28419.
552. Makower A-M, Wroblewski J, Pawlowski A. Effects of IGF-I, EGF, and FGF on proteoglycans synthesized by fractionated chondrocytes of rat rib growth plate. *Experimental cell research*. 1988;179(2):498-506.
553. Qin L, Beier F. EGFR Signaling: Friend or Foe for Cartilage? *JBMR Plus*. Feb 2019;3(2):e10177. doi:10.1002/jbm4.10177
554. Knezevic NN, Candido KD, Desai R, Kaye AD. Is Platelet-Rich Plasma a Future Therapy in Pain Management? *Med Clin North Am*. Jan 2016;100(1):199-217. doi:10.1016/j.mcna.2015.08.014
555. Terranova VP, Odziemiec C, Tweden KS, Spadone DP. Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells and endothelial cells. Effect of basic fibroblast growth factor. *J Periodontol*. Jun 1989;60(6):293-301. doi:10.1902/jop.1989.60.6.293
556. Geiger F, Bertram H, Berger I, et al. Vascular endothelial growth factor gene-activated matrix (VEGF165-GAM) enhances osteogenesis and angiogenesis in large segmental bone defects. *J Bone Miner Res*. Nov 2005;20(11):2028-35. doi:10.1359/jbmr.050701
557. Raja S, Byakod G, Pudakalkatti P. Growth factors in periodontal regeneration. *Int J Dent Hyg*. May 2009;7(2):82-9. doi:10.1111/j.1601-5037.2009.00380.x
558. Chatterjee A, Debnath K. Comparative evaluation of growth factors from platelet concentrates: An in vitro study. *J Indian Soc Periodontol*. Jul-Aug 2019;23(4):322-328. doi:10.4103/jisp.jisp\_678\_18
559. Schär MO, Diaz-Romero J, Kohl S, Zumstein MA, Nestic D. Platelet-rich concentrates differentially release growth factors and induce cell migration in vitro. *Clin Orthop Relat Res*. May 2015;473(5):1635-43. doi:10.1007/s11999-015-4192-2
560. Martin JA, Klingelhutz AJ, Moussavi-Harami F, Buckwalter JA. Effects of oxidative damage and telomerase activity on human articular cartilage chondrocyte senescence. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. Apr 2004;59(4):324-37. doi:10.1093/gerona/59.4.b324

561. Yang W, de Bono DP. A new role for vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factors: increasing endothelial resistance to oxidative stress. *FEBS letters*. 1997;403(2):139-142.
562. Baregamian N, Song J, Jeschke MG, Evers BM, Chung DH. IGF-1 protects intestinal epithelial cells from oxidative stress-induced apoptosis. *Journal of Surgical Research*. 2006;136(1):31-37.
563. Fialkow L, Wang Y, Downey GP. Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;42(2):153-164.
564. Zheng L, Ishii Y, Tokunaga A, et al. Neuroprotective effects of PDGF against oxidative stress and the signaling pathway involved. *Journal of Neuroscience research*. 2010;88(6):1273-1284.
565. Biswas SK. Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox? *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016
566. Masoudi EA, Ribas J, Kaushik G, Leijten J, Khademhosseini A. Platelet-rich blood derivatives for stem cell-based tissue engineering and regeneration. *Current stem cell reports*. 2016;2:33-42.
567. Israely T, Nevo N, Harmelin A, Neeman M, Tsafiriri A. Reducing ischaemic damage in rodent ovarian xenografts transplanted into granulation tissue. *Human Reproduction*. 2006;21(6):1368-1379.
568. Chen Y-L, Sun C-K, Tsai T-H, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells embedded in platelet-rich fibrin scaffolds promote angiogenesis, preserve heart function, and reduce left ventricular remodeling in rat acute myocardial infarction. *American journal of translational research*. 2015;7(5):781.
569. Steinert AF, Nöth U, Tuan RS. Concepts in gene therapy for cartilage repair. *Injury*. Apr 2008;39 Suppl 1(Suppl 1):S97-113. doi:10.1016/j.injury.2008.01.034
570. Rudderman RH, Guyuron B, Mendelsohn G. The fate of fresh and preserved, noncrushed and crushed autogenous cartilage in the rabbit model. *Annals of plastic surgery*. 1994;32(3):250-254.

## **EKLER**

**EK A** : Etik kurul onayı

**EK B** : Deney hayvanları kullanım sertifikası