



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

**DONÖR ALANA TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA
İNFİLTASYONUNUN ALINAN YAĞ GREFTİ ELDESİ ÜZERİNDEKİ
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ufuk DURGUN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Selma SÖNMEZ ERGÜN

MAYIS 2022



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

**DONÖR ALANA TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA
İNFİLTRASYONUNUN ALINAN YAĞ GREFTİ ELDESİ ÜZERİNDEKİ
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ufuk DURGUN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Selma SÖNMEZ ERGÜN

MAYIS 2022

ÖNSÖZ

Bugünlere gelmemdeki en büyük etken olup, hayatını oğluna adanmış bir öğretmen olan, varlığıyla her zaman kendimi şanslı hissettiğim, gurur duyduğum, arkamdaki en büyük ve en özel güç olarak gördüğüm, hem babam hem en yakın arkadaşım olan Hayri DURGUN'a, varlığımla borçlu ve minnettar olduğum, beni dünyaya getiren, benim için en büyük emekçi kadın olan annem Yüksel DURGUN'a

İyi ve kötü günlerimde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, akademik kariyerimde yaptığı fedakarlıkları daima hatırlayacağım, klinik tecrübeleriyle ve insanlığıyla daima örnek olan, aynı zamanda tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Selma Sönmez ERGÜN'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca bizleri güncel tutmaya çalışarak ufukumuzu genişleten, daima önümüzü açarak mentorluk yapan, sunmuş olduğu sayısız fırsatlarla kendisine daima minnettar olacağım, pozitif enerjisi ile bizleri daima motive eden, kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Prof. Dr. Ethem GÜNEREN'e,

Samimiyetine her zaman inandığım, ihtisas sürecinde kendisinden çok şey öğrendiğim, cerrahi eğitimimin yapıtaşlarından biri olarak görüp, her zaman örnek aldığım, gerek hocalığı gerek insanlığı ile verdiği destekleri hiçbir zaman unutmayacağım değerli hocam Doç. Dr. Kemalettin YILDIZ'a

Başta kendisinden çok şey öğrendiğim, ihtisasım boyunca bana yol gösteren, desteğini esirgemeyen, her zaman kendisine minnettar kalacağım sayın kıdemlim Dr. Mustafa ÜNAL olmak üzere birlikte çalışmaktan ve zaman geçirmekten büyük mutluluk duyduğum, asistanlık sürecim boyunca bana çok büyük katkıları bulunan değerli asistan arkadaşlarıma,

Tüm Bezmialem Vakıf Üniversitesi çalışanlarına,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2022

Dr. Ufuk Durgun

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 haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Ufuk Durgun

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iii
BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
RESİM LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
ÖZET	xii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Yağ Dokusu	2
2.1.1 Genel özellikler	2
2.1.2 Yağ dokusu tipleri	3
2.1.3 Yağ dokusunda bulunan hücreler	4
2.1.4 Yağ hücresi ve kök hücre ilişkisi	4
2.2 Yağ Grefti	5
2.2.1 Yağ greftinde tarihsel gelişim	5
2.2.2 Yağ grefti hazırlık süreci	7
2.2.3 Yağ greftinde sağ kalım	10
2.2.4 Alıcı bölge	12
2.2.5 Donör alan	12
2.2.6 Yağ grefti kullanım alanları	13
2.3 Trombositten Zengin Plazma (TZP)	13
2.3.1 TZP'nin tanımı	13
2.3.2 TZP'nin tarihsel süreci	14
2.3.3 TZP'nin hazırlanması	15
2.3.4 TZP'nin kullanım alanları	16
2.3.5 TZP'nin yağ dokusu üzerindeki etkisi	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1 Gruplar	18
3.2 Deney Planı	18
3.2.1 TZP'nin hazırlanması	20
3.3 Biyokimyasal Analiz	22
3.4 Histolojik Analiz	23
3.5 İstatiksel Analiz	24

4. BULGULAR	26
4.1 Biyokimyasal Analiz Bulguları	26
4.2 Histolojik Analiz Bulguları	34
4. TARTIŞMA	47
5. SONUÇLAR	53
KAYNAKLAR	55
EKLER.....	68
ÖZGEÇMİŞ	70



KISALTMALAR

ACS	: Adipozit kökenli kök hücre
CK18-M30	: Sitokeratin 18- monoklonal antikor 30
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
FDGF	: Fibroblast kökenli büyüme faktörü
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL-1β	: İnterlökin bir beta
IL-6	: İnterlökin altı
LPL	: Lipoproteinlipaz
OSI	: Oksidatif stres indeksi
PBS	: Fosfat tamponu
PDGF	: Platelet kökenli büyüme faktörü
SF	: Serum Fizyolojik
SVF	: Stromal vasküler fraksiyon
TAS	: Total antioksidan seviyesi
TGF	: Transforming büyüme faktörü
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
TOS	: Total oksidan seviyesi
TZP	: Trombositten Zengin Plazma
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

RESİM LİSTESİ

Sayfa

Resim 3.1 : Sol inguinal bölgeye serum fizyolojinin subkutan infiltrasyonu	19
Resim 3.2 : Sol inguinal bölgeye TZP'nin subkutan infiltrasyonu	19
Resim 3.3 : Sol inguinal yağ yastıkçığının yağ grefti eldesi olarak alınması.....	20
Resim 3.4 : Sıçanlardan intrakardiyak girişimle kan alımı	21
Resim 3.5 : Santrifüj işlemi için kullanılan cihaz.....	21



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 : TZP içeriğindeki büyüme faktörleri ve görevleri (67).....	14
Tablo 4.1 : Biyokimyasal parametrelerin ölçümlerle ilgili genel özellikleri, dağılımı.....	26
Tablo 4.2 : TZP ve Kontrol grupları içi ve gruplar arası parametrelerin 1. hafta ve 2. hafta düzeylerinin değerlendirilmesi	27
Tablo 4.3 : TZP ve Kontrol grupları arasındaki parametre farklarının (1. hafta ve 2. hafta) karşılaştırılması	29

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : a) Yağ hücresinin görünümü b) Kahverengi ve beyaz yağ dokusunun mikroskopik görünümü (12).	3
Şekil 2.2 : Yağ greftinin tarihsel süreci (33).....	6
Şekil 2.3 : Liposuction yöntemi ile yağ grefti alınması (48).	8
Şekil 2.4 : Santrifüj işlemi sonrası oluşan 3 tabaka (62).	10
Şekil 2.5 : Periferden merkeze doğru yağ grefti zonları (67).	11
Şekil 2.6 : Tüpün santrifüj sonrası görünümü (67).....	16
Şekil 4.1 : IL-1 β değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri.....	30
Şekil 4.2 : IL-6 değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri.....	30
Şekil 4.3 : TNF- α değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri.....	31
Şekil 4.4 : VEGF değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri	31
Şekil 4.5 : EGF değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri	32
Şekil 4.6 : TOS değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri	32
Şekil 4.7 : OSI değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri.....	33
Şekil 4.8 : CK18-M30 değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri	33
Şekil 4.9 : 1.hafta kontrol grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ doku; N: Nekrotik doku alanı; F: Fibrotik doku alanı (Hematoksilen- Eozin X40).....	34
Şekil 4.10 : 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ doku, N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, V: Damar, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Hematoksilen- Eozin X100).....	35
Şekil 4.11 : 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. Siyah ok: Ödemli ve vakuollü hücre, Siyah ok başı: piknotik nükleuslu hücre, Yıldız: sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, V: Damar (Hematoksilen- Eozin X200).	36
Şekil 4.12 : 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. N: nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: dejenere yağ dokusu (Masson trikrom X200).....	37
Şekil 4.13 : 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: irili ufaklı vakuoller (Masson trikrom; X 200).....	38
Şekil 4.14 : 1. hafta TZP grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alanı, Asteriks: dejenere yağ dokusu (Hematoksilen- Eozin X100).	39
Şekil 4.15 : 1.hafta TZP grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu; F: Fibrotik doku alanı (Masson trikrom X100).	40
Şekil 4.16 : 1.hafta TZP grubuna kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, kırmızı ok: damar, F: Fibrotik doku alanı (Masson trikrom X100).....	41
Şekil 4.17 : 1.hafta TZP grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, Kırmızı ok: damar (Masson trikrom X200).....	42

Şekil 4.18 : 2.hafta kontrol grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Hematoksilen- Eozin X100).....	43
Şekil 4.19 : 2.hafta kontrol grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Masson trikromX100).....	44
Şekil 4.20 : 2. hafta TZP grubuna ait kesitler. N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Masson trikrom X100)...	45
Şekil 4.21 : 2. hafta TZP grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, F: Fibrotik doku alanı, (Masson trikrom X200).	46



DONÖR ALANA TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA İNFİLTRASYONUNUN ALINAN YAĞ GREFTİ ELDESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

ÖZET

Giriş: Plastik cerrahide, yağ grefti uygulamaları sık yapılan işlemlerdendir. Mevcut yağ greftinin alıcı alandaki sağ kalım oranını arttırmak amacıyla yapılan çok sayıda çalışma vardır. Donör alandaki yağ dokusunun, sağ kalımı arttırmak amacıyla yağ dokusunun alımı öncesinde greft alınacak bölgenin biyolojik ajanlarla uyarılması (priming) gibi işlemlerin yapıldığına dair verilere ise yaptığımız literatür taramalarında rastlanmamıştır.

Çalışmamızda; sıçanlarda donör alana uygulanan trombositlen zengin plazma infiltrasyonunun (TZP) alınan yağ grefti üzerinde oluşturduğu değişiklikleri ortaya koymak ve bu uygulamanın yağ grefti sağ kalımına etkisini çeşitli parametrelerle saptamak amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 30 adet, ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen, erkek Sprague-Dawley tipi sıçan kullanıldı. Sıçanlar random olarak her grupta 12 sıçan olmak üzere 2 ana gruba (kontrol grubu ve çalışma grubu) ayrıldı. Ana gruplar da her grupta 6 sıçan olacak şekilde yine random olarak 2 alt gruba bölündü. 6 sıçan ise TZP hazırlamak için kullanıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara serum fizyolojik, çalışma grubundaki sıçanlara ise TZP uygulaması yapıldı. Uygulama sonrasında kontrol ve TZP grubunun yarısı 1. haftada, diğer yarısı ise 2. haftada sol ingunal yağ yastıkçığından yağ grefti örnekleri alındıktan sonra kurban edildiler. Alınan yağ grefti örnekleri üzerinde, histolojik analiz (ışık mikroskopu ve immünohistokimyasal incelemede, yağ dokusu histolojik görünümü, inflamasyon durumu, fibrotik değişiklikler, damar sağlığı ve sayısı açısından) ve biyokimyasal analiz ile (IL-1 β , IL-6, TNF- α , EGF, VEGF, CK18-M30, TAS ve TOS düzeylerinin ELISA kitleri ile ölçümü) değerlendirildi. İstatistiksel analizler için SPSS Windows Version 24.0 paket programı, Shapiro-Wilk, Student t ve Mann Whitney U testi kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmamızda IL-1 β , IL-6, TNF- α gibi proinflatuar belirteçlerin seviyeleri, TZP grubunda, 1. ve 2. haftada, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p < 0.05$). VEGF ve EGF seviyeleri, TZP grubunda, 1. ve 2. haftada, kontrol grubuna göre yüksek saptandı ($p < 0.05$). CK18-M30 seviyeleri, TZP grubunda, 1. ve 2. haftada, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p < 0.05$). Kontrol grubunun TOS değerlerinin, TZP grubunda gözlenen değerlere kıyasla, 1. haftada, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p = 0,002$). Fakat 2. hafta gözlenen TOS değerlerinin her iki grupta benzer olduğu saptandı ($p = 0,180$). TZP grubunun TAS değerlerinin, kontrol grubunda gözlenen değerlere kıyasla, her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p < 0,05$). Kontrol grubunun OSI değerlerinin TZP grubunda gözlenen değerlere kıyasla her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p < 0,05$). Histolojik incelemelerde, 1. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerinin kontrol

grubuna göre daha fazla damar içerdiği görüldü. 1. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerde sağlam yağ dokusu alanlarının dışında, kontrol grubuna oranla daha az dejenere yağ dokusu alanları ve çevresinde nekroze alanlar görüldü. İnflamasyon belirtisi olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi. Kontrol grubuna göre daha sınırlı ve daha az alanda fibrotik bağ dokusu görüldü. 2. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerde sağlam yağ dokusunun azaldığı ve nekroze doku alanlarının arttığı dikkati çekti. Fibrotik bağ dokusu olduğu izlendi, ancak 2. hafta kontrol grubu kadar belirgin bir artış yoktu. İnflamasyon belirtisi olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi.

Sonuç: Çalışmamızda kullanılan parametrelerden yola çıkarak elde edilen sonuçlara göre, istatistiksel açıdan TZP grubunda kontrol grubuna göre oksidatif strese daha dayanıklı, apoptozis oranı daha az, neovaskülarizasyon potansiyeli daha yüksek ve inflamasyondan daha az etkilenen yağ hücrelerine ait bulgular ortaya çıkmıştır. Özellikle 1. haftadaki değerlerin daha anlamlı olması, bizi 1 haftalık bekleme süresinin yeterli olacağı düşüncesine götürdü. Mevcut çalışmamızın ortaya koyduğu verilerin, yağ grefti uygulamalarında farklı bir bakış açısı kazandıracağını ve yağ greftinin sağ kalımı bakımından yeni çalışmaların kapılarını açacağını düşünmekteyiz.

EFFECTS OF PLATELET-RICH PLASMA INFILTRATION TO DONOR AREA ON HARVESTED FAT GRAFTS

SUMMARY

Introduction: Fat grafting is one of the most common procedures performed in plastic surgery. There are many studies conducted to increase the survival of fat graft in the recipient site. There was no study found in our literature review that investigated priming of the donor site with biologic agents in order to increase graft survival rate. In our study, we aimed to investigate effect of platelet-rich plasma (PRP) infiltration to the donor area on fat graft survival through various parameter.

Method: Thirty male Sprague-Dawley type rats between 300-350 g were used in the study. Rats were randomly divided into 2 main groups (control group and study group) with 12 rats in each group. The main groups were also randomly divided into 2 subgroups with 6 rats in each group. 6 rats were used to prepare PRP. Planned donor sites (the left inguinal fat pad) of the rats in the control group were treated with 0,5 ml of normal saline, and the rats in the study group were treated with 0,5 ml of PRP through subcutaneous area. After the application, half of the control and PRP groups were sacrificed in the 1st week and the other half in the 2nd week after taking fat graft samples from the left inguinal fat pad. Histological analysis (in light microscopy and immunohistochemical examination, in terms of adipose tissue histological appearance, inflammation status, fibrotic changes, vascular health and number) and biochemical analysis (IL-1 β , IL-6, TNF- α , EGF, VEGF, CK18-M30, TAS and TOS levels) on the fat graft samples were evaluated. Shaphiro-Wilk, Student t and Mann Whitney U tests were used for statistical analysis through SPSS Windows (Version 24.0) program. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: In our study, the levels of proinflammatory markers such as IL-1 β , IL-6, TNF- α were found to be significantly lower in the PRP group at the 1st and 2nd weeks compared to the control group ($p < 0.05$). VEGF and EGF levels were higher in the PRP group at the 1st and 2nd weeks compared to the control group ($p < 0.05$). CK18-M30 levels were found to be significantly lower in the PRP group at the 1st and 2nd weeks compared to the control group ($p < 0.05$). TOS values of the control group were found to be statistically significantly higher in the 1st week compared to the values observed in the PRP group ($p = 0.002$). However, TOS values observed in the 2nd week were found to be similar in both groups ($p = 0.180$). TAS values of the PRP group were found to be statistically significantly higher in both weeks compared to the values observed in the control group ($p < 0.05$). OSI values of the control group were found to be statistically significantly higher in both weeks compared to the values observed in the PRP group ($p < 0.05$). In histological examinations, it was observed that the sections of the fat tissues of the 1st week PRP group had better vasculature density than the control group. First week PRP group adipose tissue sections had less degenerated fat tissue and necrosis around intact adipose tissue compared to the control group. Inflammatory cell infiltration, which is a sign of inflammation, was not observed. Compared to the control group, fibrotic connective tissue was seen in more limited and less areas.

Second week PRP group adipose tissue sections had less intact adipose tissue and more necrosis compared to first week. Fibrotic connective tissue was observed but it was still less than second week control group. No inflammatory cell infiltration was observed.

Conclusion: According to the results obtained from the parameters used in our study, PRP group fat grafts were statistically more resistant to oxidative stress, less affected by inflammation and had less apoptosis rate and higher neovascularization potential compared to the control group. In particular, the fact that the values in the 1st week were more dramatic, led us to the thought that a 1-week waiting period would be sufficient. We think that the data revealed by our current study will provide a different perspective in fat graft applications and will open the doors of new studies in terms of fat graft survival.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Plastik cerrahide yağ grefti uygulamaları sık yapılan işlemlerdendir. Mevcut yağ greftinin alıcı alandaki sağ kalım oranını arttırmak için yapılan çok sayıda çalışma vardır (1,2). Oysa yaptığımız literatür taramalarında yağ dokusunun alımı öncesinde donör bölgeden alınacak greftin sağ kalımını arttırmak amacıyla biyolojik ajanların kullanımına (priming) ilişkin çalışmalara literatürde rastlanmamıştır. Donör yağ rezervi yetersiz olan zayıf hastalardan elde edilecek yağ greftinin sağ kalım oranını arttırabilmek rekonstrüktif ve estetik işlemler için yağ greftlerini sıklıkla kullanan plastik cerrahlar için önemli bir kazanç olacaktır.

Trombositten zengin plazma (TZP) yüksek trombosit konsantrasyonlarına sahip olan ve çeşitli büyüme faktörleri içeren biyomatriks bir bileşendir. Mevcut büyüme faktörlerinin neovaskülarizasyonu arttırdığı, aynı zamanda kök hücre proliferasyonunu tetiklediği gösterilmiştir (3). Vaskülarizasyona olan pozitif etkisi ile iskemi hipoksiye daha dayanıklı greftler elde etmekle yağ greftinin sağ kalım oranında artışın mümkün olacağı düşünülmektedir (3). Maliyetinin düşük ve kolay uygulanabilir olmasının yanı sıra, yağ grefti sağ kalımında olumlu sonuçlarının olduğunu gösteren çalışmalar vardır (2–5).

Literatürde yağ dokusu üzerindeki biyokimyasal ve histolojik değişiklikleri inflamatuvar belirteçler, anjiyogenezi gösteren belirteçler, oksidatif stres düzeyini gösteren belirteçler ve apoptozisi gösteren parametrelerin bakıldığı çalışmaların yanısıra histolojik kesitlerdeki inflamatuvar bulguları, kapiller dansite değişikliklerini, yağ nekrozu bulgularını ve kist-vakuol oluşumunu da gösteren sıçanlar üzerinde yapılmış olan deneysel çalışmalar da mevcuttur (1, 6, 7).

Çalışmamızda; sıçan modelinde donör alana yapılan plateletten zengin plazma infiltrasyonunun, alınan yağ grefti üzerinde oluşturduğu değişikliklerin yağ sağ kalımı açısından çeşitli parametreler kullanılarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Yağ Dokusu

2.1.1 Genel özellikler

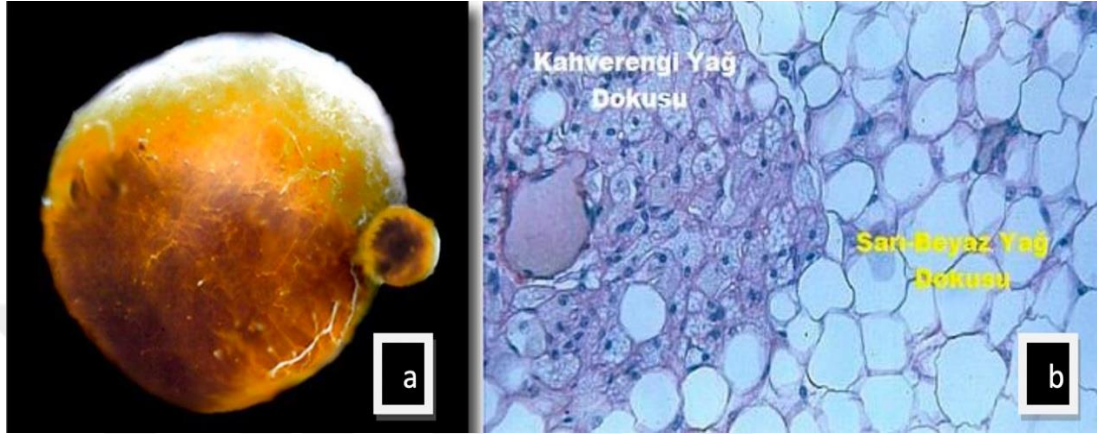
Yağ dokusu; çoğunluğu ince hücre zarlı, lipit yüklü yağ hücrelerinden meydana gelir. Ortalama çapları 50-150 μm aralığındadır. Metabolik koşullara göre değişmekle birlikte, yağın sarı renkte görünümünü sağlayan trigliseritler, hücrenin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır. Mezenkimal kaynaklı gelişen yağ hücrelerinin dışında, stromal vasküler komponent denilen bir hücre alt grubunu da içermektedir. Vücudun enerji gereksiniminde primer depo sağlayıcı ünitesi olan yağ hücreleri, aynı zamanda önemli endokrin fonksiyonlara da sahiptir. Geniş ekspansiyon kapasitesine sahip olan bu hücreler mikroskobik olarak hücre çaplarının 20 katına kadar büyüme göstermekle beraber, hacimsel olarak da yaklaşık bin katına kadar büyüebilmektedirler. Ortalama yaşam döngüleri 1-10 yıl arasında değişmektedir.

Embriyolojik kökeni fibroblastlar olan yağ hücreleri, mitozla çoğalarak preadipozitlere dönüşmektedir. Preadipozitlerden yağ hücrelerine dönüşümün, yaşamın özellikle ilk iki yılında zirve yaptığı saptanmıştır (8). Yağ hücresi sayısı ergenliğe kadar artmaya devam etmektedir. Ergenlik sonrasında sayı sabit kalır, sadece hücre büyüklüğünde değişimler görülür (9,10). Yağ hücrelerinin sayı ve büyüklüğündeki değişimde aynı zamanda preadipozitlerin farklılaşmasındaki biyokimyasal süreçlerin de etkisi bulunmaktadır (11).

Yağ hücresi zarlarının permeabilitelerinin fazlalığı ile beraber zengin bir damar ağına sahip olması, hücrelerin beslenmesi açısından büyük bir avantaj sağlamaktadır. Yağ hücreleri, lobül ya da lokül olarak bilinen, her birine ait ayrı vasküler pedikül bulunan üniteler içerisinde bulunmaktadır. Vasküler ağ bakımından zenginliği ve hücrelerin oksijen tüketiminin daha az olması neden vücutta parsiyel oksijen basıncının en yüksek olduğu dokudur.

2.1.2 Yağ dokusu tipleri

Enerjiyi tek bir büyük lipid ünite olarak depolayan, ayrıca endokrin fonksiyonlara da sahip olan beyaz yağ dokusu ve çok sayıda küçük lipid ünite de enerji depolayan, ancak özellikle vücut ısını üretmek için yakıt olarak kullanan kahverengi yağ dokusu olmak üzere, iki genel yağ dokusu tipi bulunmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 : a) Yağ hücresinin görünümü b) Kahverengi ve beyaz yağ dokusunun mikroskopik görünümü (12).

Beyaz yağ dokusu, visseral ve cilt altı yağ dokusu olarak ikiye ayrılmaktadır. Büyük uniloküler ve küçük multiloküler yağ hücrelerini beraber barındıran cilt altı yağ dokusu heterojen görünümündedir. Visseral yağ dokusu ise geniş ve tek loküllü yağ hücrelerini içermekle beraber uniform yapıdadır (13). Omentum ve mezenterde bulunan visseral yağ dokusu cilt altı yağ dokusuna göre daha fazla hücresel, vasküler, sinirsel innervasyona sahiptir. İnflamatuar ve immün hücre bakımından da daha zengindir. Periadipozit farklılaşma kapasitesi ise cilt altı yağ dokusunda daha fazla olmaktadır (11). Hücresel açıdan bakıldığında bu iki yağ dokusu alt tipinin hücre zarı reseptörleri, yağ asidi salgılama ve depolama özelliklerinde de farklılıklar vardır. Visseral yağ dokusunda insülin reseptörleri ve IL-6 salınımı baskın olup, cilt altı yağ dokusunda ise anjiyotensin, leptin ve glikojene ait gen ekspresyonunun daha aktif olduğu gösterilmiştir (8,14,15). Visseral yağ dokusu tüm vücut yağının %10'u iken, yaşlanmayla beraber yaklaşık 2 katına çıkmaktadır. Visseral yağ dokusunda salgılanan yağ asitleri doğrudan karaciğerle bağlantılıdır. İhtiyaç halinde karaciğerde, glukoneogenez ile diğer enerji kaynaklarına çevirilir ya da lipoprotein yapısında tekrar kana geri salınır. Beyaz yağ dokusu vücutta dağılım olarak kemik iliğinde, ayak tabanı, avuç içi, orbita ve eklem çevresi gibi bölgelerde de bulunmaktadır (9, 15–17).

Kahverengi yağ dokusu fetüs ve yenidoğanda, erişkine göre daha fazla bulunmaktadır. Vücutta boyunda, supraklaviküler bölgelerde, paravertebral alanlarda ve koltuk altlarında bulunmaktadır. Bazal enerji dengesini kontrol eder, termoregülasyon görevi ön plandadır. Soğuk çevre koşullarında, çevresel faktörlere bağlı olarak beyaz yağ dokusunun bulunduğu bölgelerde de mevcut olabilmektedir (17,18). Toplam vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturmakla birlikte, mitokondri sayısının beyaz yağ dokusuna göre fazla olması dikkat çekmektedir (16,19). Kas yapılarına ait olan genlerin kahverengi yağ dokusunda aktif olması nedeniyle yapılan in-vitro çalışmalarda, dönüşümün mümkün olabileceği gösterilmiştir. Fetal mezenkimal hücrelerin hem kahverengi yağ dokusuna hem de beyaz yağ dokusuna farklılaşabilmesi, aynı öncül hücrelerden köken aldıklarını akla getirmektedir. Fakat erişkin çağda farklılaşmaya yönelik olarak, mezenkimal kök hücrelerin sadece beyaz yağ hücrelerine dönüştüğü belirtilmiştir (20,21).

2.1.3 Yağ dokusunda bulunan hücreler

Yaklaşık %90'lık kısmını yağ hücreleri oluşturan yağ dokusu, yağ hücreleri dışında da pek çok hücre bulundurmaktadır (22). Histolojik incelemelerde 1 santimetreküplük yağ dokusunda yaklaşık olarak 5-7 milyon hücrenin olduğu gösterilmiştir. Bu hücre içerikleri içerisinde yağ hücresi dışında preadipozitler, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, fibroblastlar, perisitler ve yağ hücresi kökenli mezenkimal kök hücreler de bulunmuştur (23,24). Yağ aspiratının kollejenaz enzimi ile sindirilmesi sonrası elde edilen stromal vasküler fraksiyonda ise lökositler, CD34-, CD31+ yağ kaynaklı stromal/kök hücreler ve endotel hücreler bulunmuştur. Yağ hücrelerini çevreleyen yapılar arasında kan hücreleri, endotelial hücreler, preadipozitler, perisitler ve fibroblastlar bulunmaktadır. Bu hücreler osteoblastlara, kondrositlere, kas hücrelerine ve yağ hücrelerine farklılaşma yeteneğine sahiptirler.

2.1.4 Yağ hücresi ve kök hücre ilişkisi

Multipotent olan embriyonik kök hücrelerin germ tabakasının 3 türevine de (ektoderm, endoderm, mezoderm) dönüşme potansiyeli vardır. Belirli bir hücre türü için gerekli uyarı verildiğinde, yetişkinde yaklaşık 200 kadar hücre tipinin her birine gelişim mümkün olabilmektedir. Sınırsız genişleme ve multipotent olma kabiliyetleri sayesinde rejeneratif tıpta önemli bir kaynak olarak görülmektedirler. Bu potansiyellere sahip hücrelerin farklılaşması için özel sinyaller gerekmektedir.

Doğrudan vücudun farklı bir yerine enjekte edildiklerinde kök hücreler birçok farklı hücre tipine farklılaşarak teratom oluşumuna neden olabilirler (25).

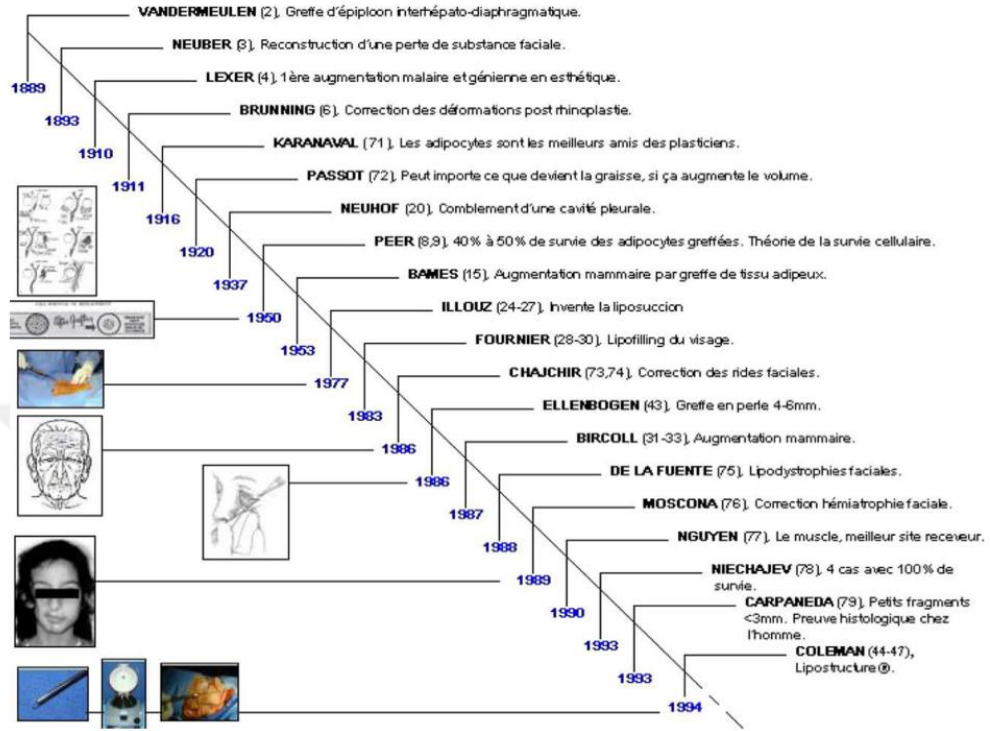
1992 yılında, insana benzer morfolojiye sahip domuz peritoneal yağ dokusundan elde edilen stromal vasküler fraksiyon (SVF), endotelyal büyüme faktörü ve heparin ile kültüre edilerek ilk olarak erken adiposit kök hücreler ayrıştırılmıştır (26). 2004 yılında ise uluslararası yağ uygulama teknolojisi topluluğu tarafından yağ dokusundan elde edilen kök hücreleri adipoz türevi kök hücreler (adipose-derived stem cells, ASC) olarak tanımlandılar. Yağ dokusu kök hücreleri beyaz yağ dokusundaki cilt altı ve visseral yağ dokularından elde edilebilirler, temin edilmeleri kolaydır, kolay kültüre edilirler ve kemik iliği kökenli kök hücrelere göre ayrıştırılmaları daha kolaydır. Kök hücre zenginliği açısından değerlendirildiğinde en çok kök hücre barındıran dokunun yağ dokusu olduğu tespit edilmiştir (27). Kemik iliğinde milimetreküp başına düşen kök hücre sayısı yaklaşık 1000 iken, yağ dokusunda gram başına yaklaşık 300.000 kök hücre bulunmaktadır (28,29).

2.2 Yağ Grefti

2.2.1 Yağ greftinde tarihsel gelişim

Yağ grefti uygulamalarının tarihi süreci 1800’lü yıllara kadar gitmektedir. İlk uygulama 1889 yılında Van Der Molen tarafından omentumdan alınan yağ dokusunun karaciğer ile diyafram arasındaki bölgeye transplante edilmesiyle gerçekleştirilmiştir (30). Rekonstrüktif ve estetik cerrahide kullanım geçmişi 100 yılı aşan bir zamana dayanmaktadır (Şekil 2.2). 1893 yılında ise Gustav Neuber tüberküloza bağlı olarak orbital bölgede osteomyelite bağlı olarak oluşan ikincil defektin rekonstrüksiyonunda yağ dokusunu kullanmıştır (31). Aynı yıllarda Neuber sifiliz sonrası gelişen ‘‘Semer burun’’ deformitesinin rekonstrüksiyonunda da yağ dokusunu kullanmıştır. İlk uygulama denemelerinde yağ greftinin büyüklüğüne bağlı olarak greftin başarısız olduğunu farkederek Neuber, yağ greftlerinin tek kitle halinde kullanımından vazgeçerek çoklu küçük kitleler halinde kullanımının uygun olacağını savunmuştur. Bu uygulamalarını atrofik nedbe, meme rekonstrüksiyonu ve Romberg Sendromu’nda kullanarak sürdürmüştür (32).

1895 yılında, Viktor Czeryny, parsiyel mastektomi operasyonu sonrası tek taraflı simetriyi sağlayabilmek için, hastadan eksize edilen lipomu aynı hastaya nakletmiştir (32).



Şekil 2.2 : Yağ greftinin tarihsel süreci (33).

1908 yılında Martin Charles Willi yağ greftini augmentasyon amaçlı olarak meme ve yüz bölgesinde uygulamaya başlamıştır (34). 1911 yılında ilk subkutan uygulama Bruning tarafından yapılmıştır (35). Yaklaşık 3 yıl sonra yağ grefti kullanım alanları genişlemiş ve kraniyofasiyal cerrahide, meme rekonstrüksiyonunda ve eklem hareket açıklığını arttırmak için de kullanılmıştır (34). Yağ sağ kalımı açısından ilk değerlendirmeler 1956 yılında Lyndon Peer tarafından yapılmış olup, yağ greftinde mekanik kuvvetlere bağlı hacim kaybı gelişebileceğini ortaya koymuştur (33). 1975 yılında modern liposuction yöntemi ile yağ grefti elde edilmesinin temelleri baba-oğul İtalyan cerrahlar Arpad ve Giorgio Fisher tarafından künt uçlu, içi boş kanül yardımıyla yağ greftinin elde edilebileceğinin ortaya konulmasıyla atılmıştır. (36). Sonrasında Fisher ailesinin kuru tekniği Fransız cerrahlar Yves-Gerard Illouz ve Pierre Fournier tarafından lidokain ve epinefrin içeren solüsyonların kullanımıyla modifiye edilmiştir. Günümüze kadar gelen bu yöntem 'wet suction' olarak bilinmektedir (37). Aynı dönemlerde Klein daha az kanamaya neden olan tümesan tekniğini bularak fazla miktarda yağ grefti elde edilmesinin yolunu açmıştır (38). Sydney Coleman 'Lipostructure' olarak adlandırdığı tekniği ile yağ greftinin enjektör yardımıyla düşük basınç altında elde edilmesini, sonrasında santrifüje edilerek saflaştırma işlemi yapılmasının önemini ortaya koymuş, yağ greftinin etraf dokularla temas yüzeyinin

genişlemesini hedef alarak greft revaskülarizasyonun daha kolay olması gibi konulara değinmiştir (39,40).

1893 yılından günümüze kadar gelen bu süreçte dönemsel olarak sınıflandırma yapan Mojallal, tarihi olarak yağ dokusu kullanımını 3 dönemde incelemiştir (33).

Açık Cerrahi Dönemi: 1893-1977 yılları arası aspirasyon yapılmadan, tek parça halinde yağ transplantasyonun yapıldığı dönemi temsil etmektedir.

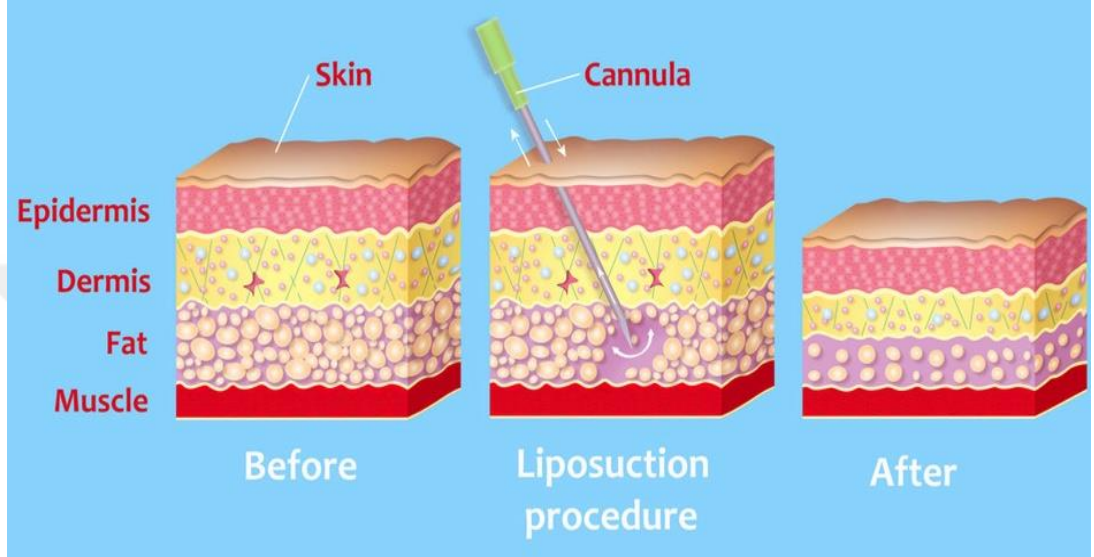
Rafine edilmemiş-Saflaştırılmamış Dönem: 1977-1994 yılları arasındaki saflaştırma yapılmadan yağ greftinin lipoaspirasyonla travmatik şekilde elde edildiği dönemdir.

Rafine Dönem: 1997'den günümüze kadar gelen dönemdir. Sydney Coleman'ın atravmatik tekniğinin ön plana çıkmasından sonraki dönemi temsil etmektedir. Rafine dönem sayesinde yağ greftleme işlemi günümüze kadar gelmiş olup, plastik cerrahi alanında sıklıkla uygulanan ve rejeranatif tıp adına üzerinde çok çalışılan bir alan haline gelmiştir.

2.2.2 Yağ grefti hazırlık süreci

Yağ grefti cerrahi eksizyon, vakum ile aspirasyon veya enjektör ile aspirasyonla elde edilebilir (41). Fazla miktarda yağ elde edimi amaçlandığında liposuction ile alım yöntemi tercih edilmektedir (Şekil 2.3). Cihaz bazlı yağ aspirasyonu açısından Fisher ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; vakum yardımcı liposuction ve ultrasonik liposuction ile elde edilen yağ greftlerine ait stromal vasküler fraksiyon içerikleri ve yağ greftinin sağ kalım oranları arasında anlamlı fark olmadığı saptanmıştır (42). Chung ve arkadaşlarının cihaz bazlı yaptığı bir başka çalışmada ise vakum yardımcı liposuction ile lazer liposuctiondan elde edilen yağ greftlerindeki kök hücrelerin miktarı, proliferasyonu ve viabilitesi değerlendirilmiş olup, lazer liposuction ile elde edilen yağ grefti grubundaki mevcut parametrelerin anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır (43). Enjektör yardımıyla aspirasyon ile vakum cihazıyla yapılan aspirasyon arasındaki farkları inceleyen bir başka çalışmada ise vakum yardımcı aspirasyonda daha fazla kan hücresinin mevcut olduğu, yüksek negatif basıncın da etkisiyle hastada daha fazla ekimoz ve ödem oranı olduğu tespit edilmiştir (44). Kononas ve arkadaşları eksizyon ile alınan greftlerle vakum yardımcı liposuction ile alınanların arasındaki farkları araştırdıkları çalışmalarında, postoperatif 9. ayda vakum yardımcı aspirasyonla elde edilen greftlerin daha fazla dejenerasyona ve fibrozise uğradığını saptamışlardır (45). Siffman'ın yaptığı çalışmada negatif basınç

değerleri farklı olarak alınan yağ greftlerinin canlılık oranları karşılaştırılmıştır. -250, -300 ve -500 mmHg basınçlarla alınan yağ greftlerindeki canlı hücre oranı %98-100 olarak saptanırken, -700 mmHg basınçla alınan yağ greftlerinde canlı hücre oranının %85-90 olduğu saptanmıştır (46). Brandow ve arkadaşlarının yaptığı benzer çalışma da vakum yardımlı aspirasyonun negatif basınç etkisinin yağ hücrelerine zarar verdiği bulgusunu desteklenmiştir (47).



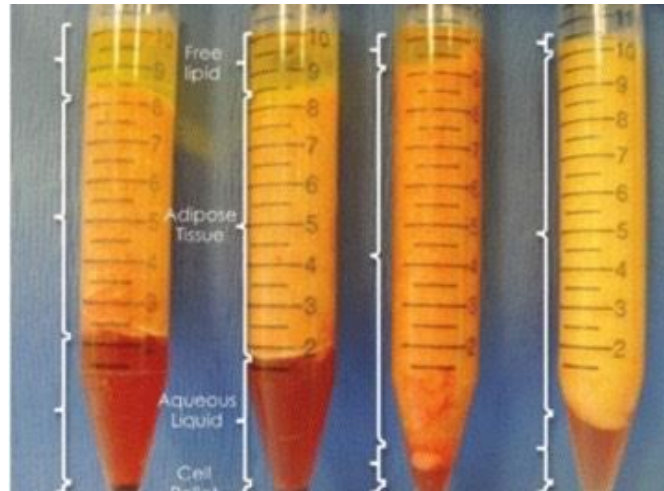
Şekil 2.3 : Liposuction yöntemi ile yağ grefti alınması (48).

Greftin elde edilmesinde kullanılan liposuction kanüllerinin çapları farklılık göstermektedir. Kanül çapı ile alınan greftlerdeki yağ hücrelerinin sağ kalımları arasında bir ilişkinin olup olmadığı net olmamakla birlikte Alharbi ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 2 mm çaplı kanül ile alınan yağ greftlerindeki kök hücrelerin 3 mm çaplı kanüllere göre daha fazla migrasyon yeteneği olduğunu saptamışlar ve bu nedenle doku mühendisliği çalışmalarında daha uygun olacağını savunmuşlardır (49). Bu konuda genel olarak, kullanılan kanül çapı ile yağ hücresi hasarı arasında ters orantının olduğu düşüncesi hakimdir (50). Erdim ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ise 6 mm çaplı kanül ile alınan yağ greftlerinin 2 veya 4 mm çaplı kanüllerle alınanlara göre daha fazla canlı yağ hücresi içerdiğini saptamışlardır (51).

Alınan yağ greftinin kan içeriğinin makrofaj aktivitesini tetikleyerek yağ hücrelerinin fagositozunu arttırdığı görülmüştür (46). Aynı zamanda makrofajların adipozit öncülü hücrelerinin farklılaşmasını bozduğu da tespit edilmiştir (52). Yağ greftinin enjeksiyon öncesinde serum fizyolojik ve ringer laktat gibi solüsyonlarla yıkanması önerilmesine rağmen, Smith ve arkadaşlarının yaptığı çalışma grefti yıkamanın hücre viabilitesine

etkisinin olumsuz olduğunu göstermiştir (53). Greftin saflaştırma (santrifüj) sürecinin greft sağ kalımına etkisini inceleyen Zochi ve arkadaşları, Coleman'ın önerdiği santrifüj işleminin (54) yağ hücrelerinin sağ kalımına olumsuz etkisinin olduğunu ve apoptozisi tetiklediğini savunmuşlardır (55). Chajchir ve arkadaşları santrifüj işlem hızının yağ grefti sağ kalımına olan etkisini araştırdıkları çalışmada hızdan bağımsız olarak santrifüj işleminin sağ kalıma zarar verdiğini öne sürmüşlerdir (56). Literatürde santrifüj işleminin, greftin konsantre edilmesinde yardımcı olduğunu ve sağ kalımında olumsuz etkilerinin olmadığına gösteren oldukça fazla sayıda çalışma vardır (46,47,57). İşlemin 5 dakika boyunca 250 x g (1300 rpm) ivmelenme kuvvetinde yapılmasının yağ hücrelerinden zengin, hücre canlılığının ve adipozit öncül hücrelerinin korunduğu bir süspansiyon elde edilmesini sağladığı savunulan bir diğer durumdur (58). 2012 yılında Amerikan Plastik Cerrahi Derneği tarafından yapılan bir ankete göre; yağ grefti hazırlık sürecinde işleme yöntemi olarak en sık kullanılan yöntemin santrifüj işlemi (%34) olduğu, bunu klasik süzme işleminin (%34) izlediği, gazlı bezle süzme işleminin (%11) ise en az kullanılan yöntem olduğu görülmüştür (59). İdeal santrifüj yönteminin 3000 rpm hızda 3 dakika olarak olması gerektiğini savunan Coleman, yaptığı çalışmada karşılaştırmalı santrifüj hızları ile standardizasyon sağlamaya çalışmıştır (60). Bu konuda yapılan bir başka çalışmada ise 400 x g üzeri ivmelenme kuvvetinde yapılan santrifüjlemelerin yağ hücrelerinde hasar ve ölüm oranını arttıracakı bildirilmiştir (58).

Santrifüj işlemi sonrasında yağ grefti 3 tabakaya ayrılmaktadır (Şekil 2.4). En alt tabaka tümesan solüsyonu ve seröz doku sıvısını içermektedir. En üstteki tabaka trigliseridlerden meydana gelen yağ asidi tabakasıdır. En yoğun oranda yağ hücresi içeren orta tabaka, greft enjeksiyonu için kullanılacak kısım olarak önerilir (61).

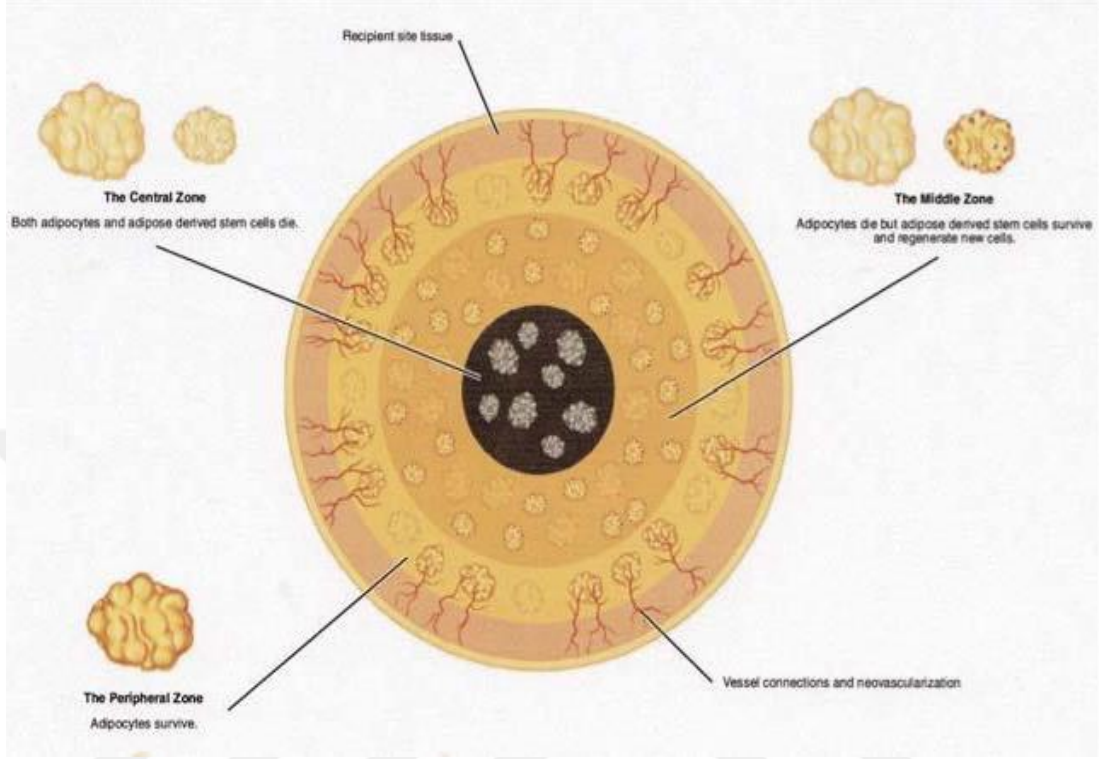


Şekil 2.4 : Santrifüj işlemi sonrası oluşan 3 tabaka (62).

2.2.3 Yağ greftinde sağ kalım

Yağ grefti uygulaması sonrasında alıcı bölgede yapılan mikroskopik araştırmalarda ilk olarak yağ hücrelerinin nötrofillerle infiltre olduğu görülmüştür. Takiben, multinükleer dev hücreler, histiyositler ve makrofajlar bölgeye gelerek buradaki hücresel atıkları temizlemektedirler. Alıcı alana greftin konulmasıyla bölgede akut iskemiye bağlı doku destrüksiyonu başlar. İlk 24-48 saatte plazmatik imhibisyon ile greft beslenmesi gerçekleşir. Anjiyogenezin başlaması, greftlemeden 2-4 gün sonra olmaktadır (63). 2. günde yapılan histolojik değerlendirmelerde greftte kısmi revaskülarizasyonun olduğu görülmüştür. Greftin kanlanması, neovaskülarizasyon ile 4. günde başlar. İskemiye olan hassasiyet nedeniyle hücreler nekroza gitmektedir. Damarlanma sürecinin erken olması greft sağ kalım oranını arttırmaktadır, çünkü beslenme ile greft sağ kalımı doğrudan ilişkilidir. Hücreler iskemiye maruz kaldığında önce zar bütünlüğü bozulur, kist ve vakuol oluşumunda artış gelişir ve sonrasında nekroz meydana gelir. Kayba bağlı olarak alıcı bölgede fibrozis yağ hücresinin yerini alır (40). İskemi süresinin az olması, tetiklediği inflamatuvar süreci de kısalttığı için greft sağ kalım oranını arttırmaktadır (64). Revaskülarizasyon sağlandıktan sonraki dönemde yağ hücrelerindeki yıkıma ve volüm kaybına apoptozisin neden olduğu belirtilmektedir (39). Greft uygulamasını takiben 1 aya kadar alıcı bölgedeki ölü yağ hücrelerinin makrofajlar tarafından temizlenmesi sürdürülmektedir. Bu yüzden mevcut yağ grefti hacmindeki kaybın süreç içerisinde devam etmesi olağan bir durumdur. Apoptozis kaskadını tetikleyici faktörler arasında inflamasyona bağlı sitokinler ile hipoksi önemli rol oynamaktadır (64). Yağ greftinde nekroz ve rezorpsiyon sürecini değerlendiren çalışmalar sonucunda yağ greftinde 3 zon tanımlanmıştır (64–66). Periferden merkeze doğru; adipozitlerin mevcut olduğu yaşayan zon (surviving zone), kök hücrelerin görülüp adipozitlerin görülmediği rejenerasyon zonu (rejuvenating zone) ve hem kök hücre hem adipozitlerin olmadığı, nekrotik zon (necrotic zone)'dur. Neoanjiyogenez dış kısımdan başladığı için santral bölge iskemik olan zondur (Şekil 2.5). İlk 24 saatte yağ hücrelerinde apoptozis olur, kök hücrelerin ise yaklaşık 3 gün daha yaşayabildiği gözlemlenmiştir. 5. günden 1.haftaya kadar olan süreçte prekürsör hücrelerden çoğalan adipozitler görülmüştür (40).

Yağ grefti sağ kalımı, alıcı sahanın kanlanma durumuna, mikrovasküler yoğunluğa, iskemi-hipoksiye dayanıklılık süresine, inflamasyon tipi ve derecesine, sistemik büyüme faktörlerine ve canlı yağ hücre sayısına bağlı olmaktadır.



Şekil 2.5 : Periferden merkeze doğru yağ grefti zonları (67).

Adipoz türevi kök hücrelerin iskemi altında 3 gün boyunca canlı kalmasına karşın, adipozitlerin iskemiye en duyarlı hücreler oldukları saptanmıştır (68). Nishimura ve arkadaşları erken dönemde olan yağ grefti kaybını iskemi nedenli görürken, geç dönemdeki kaybın apoptozise bağlı olduğunu savunmaktadır (69). Graft bölgesine inflamatuvar hücrelerin göçüyle birlikte salınan sitokin artışı, bölgede lokal ödem ve hücreler arasına sıvı geçişinin artmasına sebep olduğundan, yağ grefti uygulanan alanda iskemiye tetiklemektedir (70). Akut dönemde oluşabilecek inflamasyonun azaltılmasının greft sağ kalımı açısından yararlı olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle inflamasyonu azaltıcı etkisi bulunan aynı zamanda vaskülarizasyona pozitif etkisi olacak olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast kökenli büyüme faktörü (FDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi faktörlerin donör alandaki yağ dokusunu uyararak greft sağ kalımını olumlu yönde etkilediği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (71–74).

2.2.4 Alıcı bölge

Alıcı sahanın vaskülarizasyon yoğunluğunun greftin yaşayabilirliği açısından önemli olduğu savunulmaktadır. Guerrerosantos ve arkadaşları, yağ greftinin kanlanması yüksek olan kas ve benzeri dokulara uygulandığında greft sağ kalımının daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir (75). Alıcı bölgedeki yüzey alanının greft ile temas fazlalığı vaskülarizasyonu pozitif olarak etkilediği için önem taşımaktadır. Alıcı bölgeye yapılacak yağ enjeksiyonunun teknik farklılıklarının da rezorbsiyon oranını etkilediği gözlemlenmiştir (76). Tekniksel açıdan Coleman, greftin alıcı bölgeye enjeksiyonunun iğne veya kanül geri çekilirken yapılmasını, her enjeksiyonda az miktarda yağ grefti verilmesini ve farklı seviyelerde uygulama yapılmasını önermektedir (60). Alıcı bölgede neovaskülarizasyonu tetiklemek amacıyla VEGF enjeksiyonu uygulaması yapılarak vaskülaritesinde artış sağlanan yağ greftinin sağ kalımının incelendiği bir çalışmada greft yaşayabilirliğinin arttığı saptanmıştır (77).

2.2.5 Donör alan

Yağ grefti alımında donör alan olarak karın, bel (flank), diz ve uyluğun medial bölgesi kullanılmaktadır (78). Donör alan seçiminin greft yaşayabilirliğini etkilediğine dair kesin bir görüş birliği olmamakla birlikte, Padoin ve arkadaşları, uyluk medialinden alınan yağ greftlerindeki kök hücre içeriğinin daha yoğun olduğunu savunmuşlardır (79). Yine Hudson ve arkadaşları lipoproteinlipaz (LPL) enzim aktivitesinin femoral alandaki yağ dokusunda fazla olmasına bağlı olarak bu bölgeden alınan greftin sağ kalımının daha fazla olacağı görüşünü savunmuşlardır (80). Di Taranto ve arkadaşları ise karnın yüzeyel yağ tabakasından elde edilen yağ greftinin kök hücre içeriğinin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (81). Fournier ise pubik bölge ve kalça bölgesinden greft alınmasının daha uygun olacağını savunmuştur (82). Kilo değişimlerine hızlı yanıt vermeyecek olan bölgeler olarak lateral uyluk ve bel bölgesinin seçilmesi gereken donör sahalar olduğu görüşü de mevcuttur (83). 2004 yılında Rohrich ve arkadaşları 4 farklı vücut alanından alınan yağ greftlerinde, viabilite oranlarını karşılaştırmışlar ve uyluk, karın, bel ve diz bölgeleri arasında anlamlı fark olmadığını saptamışlardır (84). Donör alan seçiminde; bölgenin kolay ulaşılabilir olması ve estetik açıdan hastaya uygun olacağı düşünülen bölgenin seçilmesi çoğunluk tarafından kabul edilen ortak bir kanıdır (40, 85, 86).

2.2.6 Yağ grefti kullanım alanları

Tarihsel olarak yağ greftinin ilk kullanımının yapıldığı dönemlerde kullanım alanları ağırlıklı olarak hacim odaklı iken, ilerleyen zamanlarda kök hücre içeriğinin gündeme gelmesi ile farklı amaçlarla da kullanımı söz konusu olmuştur (87). Tiryaki ve arkadaşları, yüz gençleştirmede ve yumuşak doku augmentasyonunda yağ grefti kullanımının ideal bir tedavi seçeneği olduğunu bildirmişlerdir (88). Sklerozis ile ilerleyen sistemik hastalıklarda ve radyoterapi sonrası bölgede oluşan deri atrofisi ve fibrozis için de kullanımının faydalı olduğu belirtilmiştir (89). Periferik nöropatilerde de kullanımının fayda sağladığı görülmüştür (90). Son dönemlerde implant ile beraber kompozit meme büyütme ameliyatlarında da kullanımı söz konusu olmaktadır (91). Meme kanseri sonrası meme rekonstrüksiyonunda da kullanımı mevcuttur. Poland sendromlu hastalarda göğüs bölgesine hacim kazandırmakta flepler ve implantlara yardımcı olarak da kullanılmaktadır (92). Kalça bölgesinin estetik açıdan büyütme operasyonlarında implantların kullanımına ek olarak veya diğer seçenek olarak yağ grefti ile augmentasyon sağlamak, popüler hale gelen bir diğer kullanım alanıdır (93).

2.3 Trombositten Zengin Plazma (TZP)

2.3.1 TZP'nin tanımı

TZP kanın plazma fraksiyonunun trombosit konsantrasyonu yoğun içerikli olan hacimsel kısmıdır (94). Normal trombosit sayımında sağlıklı bireyde mikrolitre başına 150.000 ile 450.000 olmakla birlikte, TZP'de hedeflenen miktar mikrolitre başına en az 1.000.000 trombosit elde edilmesidir (94). Yapılan çalışmalarda optimal etkinin gözlemlenmesi için TZP'nin trombosit yoğunluğu normal kandaki yoğunluğunun minimum 1,3-2 kat, maksimum 4-6 kat arasında olması gerektiği, yüksek yoğunlukta inhibisyon etkisi göstereceği savunulmuştur (95–97).

Biyomatriks bir bileşen olan TZP; büyüme faktörlerinden zengin olup, içerik olarak vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), transforming büyüme faktörü (TGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF-2), platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF) gibi büyüme faktörleri, koagülasyon faktörleri, endostatin, kalsiyum, serotonin, platelet tromboplastin, trombostatin, histamin gibi trombosit stoplazmasında bulunan bir çok içeriğe sahiptir (98) (Tablo 2.1).

Toksik etkisinin olmaması ve biyo-uyumlu olması nedeniyle, güvenilir olan TZP, sağladığı büyüme faktörleriyle endotelial hücrelere diğer hücrelerden daha fazla

mitotik etki yaptığı bilinmektedir. Trombositlerin; içindeki alfa granüllerinden salgılanan PDGF, VEGF, EGF ve TGF ile anjiyogenez stimülasyonu, hücre proliferasyonu, matürasyonu ve matriks oluşumunu uyardığı bilinmektedir (99).

Tablo 2.1 : TZP içeriğindeki büyüme faktörleri ve görevleri (67).

Büyüme faktörü	Fonksiyonu
Transforming büyüme faktörü β (TGF- β)	Farklaşmamış mezenkimal hücre proliferasyonunu uyarır.
	Endotelial, fibroblastik ve osteoblastik mitogenezi regüle eder
	Kollojen sentezini ve kollagenaz sekresyonunu regüle eder.
	Diğer büyüme faktörlerinin mitojenik etkisini regüle eder.
	Endotelial kemotaksisi ve anjiogenezi stimüle eder.
	Makrofaj ve lenfosit proliferasyonunu inhibe eder.
Fibroblast büyüme faktörü (FGF)	Kondrositlerin ve osteoblastların farklılaşmasını ve büyümesini destekler
	Mezenkimal hücreler, kondrositler ve osteoblastlar için mitojeniktir.
Platelet kaynaklı büyüme faktörü a ve b (PDGF)	Mezenkimal hücreler ve osteoblastlar için mitojeniktir.
	Düz kas, glial ve fibroblast hücrelerinde mitogenezi ve kemotaksisi stimüle eder.
	Kollojen sentezini ve kollagenaz sekresyonunu regüle eder.
	Makrofaj ve nötrofil kemotaksisini stimüle eder.
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	Endotelial kemotaksisi veya anjiogenezi stimüle eder.
	Kollojenaz sentezini regüle eder.
	Epitelial veya mezenkimal mitogenezi stimüle eder.
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	Anjiogenezi ve damar permeabilitesini artırır
	Endotel hücreleri için mitogenezi stimüle eder.
Konnektif doku büyüme faktörü (CTGF)	Anjiogenezi destekler
	Kartilaj rejenerasyonu
	Fibrozis ve platelet adezyonu
İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF 1 ve 2)	Fibroblastlar için kemotaktiktir ve protein sentezini stimüle eder.
	Kemik formasyonunu artırır.
Platelet faktör 4 (PF-4)	Nötrofillerin yaradaki başlangıç etkilerini stimüle eder
	Fibroblastlar için kemotaksisi artırıcı
İnterlökin 8 (IL-8)	Proinflamatuvar mediatör
	İnflamatuvar hücreleri güçlendirici
Keratinositik growth faktörü (KGF)	Endotelial hücrelerin büyümesini, migrasyonunu, adezyonunu ve sağ kalımını destekler.
	Anjiogenezi

2.3.2 TZP'nin tarihsel süreci

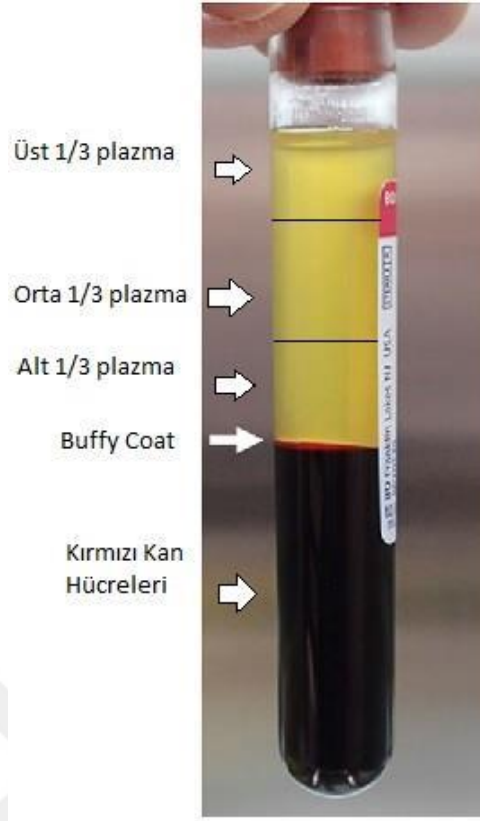
TZP, 1970'li yıllarda trombositopenisi olan bir hastaya plazma transfüzyonu yapılarak tedavi etmeyi hedeflenirken tanımlanmıştır (100). 1997 yılında Whitman ve arkadaşları maksillofasiyal cerrahide platelet jel adıyla TZP'nin jelöz formasyonunu kullanmışlardır (101). 1998 yılında ise Marx ve arkadaşları mandibular defekt

rekonstrüksiyonunda kullandıkları kemik greftlerine TZP uygulamışlar ve kemik üzerindeki yeniden şekillenme hızı ile derecesini arttırdığını, nedeninin de trombositlerden salgılanan PDGF ve TGF- β olduğunu savunmuşlardır (102).

2.3.3 TZP'nin hazırlanması

TZP hazırlanışında biyolojik değişkenlerin çok olması nedeniyle spektrumu geniş birçok protokol sunulmuştur. Hazırlanışa ait uygun değerler konusunda ortak bir fikir birliği sağlanamadığından piyasada santrifüj cihazlarının etkinlik karşılaştırılması gibi dış etkenler genellikle tartışma konusu olmuştur (103). Yine dış etkenler arasında; kullanılan antikoagulan çözeltilerin karşılaştırılması, yapılan santrifüjün devir sayısı ve hızı gibi faktörler de değerlendirilmiştir (97,104). Hazırlanış sürecinde hala herkes tarafından kabul gören, tam bir standardizasyon sağlanmamış olmakla birlikte Ozer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada en yüksek yoğunlukta TZP eldesi için optimum sonucu almak amacıyla kanın sitrat dekstroz-A (ACD-A) içeren tüplere konulmasını takiben 5 dakika 1630 x g ivmelenme kuvvetinde santrifüj edilmesi gerektiği savunulmuştur (97).

Santrifüj sonrasında tüpte; trombositler, kırmızı ve beyaz kan hücreleri ile pıhtılaşma faktörlerini de içeren plazmadan ayrılırlar (Şekil 2.6). Trombositlerin %90'a yakın kısmının alt 1/3 plazma kısmı ile buffy coat olarak adlandırılan plazmanın en alt bölgesindeki plazma-kırmızı kan hücreleri arasındaki kesişim kısmında yoğunlaştığı tespit edilmiştir (105).



Şekil 2.6 : Tüpün santrifüj sonrası görünümü (67).

TZP hazırlanmasında, trombosit yoğunluğunun bu bölgede toplanması nedeniyle, alt 1/3 plazma ve buffy coat bölgelerinin alınması tavsiye edilmektedir (105).

2.3.4 TZP'nin kullanım alanları

Tıp alanında birçok bölüm tarafından kullanılan TZP; plastik cerrahide doku defektlerinde, skar ve alopesi tedavilerinde, anti-aging uygulamalarında (fibroblast proliferasyonunu ve kollajen üretimini artırıcı etkisi sayesinde cilt kırışıklıklarının azaltılması), maksillofasiyal cerrahideki kemik greftleme işlemlerinde, temporomandibular eklem hastalıklarında kullanılmaktadır. Kardiyovasküler cerrahide sternal kapama ve greftin verici alanının hemostazında, Ortopedi ve Travmatolojide, kırıldak dejenerasyonlarında, kas ve tendon yaralamalarında ve eklem hastalıklarında uygulanmaktadır (106–110). TZP son yıllarda yağ grefti uygulamalarında, inflamasyonu ve rezorpsiyon oranını azaltmak amacıyla, aynı zamanda anjiyogenezi ve kök hücrelerin yağ dokusuna transformasyonunu arttırmaya yönelik olarak da kullanılmaktadır. İçeriğindeki büyüme faktörlerinin katkısıyla doku mühendisliğinde, dokunun rejenerasyonunda, kök hücrelerin TZP uygulanan alanda çoğalmasında, farklılaşma ve proliferasyonunda da önemli rol oynamaktadır (111).

2.3.5 TZP'nin yağ dokusu üzerindeki etkisi

TZP'nin yağ dokusu üzerindeki etkileri, antiinflamatuvar ve rejeneratif özellikleri olması nedeniyle olumlu yönde sonuçlanmaktadır. Sahip olduğu rejenerasyonu tetikleyici büyüme faktörleri (EGF, PDGF, TGF, VEGF, IGF-1), aynı zamanda vaskülarizasyonda artışa neden olması gibi özellikleri, yağ grefti uygulama alanında greftin rezorpsiyonunu önlemede etkili olacağını düşündürmüştür. Cervelli ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yağ grefti içeriğinin kök hücrelerin çoğalmasını ve yağ hücrelerine farklılaşmasını uyardığını ortaya konulmuştur (112). Yapılan in vitro çalışmalarda da yağ hücresi ve kök hücre proliferasyonunu uyardığı görülmüştür (113).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 01.02.2021 tarih ve 5 sayılı izin ile onaylanmıştır.

Çalışma, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje no: 20210213) desteği alınarak Bezmialem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi Denesysel Hayvan Labaratuarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada; 30 adet, ortalama 300-350 gr ağırlığındaki Sprague-Dawley tipi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 22 ± 2 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve karanlık periyotları olan, hava akımı açısından uygun koşullarda ve uygun kafeslerde standart sıçan yemi ve su ile beslenerek barındırıldı. 6'lı gruplar halinde veteriner kontrolünde izlendi.

3.1 Gruplar

Çalışmada 30 adet, ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen, erkek Sprague-Dawley tipi sıçan kullanıldı. Sıçanlar random olarak her grupta 12 sıçan olmak üzere 2 ana gruba (kontrol grubu ve çalışma grubu) ayrıldı. Ana gruplar da her grupta 6 sıçan olacak şekilde random olarak 2 alt gruba bölündü. 6 sıçan ise TZP hazırlamak için kullanıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara serum fizyolojik, çalışma grubundaki sıçanlara ise TZP uygulaması yapıldı. Uygulama sonrasında kontrol ve TZP grubunun yarısı 1. haftada, diğer yarısı ise 2. haftada olmak üzere sol ingunal yağ yastıkçığından yağ grefti örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edildiler.

3.2 Deney Planı

Kontrol grubundaki sıçanların sol kasık bölgesindeki inguinal yağ yastıkçığı bölgesine 0.5 ml Serum fizyolojik uygulanırken, çalışma grubundaki sıçanlara ise 0,5 ml TZP sıçanlar stabil pozisyonda tutulup anestezi verilmeden subkutan lokal infiltrasyon yapılarak uygulandı (Resim 3.1). (Resim 3.2).

Kontrol ve TZP grubundaki 12 adet sıçan işlem sonrası 1. haftada, kalan diğer 12 adet sıçan ise 2. haftada, genel anestezi altında (ketamin hidroklorür 50 mg/kg,

xylazinehidroklorür 5 mg/kg intraperitoneal), sol inguinal yağ yastıkçıkları çıkartıldıktan sonra (Resim 3.3) sakrifiye edildiler.



Resim 3.1 : Sol inguinal bölgeye serum fizyolojiğin subkutan infiltrasyonu



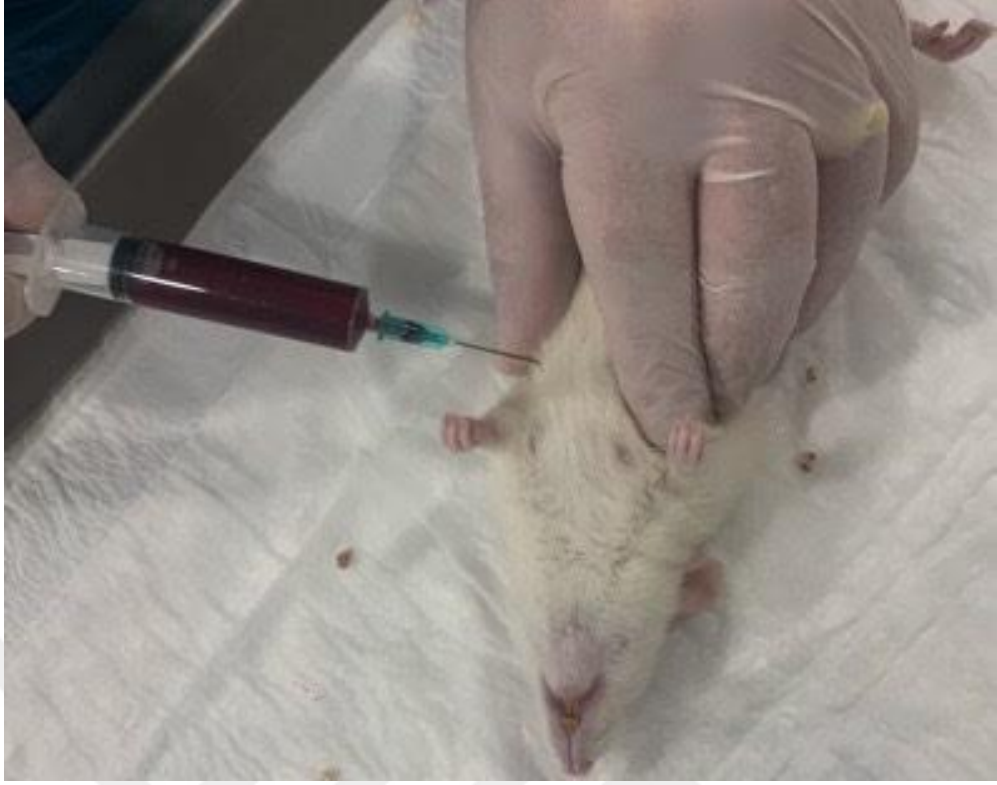
Resim 3.2 : Sol inguinal bölgeye TZP'nin subkutan infiltrasyonu



Resim 3.3 : Sol inguinal yağ yastıkçığının, yağ grefti eldesi olarak alınması

3.2.1 TZP'nin hazırlanması

6 adet sıçanın tüm kanı intrakardiyak olarak girilerek (ortalama 8-10 ml/sıçan) alındı (Resim 3.4). Takiben %10 sodyum sitratlı jelsiz tüpe aktarıldı. NF800/800R santrifüj cihazında (Resim 3.5), 1600 rpm'de 10 dk santrifüj işlemi sonrası, tüpün içindeki plateletten zengin plazma, enjektör yardımıyla ayrıştırıldı. Alınan plazma jelsiz kuru bir tüpe alınarak 3500 rpm'de 15 dk santrifüje edildi. Santrifüj sonrası süpernatant kısım uzaklaştırıldı. Geride kalan dipteki trombositten zengin plazma ürünü her bir hayvan için 1 ml olarak elde edildi. Elde edilen TZP 0.5 cc doz/sıçan başına olacak şekilde çalışma grubundaki 12 sıçana uygulandı.



Resim 3.4 : Sıçanlardan intrakardiyak girişimle kan alımı



Resim 3.5: Santrifüj işlemi için kullanılan cihaz

3.3 Biyokimyasal Analiz

Biyokimyasal Parametreler

Biyokimyasal incelemeler için alınan yağ greftleri; çalışma yapılincaya kadar steril ependorf içinde, laboratuvar koşullarında -80°C’de saklandı. Alınan örneklerdeki IL-1 β , IL-6, TNF- α , EGF, VEGF, CK18-M30, TAS ve TOS düzeyleri ölçüldü.

Deney sonunda; sıçanlardan alınan greft örnekleri tartılıp, 1/5 oranındaki soğuk %1,15 M KCI solüsyonu ile 14000 devirde 30 dakika homojenize edildi. Daha sonra +4°C’de 10000 x g (kütleçekimsel kuvvet)’de 30 dakika santrifüje edilerek süpernatantları ayrıldı. Süpernatantlarda protein tayini Lowry yöntemine göre yapıldı.

Yağ Greft Total Antioksidan Seviye (TAS) Analizleri

Total antioksidan durum ölçümü Erel yöntemine göre yapıldı. Yöntemin prensibi örnekteki antioksidanların koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır (114). 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 (Δ Abs) hesaplandı. Greftlerdeki TAS düzeyleri (mmol Trolox Eq/L) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

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

Doku Total Oksidan Seviye (TOS) Analizleri

Total oksidan seviye ölçümü Erel yöntemine göre yapıldı. Yöntemin prensibi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır (115). Standart, doku yerine 20 mikromolar hidrojen peroksit (H₂O₂) ekivalan/ litre (mmol H₂O₂ Eq/L) içeren dilüe standart çözeltisi kullanılarak çalışıldı. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi (Δ Abs) hesaplandı. Greftlerdeki TOS düzeyleri (mmol H₂O₂ Eq/L) kitte belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı.

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

Serum Total Antioksidan Seviye ve Total Oksidan Seviye Ölçümü

Toplanan serumlar ticari olarak temin edilen ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kitleriyle çalışılıp ELISA mikropalak okuyucuda (Thermo Scientific™ Varioskan™ Flash Multimode Reader) değerlendirildi.

Yağ Graft IL-1 β , IL-6, TNF- α , EGF, VEGF ve CK18-M30 düzeylerinin Ölçümü

Homojenize edilmiş ve protein miktarı ölçülmüş greft örnekleri ticari olarak temin edilen ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kitleriyle çalışılıp ELISA mikropalak okuyucuda (Thermo Scientific™ Varioskan™ Flash Multimode Reader) ölçüldü.

3.4 Histolojik Analiz

Örneklerin Hazırlanması

Sakrifiye edilen ratlardan alınan doku örnekleri Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal inceleme yapılmak üzere takibe alındı. Alınan doku örnekleri fosfat tamponu (PBS) içinde hazırlanmış %10 tamponlu nötral formaldehitte 1 gün tespit edildi. Tespit edilen doku örnekleri rutin ışık mikroskop doku takip yöntemine göre dereceli alkollerden geçirilerek dehidrate edildi, ksilolde şeffaflandırıldıktan sonra parafine gömüldü.

Doku takibi sırasında optimizasyonun sağlanabilmesi için sabit vakumlu bir doku takip cihazı kullanıldı (Leica, model TP 1020). Parafin bloklardan rotary mikrotom ile 3- 4 μ m kalınlığında kesitler krom alüminyum jelatin ile kaplı rodajlı lamlara alındı.

Hematoksilen- Eozin boyama

Rodajlı lamlara alınan 3- 4 μ m kalınlığındaki paraffin kesitler 1 gece etüvde deparafinize edildikten sonra aşağıdaki sırayla boyama işlemi yapıldı.

- 3 kere 15' er dakika ksilolde bekletildi.
- Sırasıyla %96, %96 ve %80' lik alkollerde 10 ar dakika bekletilerek rehidrate edildi.
- Akan suda 10 dakika yıkandı.
- Kullanılmadan önce süzülen Hematoksilende 15 dakika bekletildi.
- Akan suda 10 dakika yıkandı.
- 2 kere asit alkole batırılıp çıkartıldı.
- Akan suda 10 dakika yıkandı.
- 2 kere amonyaklı suya batırılıp çıkartıldı.
- 60 sn eozinde bekletildi.
- Sırasıyla %80, %96, %96'lık alkollerden geçirildi.

- Kurutulup, 45 dakika ksilolde bekletildikten sonra Kanada balsamı ile lamalar kapatıldı.

Kapatılan örnekler Nikon (Eclipse 920248, U.S.A.) ışık mikroskopunda bağımsız iki histolog tarafından değerlendirildi ve görüntüler Nikon marka dijital kamera ile bilgisayar ortamına aktarıldı.

Masson Trikrom Boyama

Rodajlı lamlara alınan 3- 4 µm kalınlığındaki paraffin kesitler 1 gece etüvde deparafinize edildikten sonra Masson-Goldner staining kit (Sigma-Aldrich, SLBH4504) ile aşağıdaki sırayla boyama işlemi yapıldı.

- 3 kere 15'er dakika ksilolde bekletildi.
- Sırasıyla %96, %96 ve %80'lik alkollerde 10'ar dakika bekletilerek rehidrate edildi.
- Akan suda 10 dakika yıkandı.
- Kullanılmadan önce süzülen Weigert'in Hematoksileninde 5 dakika bekletildi.
- Akan suda 10 dakika yıkandı.
- Distile suda 10 dakika yıkandı.
- Biebrich Scarlet-asit fuksinde 5 dakika bekletildi.
- Akan suda çalkalandı.
- Working phosphotungstic/phosphomolybdic asit solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
- Anilin blue solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
- %1'lik asetik asitte 2 dakika bekletildi.
- Sırasıyla %80, %96, %96'lık alkollerden geçirildi.
- Kurutulup, 45 dakika ksilolde bekletildikten sonra Kanada balsamı ile lamalar kapatıldı.

Histolojik Değerlendirme

Yağ dokusu; histolojik görünümü, inflamasyon durumu, fibrotik değişiklikler, damar sağlığı ve sayısı açısından değerlendirildi.

3.5 İstatiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılıma sahip özelliklerin TZP ve kontrol bağımsız grupta karşılaştırılmasında, Student t testi, normal dağılmayan özelliklerin gruplar arasında karşılaştırılmasında ise

Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Haftalar arasında yapılan ölçümlerin, grup içinde karşılaştırılması ise eşleştirilmiş örnek t-testi (paired sample t- test) ile yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma, kategorik değişkenler için ise sayı ve % değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS Windows Version 24.0 paket programı kullanılmış ve $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Analiz Bulguları

24 denek ile yapılan çalışmaya ait biyokimyasal parametrelerin ölçümlerle ilgili genel özellikleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1: Biyokimyasal parametrelerin ölçümlerle ilgili genel özellikleri dağılımı

		Min-Max	Ort±SS
IL-1β	1. hafta	149,01-274,71	199,5±42,23
	2. hafta	167,50-211,50	192,56±13,87
IL-6	1. hafta	13,28-31,58	21,56±6,07
	2. hafta	18,47-27,73	21,38±2,37
TNF-α	1. hafta	349,70-881,51	564,92±161,39
	2. hafta	472,15-661,18	568,44±62,89
VEGF	1. hafta	212,04-415,01	330,66±70,88
	2. hafta	279,54-355,18	316,32±24,76
EGF	1. hafta	120,20-333,09	228±83,53
	2. hafta	156,86-233,12	199,1±27,5
TOS	1. hafta	3,35-8,16	5,86±1,67
	2. hafta	4,71-7,56	5,64±0,85
TAS	1. hafta	0,31-0,74	0,52±0,17
	2. hafta	0,32-0,68	0,55±0,1
OSI	1. hafta	4,51-26,07	13,32±7,56
	2. hafta	6,91-23,41	10,91±4,5
CK 18-M30	1. hafta	2,80-9,06	5,62±2
	2. hafta	5,16-9,90	7,21±1,75

IL-1β, IL-6, TNF-α, VEGF, EGF, TOS, TAS, OSI ve CK18-M30 parametrelerinin, denekler üzerinde genel olarak 1. hafta ve 2. haftada ölçülen düzeylerinin min-max ve ortalama, standart sapma değerleri Tablo 2’de verilmiştir.

IL-1β 1. haftada ortalaması 199,5±42,23 olup, en düşük 149,01 ve en yüksek 274,71 değerini almıştır. IL-1β 2. haftada ortalaması 192,56±13,87 olup, en düşük 167,50 ve en yüksek 211,50 değerini almıştır. 1. haftada IL-6 ortalaması 21,56±6,07 olup, en düşük 13,28 ve en yüksek 31,58 değerini almıştır. 2. haftada IL-6 ortalaması 21,38±2,37 olup, en düşük 18,47 ve en yüksek 27,73 değerini almıştır. Diğer parametre dağılımları Tablo 4.2’de görüldüğü gibidir.

Tablo 4.2 : TZP ve Kontrol grupları içi ve gruplar arasında parametrelerinin 1. hafta ve 2. hafta düzeylerinin değerlendirilmesi

		Kontrol	TZP	z	p ¹
		Ort±SS	Ort±SS		
IL-1β	1. hafta	231,84±31,42	167,16±20,64	-2,56	0,009*
	2. hafta	203,29±7,19	181,82±9,76	-2,72	0,006*
	Test; p ²	1,86;0,123	-1,48;0,199		
IL-6	1. hafta	27,04±2,46	16,08±1,73	-2,88	0,002*
	2. hafta	22,56±2,79	20,19±1,11	-2,08	0,041*
	Test; p ²	6,25;0,002*	-3,91; 0,011*		
TNF-α	1. hafta	700,39±93,89	429,44±66,60	-2,88	0,002*
	2. hafta	610,33±40,78	526,55±53,18	-2,40	0,015*
	Test; p ²	1,66;0,157	-2,76; 0,040*		
VEGF	1. hafta	270,18±44,53	391,14±17,07	-2,89	0,002*
	2. hafta	297,39±11,92	335,24±18,63	-2,52	0,009*
	Test; p ²	-1,53;0,187	5,56; 0,003*		
EGF	1. hafta	151,42±18,98	304,59±30,22	-2,80	0,004*
	2. hafta	174,78±12,77	223,41±8,99	-2,83	0,005*
	Test; p ²	-2,06;0,095	6,50; 0,01*		
TOS	1. hafta	7,25±0,80	4,47±0,95	-2,89	0,002*
	2. hafta	6,03±1,00	5,26±0,48	-1,44	0,180
	Test; p ²	2,41;0,061	-1,88; 0,120		
TAS	1. hafta	0,37±0,04	0,68±0,06	-2,78	0,006*
	2. hafta	0,49±0,10	0,61±0,04	-2,08	0,041*
	T; p ²	-2,28;0,072	2,03; 0,098		
OSI	1. hafta	20,00±4,01	6,65±1,61	-2,95	0,001*
	2. hafta	13,23±5,56	8,59±0,93	-2,09	0,040*
	T; p ²	2,26;0,073	-2,19; 0,080		
CK18-M30	1. hafta	7,21±1,27	4,04±1,08	-2,72	0,005*
	2. hafta	8,54±1,14	5,87±1,05	-2,40	0,015*
	T; p ²	-2,37;0,064	-3,04; 0,029*		

1-Mann Whitney U test 2-Paired sample t- testi *p<0.05

Gruplar arasında preop KİO% değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

Kontrol ve TZP grupları arasında 1. hafta IL-1β değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. (p=0.009). Kontrol grubunun IL-1β değerlerinin TZP grubunda gözlenen değerlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Benzer farklılık IL-1β değerlerinin ikinci haftasında da gözlenmiştir (p=0,006).

Kontrol ve TZP grupları arasında 1. hafta IL-6 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. (p=0.002). Kontrol grubunun IL-6 değerlerinin TZP

grubunda gözlenen değerlere kıyasla her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür.

Kontrol ve TZP grupları arasında 1. ve 2. hafta TNF- α değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubunun TNF- α değerlerinin TZP grubunda gözlenen değerlere kıyasla her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Kontrol ve TZP grupları arasında 1. ve 2. hafta VEGF değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. TZP grubunun VEGF değerlerinin Kontrol grubunda gözlenen değerlere kıyasla her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Kontrol ve TZP grupları arasında 1. ve 2. hafta EGF değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. TZP grubunun EGF değerlerinin, kontrol grubunda gözlenen değerlere kıyasla, her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Kontrol ve TZP grupları arasında TOS değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubunun TOS değerlerinin TZP grubunda gözlenen değerlere kıyasla, 1.haftada, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,002$). Fakat 2. hafta gözlenen TOS değerleri her iki grupta benzer olduğu görüldü ($p=0,180$).

Kontrol ve TZP grupları arasında 1. ve 2. hafta TAS değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. TZP grubunun TAS değerlerinin kontrol grubunda gözlenen değerlere kıyasla her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Kontrol ve TZP grupları arasında 1. ve 2. hafta OSI değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubunun OSI değerlerinin TZP grubunda gözlenen değerlere kıyasla her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Kontrol ve TZP grupları arasında 1. ve 2. hafta CK 18-M30 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubunun CK 18-M30 değerlerinin TZP grubunda gözlenen değerlere kıyasla her iki haftada da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Tablo 4.3 : TZP ve Kontrol grupları arasında parametre farklarının (değerlerinin 1. Hafta ve 2. Hafta) karşılaştırması

Farklar	Kontrol (n=6) Ort±SS	TZP (n=6) Ort±SS	Z	P
IL-1 β	-28,55 $\pm$ 37,67	14,66 $\pm$ 24,25	-2,40	0,016
IL-6	-4,48 $\pm$ 1,76	4,11 $\pm$ 2,57	-2,88	0,004
TNF- α	-90,07 $\pm$ 132,48	97,11 $\pm$ 86,29	-2,24	0,025
VEFG	27,21 $\pm$ 43,65	-55,91 $\pm$ 24,62	-2,56	0,009
EGF	23,36 $\pm$ 27,79	-81,18 $\pm$ 30,6	-2,88	0,002
TOS	-1,22 $\pm$ 1,24	0,79 $\pm$ 1,03	-2,41	0,015
TAS	0,12 $\pm$ 0,13	-0,06 $\pm$ 0,08	-2,40	0,016
OSI	-6,77 $\pm$ 7,34	1,95 $\pm$ 2,17	-1,92	0,065
CK18-M30	1,33 $\pm$ 1,38	1,83 $\pm$ 1,48	-0,64	0,589

P değeri Mann Whitney U testinden elde edildi. SS: Standart sapma M:Medyan

2. hafta parametre değerlerinin 1.haftadan çıkarılıp ilgili farkın gruplar arasında kıyaslanması Tablo 4’de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre 2. haftada IL-1 β değeri TZP grubunda (14,66 $\pm$ 24,25) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir (p=0,016).

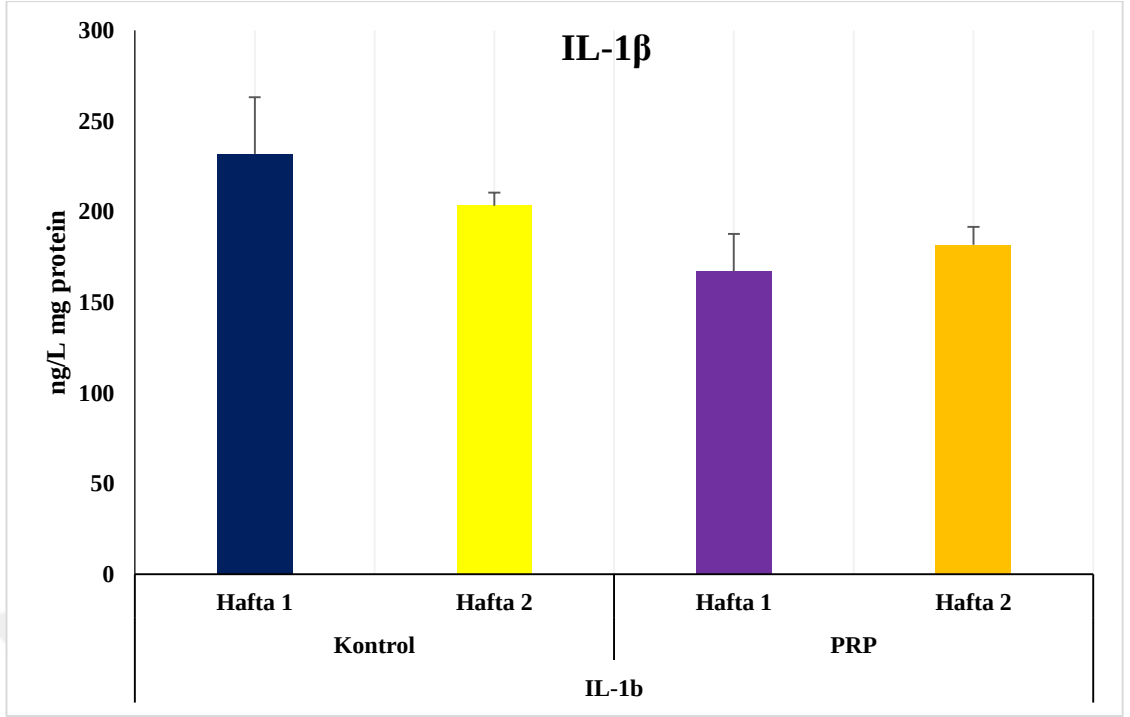
Benzer olarak, 2. haftada IL-6 fark değeri TZP grubunda (4,11 $\pm$ 2,57) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir (p=0,004). 2. haftada IL-6 Fark değeri TZP grubunda (4,11 $\pm$ 2,57) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir (p=0,004).

2. haftada TNF- α Fark değeri TZP grubunda (97,11 $\pm$ 86,29) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gözlenmiştir (p=0,004).

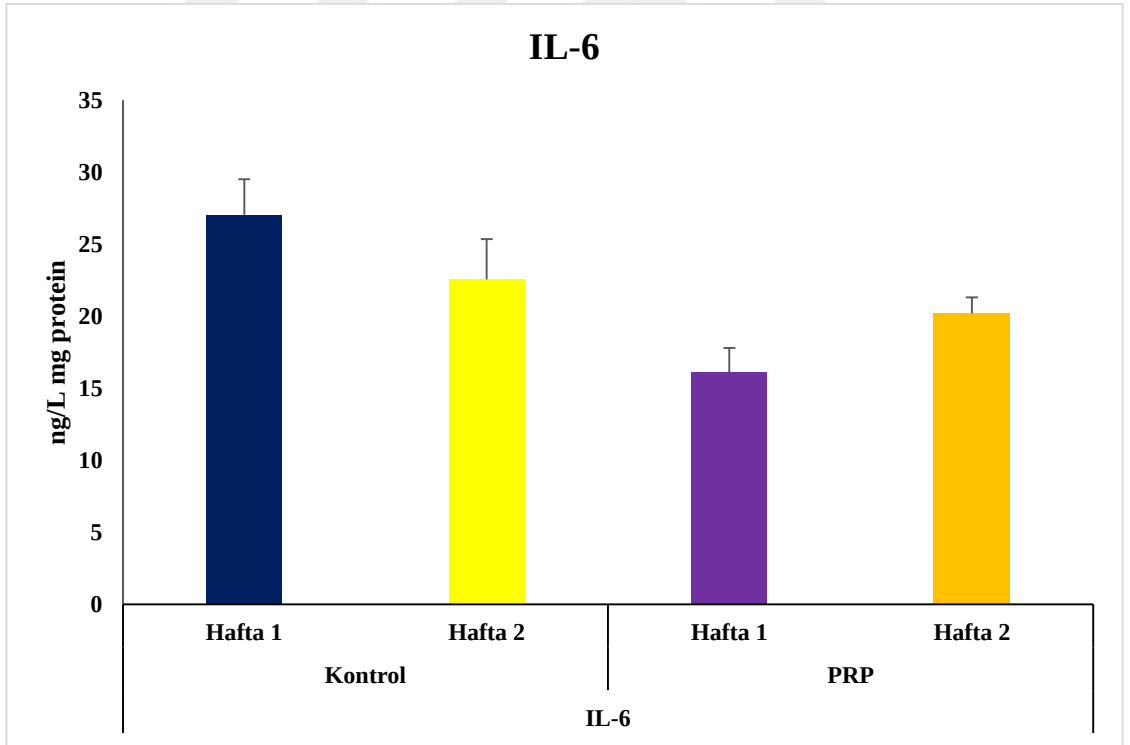
2. haftada VEGF Fark değeri TZP grubunda (-55,91 $\pm$ 24,62) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalış gözlenmiştir (p=0,004).

Benzer olarak EGF ve TAS değerleri de TZP grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalış göstermiştir (p<0,05).

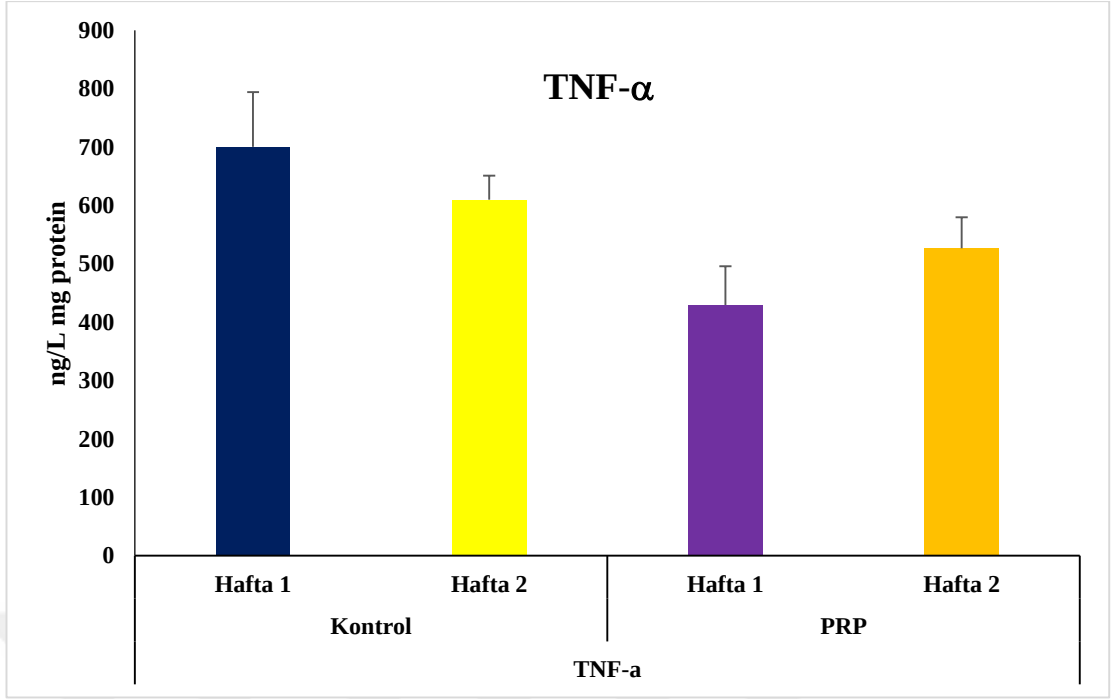
TOS değerinde ise TZP grubundaki artış kontrole göre anlamlı düzeyde olduğu görülmüştür (p=0,015)



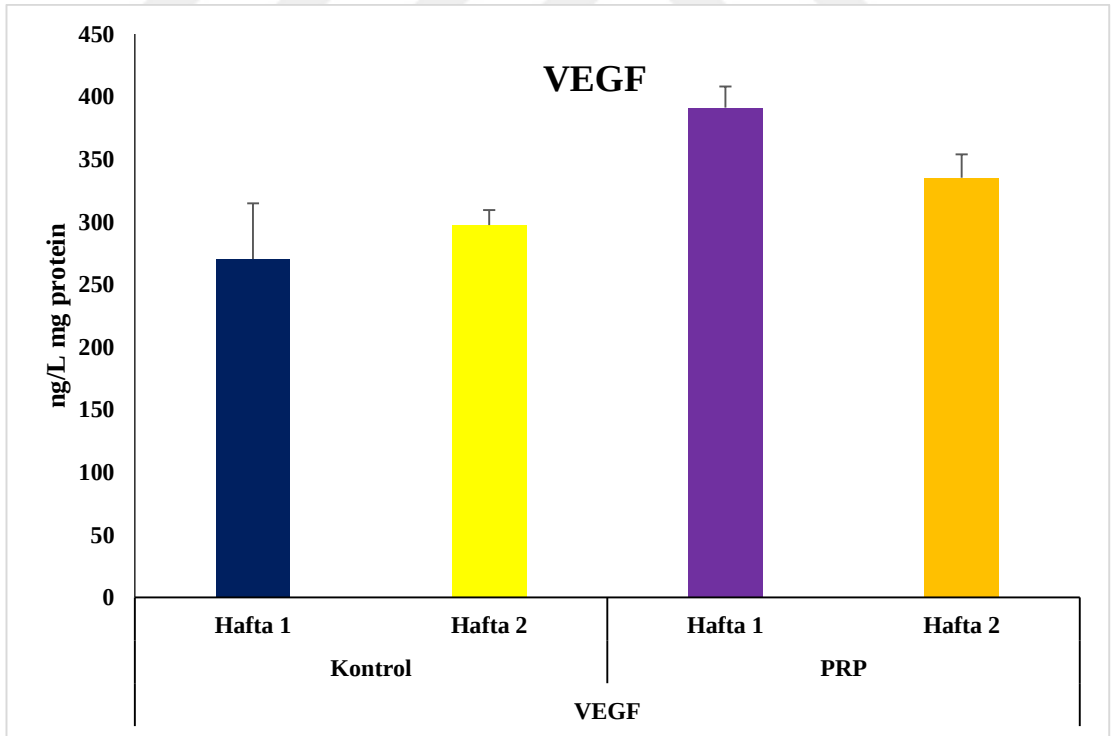
Şekil 4.1: IL-1 β değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri



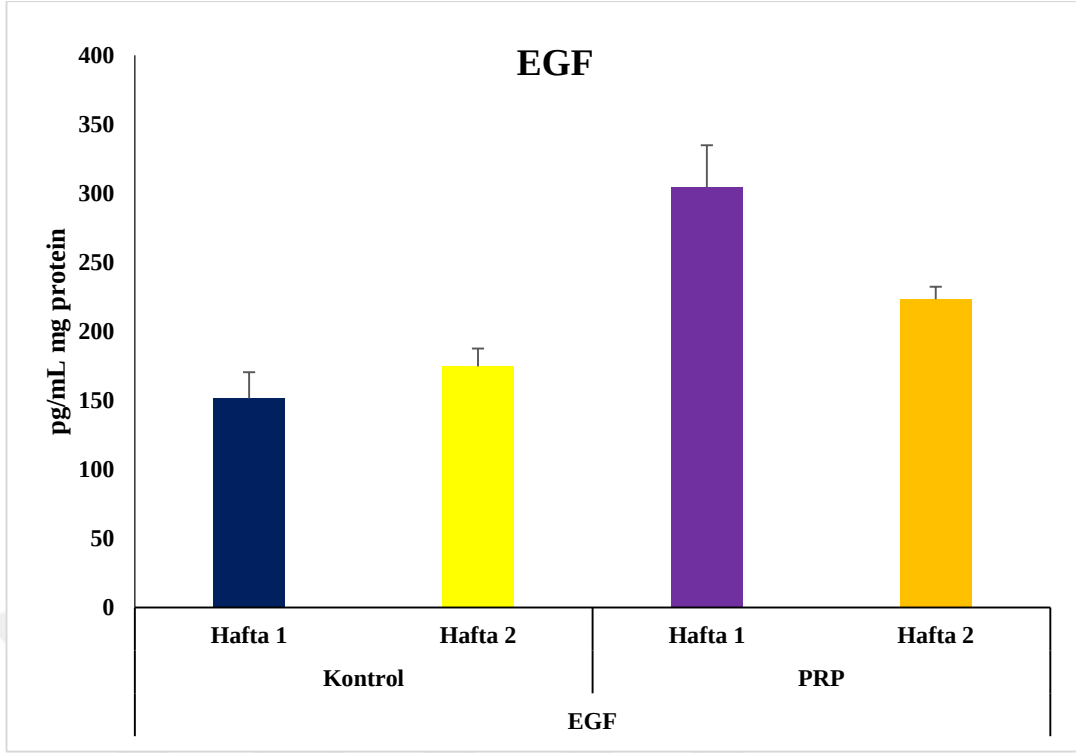
Şekil 4.2: IL-6 değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri



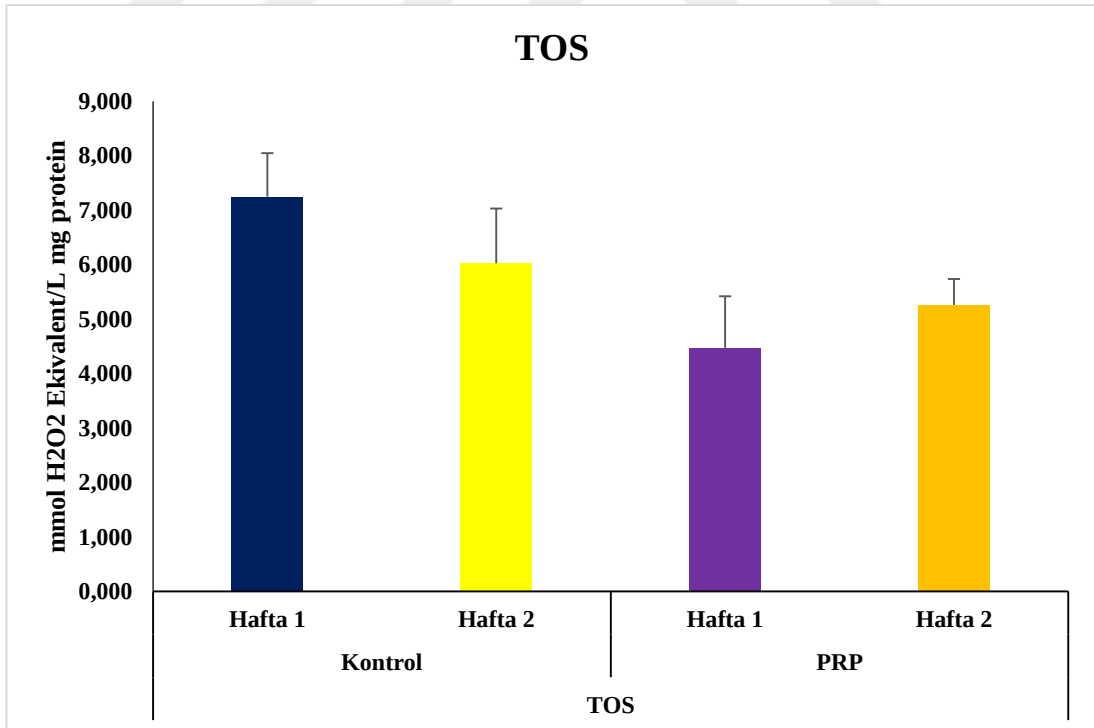
Şekil 4.3: TNF- α değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri



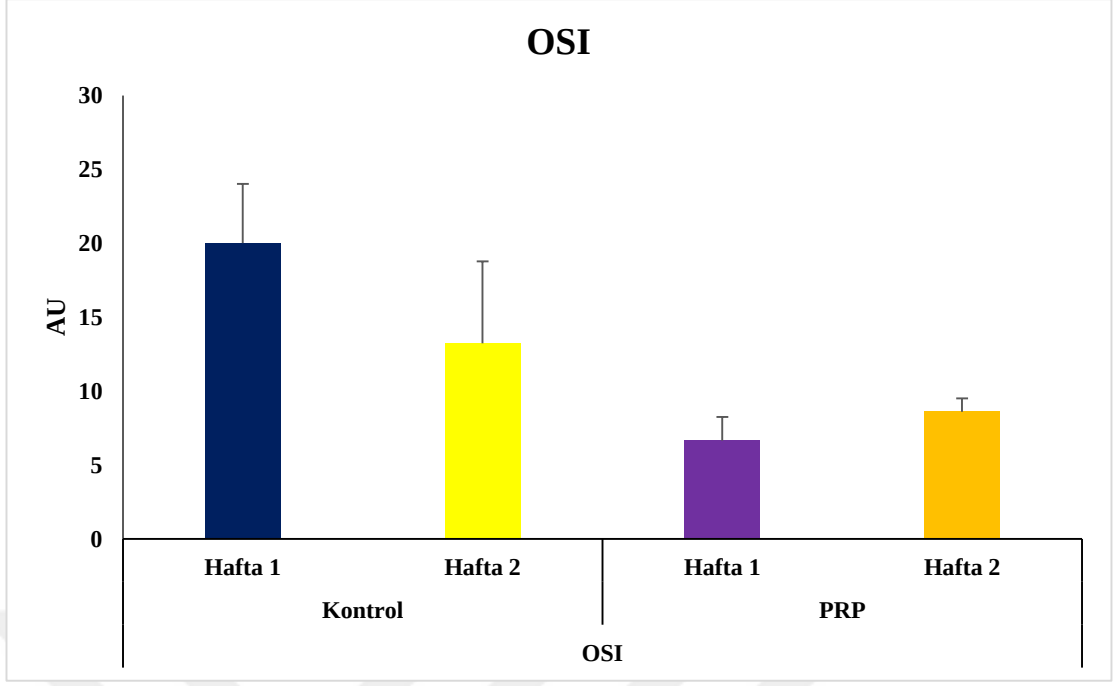
Şekil 4.4 : VEGF değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri



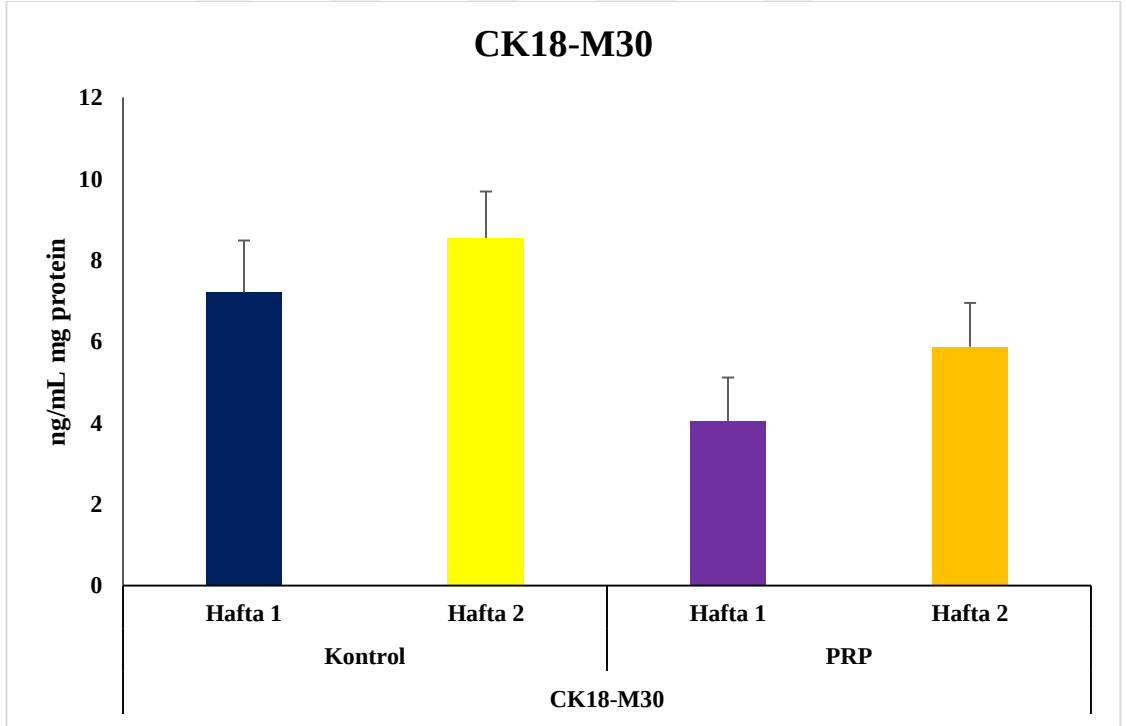
Şekil 4.5: EGF değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri



Şekil 4.6: TOS değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri



Şekil 4.7: OSI değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri



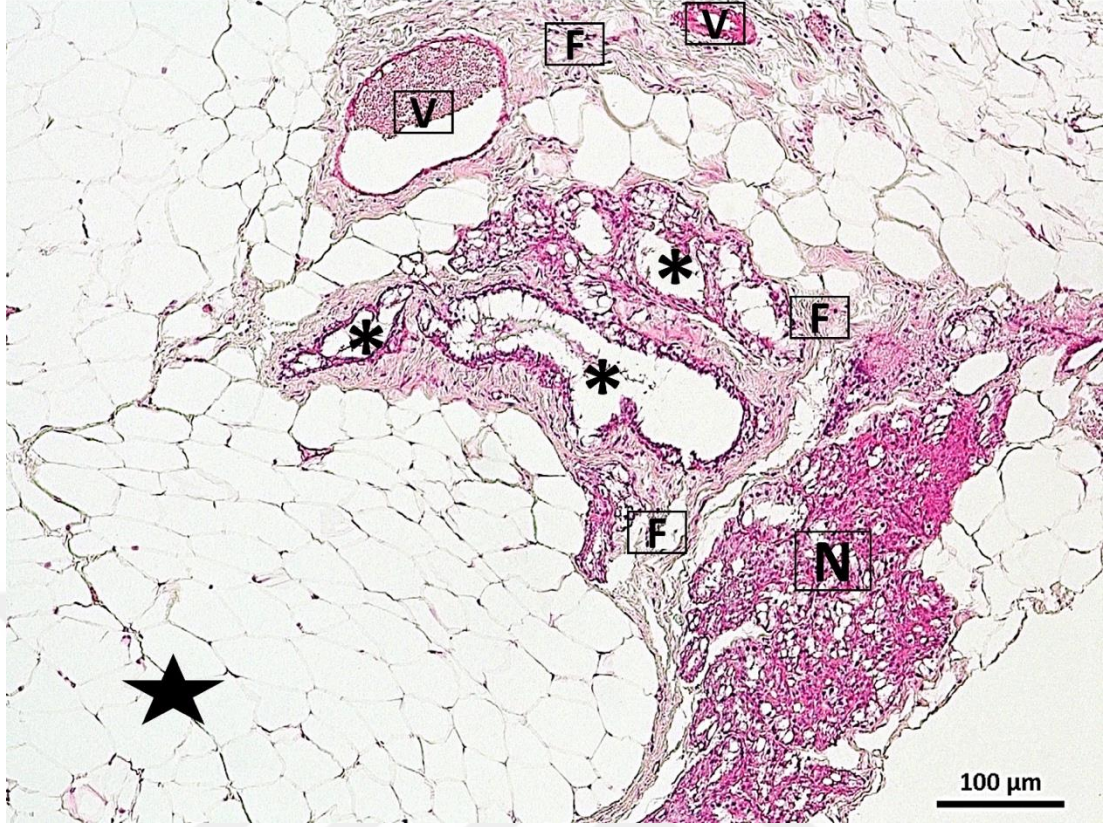
Şekil 4.8: CK18-M30 değerinin TZP ve kontrol gruplarında bar grafikleri

4.2 Histolojik Analiz Bulguları

1. hafta kontrol grubu yağ dokularına ait kesitlerde sağlam yağ dokusu alanlarının dışında dejenere olan yağ doku alanları da mevcuttu. Özellikle dejenere olan yağ dokusu çevresinde nekroze alanlar ve fibrotik bağ dokusu olduğu görüldü. İnflamasyon belirtisi olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi (Şekil 4.9 ve 4.10).

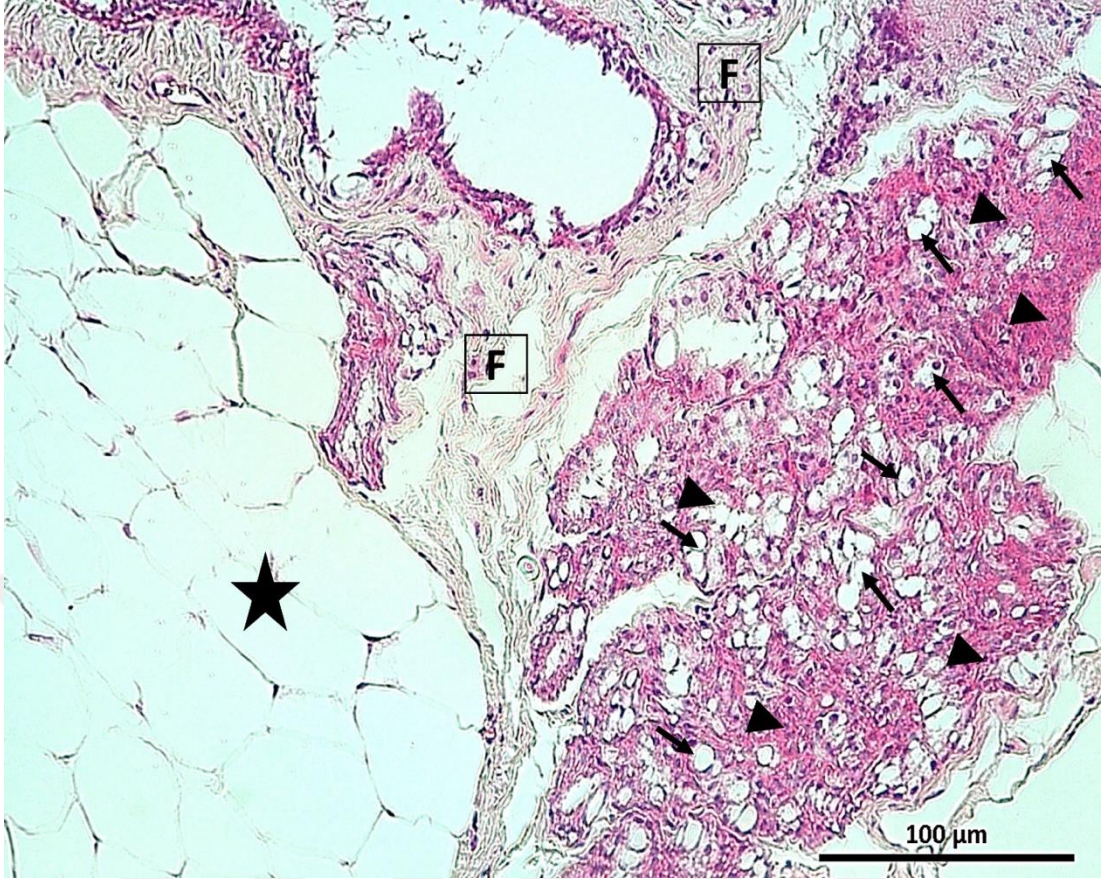


Şekil 4.9: 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı (Hematoksilen- Eozin X40).

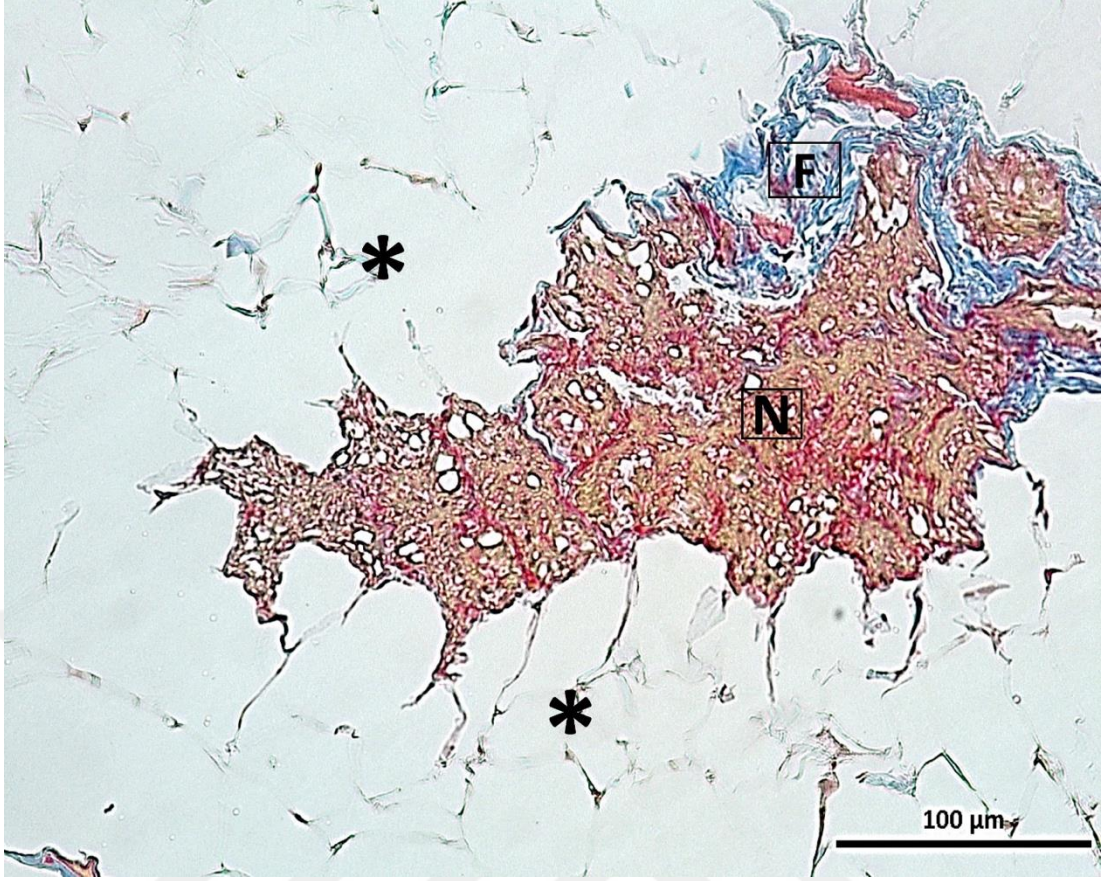


Şekil 4.10: 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alan, F: Fibrotik doku alanı, V: Damar, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Hematoksilen- Eozin X100).

Dejenere yağ dokusu etrafında nekroze alanlar ve fibrotik bağ dokusu görüldü. Nekroz alanlarında piknotik nükleuslu hücreler ile ödemli ve vakuollü hücrelere rastlandı (Şekil 4.11 ve 4.12).

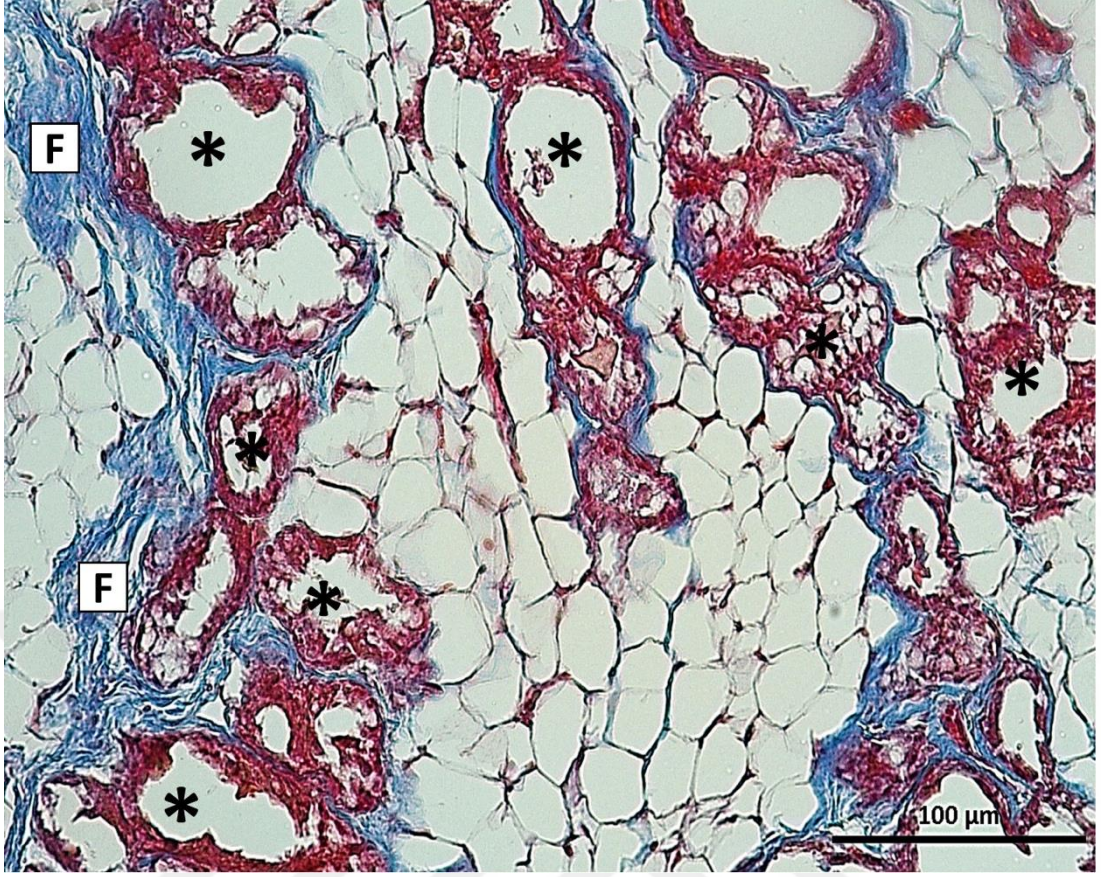


Şekil 4.11: 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. Siyah ok: Ödemli ve vakuollü hücre, Siyah ok başı: Piknotik nükleuslu hücre, Yıldız: Sağlam yağ dokusu; N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, V: Damar (Hematoksilen- Eozin X200).



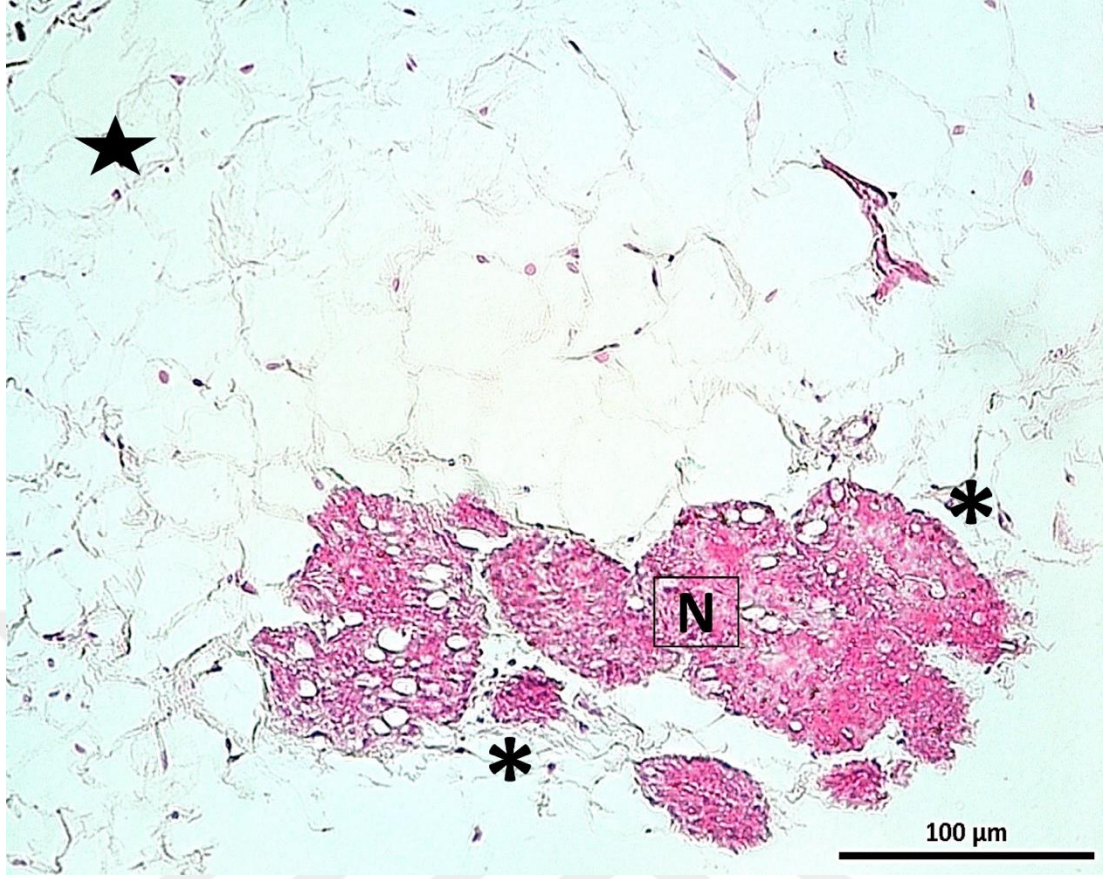
Şekil 4.12: 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Masson Trikrom X200).

Yağ dokusunda bozulmaya bağlı olarak sağlam yağ dokusu alanlarının arasında hücre ve doku artıklarını ve irili ufaklı vakuoller içeren alanlar görüldü. Fibrozisin göstergesi olan kollajen lif demetleri birikimi bu boyama yöntemi ile mavi alanlar olarak izlendi (Şekil 4.13).

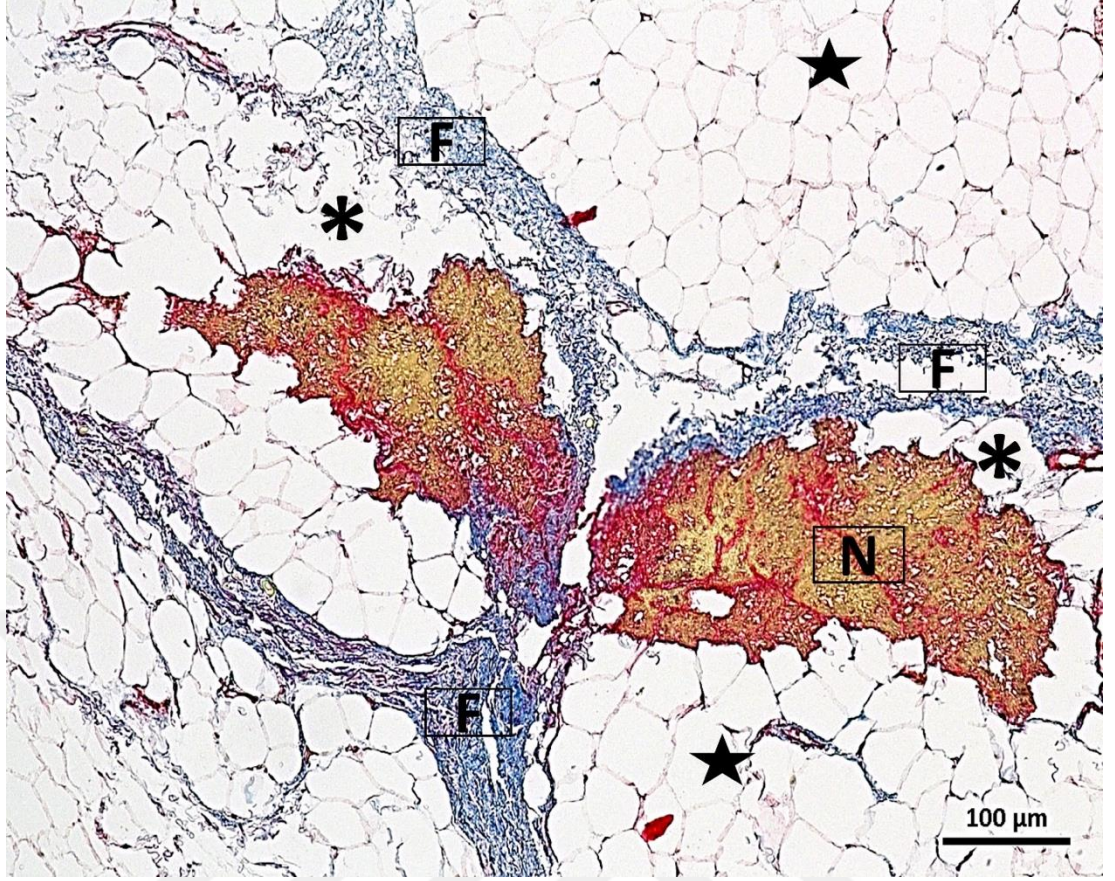


Şekil 4.13: 1. hafta kontrol grubuna ait kesitler. F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: İrili ufaklı vakuoller (Masson trikrom; X 200).

1. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerde sağlam yağ dokusu alanlarının dışında kontrol grubuna oranla daha az dejenere olan yağ doku alanları ve çevresinde nekroze alanlar görüldü. İnflamasyon belirtisi olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi (Şekil 4.14). Kontrol grubuna göre daha sınırlı ve daha az alanda fibrotik bağ dokusu görüldü (Şekil 4.15).

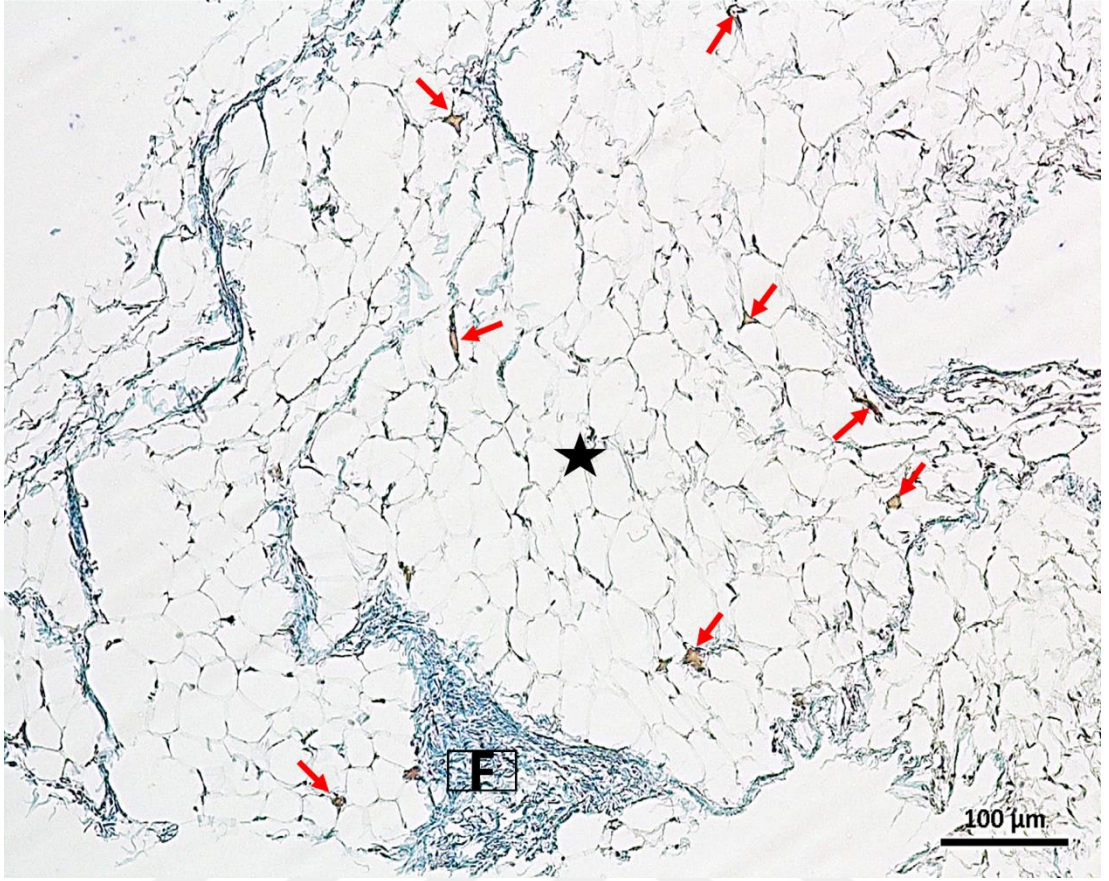


Şekil 4.14:1. hafta TZP grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Hematoksilen- Eozin X100).

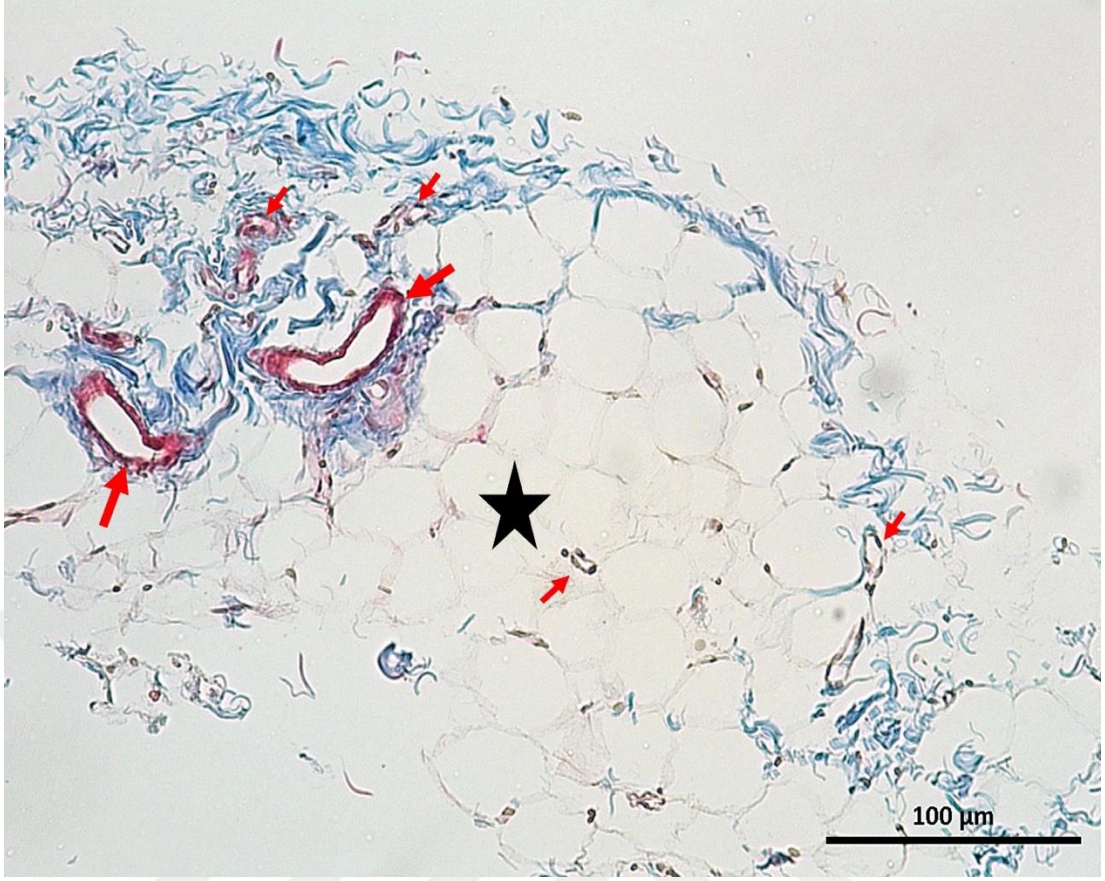


Şekil 4.15:1. hafta TZP grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu; F: Fibrotik doku alanı (Masson Trikrom X100).

1. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerinde kontrol grubuna göre daha fazla damar içerdiği görüldü (Şekil 4.16 ve 4.17).

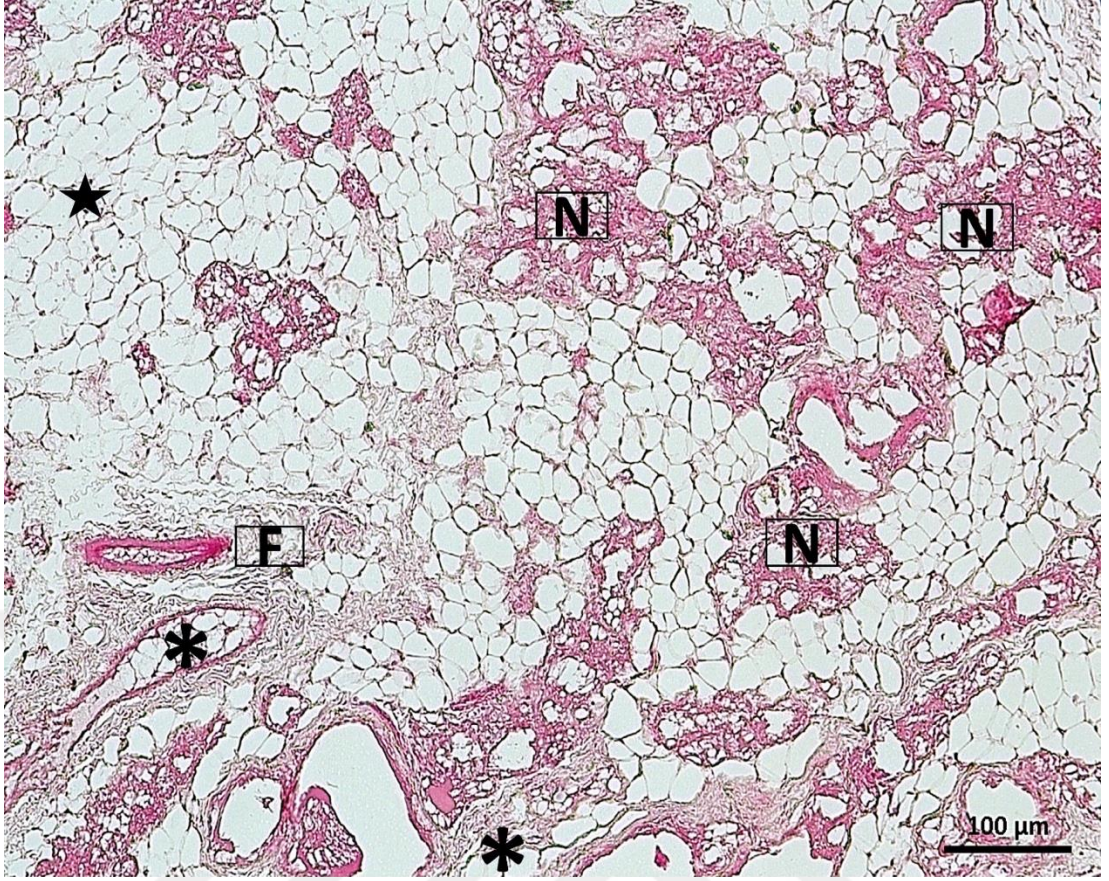


Şekil 4.16: 1. hafta TZP grubuna kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, Kırmızı ok: Damar, F: Fibrotik doku alanı (Masson Trikrom X100).

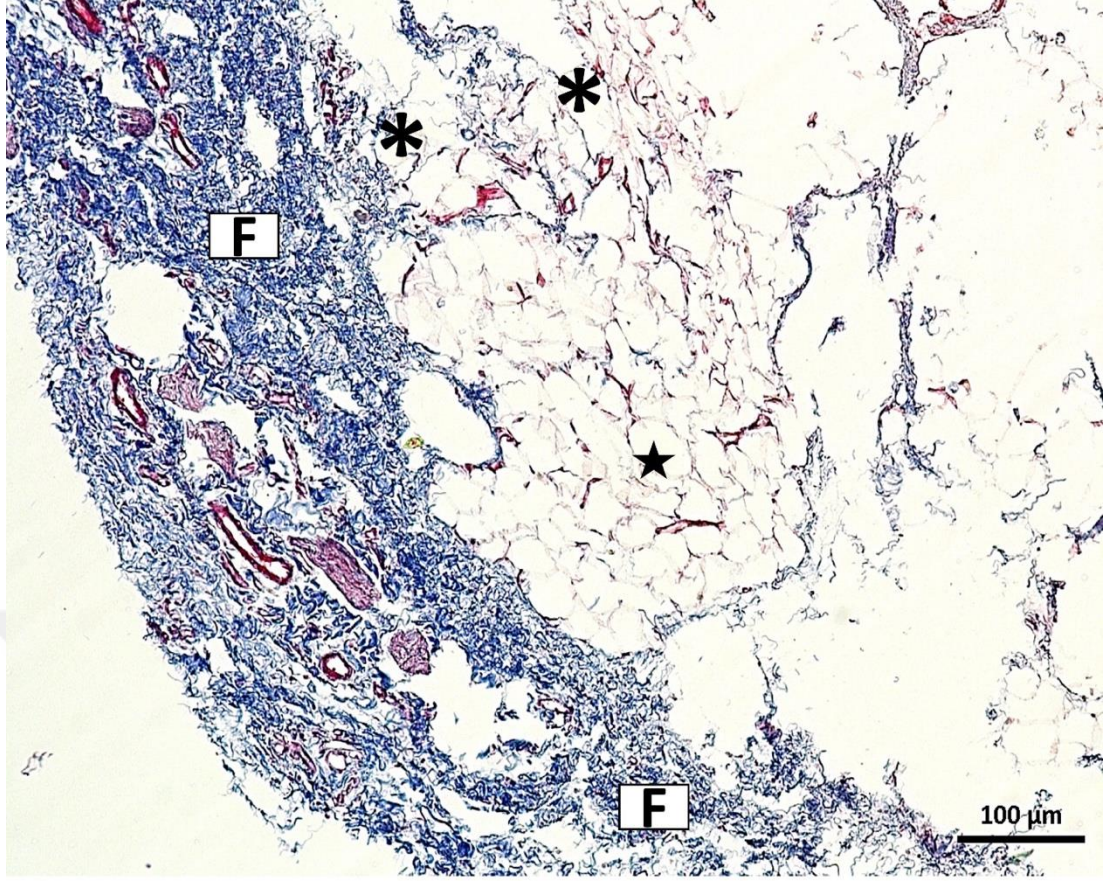


Şekil 4.17: 1.hafta TZP grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, Kırmızı ok: Damar; (Masson Trikrom X200).

2. Hafta kontrol grubu yağ dokularına ait kesitlerde, sağlam yağ dokusunun 1. hafta kontrol ve 1. hafta TZP grubuna göre daha az olduğu izlendi. Dejenere olan yağ doku alanları ve çevresindeki nekroze alanların ve özellikle fibrotik bağ dokusunun da artmış olduğu görüldü. İnflamasyon belirtisi olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi (Şekil 4.18 ve 4.19).

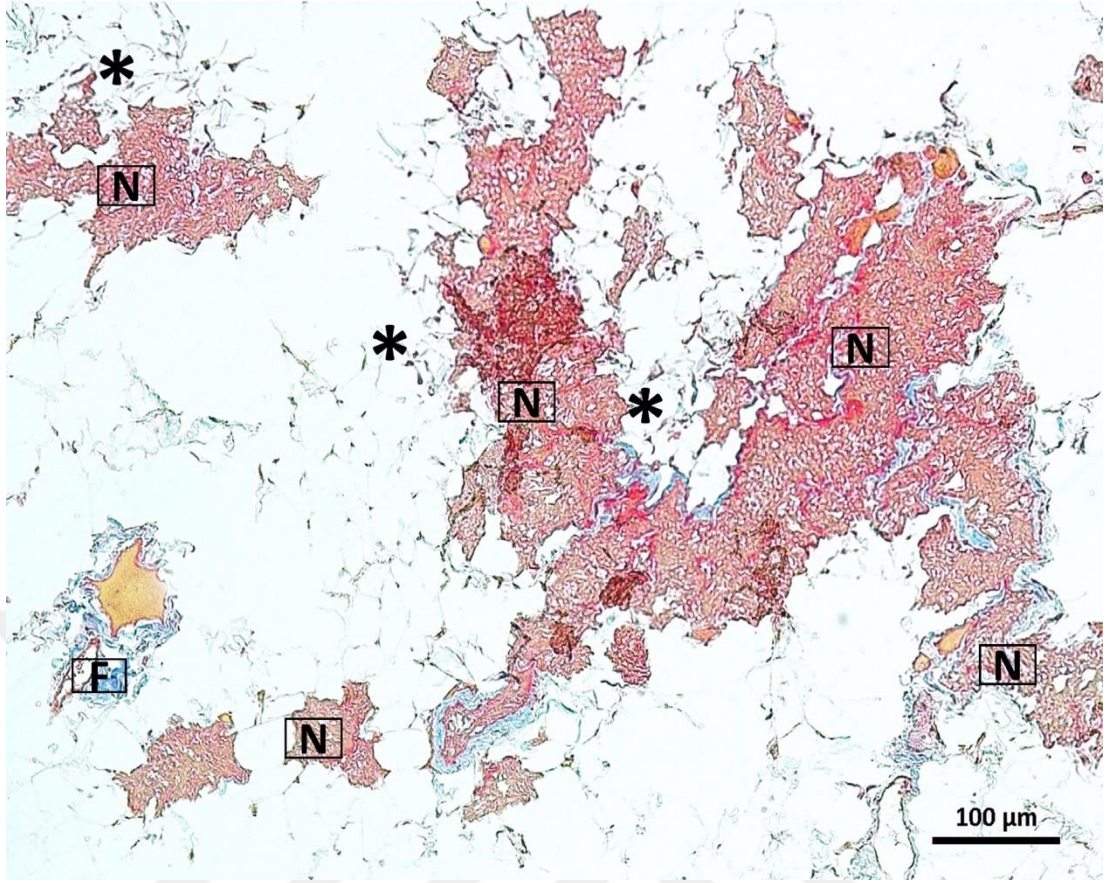


Şekil 4.18: 2. hafta kontrol grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Hematoksilen- Eozin X100).

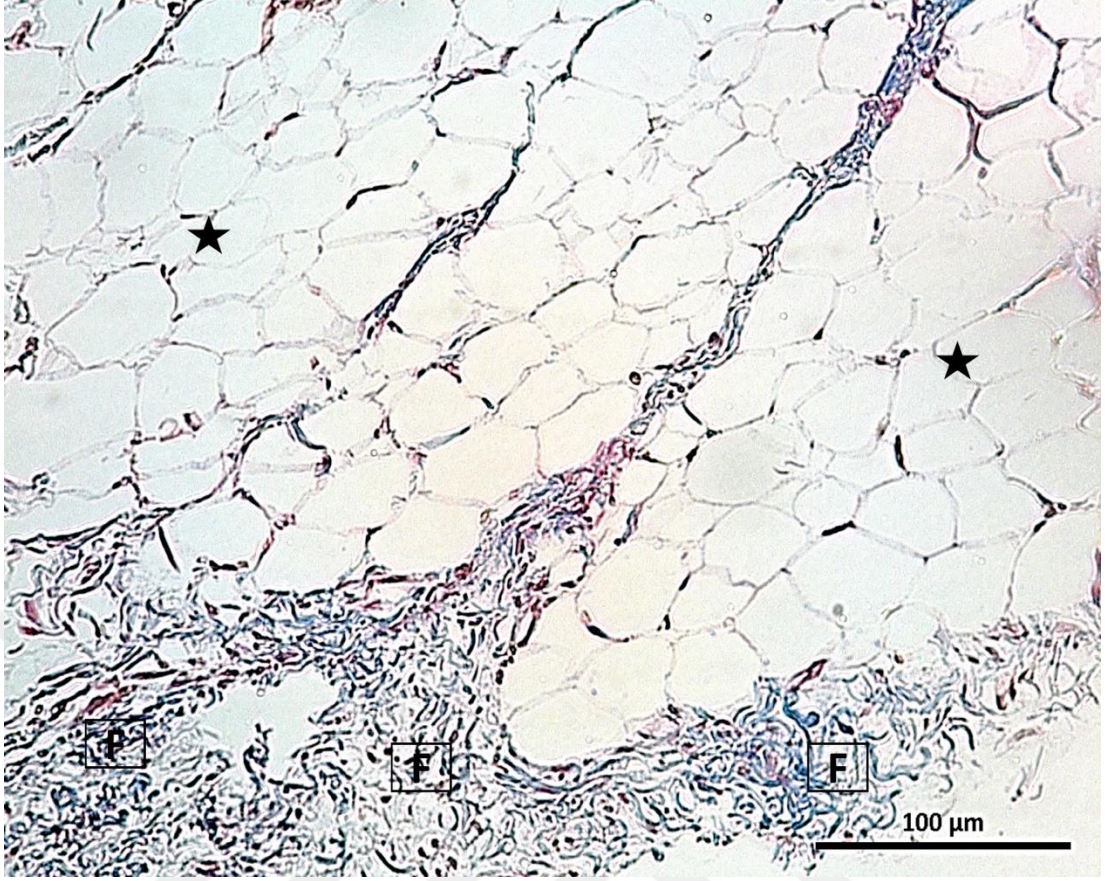


Şekil 4.19: 2. hafta kontrol grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu; F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Masson TrikromX100).

2. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerde, sağlam yağ dokusunun azaldığı ve nekroze doku alanlarının arttığı dikkati çekti. Fibrotik bağ dokusu olduğu izlendi, ancak 2.hafta kontrol grubu kadar belirgin bir artış yoktu. İnflamasyon belirtisi olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi (Şekil 4.20 ve 4.21).



Şekil 4.20: 2. hafta TZP grubuna ait kesitler. N: Nekrotik doku alanı, F: Fibrotik doku alanı, Asteriks: Dejenere yağ dokusu (Masson Trikrom X100).



Şekil 4.21: 2. hafta TZP grubuna ait kesitler. Yıldız: Sağlam yağ dokusu, F: Fibrotik doku alanı (Masson Trikrom X200).

4. TARTIŞMA

1911 yılında başlayan yağ enjeksiyonu uygulamaları sonucunda sıklıkla yağ nekrozu ve rezorbsiyonunun görülmesi, greft sağ kalımını arttırabilmek adına 100 yıla yakın süredir bu konuda çok sayıda araştırma yapılmasını tetiklemiştir. Otolog yağ grefti uygulamaları günümüzde son derece popüler ve rutin olarak yapılan bir işlem olsa da zamanla %70-90'lara varan oranda gerçekleşen volüm kaybı yağ grefti uygulamasında kısıtlayıcı bir durum olarak kendini göstermektedir (116).

Hacim kaybına neden olan faktörler arasında yağ hücrelerinin aktarımı sırasında gelişen avasküler nekroz ile travmatik rüptürün etkisinin olduğu bilinmektedir. İnflamasyona bağlı hücre ölümü ile sonrasında oluşan fibrozisin de diğer faktörler olarak hacim kaybına neden olduğu söylenmektedir (41). İnflamasyon nedeniyle, plazmatik imbibisyon ile greftin beslenmesinin azalmasıyla erken dönem preadipozit kaybı gözlemlenmiştir (117). Grefte olan vasküler desteğin gecikmesine bağlı olarak, hücrelerde iskemik duyarlılık artmakta, dejeneratif değişiklikler sonucunda nükleusun dağılmasına ve hücre membranının ayrılmasına neden olmaktadır. Revaskülarize olmayan bu alanda yağ kistleri ve vakuollerin oluşumu görülmekte olup, olay fibrozisle sonuçlanmaktadır (118).

Erken dönemde greftteki volüm kaybının akut nekroz, geç dönemdeki kaybın ise apoptozise bağlı adipozit sayısındaki azalma nedeniyle olduğu ön görüldüğünden; alıcı bölgedeki inflamasyonu, kanlanmayı, büyüme faktörlerini regüle etmek amacıyla birçok molekül (insülin, metalloproteinaz 2 inhibitörleri, hiperbarik oksijen uygulamaları, E vitamini, gibi) denenmiştir. Bazı büyüme faktörlerinin de neovaskülarizasyonu arttırarak greftin yaşayabilirliğini arttırdığı belirtilmiştir (119). Bu büyüme faktörlerini içeren ve otolog olarak elde edilen TZP'nin neovaskülarizasyonu arttırdığı ve sağladığı büyüme faktörlerinin etkisiyle bölgeye kök hücre kemotaksisini arttırdığı ve yine hücre proliferasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (3).

Yağ grefti uygulamalarına yönelik çalışmaların genel olarak odak noktasında alıcı bölgede neovaskülarizasyonu uyarıcı etkilerle greft sağ kalımını arttırmaya yönelik sonuçlar elde etmek hedeflenmiştir. Greft sağ kalımında olumlu etkileri olan kök hücrenin alıcı alana enjeksiyonu da yapılan çalışmalardan biridir. Alıcı alandaki greftin tutma oranını arttırıcı faktörler kadar, alınan yağ greftlerinin de kalitesinin de önemli olduğu düşünülmektedir. Çünkü greftin alımı sonrasında ilk 24 saatte yağ hücrelerinin iskemiye en duyarlı hücre olmalarına karşın, oksidatif strese dayanıklı greftler elde etmek, dejenerasyon ve apoptozis oranını azaltmanın sağ kalıma olumlu etkiler göstereceği ön görülmüştür (3).

Literatürde yağ grefti alımı öncesinde donör bölgede fizyolojik değişiklikler oluşturacak bir uygulama yapıldığına dair bulgulara tarafımızca rastlanmamıştır. Donör alanda kimyasal bir “delay” ortamı yaratmak, alınan yağ greftindeki içerik olarak kök hücreden zengin ve iskemiye daha dayanıklı adipositler elde etmek adına yararlı olacağı düşüncesiyle çalışmamızda donör alana uygulanan TZP sonrası alınan greft eldesindeki fizyolojik değişiklikleri incelemek amaçlanmıştır.

Lyras ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, patellar tendon defekti bölgesinde TZP enjeksiyonu sonrasında neovaskülarizasyon artışının, haftalar bazında bakıldığında ilk 2 haftada arttığı sonrasında ise düşüşe geçtiği gözlemlenmiştir (7).

Çalışmamızda; gözlenen bu durumun da etkisiyle donör alana yapılan TZP infiltrasyonu sonrası oluşan neovaskülarizasyonun etkisi göze alınarak yaratılan “delay” ortamının 1. ve 2. haftadaki sonuçları göz önüne alınarak değerlendirilmesi planlanmıştır.

Yağ greftlerinin viabilitesinde anjiyogenezin erken başlaması iskemiye duyarlılığı azaltmaktadır. VEGF ve EGF gibi mitojenik ve kemotaktik büyüme faktörleri, anjiyogenezi uyararak, neovaskülarizasyonu arttıran faktörlerdir. Yi ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada VEGF gen terapilerinin yağ grefti viabilitesine olumlu etkilerinin olduğunu kanıtlanmışlardır (120). Oh ve arkadaşlarının, TZP içeren ve içermeyen yağ greftlerindeki viabilite karşılaştırmalarında, TZP içeren grupta, viabilite lehine anlamlı bir fark bulmuşlardır (121). Çalışmamızda, TZP grubunda 1. ve 2. haftalarda kontrol grubuna göre VEGF düzeyi anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu duruma göre, neovaskülarizasyon potansiyelinde bir belirteç olan VEGF’nin göstergesi olarak, donör alanda greft alımı öncesi yağ hücrelerinin iskemiye dayanıklı

hale getirilmesinde önemli bir avantaj sağlayacağı ve yağ grefti sağ kalımını arttırabileceği düşünülebilir.

Diğer bir büyüme faktörü olan EGF, neovaskülarizasyonun stimülasyonu açısından önemli bir tetikleyici ajandır. Park ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yağ greftine yapılan EGF enjeksiyonu sonrasında kontrol grubuna göre, greft sağ kalımı açısından olumlu sonuçlar ve anlamlı bir farklılık bulunmuşlardır (122). Çalışmamızda EGF seviyeleri TZP grubunda 1. ve 2. haftalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Neovaskülarizasyonun göstergesi sayılan bu belirtecin bizde iskemiye dayanıklı greftler elde edildiği kanısın uyandırdığı söylenebilir.

Çalışmamızda yapılan histolojik incelemelerde Masson trikrom boyaması altında kapiller dansite yoğunlukları bakıldığında TZP grubunun 1. haftasında, diğer gruplara göre daha fazla damar yoğunluğunun olduğu görüldü. TZP grubunun 1.haftasında neovaskülarizasyonu gösteren belirteçlerin TZP grubu içinde de 2.haftaya göre daha yüksek olması bize yağ alımı öncesinde yaratılan “delay” ortamının süresinin 1 hafta kadar sürmesinin yeterli olacağını düşündürmektedir.

Shoshani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da gösterildiği üzere inflamasyona bağlı olarak greftin plasmatik imhibisyonla erken dönemde beslenmesini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (117). TZP'nin inflamasyonu azalttığı bilinen bir durum olup, inflamatuvar mediatörlerden biri olan TNF- α 'nın aynı zamanda adipositlerin farklılaşmasında görev alan regülatörleri inhibe ederek antiadipojenik özellikler gösterdiği belirtilmiştir (123). Çalışmamızda TZP grubunun 1. ve 2.hafta TNF- α seviyelerinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düştüğü görülmüştür ($p < 0,05$). Ponte ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada TNF- α 'nın önemli bir kemotaktik ajan olduğunu belirterek bölgede mezenkimal kök hücre migrasyonunu tetiklediğini savunmuşlardır (124). Çalışmamızda; kök hücre migrasyonu açısından tetikleyici bir ajan olması negatif bir durum olarak görülebilir, yine antiadipojenik etki göstererek bölgedeki preadipozitlerin farklılaşmasını bozması donör alan hazırlığı açısından istenmeyen bir durum olarak görülebilir. Ponte ve arkadaşları aynı çalışmada; pek çok kemotaktik ajanın kök hücre göçünü tetiklediğini belirttikleri gibi TZP'nin de içeriğinde olan IGF-1 ve PDGF-AB'yi mezenkimal kök hücre migrasyonunda en potent olan iki ajan olarak gördüklerini ifade etmişlerdir (124). Bu durumda TZP içeriğinin, mezenkimal kök hücre migrasyonunu tetikleyen birçok kemotaktik ajan içermesi nedeniyle genel olarak migrasyona pozitif etkisi olacağı kanısına varılabilir.

Xie ve arkadaşlarının yaptığı bir invitro çalışmada, TZP içerikli kök hücre kültürünün kontrol grubuna göre 1 haftalık karşılaştırmasında mezenkimal kök hücre proliferasyonunun daha fazla olduğunu görerek istatistiksel olarak anlamlı fark bulmuşlardır (125). Diğer bir invitro çalışma olan Stessuk ve arkadaşlarının çalışmasında, TZP içerikli kök hücre kültürü ve migrasyon kapasitesi 48 saatlik zaman diliminde incelenmiş ve anlamlı bir farklılık olduğunu bildirmişlerdir (126). Xiong ve arkadaşları da benzer çalışmayı yapmış olup TZP içerikli kök hücre kültürünü 5 günlük zaman diliminde değerlendirerek kontrol grubuna göre TZP grubunun lehine anlamlı fark olduğunu belirtmişlerdir (3).

Çalışmamızda donör alana uygulanan TZP'nin etkisiyle donör bölgedeki mevcut mezenkimal kök hücre proliferasyonunu tetikleyeceği, yapılan infiltrasyonun neovaskülarizasyona yapacağı pozitif etkiyle iskemiye daha dayanıklı adiposit elde edilmesini sağlayacağı, elde edilen yağ greftindeki kök hücre yoğunluğunun daha fazla olabileceği varsayılarak, greft sağ kalımında olumlu etkisi olacağı düşünülerek ve daha önce yapılan çalışmalarda 2 günlük, 5 günlük ve 1 haftalık sürelerde anlamlı sonuçlar elde edilmesine dayanılarak donör alana yapılan infiltrasyon sonrasında 1 haftalık bekleme süresinin yeterli olacağı fikrini benimsedik.

Gustafson ve arkadaşlarına ait bir çalışmada, inflamatuvar bir mediatör olan IL-6'nın preadipozit gelişimi ve farklılaşmasına olumsuz etki ettiği bildirilmiştir (127). Yang ve arkadaşları da aynı şekilde IL-6 gen ekspresyonunun preadipozit farklılaşmasını bozduğunu savunmuştur (128). Çalışmamızda IL-6 seviyelerinin TZP grubunun her iki haftasında da kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu istatistiksel olarak saptanmıştır ($p < 0,05$). TZP'nin antiinflamatuvar özelliği nedeniyle inflamatuvar mediatör olan IL-6'nın düşük gelmesi beklenebilecek bir durum iken, preadipozit farklılaşmasında yarattığı olumsuz etki göz önüne alındığında alınacak yağ grefti bölgesinde greftin içerik bakımından preadipozitten farklılaşacak hücrelerden zengin olmasının greft sağ kalımı açısından olumlu olacağı düşünülebilir.

Zhou ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada; inflamatuvar bir sitokin olan IL-1 β 'nin adipozitlerdeki mitokondriyal oksidatif fosforilasyon zincirini baskılayarak enzimatik aktivitesini inhibe ettiğini saptamışlardır (129). Çalışmamızda; IL-1 β seviyelerinin TZP grubunun 1. ve 2. haftalık sonuçlarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). TZP'nin antiinflamatuvar etkisi nedeniyle

inflamatuvar belirteçlerden biri olan IL-1 β seviyesinin düşük olması beklenen bir durum iken, adipozitlerde metabolik fonksiyonlardaki negatif etkisi nedeniyle TZP'nin bu inflamatuvar sitokin seviyesini azalttığı düşünülerek adipozit sağ kalımı açısından etkili olacağı kanısına varılabilir.

Fukaya ve arkadaşlarının yaptığı invitro bir çalışmada, TZP'nin preadipozitler üzerinde anti-apoptotik olarak etki ettiğini kültür ortamında göstererek, implante edilen bölgedeki preadipozit sağ kalımında etkili olacağını savunmuşlardır (130). Apoptozis ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda da TZP'nin içeriğindeki sitokinlerin ve proteinazların apoptozisi regüle ettiği tespit edilmiştir (131–134). Çalışmamızda TZP grubunun 1. hafta ve 2. haftadaki apoptozisi gösteren belirteç olan CK18-M30 seviyelerinin kontrol grubundaki 1. hafta ve 2. hafta seviyelerine göre anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$). Özellikle 1. haftadaki apoptozis seviyesinin TZP grubunda kontrol grubuna göre dramatik düşüş göstermesi yaratılan “delay” ortamı süresinin 1 hafta olmasında destekleyici bir bulgu olup, TZP sonrası 1. haftada donör alandan elde edilecek greftteki adipozit miktarını etkileyeceği ve bunun da greftin sağ kalımında önemli bir avantaj sağlayacağı düşünülebilir. Greftin iskemi hipoksiye duyarlılığı erken dönemde sağ kalım açısından önem arz ederken, TZP'nin apoptozis sürecini regüle ederek anti-apoptotik etkiler göstermesine bağlı olarak sağ kalım teorisinde de bahsedildiği üzere devam edecek olan apoptozisi azaltmasıyla yağ grefti sağ kalımını olumlu yönde etkileyeceği fikri akla gelmektedir.

Bakacak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, TZP'nin iskemi/reperfüzyon hasarına olan koruyucu etkisinin olup olmadığı incelenmiş ve TZP grubundaki oksidatif stres seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğunu tespit etmişlerdir (135). TZP'nin içeriğinde de bulunan PDGF'nin hücrede nükleer faktör (erythroid-derived 2) sinyal yolağını etkileyerek oksidatif hasarı engellediği gösterilmiştir (136,137). Çalışmamızda oksidatif stres düzeyini gösteren belirteç olan oksidatif stres indeksi (OSI) seviyesi, TZP grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Erken dönemde greftin iskemi/hipoksiye olan duyarlılık derecesi, adipozit viabilitesi açısından önemli olduğundan dolayı donör alanda yaratılan “delay” ortamı sonrası alınacak greftin oksidatif hasara olan dayanıklılığının, greft sağ kalımı açısından önemli bir avantaj olacağını düşünmekteyiz. Sonuç olarak anlamlı düzeyde düşüşün olmasının etkisel nedeni olarak, TZP içeriğindeki faktörlerden olan PDGF'nin oksidatif hasarı azaltması

düşünülebilir. Çalışmamızda, TZP uygulaması sonrası 1.hafta sonunda alınan greftteki oksidatif stres düzeyinin en düşük seviyede olması, ameliyatın gerçekleşme zamanı açısından TZP infiltrasyonunu takiben 1 haftalık bekleme süresinin yeterli olacağı fikrini akla getirmektedir.



5. SONUÇLAR

Çalışmamızda donör alana TZP infiltrasyonu sonrası alınan greft eldesindeki fizyolojik değişiklikler incelenmiştir.

İnflamatuvar belirteçler olan TNF- α , IL-1 β , IL-6 seviyeleri TZP grubunda, 1. hafta ve 2. haftalarda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Neovaskülarizasyon açısından bilgi veren belirteçler olan VEGF ve EGF seviyeleri, TZP grubunda, 1. hafta ve 2. haftalarda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Apoptozisi gösteren bir belirteç olan CK18-M30 seviyeleri, TZP grubunda, 1. hafta ve 2. Haftalarda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Oksidatif stres düzeyini gösteren belirteçler olan TAS, TOS ve bu belirteçlerin indeksi olarak hesaplanan OSI seviyesi, TZP grubunda, 1. hafta ve 2. haftalarda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Histolojik incelemelerde, 1. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerinde kontrol grubuna göre daha fazla damar içerdiği görüldü.

1. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerde, sağlam yağ dokusu alanlarının dışında, kontrol grubuna oranla, daha az dejenere olan yağ doku alanları ve çevresinde nekroze alanlar görüldü. İnflamasyon belirtisi olan, İnflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi. Kontrol grubuna göre daha sınırlı ve daha az alanda fibrotik bağ dokusu görüldü.

2. hafta TZP grubu yağ dokularına ait kesitlerde, sağlam yağ dokusunun azaldığı ve nekroze doku alanlarının arttığı dikkati çekti. Fibrotik bağ dokusu olduğu izlendi, ancak 2. hafta kontrol grubu kadar belirgin bir artış yoktu. İnflamasyon belirtisi olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi.

Çalışmamızda; bakılan mevcut parametrelerden yola çıkarak elde edilen sonuçlara göre istatistiksel açıdan TZP grubunun, kontrol grubuna göre, oksidatif strese daha dayanıklı, apoptozis oranı daha az, neovaskülarizasyon potansiyeli daha yüksek,

inflamasyondan daha az etkilenen yağ hücrelerine ait bulgular ortaya çıkmıştır. Özellikle 1.haftadaki değerlerin dramatik olarak daha etkili olmasından dolayı “delay” süresinin 1 hafta olmasının yeterli olacağı düşüncesindeyiz. Literatürde donör alana uygulama daha önce yapılmadığı göz önüne alındığında mevcut çalışmamızın yağ grefti uygulamalarında farklı bir bakış açısı kazandıracağını ve greftin sağ kalımı bakımından olumlu etkiler göstereceğini düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- [1] Seyhan N, Alhan D, Ural AU, Gunal A, Avunduk MC, Savaci N. The effect of combined use of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells on fat graft survival. *Annals of Plastic Surgery* 2015; 74 (5): 615-20.
- [2] Nakamura S, Ishihara M, Takikawa M, Murakami K, Kishimoto S, Nakamura S, et al. Platelet-rich plasma (PRP) promotes survival of fat-grafts in rats. *Annals of Plastic Surgery* 2010; 65 (1): 101-6.
- [3] Xiong B-J, Tan Q-W, Chen Y-J, Zhang Y, Zhang D, Tang S-L, vd. The effects of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells on neovascularization and fat graft survival. *Aesthetic Plastic Surgery* 2018; 42 (1): 1-8.
- [4] Strassburg S, Nienhueser H, Björn Stark G, Finkenzeller G, Torio-Padron N. Co-culture of adipose-derived stem cells and endothelial cells in fibrin induces angiogenesis and vasculogenesis in a chorioallantoic membrane model. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 2016; 10 (6): 496-506.
- [5] Merfeld-Clauss S, Gollahalli N, March KL, Traktuev DO. Adipose tissue progenitor cells directly interact with endothelial cells to induce vascular network formation. *Tissue Engineering Part A* 2010; 16 (9): 2953-66.
- [6] El-Sharouny SH, Rizk AAEE, Rashed LA, Sayed WM, Elmoneam M. Analysis of the therapeutic role of platelet-rich plasma against cisplatin-induced hepatotoxicity in rats: controversy between oxidative and apoptotic markers. *European Journal Of Anatomy* 2019; 23 (3): 01-13.
- [7] Lyras D, Kazakos K, Verettas D, Polychronidis A, Simopoulos C, Botaitis S, et al. Immunohistochemical study of angiogenesis after local administration of platelet-rich plasma in a patellar tendon defect. *International Orthopaedics* 2010; 34 (1): 143-8.
- [8] Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1998; 83 (3): 847-50.
- [9] Reynisdottir S, Dauzats M, Thörne A, Langin D. Comparison of hormone-sensitive lipase activity in visceral and subcutaneous human adipose tissue. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1997; 82 (12): 4162-6.
- [10] Warden NAS, Warden CH. Biological influences on obesity. *Pediatric Clinics of North America* 2001; 48 (4): 879-91.

- [11] Demirci Ş, Cennet G. Adipoz doku ve adipoz dokudan salgılanan bazı proteinler. Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute 2019; 5 (2): 155-79.
- [12] Cezairlioğlu MA. Meme Kanseri Modeli. Ratlarda Yağ Grefti Uygulamaları. [İstanbul]. İstanbul Şişli Hamidiye Etfal Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi, Tıpta Uzmanlık Tezi 2020.
- [13] Berry DC, Stenesen D, Zeve D, Graff JM. The developmental origins of adipose tissue. Development 2013; 140 (19): 3939-49.
- [14] Steppan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. Trends in Endocrinology & Metabolism 2002; 13 (1): 18-23.
- [15] Montague C, O’Rahilly S. Causes and consequences of visceral adiposity: The perils and portliness. Diabetes 2000; 49 (6): 883-8.
- [16] Ergün A. Yağ Hücreleri Ve Salgı Ürünlerinin Fonksiyonları. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2003; 56 (3): 179-88.
- [17] Gesta S, Tseng Y-H, Kahn CR. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. Cell 2007; 131 (2): 242-56.
- [18] Almind K, Manieri M, Sivitz WI, Cinti S, Kahn CR. Ectopic brown adipose tissue in muscle provides a mechanism for differences in risk of metabolic syndrome in mice. Proceedings of the National Academy of Sciences 2007; 104 (7): 2366-71.
- [19] Crandall DL, Hausman GJ, Kral JG. A review of the microcirculation of adipose tissue: anatomic, metabolic, and angiogenic perspectives. Microcirculation 1997; 4 (2): 211-32.
- [20] Ailhaud G, Grimaldi P, Negrel R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. Annual Review of Nutrition 1992;12 (1):207-33.
- [21] Morganstein DL, Wu P, Mane MR, Fisk NM, White R, Parker MG. Human fetal mesenchymal stem cells differentiate into brown and white adipocytes: a role for ERR α in human UCP1 expression. Cell Research 2010; 20 (4):434-44.
- [22] Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Aoi N. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. Regenerative Medicine 2011; 6 (6s):33-41.
- [23] Tholpady SS, Llull R, Ogle RC, Rubin JP, Futrell JW, Katz AJ. Adipose tissue: stem cells and beyond. Clinics in Plastic Surgery 2006;33 (1):55-62.
- [24] Ali Emre A. Yağ Dokusundan Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücreler ve Stromal Vasküler Fraksiyon Konsepti. Türkiye Klinikleri J Plast Surg-Special Topics 2015;4 (3):19-26.
- [25] Mahla RS. Stem cells applications in regenerative medicine and disease therapeutics. International Journal of Cell Biology 2016;2016: 6940283.
- [26] Young C, Jarrell BE, Hoying JB, Williams SK. A porcine model for adipose tissue-derived endothelial cell transplantation. Cell Transplantation 1992;1 (4):293-8.

- [27] Aust L, Devlin B, Foster S, Halvorsen Y, Hicok K d, Du Laney T, vd. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy* 2004;6 (1):7-14.
- [28] von Heimburg D, Hemmrich K, Haydarlioglu S, Staiger H, Pallua N. Comparison of viable cell yield from excised versus aspirated adipose tissue. *Cells Tissues Organs* 2004;178 (2):87-92.
- [29] Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z, Schreiber RE, vd. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *The Keio Journal of Medicine* 2005;54 (3):132-41.
- [30] van der Meulen RM. Considérations générales sur les greffes graisseuses et serograisseuses épiploïques et leurs principales applications. Paris. 1919. PhD Thesis.
- [31] Li F, Guo W, Li K, Yu M, Tang W, Wang H, vd. Improved fat graft survival by different volume fractions of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells. *Aesthetic Surgery Journal* 2015; 35 (3): 319-33.
- [32] Mazzola RF, Mazzola IC. History of fat grafting: from ram fat to stem cells. *Clinics in Plastic Surgery* 2015; 42 (2): 147-53.
- [33] Mojallal A, Foyatier J. Historical review of the use of adipose tissue transfer in plastic and reconstructive surgery. *Annales de Chirurgie Plastique et Esthetique* 2004; 49(5): 419-25.
- [34] Rich GJ. Making the Body Beautiful: A Cultural History of Aesthetic Surgery. 2000; 11 (3-4): 65-7.
- [35] Claude O, André P. Fat grafting. *Cosmetic Medicine and Surgery* CRC Press. 2017; 24 (4): 669-76.
- [36] O'Toole JP, Song A, Rubin JP. The history of body contouring surgery. *Seminars in Plastic Surgery* 2006; 20(1): 5-8.
- [37] Dardour J. In memoriam. Yves-Gérard Illouz (1929—2015). *Annales de Chirurgie Plastique et Esthetique* 2015; 60(3):169-70.
- [38] Klein JA. Tumescence technique for local anesthesia improves safety in large-volume liposuction. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1993; 92(1): 1085-1085.
- [39] Coleman SR. Structural fat grafts: the ideal filler? *Clinics in Plastic Surgery* 2001; 28 (1): 111-9.
- [40] Coleman SR. Structural fat grafting: more than a permanent filler. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2006;118 (3):108-120.
- [41] Bellini E, Grieco MP, Raposio E. The science behind autologous fat grafting. *Annals of Medicine and Surgery* 2017; 2(4):65-73.
- [42] Landau MJ, Birnbaum ZE, Kurtz LG, Aronowitz JA. proposed methods to improve the survival of adipose tissue in autologous fat grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open* 2018;6 (8): e1870.

- [43] Chung MT, Zimmermann AS, Paik KJ, Morrison SD, Hyun JS, Lo DD, vd. Isolation of human adipose-derived stromal cells using laser-assisted liposuction and their therapeutic potential in regenerative medicine. *Stem Cells Translational Medicine* 2013; 2 (10):808-17.
- [44] Lewis CM. Comparison of the syringe and pump aspiration methods of lipoplasty. *Aesthetic Plastic Surgery* 1991; 15 (1): 203-8.
- [45] 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): 763-8.
- [46] Shiffman MA, Mirrafati S. Fat transfer techniques: the effect of harvest and transfer methods on adipocyte viability and review of the literature. *Dermatologic Surgery* 2001; 27 (9): 819-26.
- [47] KIRK BRANDOW M, NEWMAN J. Facial Multilayered Micro Lipo-Augmentation. *International Journal of Aesthetic and Restorative Surgery* 1996; 4(2): 95-110.
- [48] solarysys. <https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/mechanism-liposuction-suction-assisted-vector-38703410>.
- [49] Alharbi Z, Opländer C, Almakadi S, Fritz A, Vogt M, Pallua N. Conventional vs. micro-fat harvesting: how fat harvesting technique affects tissue-engineering approaches using adipose tissue-derived stem/stromal cells. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* 2013; 66 (9): 1271-8.
- [50] Asken S. Autologous fat transplantation: micro and macro techniques. *The American Journal of Cosmetic Surgery* 1987;4 (2):111-21.
- [51] Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, Sav A. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic surgery* 2009; 62 (9):1210-4.
- [52] Liu LF, Craig CM, Tolentino LL, Choi O, Morton J, Rivas H et al. Adipose tissue macrophages impair preadipocyte differentiation in humans. *PLoS One* 2017; 12 (2): e0170728.
- [53] Smith P, Adams Jr WP, Lipschitz AH, Chau B, Sorokin E, Rohrich RJ, vd. Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2006; 117 (6):1836-44.
- [54] Coleman SR. Facial recontouring with lipostructure. *Clinics in Plastic Surgery* 1997; 24 (2): 347-67.
- [55] Zocchi M, Zuliani F. Bicompartamental breast lipostructuring. *Aesthetic Plastic Surgery* 2008; 32 (2): 313-28.
- [56] Chajchir A, Benzaquen I, Moretti E. Comparative experimental study of autologous adipose tissue processed by different techniques. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1994; 94 (1): 113-115.

- [57] Sommer B, Sattler G. Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of the literature. *Dermatologic Surgery* 2000; 26 (12): 1159-66.
- [58] Ferraro GA, De Francesco F, Tirino V, Cataldo C, Rossano F, Nicoletti G, vd. Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting. *Aesthetic Plastic Surgery* 2011; 35 (3): 341-8.
- [59] Kling RE, Mehrara BJ, Pusic AL, Young VL, Hume KM, Crotty CA, vd. Trends in autologous fat grafting to the breast: a national survey of the American society of plastic surgeons. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2013; 132 (1): 35-46.
- [60] Coleman SR. Structural fat grafting. *Clinics in Plastic Surgery* 2001; 28(1): 111-9.
- [61] Ducic Y. Fat grafting in trauma and reconstructive surgery. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America* 2008; 16 (4): 409-16.
- [62] Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, Shanahan RK, Strem BM, Johnson CY, vd. Comparison of three different fat graft preparation methods: gravity separation, centrifugation, and simultaneous washing with filtration in a closed system. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2013; 131 (4): 873-80.
- [63] Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004; 89 (6): 2548-56.
- [64] Medina M, Lee J, Kirkham J, McCormack M, Randolph M, Austen W. Fat grafting, ischemia repurfusion, apoptosis, antioxidants. *Journal of Surgical Research* 2011; 165 (2): 323.
- [65] Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients 1. *The FASEB Journal*. 1987; 1 (6): 441-5.
- [66] Gultekin F, Ozturk M, Akdogan M. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Archives of Toxicology* 2000; 74 (9): 533-8.
- [67] Baykara G. Otolog Kondüsyonel Serumun Sıçanlardaki Yağ Grefti Yaşayabilirliğine Etkisinin Plateletten Zengin Plazma-Yağ grefti kombinasyonu ile Kontrollü Karşılaştırılması. [Ankara]: Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi; Tıpta Uzmanlık Tezi. 2019.
- [68] Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, vd. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2012; 129 (5): 1081-92.
- [69] Nishimura T, Hashimoto H, Nakanishi I, Furukawa M. Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts. *The Laryngoscope* 2000; 110 (8): 1333-8.
- [70] Kato H, Mineda K, Eto H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, vd. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue

remodeling during the first 3 months. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2014; 133 (3): 303-13.

- [71] Ozer K, Colak O. Micro-autologous fat transplantation combined with platelet-rich plasma for facial filling and regeneration: a clinical perspective in the shadow of evidence-based medicine. *Journal of Craniofacial Surgery* 2019; 30 (3): 672-7.
- [72] Jin R, Zhang L, Zhang Y-G. Does platelet-rich plasma enhance the survival of grafted fat? An update review. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 2013; 6 (4): 252-258.
- [73] Hong SJ, Lee JH, Hong SM, Park CH. Enhancing the viability of fat grafts using new transfer medium containing insulin and β -fibroblast growth factor in autologous fat transplantation. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* 2010; 63 (7): 1202-8.
- [74] Ozer K, Atan O. The addition of platelet-rich plasma to facial lipofilling: A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2018; 142 (5):795-6.
- [75] Guerrerosantos J, Gonzalez-Mendoza A, Masmela Y, Gonzalez MA, Deos M, Diaz P. Long-term survival of free fat grafts in muscle: an experimental study in rats. *Aesthetic Plastic Surgery* 1996; 20 (5):403-8.
- [76] Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B. The current state of fat grafting: a review of harvesting, processing, and injection techniques. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2015; 136 (4):897-912.
- [77] Hamed S, Egozi D, Kruchevsky D, Teot L, Gilhar A, Ullmann Y. Erythropoietin improves the survival of fat tissue after its transplantation in nude mice. *PLoS One* 2010; 5 (11): e13986.
- [78] Fontes T, Brandão I, Negrão R, Martins MJ, Monteiro R. Autologous fat grafting: Harvesting techniques. *Annals of Medicine and Surgery* 2018; 36 (3): 212-8.
- [79] Padoin A, Braga-Silva J, Martins P. Sources of processed lipoaspirate cells. Influence of donor site on cell concentration. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2008; 122 (2): 614-18.
- [80] Hudson DA, Lambert EV, Bloch CE. Site selection for fat autotransplantation: some observations. *Aesthetic Plastic Surgery* 1990; 14 (1): 195-7.
- [81] Di Taranto G, Cicione C, Visconti G, Isgrò MA, Barba M, Di Stasio E, vd. Qualitative and quantitative differences of adipose-derived stromal cells from superficial and deep subcutaneous lipoaspirates: a matter of fat. *Cytotherapy* 2015; 17 (8):1076-89.
- [82] Fournier PF. Fat grafting: my technique. *Dermatologic Surgery* 2000; 26 (12): 1117-28.
- [83] Fulton JE, Parastouk N. Fat grafting. *Dermatologic Clinics* 2001; 19 (3): 523-30.
- [84] Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In search of improved fat transfer viability:

- a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2004; 113 (1):391-5.
- [85] Coleman SR. Facial augmentation with structural fat grafting. *Clinics in Plastic Surgery* 2006; 33 (4): 567-77.
- [86] Ullmann Y, Shoshani O, Fodor A, Ramon Y, Carmi N, Eldor L, vd. Searching for the favorable donor site for fat injection: in vivo study using the nude mice model. *Dermatologic Surgery* 2005; 31 (10): 1304-7.
- [87] Rigotti G, Marchi A, Sbarbati A. Adipose-derived mesenchymal stem cells: past, present, and future. *Aesthetic Plastic Surgery* 2009; 33 (3): 271-3.
- [88] Tiriyaki T, Findikli N, Tiriyaki D. Staged stem cell-enriched tissue (SET) injections for soft tissue augmentation in hostile recipient areas: a preliminary report. *Aesthetic Plastic Surgery* 2011; 35 (6): 965-71.
- [89] Castiglione F, Dewulf K, Hakim L, Weyne E, Montorsi F, Russo A, vd. Adipose-derived stem cells counteract urethral stricture formation in rats. *European Urology* 2016; 70 (6): 1032-41.
- [90] Beugels J, Hommes JE, Balthasar AJ, van der Hulst RR, de Grzymala AAP. Autologous fat transfer as a treatment for peripheral neuropathic pain without apparent cause. *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open* 2018; 6 (8): e1905.
- [91] Salibian AA, Frey JD, Bekisz JM, Choi M, Karp NS. Fat grafting and breast augmentation: a systematic review of primary composite augmentation. *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open* 2019; 7 (7): e2340.
- [92] Delay E, Sinna R, Chekaroua K, Delaporte T, Garson S, Toussoun G. Lipomodeling of Poland's syndrome: a new treatment of the thoracic deformity. *Aesthetic Plastic Surgery* 2010; 34 (2): 218-25.
- [93] Mendieta CG. Gluteoplasty. *Aesthetic Surgery Journal*. 2003; 23 (6):441-55.
- [94] Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dentistry* 2001; 10 (4): 225-8.
- [95] Graziani F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clinical Oral Implants Research* 2006; 17 (2): 212-9.
- [96] Rappl LM. Effect of platelet rich plasma gel in a physiologically relevant platelet concentration on wounds in persons with spinal cord injury. *International Wound Journal* 2011; 8 (2):187-95.
- [97] Ozer K, Kankaya Y, Colak O, Kocer U. The impact of duration and force of centrifugation on platelet content and mass in the preparation of platelet-rich plasma. *Aesthetic Plastic Surgery* 2019; 43 (4): 1078-84.
- [98] Li W, Enomoto M, Ukegawa M, Hirai T, Sotome S, Wakabayashi Y, vd. Subcutaneous injections of platelet-rich plasma into skin flaps modulate proangiogenic gene expression and improve survival rates. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2012; 129 (4): 858-66.
- [99] Bir SC, Esaki J, Marui A, Sakaguchi H, Kevil CG, Ikeda T, vd. Therapeutic treatment with sustained-release platelet-rich plasma restores blood perfusion by augmenting ischemia-induced angiogenesis and

- arteriogenesis in diabetic mice. *Journal of Vascular Research* 2011; 48 (3): 195-205.
- [100] 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.
- [101] 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): 1294-9.
- [102] 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): 638-46.
- [103] Magalon J, Bausset O, Serratrice N, Giraudo L, Aboudou H, Veran J, vd. Characterization and comparison of 5 platelet-rich plasma preparations in a single-donor model. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery* 2014; 30 (5): 629-38.
- [104] Van Rensburg WJJ, van der Merwe P. Comparison of commercially available blood collection tubes containing sodium citrate and hirudin in platelet aggregation testing. *Medical Science Monitor Basic Research* 2017; 23 (2): 264-269.
- [105] Ozer K, Kankaya Y, Çolak Ö. An important and overlooked parameter in platelet rich plasma preparation: The mean platelet volume. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2019; 18 (2): 474-82.
- [106] Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plastic Surgery* 2002; 18 (1): 27-34.
- [107] Hancı M, Karamese M, Tosun Z, Aktan TM, Duman S, Savacı N. Intra-articular platelet-rich plasma injection for the treatment of temporomandibular disorders and a comparison with arthrocentesis. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 2015; 43 (1): 162-6.
- [108] Knighton DR, Ciresi K, Fiegel V, Schumerth S, Butler E, Cerra F. Stimulation of repair in chronic, nonhealing, cutaneous ulcers using platelet-derived wound healing formula. *Surgery, Gynecology & Obstetrics* 1990; 170 (1): 56-60.
- [109] Leo MS, Kumar AS, Kirit R, Konathan R, Sivamani RK. Systematic review of the use of platelet-rich plasma in aesthetic dermatology. *Journal of Cosmetic Dermatology* 2015; 14 (4): 315-23.
- [110] Mazzucco L, Medici D, Serra M, Panizza R, Rivara G, Orecchia S, vd. The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: a pilot study. *Transfusion* 2004; 44 (7): 1013-8.
- [111] Tobita M, Tajima S, Mizuno H. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: stem cell transplantation methods that enhance stemness. *Stem Cell Research & Therapy* 2015; 6 (1): 1-7.
- [112] Cervelli V, Gentile P, Scioli MG, Grimaldi M, Casciani CU, Spagnoli LG, vd. Application of platelet-rich plasma in plastic surgery: clinical and in vitro evaluation. *Tissue Engineering Part C: Methods* 2009; 15 (4): 625-

- [113] Gonzalez AM, Loboeki C, Kelly CP, Jackson IT. An alternative method for harvest and processing fat grafts: an in vitro study of cell viability and survival. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2007;120 (1):285-94.
- [114] Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 2004; 37 (4): 277-85.
- [115] Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 2005; 38 (12): 1103-11.
- [116] Chajchir A. Fat injection: long-term follow-up. *Aesthetic Plastic Surgery* 1996; 20 (4): 291-6.
- [117] Shoshani O, Shupak A, Ullmann Y, Ramon Y, Gilhar A, Kehat I, vd. The effect of hyperbaric oxygenation on the viability of human fat injected into nude mice. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2000; 106 (6): 1390-6.
- [118] Saunders MC, Keller JT, Dunsker SB, Mayfield FH. Survival of autologous fat grafts in humans and in mice. *ConnectiveTissue Research* 1981; 8 (2): 85-91.
- [119] Yuksel E, Weinfeld AB, Cleek R, Wamsley S, Jensen J, Boutros S, vd. Increased free fat-graft survival with the long-term, local delivery of insulin, insulin-like growth factor-I, and basic fibroblast growth factor by PLGA/PEG microspheres. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2000; 105 (5): 1712-20.
- [120] Yi C, Xia W, Zhang L, Zhen Y, Shu M, Han Y, vd. VEGF gene therapy for the survival of transplanted fat tissue in nude mice. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* 2007; 60 (3): 272-8.
- [121] Oh DS, Cheon YW, Jeon YR, Lew DH. Activated platelet-rich plasma improves fat graft survival in nude mice: a pilot study. *Dermatologic Surgery* 2011; 37 (5): 619-25.
- [122] Park B, Kong JS, Kang S, Kim YW. The effect of epidermal growth factor on autogenous fat graft. *Aesthetic Plastic Surgery* 2011; 35 (5): 738-44.
- [123] Hube F, Hauner H. The role of TNF in human adipose tissue: prevention of weight gain at the expense of insulin. Resistance? *Hormone And Metab Research* 1999; 31(12): 626-31.
- [124] Ponte AL, Marais E, Gallay N, Langonné A, Delorme B, Hérault O, vd. 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): 1737-45.
- [125] Xie X, Wang Y, Zhao C, Guo S, Liu S, Jia W, vd. Comparative evaluation of MSCs from bone marrow and adipose tissue seeded in PRP-derived scaffold for cartilage regeneration. *Biomaterials* 2012; 33 (29): 7008-18.
- [126] Stessuk T, Puzzi MB, Chaim EA, Alves PCM, de Paula EV, Forte A et al. Platelet-rich plasma (PRP) and adipose-derived mesenchymal stem cells: stimulatory effects on proliferation and migration of fibroblasts

- and keratinocytes in vitro. *Archives of Dermatological Research* 2016; 308 (7): 511-20.
- [127] Gustafson B, Hammarstedt A, Andersson CX, Smith U. Inflamed adipose tissue: a culprit underlying the metabolic syndrome and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2007; 27 (11): 2276-83.
- [128] Yang W, Yang C, Luo J, Wei Y, Wang W, Zhong Y. Adiponectin promotes preadipocyte differentiation via the PPAR γ pathway. *Molecular Medicine Reports* 2018; 17 (1): 428-35.
- [129] Zhou H, Wang H, Yu M, Schugar RC, Qian W, Tang F, vd. IL-1 induces mitochondrial translocation of IRAK2 to suppress oxidative metabolism in adipocytes. *Nature Immunology* 2020; 21 (10): 1219-31.
- [130] Fukaya Y, Kuroda M, Aoyagi Y, Asada S, Kubota Y, Okamoto Y, vd. Platelet-rich plasma inhibits the apoptosis of highly adipogenic homogeneous preadipocytes in an in vitro culture system. *Experimental & Molecular Medicine* 2012; 44 (5): 330-9.
- [131] Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2004; 114 (6): 1502-8.
- [132] 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-59e.
- [133] Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *The American Journal of Sports Medicine* 2009; 37 (11): 2259-72.
- [134] 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.
- [135] Bakacak M, Bostanci MS, İnanc F, Yaylali A, Serin S, Attar R, vd. Protective effect of platelet rich plasma on experimental ischemia/reperfusion injury in rat ovary. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 2016; 81 (3): 225-31.
- [136] Tohidnezhad M, Wruck C-J, Slowik A, Kweider N, Beckmann R, Bayer A, vd. Role of platelet-released growth factors in detoxification of reactive oxygen species in osteoblasts. *Bone* 2014; 65 (3): 9-17.
- [137] Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2004; 62 (4): 489-96.