

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KULAK BURUN
BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**İLERİ-KIYILMIŞ KARTİLAJİN TEK BAŞINA, TROMBOSİTTEN ZENGİN
PLAZMA VE KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ İLE
KARIŞTIRILMASININ CANLILIĞA VE REZORBSİYONA ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yasin KULAKSIZ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Alper YENİGÜN

Ağustos 2022

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KULAK BURUN
BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**İLERİ-KIYILMIŞ KARTİLAJİN TEK BAŞINA, TROMBOSİTTEN ZENGİN
PLAZMA VE KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ İLE
KARIŞTIRILMASININ CANLILIĞA VE REZORBSİYONA ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yasin KULAKSIZ

**Bu tez Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından 20210803 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Alper YENİGÜN

Ağustos 2022

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı'nın tıpta uzmanlık öğrencisi Yasin KULAKSIZ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “İleri-Kıyılmış Kartilajın Tek Başına, Trombositten Zengin Plazma ve Konsanre Büyüme Faktörü ile Karıştırılmasının Canlılığa ve Rezorbsiyona Etkileri” başlıklı tezi aşağıda imzaları olan jüri önünde başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Alper YENİGÜN

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Orhan ÖZTURAN

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Suat TURGUT

İstanbul Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Doç. Dr. Alper YENİGÜN

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Teslim Tarihi :/...../2022

Savunma Tarihi :/...../2022

BEYAN FORMU

Uzmanlık Tezi olarak sunduğum “İleri-Kıyılmış Kartilajın Tek Başına, Trombositten Zengin Plazma ve Konsantre Büyüme Faktörü ile Karıştırılmasının Canlığa ve Rezorbsiyona Etkileri” başlıklı bu çalışmayı, tez konusunu Prof. Dr. Orhan ÖZTURAN’dan aldığımı ve baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Alper YENİĞÜN’ün sorumluluğunda tamamladığımı, tezin planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynakçada eksiksiz gösterdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Dr. Yasin KULAKSIZ

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, maddi ve manevi olarak desteğini esirgemeyen, anabilim dalı başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Orhan ÖZTURAN'a, tıpta uzmanlık eğitim sürecimde ve tezimde sabır ve özverisiyle ihtiyaç duyduğum her an desteğini aldığım ve kendisi ile çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum tez danışmanım Doç. Dr. Alper YENİGÜN'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bana her zaman esin kaynağı olan ve tezimin oluşum aşamasında ciddi katkı sunan Doç. Dr. Remzi DOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım. Asistanlık eğitimim boyunca teorik ve pratik anlamda eğitimimde emeği geçen, öğreten, yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Fadlullah AKSOY'a, Prof. Dr. Sabri Baki EREN'e, Prof. Dr. Selahattin TUĞRUL'a, Doç. Dr. Ömer Faruk ÇALIM'a ve Doç. Dr. Erol ŞENTÜRK'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bir dönem birlikte çalıştığım ve eğitimimde emeği geçen değerli hocalarım Prof. Dr. Ayşenur Meriç HAFİZ'a, Doç. Dr. Yavuz Selim YILDIRIM'a ve Uzm. Dr. Hasan HASSOUNA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan dolayı mutluluk duyduğum meslektaşlarım Dr. Abdullah ÖZDEM'e, Dr. Nurtaç DAĞISTANLI'ya, Dr. İsmail ÇELİK'e, Dr. Ahmet Onur SÜTÇÜ'ye, Dr. Emre POLAT'a, Dr. Muhammed Furkan ÖZGAN'a, Dr. Ramazan Bahadır KÜÇÜK'e teşekkür ederim.

Kulak Burun Boğaz servis, poliklinik ve ameliyathanede çalışan, bizlere her zaman destek ve yardımcı olan tüm personel arkadaşlarıma emekleri için teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük katkıyı sağlayan, beni her türlü fedakârlıklarla yetiştiren ve eğitimim için destek olan anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ve minneti borç bilirim.

Bu süreçte hep yanımda olup varlığıyla her zaman bana destek olan, kıymetli eşim Büşra'ya sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Yasin KULAKSIZ

İÇİNDEKİLER

BEYAN FORMU.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	15
2. GENEL BİLGİLER.....	15
2.1. KIKIRDAK DOKUSU	15
2.1.1. KIKIRDAK DOKUSUNUN TANIMI	15
2.1.2. KIKIRDAK DOKUSUNUN EMBRİYOLOJİSİ.....	15
2.1.3. KIKIRDAK HÜCRELERİ.....	16
2.1.4. KIKIRDAK MATRİKSİ.....	17
2.1.5. PERİKONDRİYUM	18
2.1.6. KIKIRDAK TİPLERİ	18
2.1.7. KIKIRDAK DOKUSUNUN İYİLEŞMESİ.....	19
2.2. TROMBOSİTLER.....	20
2.2.1. GENEL YAPISI.....	20
2.2.2. TROMBOSİTLERDE BULUNAN BÜYÜME FAKTÖRLERİ	21
2.3. TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA.....	24
2.3.1. GENEL BİLGİ.....	24
2.3.2. KULLANIM ALANLARI	25
2.4. KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ.....	27
2.4.1. GENEL BİLGİ.....	27
2.4.2. KULLANIM ALANLARI	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. ETİK KURUL ONAMI	28
3.2. PROJE DESTEĞİ.....	28
3.3. MATERYAL.....	28
3.4. YÖNTEM	29
3.5. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME	33
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMİ	34

4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ.....	47
7. KAYNAKLAR.....	48



TABLO LİSTESİ

Tablo 4-1: Histopatolojik skor tanımlayıcı istatistik verileri 42

Tablo 4-2: Rejeneratif skor tanımlayıcı istatistik verileri 42



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3-1 : Tavşan kulak kıkırdığı.	30
Şekil 3-2 : İleri-kıyılmış kartilaj greft.	30
Şekil 3-3 : Trombositten Zengin Plazma (PRP).....	31
Şekil 3-4 : CGF elde etmek amacıyla santrifüj sonrası elde edilen görüntü. .	32
Şekil 3-5 : Konsantre Büyüme Faktörü (CGF).	32
Şekil 3-6 : Eksize edilen greftler.	33
Şekil 4-1 : İleri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Parçalanmış kıkırdak dokusu alanları ve çevresindeki bağ dokusu görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması.....	35
Şekil 4-2 : İleri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Kıkırdak doku içerisinde lakünalar çevresinde koyu (mor) renkli boyanmış territoriyal matriks ve çevresinde yer alan ekstra-territoriyal matriks ile kıkırdak doku çevresinde yer alan bağ dokusu (yeşil) görülmektedir. Safranin-O&Fast Green boyaması.	36
Şekil 4-3 : CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Hipertrofi olmuş kıkırdak dokusu, periferal yerleşimli proliferatif kondrositler ve çevresindeki bağ dokusu görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması.	37
Şekil 4-4 : CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Kıkırdak doku içerisinde lakünalar çevresinde koyu (mor) renkli boyanmış artmış territoriyal matriks ve çevresinde yer alan ekstra-territoriyal matriks ile kıkırdak doku çevresinde yer alan bağ dokusu (yeşil) görülmektedir. Safranin-O&Fast Green boyaması.	38
Şekil 4-5 : PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Parçalı kıkırdak dokusu, periferal yerleşimli proliferatif kondrositler ve bağ dokusu içerisinde kan damarı görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması.....	39
Şekil 4-6 : PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Kıkırdak doku içerisinde lakünalar çevresinde koyu (mor) renkli boyanmış territoriyal matriks ve çevresinde yer alan ekstra-territoriyal matriks ile kıkırdak doku çevresinde yer alan bağ dokusu (yeşil) görülmektedir. Safranin-O&Fast Green boyaması.....	40

Şekil 4-7 : Gruplar arasında karşılaştırmalı olarak histopatolojik skor değerlendirmesi. ***: $p<0.0001$ ve *: $p<0.05$ 41

Şekil 4-8 : Gruplar arasında karşılaştırmalı olarak rejeneratif skor değerlendirmesi. ***: $p<0.0001$ ve *: $p<0.05$ 42



KISALTMALAR

ADP	Adenozin Difosfat
ATP	Adenozin Trifosfat
bFGF	Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü
CGF	Konsantre Büyüme Faktörü
IGF-I	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü I
FDA	Food and Drug Administration
nm	Nanometre
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PRP	Trombositten Zengin Plazma
PRF	Trombositten Zengin Fibrin
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktörü β
μm	Mikrometre
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

İLERİ KIYILMIŞ KARTİLAJIN TEK BAŞINA, TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA VE KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ İLE KARIŞTIRILMASININ CANLILIĞA VE REZORBSİYONA ETKİLERİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, ileri-kıyılmış kartilajın, trombositten zengin plazma ve konsantre büyüme faktörü gibi otobiyolojik çeşitli kılıflarla sararak canlılığını deneysel hayvan modelinde histopatolojik olarak araştırmaktır. Ayrıca her iki materyalin kırık doku iyileşmesi ve rezorbsiyonu üzerine olan etkilerini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan alınan onay sonrasında 12 haftalık, ortalama 3,5 kg, yetişkin 14 adet Yeni Zelanda tavşanı, 3 gruba ayrıldı. Her bir tavşandan 20 cc venöz kan alındı. Daha sonra 10 cc kan trombositten zengin plazma (PRP) diğer 10 cc kan ise konsantre büyüme faktörü (CGF) elde etmek için kullanıldı. Sonrasında her bir tavşanın kulağından alınan kırık daktan ileri-kıyılmış kartilaj elde edildi. Bu ileri-kıyılmış kartilaj üç bölünerek birinci grup yalnız başına, ikinci grup trombositten zengin plazma ile karıştırılmış, üçüncü grup ise konsantre büyüme faktörü karıştırılmış şekilde hazırlandı. Bu üç greft tavşanda paraspinal bölgeye yerleştirildi. Üç ay sonra tavşanların sırtındaki greftler çıkarıldı ve histopatolojik incelemeye alındı. Mikroskopik incelemelerde kırık doku dokusundaki histopatolojik değişimler ile ilgili olarak laküna içerisindeki kondrosit kaybı, inflamasyon, fibrozis, kırık doku fragmentasyonu ve kalsifiye alan oluşumları semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Bunun yanında kırık doku canlılığı ve rejenerasyon göstergesi olarak kırık doku dokuda periferik hücre proliferasyonu, bağ dokusu içerisinde vaskülarizasyon, kırık doku matriksinde proteoglikan artışı ve kırık doku parçaları arasında oluşan bağ dokusu miktarı semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme parametreleri her bir gruptaki tüm ölçümlerin ortalaması alınarak 0 ile 4 arasında (0= %0-1 yok, 1= %1-25 az, 2= %26-50 orta, 3= %51-75 orta-şiddetli, 4= %76-100 şiddetli) belirlendi. Ölçümler sonucunda histopatolojik değişimler ile ilgili ölçümler kendi arasında gruplanarak “histopatolojik skor” olarak, doku canlılığı ve rejeneratif kapasite ile ilgili ölçümler kendi arasında gruplanarak “rejeneratif skor” olarak belirlendi.

Bulgular: Gruplar arasında yapılan histopatolojik skor karşılaştırmasında yalnız başına ileri-kıyılmış kartilaj grubuna kıyasla CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ($p<0.0001$) ve PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ($p<0.0275$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar görülmüştür. CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ve PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grupları arasında ise histopatolojik skor açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p<0.1605$). Gruplar arasında yapılan rejeneratif skor karşılaştırmasında ise yalnız başına ileri-kıyılmış kartilaj grubuna kıyasla CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ($p<0.0001$) ve PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ($p<0.0159$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artışlar görülmüştür. PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna kıyasla CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubunda, istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.0137$) bir rejeneratif skor artışı görülmüştür.

Sonuç: Çalışmamız, ileri-kıyılmış kartilajı deneysel hayvan modelinde inceleyen ilk çalışmadır. İleri kıyılmış kartilajın CGF veya PRP ile karıştırılmasının kıkırdak canlılığını arttırdığını ve kıkırdak rezorbsiyonunu azalttığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: doğranmış kıkırdak, konsantr büyüme faktörü, trombosit zengin plazma, canlılık

**EFFECT OF PLATELET-RICH PLASMA AND CONCENTRATED
GROWTH FACTOR ON SURVIVAL OF ULTRA-DICED CARTILAGE
GRAFTS IN A RABBIT MODEL**

SUMMARY

Objective: The aim of this study is to investigate histopathologically the viability of the ultra-diced cartilage by wrapping it with various autobiological sheaths such as platelet-rich plasma and concentrated growth factor in an experimental animal model. In addition, to determine the effects of both materials on cartilage tissue viability and resorption.

Materials and Methods: After the approval of Bezmialem Vakıf University Experimental Animals Ethics Committee, 14 New Zealand rabbits, 12 weeks old, with an average of 3.5 kg, were divided into 3 groups. Twenty cc of venous blood was collected from each rabbit. Then, 10 cc of blood was used to obtain platelet-rich plasma (PRP) and the other 10 cc of blood was used to obtain concentrated growth factor (CGF). Afterwards, a ultra-diced cartilage was prepared from the cartilage taken from each rabbit's ear. This ultra-diced cartilage was divided into three and the first group was utilized plainly, the second group was wrapped with platelet-rich plasma, and the third group was wrapped with concentrated growth factor. These three grafts were placed surgically in the paraspinal region in rabbits. After 3 months, the grafts on the back of the rabbits were removed and taken for histopathological examination. In microscopic examinations, chondrocyte loss, inflammation, fibrosis, cartilage fragmentation and calcified area formations in the lacunae were evaluated semi-quantitatively regarding the histopathological changes in the cartilage tissue. In addition, peripheral cell proliferation in the cartilage tissue, vascularization in the connective tissue, proteoglycan increase in the cartilage tissue matrix and the amount of connective tissue formed between the cartilage tissue pieces were evaluated semi-quantitatively as an indicator of cartilage tissue viability and regeneration. Evaluation parameters range from 0 to 4 (0= 0-1% none, 1= 1-25% minimal, 2= 26-50% moderate, 3= 51-75% moderate-severe, 4= 76-100% severe) was determined under microscopic views. As a result of the measurements, the measurements related to the histopathological changes were grouped among themselves and determined as the "histopathological score", and the measurements related to the tissue viability and

regenerative capacity were grouped together and determined as the "regenerative score".

Results: In the histopathological score comparison between the groups, statistically significant reductions were observed in the CGF-wrapped ultra-diced cartilage ($p < 0.0001$) and PRP-wrapped ultra-diced cartilage ($p < 0.0275$) groups compared to the ultra-diced cartilage group alone. There was no statistically significant difference in terms of histopathological score between the CGF-wrapped and PRP-wrapped ultra-diced cartilage groups ($p < 0.1605$). In the regenerative score comparison between the groups, statistically significant increases were observed in the CGF-wrapped ultra-diced cartilage ($p < 0.0001$) and PRP-wrapped ultra-diced cartilage ($p < 0.0159$) groups compared to the ultra-diced cartilage group alone. A statistically significant ($p < 0.0137$) regenerative score increase was seen in the CGF-wrapped ultra-diced cartilage group compared to the PRP-wrapped ultra-diced cartilage group.

Conclusion: Our study is the first to investigate the ultra-diced cartilage in an experimental animal model. Histological examination has shown that wrapping the ultra-diced cartilage with CGF or PRP increases cartilage viability and reduces cartilage resorption.

Keywords: diced cartilage, concentrated growth factor, platelet rich plasma, viability

1. GİRİŞ VE AMAÇ

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KIKIRDAK DOKUSU

2.1.1. KIKIRDAK DOKUSUNUN TANIMI

Kıkırdak dokusu, yumuşak dokuyu desteklemekte kritik rollere sahip özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kıkırdak dokusu, bağ dokusu gibi embriyonik mezenşimden gelişir ve hücre dışı matrikse gömülü hücrelerden oluşur. Kıkırdak dokusu; kondrosit, lifler ve hücre dışı matriksten meydana gelir. Kondrositler, hücre dışı matriks sentezler ve bu matriks içerisinde laküna adı verilen boşluklarda yerleşirler. Hücre dışı matriks, sağlam ve esnek bir jeldir ve bu sayede kıkırdağa sağlam ve sıkı bir kıvam verir [1,2].

Kıkırdak dokusunda damar, sinir ve lenfatik yapılar bulunmaz. Çevresindeki bağ dokusundan hücre dışı matrikse difüzyon ile beslenir. Hücre dışı matriks; kollajen ve elastik lifler, glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlardan oluşur [1,2].

Kıkırdak dokusu, matriksinde içerdiği lif tipine göre üçe ayrılır. Birincisi, matriksinde tip 2 kollajen içeren ve vücutta en fazla bulunan hyalin kıkırdaktır. İkincisi, matriksinde bol miktarda elastik lif içeren elastik kıkırdaktır. Üçüncüsü ise matriksinde tip 1 kollajen içeren ve gerilmelere dayanıklı olan fibröz kıkırdaktır [1,2].

Perikondrium, kıkırdağı kaplayan yoğun ve düzensiz kollajen bağ dokusu kılıfidir. Perikondrium vasküler bir yapıdır ve bu damarlardan kondrositler difüzyon yoluyla beslenir. Eklem yüzeyi gibi perikondriumun olmadığı kıkırdak bölgelerinde ise kondrositler sinovyal sıvıdan beslenir [1,2].

2.1.2. KIKIRDAK DOKUSUNUN EMBRİYOLOJİSİ

Mezenkimal hücreler, kıkırdağın oluşacağı kondrifikasyon merkezlerinde toplanır ve kartogenin adlı molekülün etkisiyle kondroblastlara farklılaşırlar. Kondroblastlar, agrekan ve tip 2 kollajenden oluşan kıkırdak matriksini sentezlemeye başlarlar. Bu süreç içerisinde kondroblastlar, kendi sentezlediği kıkırdak matriksi içerisinde laküna adı verilen boşluklarda sıkışırlar. Bu kıkırdak matriks etrafında sıkışan kondroblastlara, kondrosit adı verilir. Bu hücreler de hücre bölünme yeteneğine sahiptir [1,3].

Kondrositler bir lakünalarda iki veya dörtten fazla hücrelerden oluşan kümeler oluştururlar. Bunlara izojen gruplar denir. İzojen grubun hücreleri matriks üretirken, birbirlerinden uzağa itilirler ve ayrı boşluklar oluştururlar. Bu sayede kıkırdağı içeriden genişletirler. Bu tür büyümeye interstisyel büyüme denir [1].

Gelişmekte olan kıkırdağın periferindeki mezenkimal hücreler farklılaşarak fibroblastlara dönüşür. Bu hücreler, kıkırdağın büyümesinden ve korunmasından sorumlu olan yoğun ve düzensiz bir bağ dokusu olan perikondriyumu sentezlerler. Perikondriyumun iki katmanı vardır; tip 1 kollajen, fibroblastlar ve kan damarlarından oluşan dış fibröz katman ve çoğunlukla kondrojenik hücrelerden oluşan iç hücresel katman. İç hücresel katmandaki kondrojenik hücreler bölünerek matriks sentezleyen kondroblastlara farklılaşırlar. Bu sayede kıkırdağın periferden büyümesine, appozisyonel büyüme denir [1,4].

İnterstisyel büyüme, sadece hyalin kıkırdağın oluşumunun erke evresinde vardır. Eklem kıkırdağında perikondriyum yoktur ve sadece interstisyel büyüme ile gelişir. Bu tarz büyüme, uzun kemiklerin epifiz plaklarında da meydana gelir ve burada kemiğin uzamasına da yardımcı olur. Vücudun geri kalan kısmındaki kıkırdağlar ise, appozisyonel büyüme ile gelişir [1,3].

2.1.3. KIKIRDAK HÜCRELERİ

Kıkırdak hücrelerine, kondrosit denir. Kıkırdak matriksinde lakünalara yerleşirler. Kondrositler, kıkırdak matriksinin tüm bileşenlerini sentezler ve salgırlar. Hücre boyutu küçüktür ve metabolik olarak aktif hücrelerin özelliklerini taşırlar. Çekirdekleri ökromatiktir. Sitoplazmaları bol miktarda serbest ribozom ve dilate sisternaları olan iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum içerir. Mitokondri ve Golgi kompleksi'nden zengindir. Kıkırdak matriksi avasküler olduğundan, kondrositler düşük oksijen altında enerji üretirler. Bu nedenle, glukozu esas olarak anaerobik glikoliz ile metabolize ederler. Kandaki besinler, vücut hareketleri esnasında kıkırdağın sıkışıp gevşemesiyle matrikste hareket eden su ve çözülmüş maddelerin hareketleri sonucunda difüzyon ile kondrositlere ulaşır. Kıkırdak hücreleri olgunlaştıkça büyürler, çekirdekleri heterokromatik hale gelir ve organelleri azalır. Özellikle olgun ve daha az aktif hücrelerde yağ damlacıkları ve geniş glukojen kümeleri bulunur [2,4,5].

2.1.4. KIKIRDAK MATRİKSİ

Hücre dışı kıkırdak matriksinin tüm komponentleri, kondrositler tarafından sentezlenir. Kıkırdak matriksi, yapısı itibariyle eşsiz ve yüksek derecede moleküler organizasyona sahiptir. Kıkırdağın yaşına ve vücuttaki konumuna göre kıkırdağın yaş ağırlığının %60-70'ni su oluşturur. Su ve inorganik tuzlar, kıkırdağın kaygan ve esnek olmasını sağlar. Kalan bileşenler ise yapısal makromoleküllerdir. Bunlar; kollajenler, proteoglikanlar ve kollajen olmayan proteinlerdir [2].

Kıkırdak matriksinin kuru ağırlığının %40-70'ni kollajenler oluşturur. Tip 2 kollajen, hyalin kıkırdaktaki kollajenin %90-95'ni oluşturur ve esas olarak gerilmeye karşı direnci sağlayan fibriller bir ağ oluşturur. Tip 9 kollajen, matriks proteoglikan molekülleriyle fibril etkileşimini kolaylaştırır. Tip 11 kollajen, fibril boyutunu düzenler. Tip 10 kollajen, kollajen fibrillerinin mekanik işlevi için çok önemli olan üç boyutlu altıgen yapısının oluşmasını sağlar. Tip 6 kollajen de kondrositlerin matrikse bağlanmasını kolaylaştırır. Tip 2,6,9,10 ve 11 kollajen, yüksek miktarlarda sadece kıkırdak matriksinde bulunduğundan kıkırdak spesifik kollajen fibrilleri olarak adlandırılırlar [2,3].

Kıkırdak matriksindeki proteoglikanlar negatif yüklüdür ve büyük miktarlarda pozitif yüklü su iyonlarını tutarlar. Proteoglikanlar, çekirdek proteinine bağlanmış glikozaminoglikan adlı kompleks karbonhidratlardan oluşur. Bu glikozaminoglikanlar farklı uzunluklarda ve sülfatlanmış veya sülfatlanmamış olarak bulunabilir. Sülfatlanmış proteoglikanlar şunlardır: kondroitin sülfat, dermatan sülfat ve keratan sülfat. Bu sülfatlanmış olan proteoglikanlar, sülfatlanmamış glikozaminoglikan olan hyalüronik aside kovalent olmayan şekilde bağlanarak agrekan adı verilen büyük proteoglikan agregatlarını oluştururlar. Agrekanların su ve kollajen fibrilleriyle arasındaki etkileşim, kıkırdağa sıkıştırılmaya karşı direnç ve esneklik verir [2].

Kıkırdak matriksin boyanma özelliğine göre üç bölüme ayrılmıştır. Birincisi kapsüler matriks, kondrositler hemen çevresinde yer alır. Yüksek oranda sülfatlanmış proteoglikan, hyaluronan ve birtakım glikoproteinler içerir. Neredeyse sadece tip 6 kollajen içerir. Tip 6 kollajen, integrine bağlanarak kondrositin matrikse sıkıca bağlanmasını sağlar. İkincisi teritoryal matriks, kapsüler matriksi ve izojen grubu çevreler. Az miktarda tip 2 ve 9 kollajen içerir. Kondroitin sülfattan zengindir. Üçüncüsü interteritoryal matriks, teritoryal matriksi çevreler ve izojen gruplar

arasındaki bölgeyi doldurur. Tip 2 kollajenden zengin, proteoglikan açısından fakirdir [1,3].

2.1.5. PERİKONDRIYUM

Eklem kıkırdağı dışındaki tüm hyalin kıkırdak, büyüme ve onarımları için gerekli olan perikondrium adı verilen yoğun ve düzensiz bir bağ dokusu tabakası ile kaplıdır. Perikondriyum birçok yönden, bezleri ve birçok organı çevreleyen kapsüle benzer. Aynı zamanda yeni kıkırdak hücrelerinin kaynağı olarak da hizmet eder. Perikondriyum fibroblastlar, farklılaşmamış mezenkimal hücreler, kan damarları ve sinirler açısından zengindir. Kondrositler perikondriyuma yaklaştıkça düzleşirken daha derin dokularda yuvarlaktır [1-4].

Perikondriyum iki tabakadan oluşur. Dış tabaka tip 1 kollajenden ve fibroblasttan zenginken iç tabaka bölünüp kondroblastlara farklılaşan kondrojenik hücrelerden zengindir. İç katmandaki kondrojenik hücreler bölünerek matriks sentezleyen kondroblastlara farklılaşırlar. Bu sayede kıkırdağın periferden büyümesine, appozisyonel büyüme denir [1,4].

2.1.6. KIKIRDAK TİPLERİ

Hyalin Kıkırdak: Vücutta en bol bulunan kıkırdaktır. Mavimsi-gri renkte, yarı saydam ve oldukça esnektir. Burunda, larinkste, kostaların sternum ile eklem yaptığı yerlerde, trakeal halkalarda, bronşlarda ve hareketli eklemlerin eklem yüzeylerinde bulunur. Ayrıca uzun kemiklerin epifiz plaklarını da hyalin kıkırdak oluşturur. Hyalin kıkırdak özellikle kostaların sternum ile eklem yaptığı yerlerde yaşla beraber kalsifikasyona uğrar [1].

Hyalin kıkırdağın matriksi, çoğunlukla tip 2 kollajen ve az miktarlarda diğer kollajenleri (tip 9, 10 ve 11) de içerir. Hyalin kıkırdakta en bol bulunan proteoglikan, agrekandır. Proteoglikanlarda glikozaminoglikanlara bağlı su, taze hyalin kıkırdağın ağırlığının %60-70'ni oluşturur. Kıkırdak matriksinin diğer önemli bileşeni kondronektindir. Kondronektin, glikozaminoglikanlara, kollajenlere ve integrine bağlanır. Bu sayede kondrositlerin, kıkırdak matriksine yapışmasına aracılık eder [4].

Hareketli eklemlerin yüzeyini saran hyalin kıkırdağa eklem kıkırdağı denir. Eklem kıkırdağında perikondriyum yoktur. Eklem kıkırdağı dört bölgeye ayrılmıştır. Birincisi yüzeyel (teğetsel) zon, eklem yüzeyine en yakın basınca dayanıklı bölgedir.

Bol miktarda tip 2 kollajen içerir. İkincisi ara (geçiş) zon, yüzeyel zonun hemen altında yerleşir. Rastgele dağılmış yuvarlak kondrositler içerir. Üçüncüsü derin (radyal) zon, kıkırdağın serbest yüzeyine dik şekilde düzenlenmiş yuvarlak kondrositlerle karakterizedir. Dördüncüsü kalsifiye zon, küçük kondrositlerle beraber kalsifiye matriks içeren bölgedir. Derin bölgeden, gelgit izi adı verilen kireçlenmiş bir çizgi ile ayrılır. Eklem kıkırdağının yenilenmesinde, kondrositler bu bölgeden eklem yüzeyine doğru göç ederler [3].

Elastik kıkırdak: Vücutta kulak kepçesinde, dış kulak yolunda, epiglotta ve larinskte cuneiform kartilajda bulunur. Elastik kıkırdak oldukça esnektir ve bükülme ve kıvrılmadan sonra kolayca orjinal şekline döner. Sahip olduğu elastik liflerden dolayı biraz sarıdır ve hyalin kıkırdak daha opaktır. Çoğu açıdan elastik kıkırdak, hyalin kıkırdak ile aynıdır. Elastik kıkırdakta farklı olarak perikondriumun dış tabakası elastik liflerden zengindir. Kıkırdak matriksinde ise tip 2 kollajene ek olarak kıkırdağa esnekliğini sağlayan bol miktarda elastik lif vardır. Elastik kıkırdağın kondrositleri, hyalin kıkırdak kondrositlerinden daha çok ve daha büyüktür. Diğer tiplerden farklı olarak elastik kıkırdaklarda yaşla beraber kalsifikasyon gelişmez [1,2].

Fibröz kıkırdak: Kıkırdak ile yoğun fibröz doku arasında özelliklere sahiptir. İntervertebral disklerde, simfizis pubiste, eklem kapsüllerinde, tendonlarda ve bazı eklem kıkırdaklarında bulunur. Fibröz kıkırdağın matriksi, diğer ikisinden biraz farklıdır. Bu sayede dış ortamdaki değişikliklere (mekanik kuvvetler ve büyüme) karşı dayanıklıdır [3,6].

Fibröz kıkırdağın matriksi yüksek miktarda tip 1 kollajen ve kıkırdak tipine göre değişen miktarda tip 2 kollajen içerir. Diz eklemi tip 2 kollajeni az içerirken intervertebral diskler daha fazla miktarda içerir. Tip 1 ile tip 2 kollajen arasındaki oran yaşla birlikte değişir. Ayrıca fibröz kıkırdağın matriksi agrekandan daha fazla versikan proteoglikanını içerir. İntervertebral disk dejenerasyonu, versikan adlı proteoglikanın proteolitik süreç sonunda bozunması ile ilişkilidir [3].

2.1.7. KIKIRDAK DOKUSUNUN İYİLEŞMESİ

Kıkırdak dokusu, tekrarlayan ve yüksek miktardaki stresi önemli ölçüde tolere edebilir. Fakat kıkırdak dokusu, en küçük yaralanmalar dahil herhangi bir hasardan sonra iyileşmede dikkat çekici bir yetersizlik gösterir. İyileşmekteki bu yetersizlik; kıkırdak dokusunun avaskülaritesine, kondrositlerin immobilitesine ve olgunlaşmış

kondrositlerin sınırlı proliferasyon kabiliyetine bağlıdır. Sadece perikondriyumu içeren hasarlarda onarım gerçekleşebilir. Bu onarım, perikondrium iç tabakada bulunan kondrojenik hücreler kaynaklıdır. Bu durumda bile birkaç kondrosit ancak üretilebilir. Onarım ve iyileşme dokusu çoğunlukla yoğun bağ dokusu ile gerçekleşir [3,4].

Kıkırdak dokusunun iyileşmesi moleküler düzeyde, tip 1 kollajenin skar dokusu şeklinde birikmesiyle kartilaj spesifik kollajenlerin salgılanması arasındaki geçici bir dengedir. Çocukların aksine yetişkinlerde kıkırdak hasarının olduğu bölgede yeni oluşan damarlar, kıkırdak onarımından daha çok yeni kemik oluşumunu uyarır. Eklem kıkırdağının iyileşmesini artırmak için birçok yöntem tariflenmiştir. Bunlar; perikondriyel greftler, otolog hücre transplantasyonu, yapay matrikslerin yerleştirilmesi ve büyüme faktörlerinin dokuya uygulanmasıdır [3].

Hiyalin kıkırdak, kondrositlerin hipertrofisi veya ölümü ile dejenere olur ve matriks kireçlenmeye başlar. Bu süreç, endokondral kemik oluşumunun normal ve ayrılmaz bir parçasıdır. Aynı zamanda bu süreç, eklemlerde daha az hareketlilik ve ağrı ile sonuçlanan doğal bir yaşlanma sürecidir [1].

2.2. TROMBOSİTLER

2.2.1. GENEL YAPISI

Trombosit; ışık mikroskopisinde periferinde hyalomer adı verilen berrak bir bölge merkezinde ise granülomer denilen daha koyu bir bölge içeren 2-4 µm çapında bir kan hücresidir. Trombosit plazmalemması, birçok reseptörle beraber glikoprotein, glikozaminoglikan, koagülasyon faktörleri ve glikoprotein 1b'den oluşan kalın bir glikokalis tabakasına sahiptir. Kan dolaşımında ömrü 14 günden daha az yaklaşık 250.000 ile 400.000 arasında trombosit vardır [1,3].

Trombositler hyalomer bölgesinde birbirine paralel olarak düzenlenerek bir halka şeklini almış 10-15 tane mikrotübül bulunur. Bu mikrotübüller, trombositlerin diskoid yapılarının korumasına yardımcı olur. Hyalomer bölgesinde iki adet mikrotübül sistemi vardır. Birincisi açık kanalikuler sistem adı verilen trombosit içerisinde bir labirent kompleksi oluşturan bir mikrotübül sistemidir. Bu sistem trombositin dışarıyla temas kurmasını sağlar ve trombositin yüzey alanını 7-8 kat artırır. Yoğun tübüler

sistem adı verilen diğerk mikrotübül demetleri ise prostaglandin sentezine katılır ve bol miktarda kalsiyum içerirler [1,3].

Trombositlerin granülomer bölgesinde az sayıda mitokondri, glikojen depozitleri, peroksizomlar ve alfa, delta ve lambda olmak üzere üç tip granüller içerir. Ayrıca bu granülomer bölgesinde, trombositlerin glikojeni katabolize etmesini, oksijen tüketmesini ve ATP üretmesini sağlayan bir enzim sistemi de vardır. Granülomer bölgesinde üç tip granüllerin boyutu ve işlevi birbirinden farklıdır [1,3].

Alfa granüller: Granüllerin içerisinde en büyüğü ve en çok olanıdır. Yaklaşık 300-500 nm boyutundadır. Esas olarak fibrinojen, pıhtılaşma faktörleri, plazminojen, plazminojen aktivatörü inhibitörü ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) içerir [1,3].

Delta granüller (yoğun cisimler): Alfa granülden daha küçük ve daha azdır. Yaklaşık 250-300 nm boyutundadır. Esas olarak kalsiyum, pirofosfataz, ADP, ATP, serotonin ve histamin içerir. Damarın yaralandığı bölgede trombositlerin yapışmasını ve vazokonstriksiyonu kolaylaştırır [1,3].

Lambda granüller (lizozomlar): Granüller içerisinde en küçük olanıdır. Yaklaşık 200-250 nm boyutundadır. Diğerk hücrelerde bulunan lizozomlara benzer birkaç hidrolitik enzim içerirler. Damar onarıldıktan sonra pıhtı rezorbsiyonuna yardımcı olurlar [1,3].

2.2.2. TROMBOSİTLERDE BULUNAN BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Doku yaralanmasını takiben trombositlerden çevre dokuya; PDGF, transforme edici büyüme faktör- β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) salgılandığı çalışmalarda gösterilmiştir [7,8].

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF): PDGF; PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC ve PDGF-DD büyüme faktörleri ailesini içeren bir proteindir. Tirozin kinaz aktivitesi gösteren iki reseptör tarafından bağlanır. PDGF'ler trombositler, makrofajlar, vasküler endotel, fibroblastlar ve keratinositler tarafından üretilir. PDGF yara iyileşmesinin her aşamasında rol oynar. Yaralanmış doku üzerine

trombositlerden PDGF salınır. PDGF nötrofillerin, makrofajların, fibroblastların ve düz kas hücrelerinin mitojenitesini ve bölgeye kemotaksisini uyarır. Ayrıca makrofajların TGF- β salgılamasını uyarır. TGF- β gibi PDGF de makrofaj aracılı doku debrütmanını ve granülasyon dokusu oluşumunu artırır. PDGF'nin anjiyogenez üzerine etkileri organ bağımlıdır. PDGF, yalnız başına iken perisitlerin kapillere alınımını artırırken VEGF ile kombinasyonu halinde buna ek olarak düz kas hücrelerini de artırıp kapillerin yapısal damarsal bütünlüğü güçlendirdiği in vivo çalışmalarda gösterilmiştir. PDGF, IGF-I ve trombospodin-1 üretimini artırarak re-epitelizasyonu artırır. PDGF'nin ayrıca fibroblastların proliferasyonunu ve dolayısıyla ekstraselüler matriks üretimini arttırdığı da gösterilmiştir [9].

Kronik yaralarda PDGF düzeyleri azalır. Metalloproteinaz inhibitörleriyle beraber kullanıldığında kronik yarada süreci tersine çevirebileceği gösterilmiştir. Ekstraselüler matriksi bozan, hücre göçünü ve kollajen birikimini engelleyen artmış metalloproteinaz aktivitesidir [10]. PDGF-BB'nin (Becaplermin) rekombinant insan varyantları diyabetik ve peptik ülserli hastalarda başarıyla uygulanmış ve kronik yara tedavisi için FDA onaylı tek ilaçtır [9].

Transforme edici büyüme faktör- β (TGF- β): TGF- β ailesi; TGF- β 1-3, kemik morfojenik protein (BMP) ve aktivin olmak üzere beş proteinden oluşur. Serin-treonin kinaz aktivitesi gösteren iki reseptör tarafından bağlanır. Makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler ve trombositler tarafından üretilir. TGF- β 1 yara iyileşmesinin inflamasyon, anjiyogenez, re-epitelizasyon ve bağ dokusu rejenerasyonu evrelerinde baskındır. Yaralanmanın başlamasıyla ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. İn vitro çalışmalar, TGF- β 1'in ekstraselüler matriksi oluşturan fibronektin, fibronektin reseptörü, kollajen ve proteaz inhibitör genlerinin ekspresyonunu artırarak granülasyon dokusunun oluşumunun başlattığı çalışmalarda gösterilmiştir. Kollajen matrikste fibroblast kasılmasını kolaylaştırarak yara kontraksiyonunu artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca VEGF salınımını da up-regüle eder [9,11].

Son olarak, yara iyileşmesinin matriks oluşumu ve remodelling aşamasında, TGF- β 1, özellikle tip I ve III kollajen üretiminde yer alır. Aynı zamanda metalloproteinazların da güçlü bir inhibitörüdür. Kronik yaralarda, TGF- β , muhtemelen proteolitik enzimlerden, özellikle de nötrofillerin salgıladığı elastaz tarafından yıkılması nedeniyle önemli ölçüde azalır [9,12].

İnsülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I): IGF-I ve IGF-II, insülin ile %47 homolojiye sahip 7.500 dalton ağırlığında tek zincirli serum proteinleridir. IGF-I ve II birbirleri ile %50 homoloji gösterir. Tirozin kinaz aktivitesi gösteren reseptöre bağlanır. Dolaşımdaki IGF-I, ağırlıklı olarak insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 ile taşınır. Dolaşımdaki IGF-I, büyük ölçüde karaciğer tarafından üretilir ve bu üretim büyüme hormonu tarafından indüklenir. Hücresel düzeyde IGF-1'in, protein sentezini, periferik glukoz alımını, glikojen sentezini, nöronal sağkalımı, miyelin sentezini uyardığı ve katabolik hastaların kaslarında protein yıkılmasını azaltarak anabolik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca IGF-I; kırıkta büyümesini, kemik matris oluşumunu ve osteoblastların bölünmesini de uyarır. IGF-I, aktive ettiği hücreleri otokrin faktör olarak doğrudan uyarabilir. Osteoblastik hücrelerde alkalen fosfataz aktivitesini artırır. IGF-I, yara yerindeki makrofajlarda olduğu ve bu sayede parakrin faktör olarak etki edebildiği gösterilmiştir. Ayrıca dolaşıma girip uzak bir organda endokrin etkiler de gösterebilir. Lokal olarak IGF-I, PDGF ile kombinasyonu halinde yara iyileşmesinin hızını ve kalitesini artırır [7,13].

Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF): bFGF diğer adıyla FGF-2, ilk olarak fibroblastlar için mitojenik aktiviteye sahip sığır hipofizinde bir madde olarak tanımlandı. bFGF, 146 aminoasitten oluşan tek zincirli bir proteindir. bFGF, hücre zarında ve hücre dışı matriksteki heparin ve heparan-sülfat proteoglikanlarına bağlanır. Hücre plazmalemmasında, tirozin kinaz aktivitesi gösteren reseptöre bağlanır. bFGF; endotel hücreleri, fibroblastlar, düz kas hücreleri, kondrositler, trombositler ve mast hücreleri tarafından üretilir. Yara iyileşmesinde özellikle keratinositlerin göçünü hızlandırır, fibroblastların kollajenaz sentezlemesini artırır, anjiyogenezin başlaması için kapiller endotelinin proliferasyonunu uyarır ve granülasyon dokusunun oluşmasını başlatır. bFGF'nin; anjiyogenez, aterogenez, damar yaralanması sonrası endotelial iyileşme, akciğer gelişimi, nöral gelişim, göz gelişimi, prostat büyümesi, kas büyümesi ve gelişimi ve yara iyileşmesinde aktif olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak bFGF, hemen hemen her organ sisteminin gelişiminde, yeniden şekillenmesinde ve hastalık durumlarında yer alır [9,13].

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF): VEGF, tümör anjiyogenezindeki rolü nedeniyle son zamanlarda popüler olmuş ve ilk olarak 1983'te, tümör hücreleri tarafından salgılanan ve damar geçirgenliğini artmasına neden olan bir madde olarak

"vasküler geçirgenlik faktörü" adıyla tanımlanmıştır. VEGF ailesi; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve plasenta büyüme faktörü olmak üzere beş proteinden oluşur. VEGF-A; endotel hücreler, keratinositler, fibroblast düz kas hücreleri, trombositler, nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilir. Hücre zarında tirozin kinaz aktivitesi gösteren vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü 1 ve 2 (VEGFR-1 ve 2) olmak üzere iki reseptöre bağlanır. VEGFR-1, kan damarlarının organizasyonu ve vasküler geçirgenliğin artması için gereklidir. VEGFR-2 ise endotel hücrelerinin kemotaksisi, proliferasyonu ve endotel hücrelerin farklılaşması için gereklidir. Sonuç olarak VEGF; vasküler bazal membranların parçalanmasına yardımcı ve anjiyogenezdeki en erken adımlardan biri olan interstisyel kollajenaz ve jelatinazın indüksiyonunu, α -integrinlerin ekspresyonunu, vazodilatasyon ve vasküler geçirgenliğin artmasını sağlar ve ayrıca endotel hücrelerin çoğalmasını ve monositlerin göçünü de artırır [9,13].

Akut damar yaralanması sonrası oluşan hipoksi nedeniyle bölgedeki makrofajlar ve trombositlerden ortama VEGF-A salınır. Ortamdaki bFGF, PDGF ve TGF- β gibi sitokinler VEGF-A salınımını artırır. Bunun sonucunda ortaya çıkan anjiyogenez doku perfüzyonunu artırır, mikrosirkülasyonu yeniden kurar ve yara bölgesindeki oksijen düzeyini artırır. Hipoksiyle VEGF-A salınımı arasında doğru orantı vardır. Sonuç olarak VEGF-A salınımıyla yara iyileşmesi hızlanır [9].

2.3. TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA (PRP)

2.3.1. GENEL BİLGİ

Tipik bir kan örneğinde %93 eritrosit, %6 trombosit ve %1 oranında lökosit bulunmaktadır. Trombositler, ilk kez Alfred Donne tarafından 1842 yılında keşfedilmiştir. Trombositlerin yaşam ömürleri 7 ile 10 gün arasında değişmektedir. Yaralanmayı takiben trombositler aktive ve agregre olup inflamatuvar ve iyileşme kaskatlarını uyaran birçok hormon ve granül açığa çıkarmaktadır [14].

PRP, tam kanın santrifüj işlemlerinden geçirilerek trombositten zengin olan plazmanın ayrıştırılmasıyla ortaya çıkarılan bir kan ürünüdür. Tedavinin teorisi, yara iyileşmesinde daha az görevi olan eritrosit oranının %5'e düştüğü, yüksek miktarda büyüme hormonu içeren trombosit oranının %94'e çıktığı, trombositten zengin olan sıvıyı ayrıştırıp kullanmaktır. Normal trombosit sayımı sağlıklı bir bireyde mikrolitre başına yüzde 150.000 ve 450.000 arasındadır. Birçok çalışmada PRP ile düzgün yara

iyileşmesini ve doku tamirini arttırmak için normal konsantrasyondaki trombositlerin ez 5 katına çıkarılması gerektiğini önermişlerdir (mikrolitre başına en az 1 milyon trombosit). Bu sayının üzerine çıkan konsantrasyonlarda yara iyileşmesinin daha iyi olduğu gösterilememiştir. Günümüzde ideal konsantrasyon hala belirlenememiştir [14,15].

Trombositlerin içerisindeki alfa granüller, PDGF, VEGF, TGF ve FGF gibi anjiogenezi stimüle eden, hücre proliferasyonunu, matürasyonunu ve matriks formasyonunu uyaran büyüme faktörleri içermektedir. Ayrıca platelet içinde tromboplastin, trombospondin, koagülasyon faktörleri, endostatin, kalsiyum, serotonin ve histamin yer almaktadır. Trombosit bulunan bu büyüme faktörleri ve sitokinler hücre rejenerasyonunda önemli rol oynarlar. PRP, bu büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin konsantre halidir [14,16].

PRP elde edebilmek için çift santrifüjleme tekniği kullanmak gerekir. 1600 rpm hızında 10 dakika süren ilk santrifüjlemede kan 3 katmana ayrılır. Yukarıdan aşağıya; trombositten fakir plazma, trombosit ve kırmızı kan hücreleri. En alttaki kırmızı kan hücreleri katmanı dışarıya alınır. Ardından üst ve orta katmanlar antikoagülan içermeyen yeni bir tüpe alınır. Bu tüp 3500 rpm hızında 15 dakika ikinci santrifüjlemeye alınır. Bu sayede trombositler tabanda konsantre edilir ve üstünde olan trombositten fakir plazmanın üçte ikisi atılır. Tüpte geride kalanla PRP elde edilir. Her ne kadar en sık kullanılan yöntem bu olsa da tüm dünyaca kabul edilmiş standart bir teknik mevcut değildir [17,18].

2.3.2. KULLANIM ALANLARI

PRP günümüzde ilk olarak 1987 yılında açık kalp cerrahisinde kullanılmıştır [19]. Doksanlı yıllardan günümüze kadar PRP birçok alanda ve cerrahide kullanılmıştır.

Ortopedi: İn vitro yapılan bir çalışmada, tendon hücre kültürlerinde PRP uygulanmasının hücre proliferasyonunu ve anjiyogenezi indükleyerek tendon hasarında iyileşmeyi artırdığı gösterilmiştir [20]. Bir tavşan çalışmasında, kemik defektlerinde lokal PRP uygulanmasının kemik konsolidasyonunu artırdığı gösterilmiştir [14]. Hammond ve ark. yaptığı hayvan çalışmasında lokal PRP uygulanmasının kas hasarından sonra iyileşme süresini kısalttığı gösterilmiştir [21].

Oniki atletten oluşan bir çalışmada konvansiyonel cerrahi ile lokal PRP uygulanması karşılaştırılarak, aşıl tendon hasarı onarımında lokal PRP uygulanmasının iyileşme süresini kısalttığı gösterilmiştir [22]. Semptomatik diz osteoartriti olan 261 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, lokal PRP uygulanmasının yaşam kalitesini artırdığı ve ağrıyı azalttığı gösterilmiştir [20].

Oftalmoloji: Dormant korneal ülseri olan 26 göz üzerinde yapılan çalışmada PRP içeren damla ile yapılan tedavide, kontrol grubuna göre korneal ülserin derinliğinde ve hastanın ağrısının azalmasında anlamlı bir azalma olduğu gösterilmiştir [23]. Orta ve şiddetli kuru göz sendromu olan 18 hastadan oluşan bir çalışmada hastaların gözlerine PRP damlası uygulanmış ve hastaların %89'unda istatistiksel olarak anlamlı iyileşme olduğu gösterilmiştir [24].

Kozmetik: Birçok çalışmada, PRP tedavisinin saç köklerini uyarıp saç sayısını, saç büyümesini ve saç kalınlığını artırdığı ve hem erkek hem de kadınlarda saç dökülmesi için etkili bir seçenek olduğunu göstermiştir. Androjenik alopesi dahil birçok saç dökülmesi türünde, PRP tedavisi en uygun seçenektir. Büyüme faktörleri ve sitokinler, cilt hücresi yenilenmesi ve gençleşmesi süreçlerinde esastır, bu nedenle etkili bir yaşlanma karşıtı (anti-aging) strateji, ciltte bu faktörlerin seviyesini artırmak olacaktır. PRP, doku rejenerasyonu ve yeniden şekillenmesi ile ilişkili büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer biyolojik olarak aktif maddelerin büyük bir kaynağı olduğu için cildi gençleştirmek için güvenli ve etkili bir seçenek olarak kullanılabilen bir çok çalışmada gösterilmiştir [25].

Maksillofasyal cerrahi: PRP'nin ilk olarak kemik rejenerasyonu üzerindeki olumlu etkilerinin tespit edilmesi, öncelikle maksillofasiyal cerrahi ve diş cerrahisi alanında klinik kullanıma girmesine neden olmuştur. PRP'nin sinüs elevasyonunda dental implantın tutunmasını ve kemik kazanımını artırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir [26–28]. İntravenöz bifosfonat ve radyoterapi sonrası ortaya çıkan mandibula osteoradyonekrozunda lokal PRP uygulanmasının iyileşmeyi artırdığı gösterilmiştir [31,32]. Ayrıca PRP uygulaması periodontal defektlerde ve temporamandibular eklem rahatsızlıklarında da klinik kullanıma girmiştir [31].

Şu anda, PRP enjeksiyonları ortopedi, oftalmoloji, kozmetik ve maksillofasyal cerrahi dahil olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca PRP'nin etki

mekanizmasını anlamak, tedaviyi iyileştirmek ve plasebo kontrollü çalışmalarda etkinliğini göstermek için çok sayıda çalışma yürütülmektedir.

2.4. KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ (CGF)

2.4.1. GENEL BİLGİ

Trombosit ürünlerinin üçüncü ve son jenerasyonu olan CGF, diğer trombosit konsantrelerine göre daha yoğun bir fibrin yapı içeren, büyüme faktörlerinden ve sitokinden zengin trombosit konsantresidir. İlk olarak 2006 yılında İtalya’da Sacco Luigi tarafından keşfedilmiştir. Trombositten zengin fibrine benzer olarak fakat ondan farklı bir santrifüjleme hızıyla venöz kandan elde edilir. CGF, özel bir santrifüjleme cihazıyla elde edilir (Medifuge; Silfradent Srl, Sofya, İtalya). CGF, PRP’den daha yoğun kıvamdadır ve daha fazla büyüme faktörleri içerir. Büyüme faktörlerinden özellikle TGF- β ve VEGF açısından oldukça zengindir [32,33].

Klinik ve deneysel çalışmalar, CGF'nin kemik defektlerinin iyileşmesinde kemik greftleri ile birlikte kullanıldığında yeni kemik oluşumunu artırdığını ve diş cerrahisinde sinüs augmentasyonu için faydalı olduğunu göstermektedir [34].

2.4.2. KULLANIM ALANLARI

CGF, keşfedildiği günden bugüne başlıca Maksillofasyal Cerrahi ve Ortopedi alanlarında olmak üzere birçok alanda kullanılmıştır.

Ortopedi: Honda ve arkadaşları, kemik defekti olan sıçanlarda CGF ile entegre edilmiş kemik iliği stromal hücrelerinin etkilerini araştırmış ve CGF'nin kemik rejenerasyonunu kolaylaştırmak için iyi bir yapı iskelesi sağladığını bildirmişlerdir. CGF'nin hücre olgunlaşmasını ve matriks üretimini uyardığını söylemişlerdir [35]. Kim ve arkadaşları kemik defekti olan tavşanlarda CGF kullanımının kemik grefti iyileşmesinin erken fazında yeni kemik oluşumunu artırdığını göstermişlerdir [36].

Maksillofasyal Cerrahi: Topkara ve arkadaşları, tavşanlarda yaptıkları çalışmada duced kartilajın CGF ile sarılmasının kırıldak canlılığını fasyaya göre daha fazla artırdığını göstermişlerdir [32]. Sohn ve arkadaşları, sinus augmentasyon bölgesinde bariyer membran olarak CGF kullanımının doku iyileşmesini hızlandığını ve kemik kaybını azalttığını göstermiştir [37]. Zhao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, rinoplasti sonrası septal mukozal defekti olan hastalara 3'den 12ye kadar değişen

seanslarda, tekrarlayan CGF uygulamaları işlemi yapılmış. Tüm hastalarda tam kapanma sağlandığı ve bu tekniğin kolay, kullanışlı bir prosedür olduğu belirtilmiştir [38]. Talaat ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya tek taraflı mandibuler lezyonu sebepli kemik defekti olan 20 hasta alınmış; defektlere PRP, PRF ve CGF uygulanmıştır. Sonuç olarak, CGF'nin ekonomik, güvenli, yeni kemik oluşumunu hızlandıran bir ürün olduğu rapor edilmiştir [39].

Kozmetik: Zhao ve arkadaşlarının androjenik alopesiye sahip 58 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, toplamda bir aylık sürede 6 doz CGF uygulanmıştır. Hastaların %90'ında istatistiksel olarak anlamlı iyileşme bulunmuştur. Androjenik alopesi tedavisinde CGF kullanımının ucuz ve etkili olduğunu göstermişlerdir [40]. Hu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada fareden aldıkları yağ dokusuna PRP, trombosit zengin fibrin (PRF) ve CGF ekleyerek volümetrik ve histolojik olarak incelemişlerdir. CGF eklenmiş gruptaki yağ greftlerde, PRP ve PRF eklenmiş olanlara göre daha zengin vaskülarite, daha az fibrozis ve daha seyrek kist oluşumu gözlenmiştir [41]. Sun ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları çalışmada CGF uygulamasının, cilt yaşlanmasını yavaşlattığı ve anti-aging etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir [42].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onamı

Çalışma deney hayvanlarına yönelik ulusal mevzuata (5199 Sayılı Hayvanları Koruma Kanunu, Veteriner Hekimliği Deontoloji Yönetmeliği ve diğer deney hayvanlarına yönelik yönetmelikler) uygun olarak tasarlandı ve Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'na başvuru yapılarak 26.04.2021 tarihinde 2021131 sayılı karar ile onay alındı.

3.2. Proje Desteği

Araştırma bütçesi Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Destek Biriminden 20210803 numaralı kararlar ile destek alınarak karşılanmıştır.

3.3. Materyal

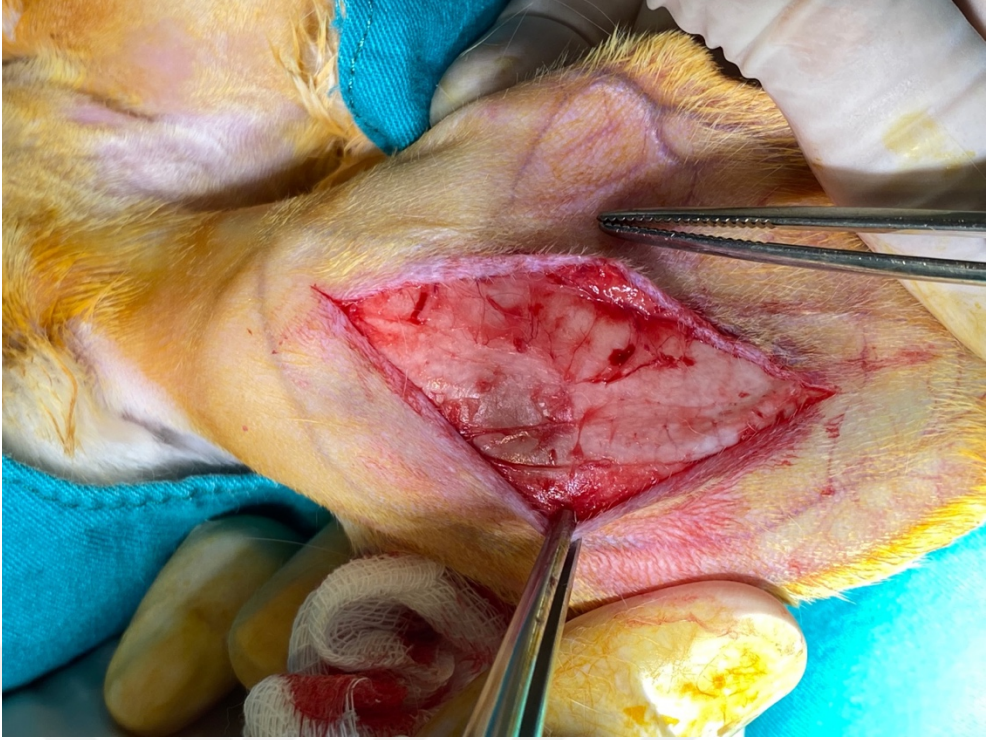
Çalışmada Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen 12 haftalık, ortalama 3,5 kg yetişkin 14 adet Yeni Zelanda

tavşanı kullanıldı. Deneyden elde edilen doku materyalleri İstanbul Medipol Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Bölümü'nde değerlendirildi.

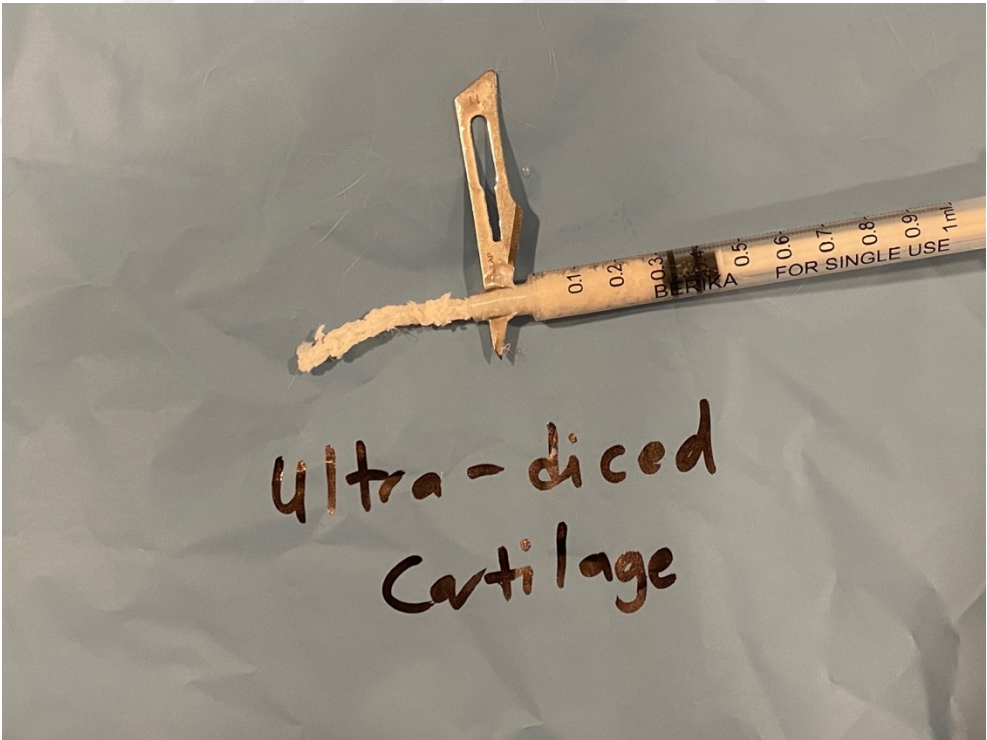
3.4. Yöntem

Her tavşana 50 mg/kg ketamin hidroklorid ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorür intramüsküler enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Hayvanların kulakları povidon iyot ile dezenfekte edildi. Tüm cerrahi prosedürler aseptik koşullar altında gerçekleştirildi.

Her tavşanın sağ kulak kepçesine insizyon yapıldı. Cilt, cilt altı ve perikondrium geçildikten sonra kıkırdak dokuya ulaşıldı (Şekil 3.1). 5x4 cm olacak şekilde kıkırdak greft alındı. Kıkırdak greft, 11 numara bistüri kullanılarak 0,5 ile 1 mm parçalara bölündü ve insülin enjektörüne yerleştirildi. Taş'ın [43] tarif ettiği gibi, insülin enjektörüne kabaca doğranmış kıkırdağın doldurulmasının ardından, bir 11 numara bistüri keskin kenarı enjektör haznesine bakacak şekilde yerleştirildi. Bistüri, enjektörün büyük ve dar kısımlarının bağlantısının hemen üzerine yerleştirildi. Aynı şekilde başka bir boş insülin enjektörü daha hazırlandı ve sonrasında kıkırdak ile doldurulan enjektör, boş şırınganın arka kısmına yerleştirildi ve enjektör sıkıldı. Bir şırıngadan diğerine nakil sırasında, kabaca küp küp doğranmış kıkırdak dokusu her defasında giderek artan şekilde doğrandı. Bunu birkaç kez yapmak suretiyle, kıkırdak pastasına benzeyen ileri-kıyılmış kıkırdak grefti elde edildi (Şekil 3.2)



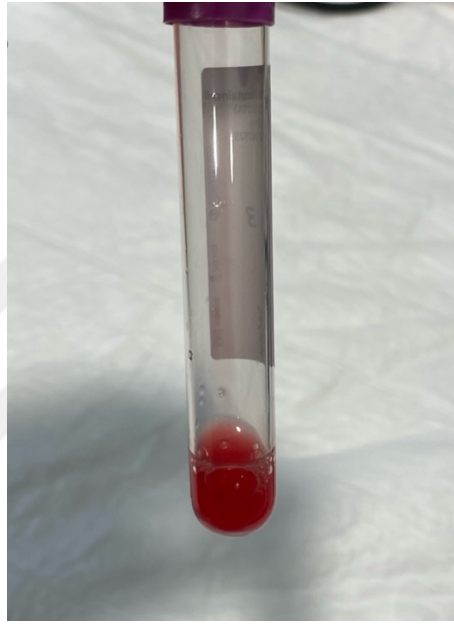
Şekil 3-1 : Tavşan kulak kıkırdağı.



Şekil 3-2 : İleri-kıyılmış kartilaj greft.

PRP için tavşanlardan alınan 10 cc kan örnekleri antikoagülan içeren 10 cc'lik venöz kan tüplerine konuldu. Trombositleri konsantre edebilmek için çift santrifüjleme tekniği kullanmak gerekir. 1600 rpm'de 10 dakika süren ilk

santrifüjlemede 3 katmana ayrıldı. Yukarıdan aşağıya; trombositten fakir plazma, trombosit ve kırmızı kan hücreleri. En alttaki kırmızı kan hücreleri katmanı dışarıya alındı. Ardından üst ve orta katmanlar antikoagülan içermeyen yeni bir tüpe alındı. Bu tüp 3500 rpm hızında 15 dakika ikinci santrifüjlemeye alındı. Bu sayede trombositler tabanda konsantre edildi ve üstünde olan trombositten fakir plazmanın üçte ikisi atıldı. Tüpte geride kalanla bu sayede trombositten zengin plazma elde edildi (Şekil 3.3)[17]. Yaklaşık 1 cc elde edilen bu PRP enjektöre alındıktan sonra ileri-kıyılmış kıkırdak greftle karıştırıldı..



Şekil 3-3 : Trombositten Zengin Plazma (PRP).

Ek olarak CGF için, tavşanlardan 10 cc venöz kan örneği alındı ve antikoagülan içermeyen 10 mL'lik steril bir kan tüpüne yerleştirildi. Bu tüp daha sonra özel bir santrifüj cihazında (Medifuge; Silfradent Srl, Sofya, İtalya) 13 dakika süreyle hemen santrifüjlendi. Bu cihazda özel bir program kullandı: 2 dakika için 2700 rpm, 4 dakika için 2400 rpm, 4 dakika için 2700 rpm ve 3 dakika için 3000 rpm. Santrifüjlemenin sonunda, tüpte dört fraksiyon vardı: (1) en üstteki serum katmanı (fibrinojen ve pıhtılaşma faktörleri içermeyen kan plazması); (2) bir fibrin buffy coat (büyük ve yoğun polimerize fibrin bloğu); (3) büyüme faktörleri, beyaz kan hücreleri ve kök hücreler içeren bir sıvı tabaka ve (4) en alttaki kırmızı kan hücresi katmanı (Şekil 3.4). Bu çalışmadaki deneylerde fibrin buffy coat ve sıvı faz (sırasıyla ikinci ve üçüncü tabakalar) kullanılmıştır. Kırmızı kan hücresi tabakası, makas kullanılarak fibrin bloğundan ayrıldı. Sonrasında hazırlanan bu CGF tabakası, CGF jeli elde etmek için

iki cam arasında sıkıştırıldı (Şekil 3.5)[32]. Konsantre büyüme faktörleri içeren bu jel tabaka küçük parçalara ayrılarak ileri-kıyılmış kıkırdak greftle karıştırıldı.



Şekil 3-4 : CGF elde etmek amacıyla santrifüj sonrası elde edilen görüntü.



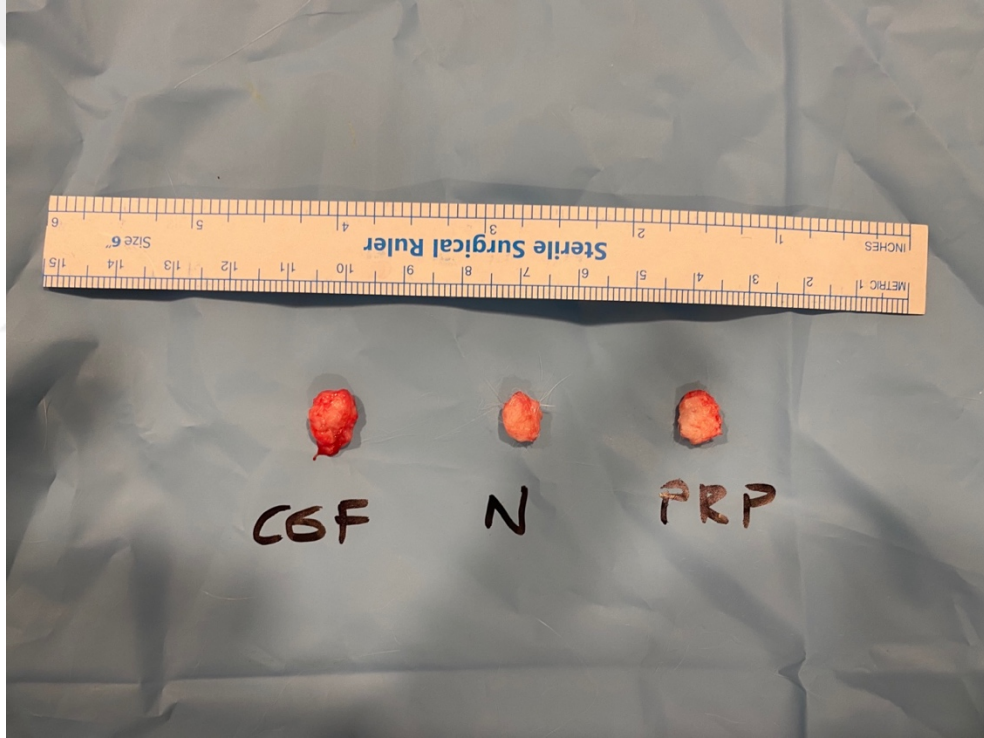
Şekil 3-5 : Konsantre Büyüme Faktörü (CGF).

Kullanılacak greft tipine göre üç grup oluşturuldu:

- 1. gruba sadece ileri-kıyılmış kıkırdak greftleri yerleştirildi.

- 2. gruba PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kıkırdak greftleri yerleştirildi.
- 3. gruba ise CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kıkırdak greftleri yerleştirildi.

Tavşanların paraspinal bölgesinde yaklaşık 1,5 cm uzunluğunda üç deri kesisi açılarak küçük cilt altı cepleri oluşturuldu. Üç greft aynı tavşandaki bu ceplerin her birine yerleştirildi ve kesiler 3/0 Vicryl dikişleri kullanılarak kapatıldı. Postoperatif dönemde alıcı bölgelerde herhangi bir komplikasyon görülmedi. Üç ay sonra, implante edilen greftler eksize edildi (Şekil 3.6). Tavşanlar yüksek dozda (150 mg / kg) tiyopental sodyum ile sakrifiye edildi. Yerleştirilen greftler çevresindeki dokudan eksize edilerek çıkarıldı ve histolojik değerlendirilmeye yönlendirildi.



Şekil 3-6 : Eksize edilen greftler.

3.5. Histolojik Değerlendirme

Kıkırdak dokusu örnekleri %10'luk formaldehit (pH 7.4) içerisinde 72 saat fikse edilerek, 1'er saat etanol serisinden (%50, %70, %90, %96, %100) geçirildi. Ardından ksilen içerisinde 30 dk bekletilerek sıcak parafin içerisinde bloklandı. Bloklanan dokulardan, mikrotom (RM2235, Leica) ile 5 µm kalınlıkta kesitler alınarak ksilen ile deparafinize edildi. Ardından alkol serisinden (%100, %90, %70) geçirilerek

distile su ile yıkandı. Alınan kesitler genel histolojik inceleme için Hematoksilen&Eozin ile, kıkırdak doku matriksindeki proteoglikan miktarının ölçülebilmesi için Safranin-O&Fast Green ile boyandı. Boyanan kesitler alkol serisi ve ksilenden geçirilerek Entellan (1.07960, Sigma-Aldrich) ile kapatıldı. Boyanan kesitler ışık mikroskopu (Carl Zeiss, Axio Observer) ile 20x/0.8NA objektif kullanılarak incelendi.

Mikroskopik incelemelerde kıkırdak dokusundaki histopatolojik değişimler ile ilgili olarak laküna içerisindeki kondrosit kaybı, inflamasyon, fibrosis, kıkırdak fragmentasyonu ve kalsifiye alan oluşumları semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Bunun yanında kıkırdak doku canlılığı ve rejenerasyon göstergesi olarak kıkırdak dokuda periferik hücre proliferasyonu, bağ dokusu içerisinde vaskülarizasyon, kıkırdak doku matriksinde proteoglikan artışı ve kıkırdak doku parçaları arasında oluşan bağ dokusu miktarı semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme parametreleri her bir gruptaki tüm ölçümlerin ortalaması alınarak 0 ile 4 arasında (0= %0-1 yok, 1= %1-25 az, 2= %26-50 orta, 3= %51-75 orta-şiddetli, 4= %76-100 şiddetli) belirlendi. Ölçümler sonucunda histopatolojik değişimler ile ilgili ölçümler kendi arasında gruplanarak “histopatolojik skor” olarak, doku canlılığı ve rejeneratif kapasite ile ilgili ölçümler kendi arasında gruplanarak “rejeneratif skor” olarak belirlendi [32].

3.6. İstatistiksel Analiz Yöntemi

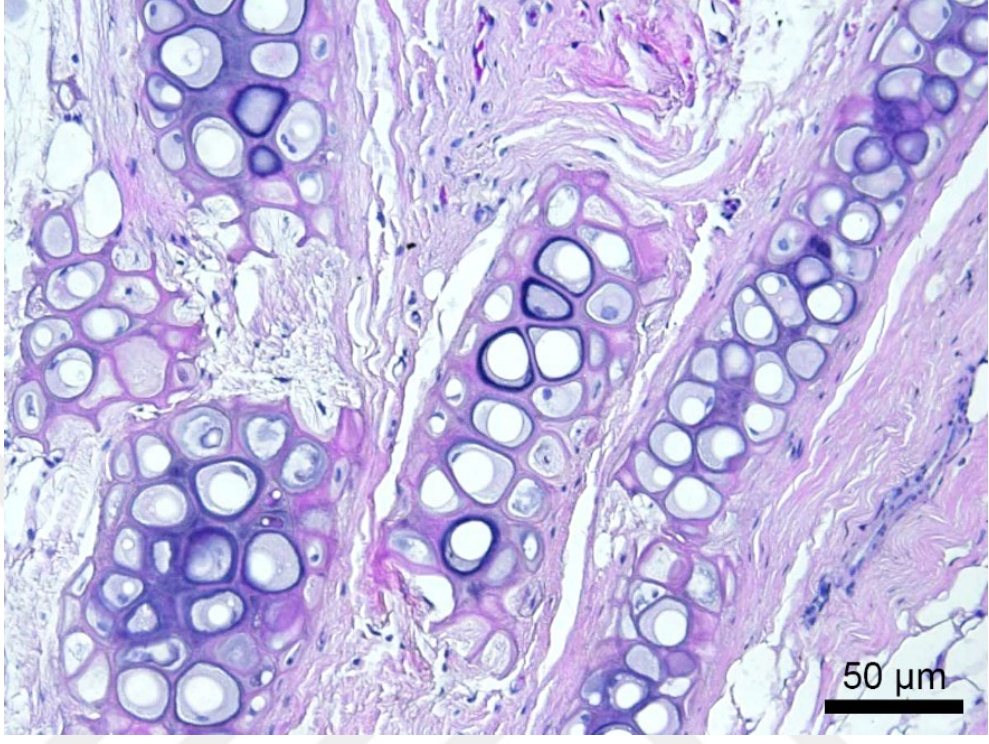
İstatistiksel analiz, Windows için GraphPad Prism sürüm 8.0.0 yazılımı (GraphPad Software, San Diego, California, ABD) kullanılarak yapıldı. Tüm nicel değişkenler, merkezi konum ölçümleri (yani ortalama ve medyan) ve dağılım ölçümleri (yani standart sapma [SD]) kullanılarak değerlendirildi.

Grupların nicel verilerini karşılaştırmak ve gruplar arası karşılaştırma yapmak için ANOVA testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

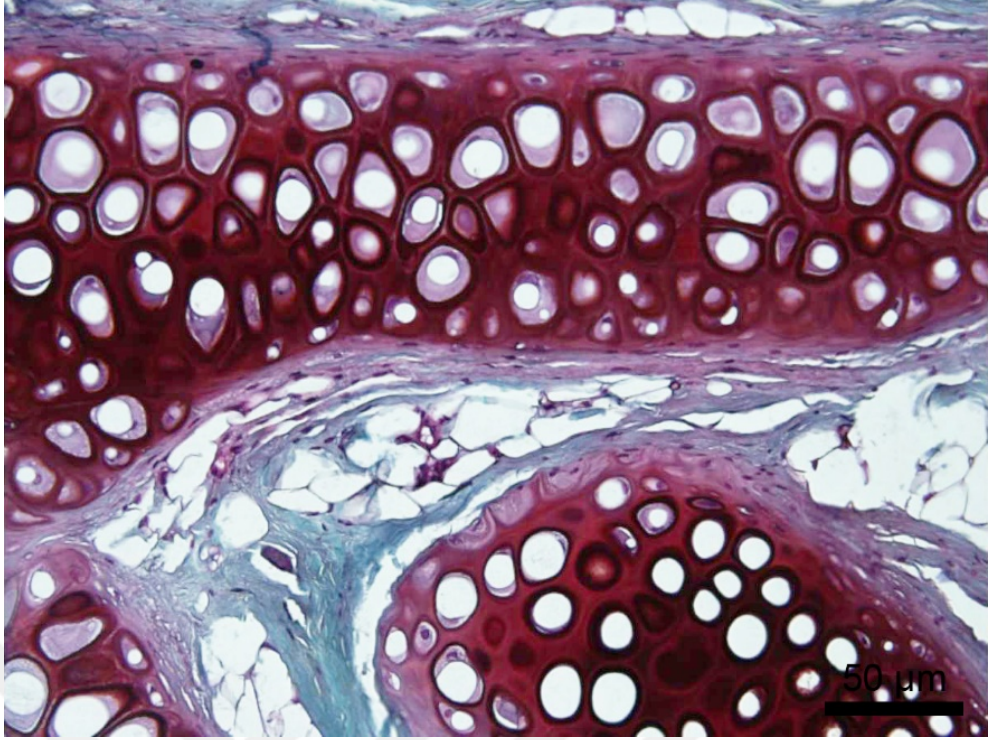
4. BULGULAR

İleri kıyılmış kartilaj grubunda kıkırdak parçaları arasında geniş boşluklar ve seyrek bağ dokusu göze çarpmaktadır. Kıkırdak içerisinde merkezi ve periferik

alanlarda laküenalar içerisinde kondrosit kaybı ile kıkırdak bütünlüğünde parçalanmalar, bunun yanında kıkırdak doku çevresindeki bağ dokusu içerisinde çok seyrek olarak kan damarı oluşumu görülmektedir (Şekil 4.1 ve 4.2).



Şekil 4-1 : İleri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Parçalanmış kıkırdak dokusu alanları ve çevresindeki bağ dokusu görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması.

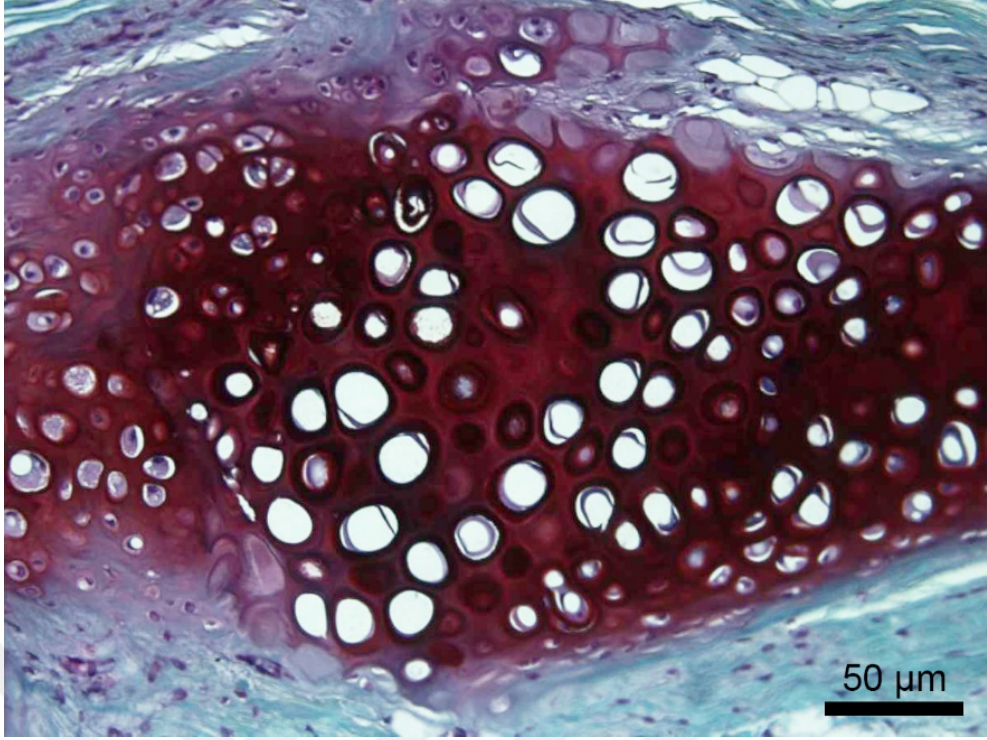


Şekil 4-2 : İleri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Kıkırdak doku içerisinde lakünalar çevresinde koyu (mor) renkli boyanmış terriyonal matriks ve çevresinde yer alan ekstra-terriyonal matriks ile kıkırdak doku çevresinde yer alan bağ dokusu (yeşil) görülmektedir. Safranin-O&Fast Green boyaması.

CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubunda, kıkırdak parçalarının çevresinde sıkı olarak yer alan bağ dokusu ve bu bağ dokusu içerisinde artmış kan damarı oluşumu görülmektedir. Bununla birlikte kıkırdak dokusunda lakünalar içerisinde yer alan kondrositler, kıkırdak dokusu periferinde yerleşik proliferatif kondrositler ve kondrosit aktivitelerinin artışına bağlı olarak kıkırdak matriksinde yüksek proteoglikan miktarı görülmektedir (Şekil 4.3 ve 4.4).

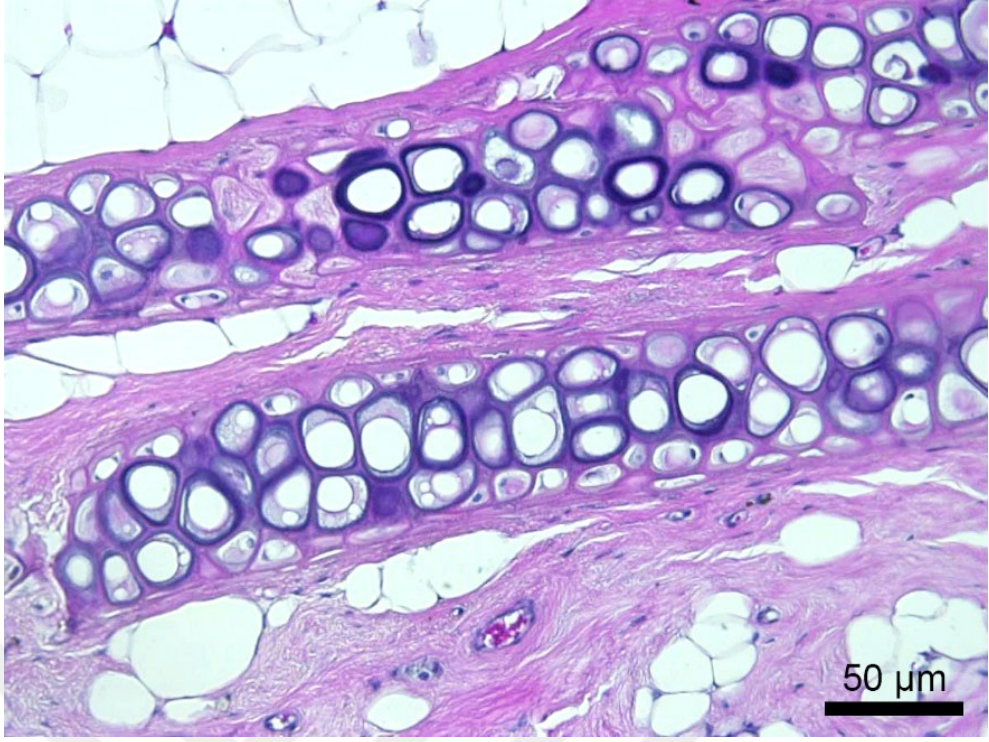


Şekil 4-3 : CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Hipertrofi olmuş kıkırdak dokusu, periferal yerleşimli proliferatif kondrositler ve çevresindeki bağ dokusu görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması.

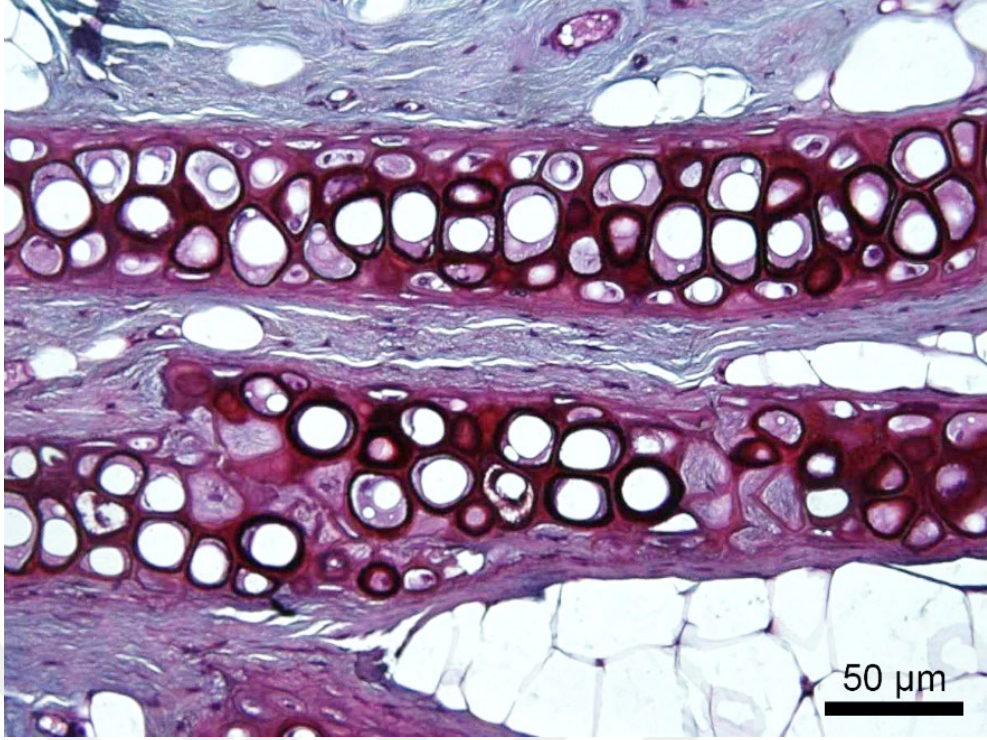


Şekil 4-4 : CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Kıkırdak doku içerisinde lakünalar çevresinde koyu (mor) renkli boyanmış artmış territorial matriks ve çevresinde yer alan ekstra-territorial matriks ile kıkırdak doku çevresinde yer alan bağ dokusu (yeşil) görülmektedir. Safranin-O&Fast Green boyaması.

PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubunda kıkırdak parçaları arasında yer yer sıkı bağ dokusu oluşumu görülmekle birlikte kıkırdak dokusunun parçalandığı ve bağ dokusu ile çevrili olmayan bölgeler de görülmektedir. Bağ dokusu içerisinde artmış kan damarı oluşumunun yanı sıra inflamasyon ve kalsifiye alanlarda artış da göze çarpmaktadır (Şekil 4.5 ve 4.6).

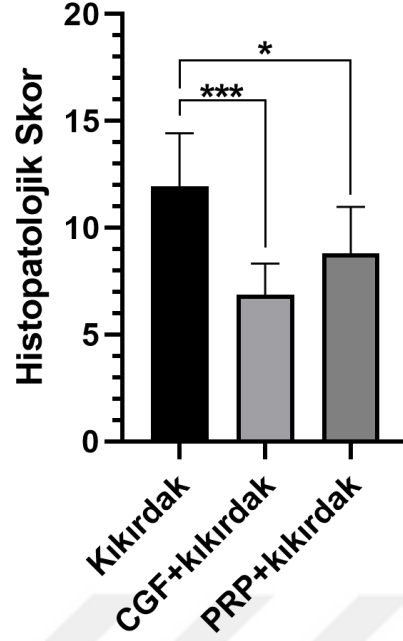


Şekil 4-5 : PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Parçalı kıkırdak dokusu, periferal yerleşimli proliferatif kondrositler ve bağ dokusu içerisinde kan damarı görülmektedir. Hematoksilen&Eozin boyaması.



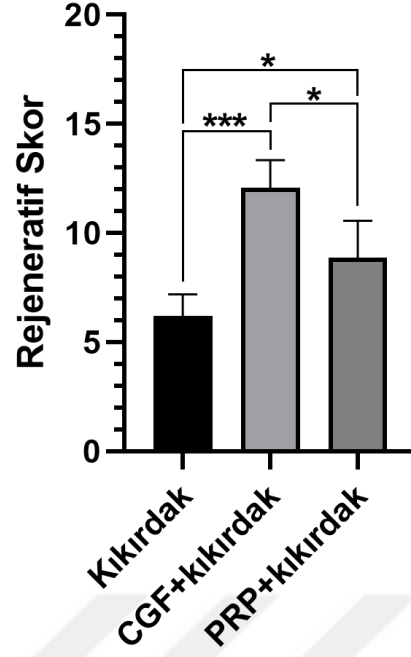
Şekil 4-6 : PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna ait kıkırdak dokusu görüntüsü. Kıkırdak doku içerisinde lakünalar çevresinde koyu (mor) renkli boyanmış territoriye matris ve çevresinde yer alan ekstra-territoriye matris ile kıkırdak doku çevresinde yer alan bağ dokusu (yeşil) görülmektedir. Safranin-O&Fast Green boyaması.

Gruplar arasında yapılan histopatolojik skor karşılaştırmasında yalnız başına ileri-kıyılmış kartilaj grubuna kıyasla CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ($p<0.0001$) ve PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ($p<0.0275$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar görülmüştür. CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ve PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grupları arasında ise histopatolojik skor açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p<0.1605$) (Şekil 4.7).



Şekil 4-7 : Gruplar arasında karşılaştırmalı olarak histopatolojik skor değerlendirmesi. ***: $p<0.0001$ ve *: $p<0.05$.

Gruplar arasında yapılan rejeneratif skor karşılaştırmasında yalnız başına ileri-kıyılmış kartilaj grubuna kıyasla CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ($p<0.0001$) ve PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj ($p<0.0159$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artışlar görülmüştür. PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubuna kıyasla CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grubunda istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.0137$) bir rejeneratif skor artışı görülmüştür (Şekil 4.8).



Şekil 4-8 : Gruplar arasında karşılaştırmalı olarak rejeneratif skor değerlendirmesi. ***: $p < 0.0001$ ve *: $p < 0.05$.

Grupların histopatolojik ve rejeneratif skorlarının tanımlayıcı istatistik verileri Tablo 4-1 ve Tablo 4-2’de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Histopatolojik skor tanımlayıcı istatistik verileri

Gruplar	Kıkırdak	CGF	PRP
Minimum	7,000	4,000	6,000
%25	9,750	6,000	7,000
Medyan	12,500	7,000	8,500
%75	14,000	8,000	10,250
Maksimum	15,000	9,000	13,000
Ortalama	11,930	6,857	8,786
Standart Sapma	2,495	1,460	2,190

Tablo 4-2: Rejeneratif skor tanımlayıcı istatistik verileri

Gruplar	Kıkırdak	CGF	PRP
Minimum	5,000	10,000	7,000
%25	5,000	11,000	7,000
Medyan	6,000	12,000	8,500
%75	7,000	13,000	10,250
Maksimum	8,000	14,000	12,000
Ortalama	6,214	12,070	8,857
Standart Sapma	0,975	1,269	1,703

5. TARTIŞMA

Rinoplastinin amacı, buruna doğal ve simetrik bir görünüm kazandırmaktır. Ancak, nazal hump rezeksiyonu sonrası keskin kenarlı ve düzensiz burun kemikleri ve kıkırdaklar ortaya çıkabilir. Bu durum nazal dorsumun düzensiz görünmesine ve açık çatı deformitesi oluşmasına neden olabilir [44]. Bu düzensizlik genelde post-operatif ödemin azalmasından sonra ortaya çıktığı gibi özellikle ince ciltli hastalarda aylar veya yıllar sonra da ortaya çıkabilir [45].

Bir greftin dorsuma dikkatli bir şekilde yerleştirilmesi, cildin düzensiz burun yapıları ile temasını önleyebilir ve bu sayede pürüzsüz ve simetrik bir görünüm elde edilebilir. Bazı yazarlar, bu düzensizliklerin giderilmesi için temporal fasya veya dermis gibi otojen yumuşak doku greftlerinin kullanılmasını önermiştir. Yumuşak doku greftleri dorsal düzensizlikleri gizlemek için yeterlidir, ancak zamanla kütleleri azalır [46–48]. Bazı yazarlar da bu durum için jelatin film gibi alloplastik materyalleri önermişlerdir, fakat bu materyaller yüksek enfeksiyon riskine ve kısa bir ömre sahiptir [49]. Bu nedenle otojen kıkırdak; düşük greft reddi, enfeksiyon ve minimum greft görünürlülüğü nedeniyle rinoplasti için en ideal greft materyalidir [50].

0,5-1 mm büyüklüğündeki doğranmış kıkırdak (diced kartilaj) ilk olarak 1941 yılında Young tarafından deneysel olarak kanıtlandıktan sonra 1943 yılında da Peer tarafından klinik olarak kullanılmıştır [51,52]. Rinoplastide kullanılan diced kartilaj, büyük tek parça kıkırdak greftlere göre daha az görünürlülüğe ve eğilme ihtimaline sahiptir. Ancak diced kartilajın özellikle ince derili hastalarda ortaya çıkan iki temel problemi vardır: (1) değişken rezorbsiyon hızı; (2) distorsiyon ve migrasyon riski. Bu iki problemi çözebilmek adına diced kartilaj bugüne kadar birçok materyal ile sarılmıştır [32,53,54].

1943'te Peer tarafından tanıtıldığından beri, bir greft olarak diced kartilajın faydasını araştıran birçok çalışma bulunmaktadır [52]. Ancak 2000'li yıllara kadar, bu greft rinoplastide popülerlik kazanmamıştır. Erol, 2365 hasta üzerinde yaptığı 10 yıllık bir çalışmada, Surgicel ile sarılmış diced kartilajın nazal dorsumun güçlendirilmesi ve dorsal düzensizliklerin düzeltilmesi için uygun olduğunu bulmuştur [55]. Elahi ve ark. 67 hasta ile yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur [56]. Ancak daha sonra

Yılmaz ve arkadaşları, bir tavşan modelinde serbest diced kartilaj ile Surgicel sarılı diced kartilaj canlılığını karşılaştırmış ve Surgicel'in kıkırdak proliferasyonunu azalttığını bulmuşlardır [57]. Surgicel ile sarılı diced kartilajın metabolik olarak aktif olmadığını ve rejeneratif potansiyele sahip olmadığını göstermişlerdir. Surgicel, şiddetli yabancı cisim reaksiyonları ve yüksek rezorbsiyon oranı nedeniyle artık nadiren kullanılmaktadır [58,59].

Diced kartilajın fasya ile sarılması ihtiyacı, özellik ince derili revizyon rinoplasti ameliyatlarında nazal dorsumun güçlendirilmesi ve dorsal düzensizliklerin düzeltilmesi amacıyla ortaya çıkmıştır. Temporal fasya ile sarılmış doğranmış kıkırdağın uzun dönem sonuçlarının tatmin edici olduğu birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada, normal rejeneratif potansiyeli ve metabolik olarak aktif olan kıkırdak hücrelerinin olduğu ve diced kartilajın tek bir kıkırdak kütlesi halinde birleştiği histolojik olarak gösterilmiştir [59]. Daniel ve Calvert, serbest diced kartilaj, Surgicel ve temporal fasya ile sarılmış diced kartilajların klinik sonuçlarını karşılaştırdı. Hem serbest diced kartilajda hem de fasya ile sarılmış diced kartilajda tatmin edici sonuçlar buldular. Brenner ve arkadaşları, sıçanlarda serbest diced kartilaj, Surgicel ve temporal fasya ile sarılmış diced kartilajları karşılaştırmış ve en yüksek canlı kıkırdak yüzdesini temporal fasya ile sarılmış diced kartilaj ile elde ettiklerini bulmuşlardır [60]. Daha sonra Daniel ve arkadaşları, pürüzsüz ve düzenli bir burun sırtı oluşturmak için temporal fasya ile sarılmış doğranmış kıkırdağı popülerleştirdi [58]. Dört yüz seksen bir hastanın dahil edildiği bir sistematik derlemede, fasya ile sarılı diced kartilaj ile karşılaşma en sık komplikasyonlar şunlardır: (1) dorsal augmentasyonun yetersiz kalması; (2) dorsal augmentasyonun fazla olması; (3) görünürlülük. Temporal fasya sarılı diced kartilajın bariz dezavantajları ise; donör alan morbiditesi, daha uzun operasyon süresi ve önemli miktarda dorsal güçlendirme gerektiğinde büyük miktarda diced kartilajı sarmak için alınan fasyanın yetersiz kalmasıdır [61].

Alternatif sargılar üzerine çeşitli çalışmalar yayınlanmış olmasına rağmen, canlılığı ve stabiliteyi artırmak için en uygun diced kartilaj sargı malzemesi üzerinde bir fikir birliği yoktur. Kemaloğlu ve Tekin, perikondriyuma sarılmış diced kartilajın kondrosit canlılığı ve hayatta kalma oranının fasya ile sarılmış olanlardan daha yüksek olduğunu bulmuştur [62]. Ayrıca, tutoplast ile işlenmiş fasya lata (TPFL), AlloDerm, esterlenmiş hyaluronik asit ve amniyotik membranın diced kartilaj sargı materyalleri

olarak kullanılmasının canlılığı ve stabiliteyi artırabileceği bildirilmiştir [63–67]. İlk sonuçlar cesaret verici olsa da yüksek enfeksiyon riski nedeniyle klinik kullanımları tartışmalıdır.

Diced kartilaj canlılığını ve hayatta kalma oranını artırmak için sargı amacıyla birçok kan ürünü de denenmiştir. Venöz kanın pıhtılaşması ile elde edilen kan tutkalı, diced kartilajı taşımak ve stabilize etmek bir iskele olarak bildirilmiştir. Fakat Topkara ve arkadaşları yaptıkları çalışmada venöz kan tutkalının kıkırdak canlılığını önemli ölçüde artırmadıklarını göstermişlerdir [32]. Trombositten zengin plazmadan ve trombositten fakir plazmadan yapılan otolog doku yapıştırıcısı (ATG), diced kartilajı stabilize etmek için alternatif bir sargı malzemesi olarak da kullanılmıştır [68]. Bullocks ve arkadaşları, 68 hasta ile yaptıkları çalışmada ATG'nin içerisinde büyüme faktörleri içermesi nedeniyle etkili bir sargı malzemesi olabileceğini göstermişlerdir. Fakat hastaların %16'sının burun cildinde eritem olması nedeniyle klinik kullanımı kısıtlı kalmıştır [68]. Fibrin yapıştırıcı ile yapılan çalışmalarda, fibrin yapıştırıcının kıkırdak büyümesini ve stabilizasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Tasman ve arkadaşları, nasal augmentasyon için maliyeti oldukça yüksek olan fibrin yapıştırıcı ile sarılı diced kartilaj kullanmışlardır. On beş aylık takip sonucunda kıkırdak canlılığının ve stabilitesinin arttığını histolojik olarak göstermişlerdir [69].

Trombosit konsantreleri, hücrelerin proliferasyonunu spesifik reseptörler aracılığıyla düzenleyen büyüme faktörlerini içerir. VEGF anjiyogenezi uyarır, PDGF mezenkimal hücre sağ kalımı ve hücre göçünde rol oynar, bFGF fibrozu tetikler, IGF-I hücre apoptozunu geciktirir ve EGF hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını destekler. PRP birinci nesil trombosit konsantresidir ve donör kanına antikoagülan, kalsiyum klorür ve sıgır trombini eklenerek elde edilir [70]. Manafi ve arkadaşları, bir tavşan modelinde PRP eklenmiş diced kartilajların daha yüksek hayatta kalma oranı ve rejenerasyon kapasitesi elde ettiklerini göstermişlerdir [71]. PRP, sıvı formunda olduğu için her ne kadar kıkırdak canlılığını anlamlı olarak artırsa da bir iskele görevi görmesi kısıtlıdır. Bizim çalışmamızda da PRP grubunda kıkırdak canlılığı, kontrol grubuna kıyasla rejeneratif skor olarak anlamlı olarak yüksek, histopatolojik skor olarak anlamlı olarak düşük çıkmıştır.

Trombositten zengin fibrin (PRF), ikinci nesil trombosit konsantresidir ve venöz kanın antikoagülan içermeyen bir tüpte santrifüjlenmesiyle elde edilir [72]. Güler ve

arkadaşları, yaptıkları tavşan çalışmasında PRF ile sarılmış diced kartilajın serbest, Alloderm veya Surgicel ile sarılmış diced kartilajdan kıkırdak canlılığının daha fazla arttığını göstermişlerdir [73]. Gode ve arkadaşları, 40 hasta üzerinden yaptıkları çalışmada dorsuma yerleştirdikleri diced kartilaja PRF enjeksiyonu yapmışlardır. Operasyon sonrası birinci haftada ve üçüncü ayda yüzeysel ultrasonla kıkırdak kalınlığını ölçmüşlerdir. Sonuçlar değerlendirildiğinde PRF enjeksiyonunun, rezorbsiyon oranını azalttığını ve kıkırdak canlılığını artırdığını göstermişlerdir [74].

CGF, taze venöz kanın özel bir santrifüj cihazında, farklı hızlarda santrifüj edilmesiyle elde edilir. PRP'ye göre daha yoğun, daha iyi yapışma ve rejenarasyon kapasitesine ve daha yüksek büyüme konsantrasyonuna sahip üç boyutlu bir fibrin yapısına sahiptir. Topkara ve arkadaşları, tavşanlarda yaptıkları çalışmada diced kartilajın CGF ile karıştırılmasının kıkırdak canlılığını fasyaya göre daha fazla artırdığını göstermişlerdir [32]. Sohn ve arkadaşları, sinus augmentasyon bölgesinde bariyer membran olarak CGF kullanımının doku iyileşmesini hızlandığını ve kemik kaybını azalttığını göstermiştir [37]. Ayrıca Bujia ve ark. in vitro yaptıkları bir çalışmada, büyüme faktörlerin kondrositlerin proliferasyonunu arttırdığını göstermişlerdir [75]. Yazarlar, CGF'nin üç avantajını vurgulamaktadır: (1) CGF, hücre olgunlaşmasını ve matris üretimini uyaran sitokinleri içerir; (2) CGF'nin hazırlanması hızlı ve kolaydır; ve (3) otolog kan dışında başka bir bileşeni olmadığı için güvenilirdir [75]. Bizim çalışmamızda da CGF grubunda kıkırdak canlılığı, kontrol ve PRP gruplarına kıyasla rejeneratif skor olarak anlamlı olarak yüksek, kontrol grubuna göre ise histopatolojik skor olarak anlamlı olarak düşük çıkmıştır.

0,2 mm'den daha küçük kıkırdak parçalarından oluşur ve ileri-kıyılmış kartilaj (ultra-diced kartilaj) ilk olarak Taş tarafından tanımlanmıştır [43]. Ultra-diced kartilaj elde etmek için, kıkırdak parçası önce 4-5 mm büyüklüğünde büyük parçalara bölünür, daha sonra ucunda bistüri olan insülin enjektörüne doldurulur. Yaklaşık 5 dakikalık işlemden sonra enjektör içerisindeki kıkırdaklar daha küçük parçalara bölünür ve ileri-kıyılmış kartilaj elde edilmiş olur. Elektrostatik kuvvet, bu küçük parçacıkları bir arada tutar ve ileri-kıyılmış kıkırdak, enjeksiyon sırasında kompakt kavisli bir çizgi olarak bir şekil gösterir. Taş çalışmasında, revizyon ameliyatı olan sadece 1 hastada ileri-kıyılmış kartilajın canlılığını gösterebilmiştir [43]. İleri-kıyılmış kartilajın; tek başına, PRP veya CGF ile karıştırılmasının canlılık üzerine etkisi ilk kez bu deneysel çalışmada karşılaştırıldı. Çalışmamızda histopatolojik bulgulara göre CGF veya PRP

ile karıştırılmış gruplarda kıkırdak canlılığı kontrol grubuna kıyasla rezorbsiyon oranı anlamlı olarak daha düşük, rejenerasyon oranı ise anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. CGF ve PRP ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj grupları kendi aralarında kıyaslandığında ise rezorbsiyon oranında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, rejenerasyon oranı açısından CGF ile karıştırılmış grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur.

İleri-kıyılmış veya doğranmış kartilaj için ideal sarma yöntemi henüz belirlenmiş değildir. CGF, kıkırdak greftlerin sarılma ve rezorbsiyon olmak üzere iki temel problemine iyi bir çözümdür. Bu nedenle greftleri taşınması için otolog bir materyal olarak uygun olabilir. Rinoplasti ameliyatlarında hastadan yeterince kan alınabilir ve istenilen miktarda CGF üretilir. Böylece burun sırtında, lateral nazal duvarlarda ve scroll alanda kullanım için yeterli miktarda CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj elde edilebilir. Ek olarak, CGF, kıkırdak canlılığını ve dolayısıyla uzun süreli greft sağ kalımını iyileştirme avantajına sahiptir. Bu durum, rinoplastinin uzun dönem komplikasyonlarından biri olan nasal dorsum düzensizliklerini çözebilir. Bu çalışma sonuçlarından cesaretle gelecekte, rinoplastide CGF ile karıştırılmış ileri-kıyılmış kartilaj kullanımını ile ilgili klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın kısıtlılıkları ise çıkarılan greftlerde volüm ölçülmemesi, nispeten örneklem küçüklüğü ve ileri-kıyılmış ile doğranmış kartilajın karşılaştırılmamasıdır. İleride daha büyük örnekleme ve ultra-diced kartilajın diced kartilaj ile karşılaştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Doğranmış kıkırdağı sarmak ve stabilize etmek için otolog veya otolog olmayan ideal bir materyal arayışı günümüzde hâlâ devam etmektedir. Çalışmamız, ileri-kıyılmış kartilajı deneysel hayvan modelinde inceleyen ilk çalışmadır. İleri-kıyılmış kartilajın CGF veya PRP ile karıştırılmasının kıkırdak canlılığını arttırdığını ve rezorbsiyonunu azalttığını göstermiştir. İleri-kıyılmış kartilajın CGF ile karıştırılmasının PRP ile karıştırılmasına kıyasla kıkırdak canlılığını daha da artırdığı ve daha iyi iskelet görevi gördüğü çalışmamızda gösterilmiştir. Ancak, bu sonuçların uzun süreli klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekir.

Bu çalışmamızda yapılan histopatolojik incelemelerde ileri-kıyılmış kartilajın yerleştirildiği bölgede canlılığını koruduğu göstermiştir. Bu sonuçlardan ileri-kıyılmış kartilajın; tip 1 tiroplastide, patent östaki tedavisinde, velofaringeal yetmezlikte, mastoid obliterasyonunda, atrofik rinitte, boş burun sendromunda ve fasyal bölgede dermal dolgu olarak kullanılma potansiyeli olduğunu düşündürmektedir. Bu tedavi alanlarında, uzun süreli klinik çalışmalar yol gösterici olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Cameron R. Textbook of Histology. Fourth. Vol. 1, Bmj. Elsevier; 1966. 286–286 p.
2. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter's Essential Histology E-Book: With Correlated Histopathology [Internet]. Third. Elsevier; 2020. 568 p. Available from: <https://books.google.com.br/books?id=StnNDwAAQBAJ>
3. Roosen-Runge EC. Histology: A Text and Atlas. Seventh. Vol. 7, Human Pathology. Wolters Kluwer; 1976. 485 p.
4. Junqueira L, L.Mescher A. Basic histology text and atlas 13th [Internet]. Fifteenth. 2005. McGraw Hill; 2011. 1251 p. Available from: https://scholar.google.com/scholar?hl=ar&as_sdt=0%2C5&q=Junqueira%2C+L.+C.%2C+%26+Carneiro%2C+J.+%282005%29.+Basic+histology+text+and+atlas.+London%3A+McGraw+Hill%2C+2005.&btnG=
5. Neelam V, Sabita M. Inderbir Singh's Textbook of Human Histology. Seventh. 2014. 80–86 p.
6. Kovacs EJ. Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas. Sixth. Vol. 125, Archives of Pathology & Laboratory Medicine. Elsevier; 2001. 708–708 p.
7. Sánchez AR, Sheridan DDS PJ, Kupp MSLI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. J Prosthet Dent. 2003;90(2):204.
8. Weibrich G, Kleis WKG. Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system: Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet-rich plasma. Clin Oral Implants Res [Internet]. 2002 Aug [cited 2022 Jan 13];13(4):437–43. Available from:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12175382/>

9. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing [Internet]. Vol. 16, Wound Repair and Regeneration. Wound Repair Regen; 2008 [cited 2022 Jan 13]. p. 585–601. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19128254/>
10. Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. Wound Repair Regen [Internet]. 1996 [cited 2022 Jan 13];4(4):411–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17309691/>
11. Riedel K, Riedel F, Goessler UR, Germann G, Sauerbier M. TGF- β Antisense Therapy Increases Angiogenic Potential in Human Keratinocytes In Vitro*. Arch Med Res [Internet]. 2007 Jan [cited 2022 Jan 13];38(1):45–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17174722/>
12. Robson MC. The role of growth factors in the healing of chronic wounds [Internet]. Vol. 5, Wound Repair and Regeneration. Wound Repair Regen; 1997 [cited 2022 Jan 13]. p. 12–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16984452/>
13. Hsu C, Chang J. Clinical implications of growth factors in flexor tendon wound healing. J Hand Surg Am [Internet]. 2004 [cited 2022 Jan 13];29(4):551–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15249076/>
14. Dhillon RS, Schwarz EM, Maloney MD. Platelet-rich plasma therapy - future or trend? [Internet]. Vol. 14, Arthritis Research and Therapy. Arthritis Res Ther; 2012 [cited 2022 Jan 23]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22894643/>
15. Marx RE. Platelet-Rich Plasma: Evidence to Support Its Use. J Oral Maxillofac Surg [Internet]. 2004 [cited 2022 Jan 23];62(4):489–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15085519/>
16. Bir SC, Esaki J, Marui A, Sakaguchi H, Kevil CG, Ikeda T, et al. Therapeutic treatment with sustained-release platelet-rich plasma restores blood perfusion by augmenting ischemia-induced angiogenesis and arteriogenesis in diabetic mice. J Vasc Res [Internet]. 2011 Apr [cited 2022 Jan 23];48(3):195–205.

Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21099226/>

17. Xiong S, Qiu L, Su Y, Zheng H, Yi C. Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin Enhance the Outcomes of Fat Grafting: A Comparative Study. *Plast Reconstr Surg*. 2019;143(6):1201E-1212E.
18. Hersant B, Bouhassira J, SidAhmed-Mezi M, Vidal L, Keophiphath M, Chheangsun B, et al. Should platelet-rich plasma be activated in fat grafts? An animal study. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2022 Jan 23];71(5):681–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29477267/>
19. Ferrari M, Zia S, Valbonesi M, Henriquet F, Venere G, Spagnolo S, et al. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. *Int J Artif Organs* [Internet]. 1987 Mar 13 [cited 2022 Jan 23];10(1):47–50. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/039139888701000111>
20. Wang-Saegusa A, Cugat R, Ares O, Seijas R, Cuscó X, Garcia-Balletbó M. Infiltration of plasma rich in growth factors for osteoarthritis of the knee short-term effects on function and quality of life. *Arch Orthop Trauma Surg* [Internet]. 2011 Mar [cited 2022 Jan 23];131(3):311–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20714903/>
21. Hammond JW, Hinton RY, Curl LA, Muriel JM, Lovering RM. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. *Am J Sports Med* [Internet]. 2009 Jun [cited 2022 Jan 23];37(6):1135–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19282509/>
22. Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med* [Internet]. 2007 Feb [cited 2022 Jan 23];35(2):245–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17099241/>
23. Alio JL, Abad M, Artola A, Rodriguez-Prats JL, Pastor S, Ruiz-Colecha J. Use of Autologous Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Dormant Corneal Ulcers. *Ophthalmology* [Internet]. 2007 [cited 2022 Jan 24];114(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17324465/>

24. Alio JL, Colecha JR, Pastor S, Rodriguez A, Artola A. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. *Ophthalmic Res* [Internet]. 2007 Jun [cited 2022 Jan 24];39(3):124–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17374962/>
25. Leo MS, Kumar AS, Kirit R, Konathan R, Sivamani RK. Systematic review of the use of platelet-rich plasma in aesthetic dermatology [Internet]. Vol. 14, *Journal of Cosmetic Dermatology*. *J Cosmet Dermatol*; 2015 [cited 2022 Jan 24]. p. 315–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26205133/>
26. Lapthanasupkul P, Klongnoi B, Mutirangura A, Kitkumthorn N. Investigation of pten promoter methylation in ameloblastoma. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 Feb 2];25(4):e481–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32142503/>
27. Taschieri S, Corbella S, Weinstein R, Di Giancamillo A, Mortellaro C, Del Fabbro M. Maxillary sinus floor elevation using platelet-rich plasma combined with either biphasic calcium phosphate or deproteinized bovine bone. *J Craniofac Surg* [Internet]. 2016 [cited 2022 Feb 2];27(3):702–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27046471/>
28. Khouly I, Pardiñas López S, Aliaga I, Froum SJ. Long-Term Implant Survival after 100 Maxillary Sinus Augmentations Using Plasma Rich in Growth Factors. *Implant Dent* [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2022 Feb 2];26(2):199–208. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28207599/>
29. Mozzati M, Gallesio G, Gassino G, Palomba A, Bergamasco L. Can plasma rich in growth factors improve healing in patients who underwent radiotherapy for head and neck cancer? A split-mouth study. *J Craniofac Surg* [Internet]. 2014 [cited 2022 Feb 2];25(3):938–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24785750/>
30. Mozzati M, Arata V, Gallesio G, Carossa S. A dental extraction protocol with plasma rich in growth factors (PRGF) in patients on intravenous bisphosphonate therapy: A case-control study [Internet]. Vol. 78, *Joint Bone Spine*. *Joint Bone Spine*; 2011 [cited 2022 Feb 2]. p. 648–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21703903/>

31. Anitua E, Fernández-de-Retana S, Alkhraisat MH. Platelet rich plasma in oral and maxillofacial surgery from the perspective of composition. *Platelets* [Internet]. 2021 [cited 2022 Feb 2];32(2):174–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33350883/>
32. Topkara A, Özkan A, Özcan RH, Öksüz M, Akbulut M. Effect of Concentrated Growth Factor on Survival of Diced Cartilage Graft. *Aesthetic Surg J* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2022 Apr 23];36(10):1176–87. Available from: <https://academic.oup.com/asj/article/36/10/1176/2664521>
33. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech*. 2011 Aug;74(8):772–7.
34. Sohn DS, Heo JU, Kwak DH, Kim DE, Kim JM, Moon JW, et al. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant Dent* [Internet]. 2011 Oct [cited 2022 Feb 4];20(5):389–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21881519/>
35. Honda H, Tamai N, Naka N, Yoshikawa H, Myoui A. Bone tissue engineering with bone marrow-derived stromal cells integrated with concentrated growth factor in *Rattus norvegicus* calvaria defect model. *J Artif Organs* [Internet]. 2013 Sep 1 [cited 2022 Feb 4];16(3):305–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23700004/>
36. Kim TH, Kim SH, Sádor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Arch Oral Biol*. 2014;59(5):550–8.
37. Dong-Seok Sohn BH, Jin Kim, W. Eric Park CCP. Utilization of Autologous Concentrated Growth Factors (CGF) Enriched Bone Graft Matrix (Sticky Bone) and CGF-Enriched Fibrin Membrane in Implant Dentistry. *J Implant Adv Clin Dent* [Internet]. 2015;7(10):17–29. Available from: http://jiacd.com/wp-content/files_mf/1451940224JIACDDec15.pdf
38. Zhao QM, Gao J, Huang X xiang, Chen X ping, Wang X. Concentrated Growth

- Factors Extracted from Blood Plasma Used to Repair Nasal Septal Mucosal Defect After Rhinoplasty. *Aesthetic Plast Surg* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 Jun 18];44(2):511–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31485763/>
39. Talaat WM, Ghoneim MM, Salah O, Adly OA. Autologous Bone Marrow Concentrates and Concentrated Growth Factors Accelerate Bone Regeneration After Enucleation of Mandibular Pathologic Lesions. *J Craniofac Surg* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2022 Jun 18];29(4):992–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29481504/>
 40. Zhao F, Hao L, Jin X. Clinical observation and evaluation of CGF in the treatment of androgenic alopecia. *J Cosmet Dermatol* [Internet]. 2022 Jun 4 [cited 2022 Jun 18]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35608516/>
 41. Hu Y, Jiang Y, Wang M, Tian W, Wang H. Concentrated Growth Factor Enhanced Fat Graft Survival: A Comparative Study. *Dermatol Surg* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2022 Jun 18];44(7):976–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29894435/>
 42. Sun W, Li T, Yao H, Kang L, Dong F. Effects of concentrated growth factor and nanofat on aging skin of nude mice induced by D-galactose. *Physiol Res* [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 18];70(3):425–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33982585/>
 43. Taş S. Ultra Diced Cartilage Graft in Rhinoplasty: A Fine Tool. *Plast Reconstr Surg*. 2021;147(4):600E-606E.
 44. Cakmak O, Bircan S, Buyuklu F, Tuncer I, Dal T, Ozluoglu LN. Viability of crushed and diced cartilage grafts. A study in rabbits. *Arch Facial Plast Surg* [Internet]. 2005 Jan [cited 2022 Apr 20];7(1):21–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15655170/>
 45. Göral A, Aslan C, Bolat Küçükzeybek B, Işık D, Hoşnüter M, Durgun M. Platelet-Rich Fibrin Improves the Viability of Diced Cartilage Grafts in a Rabbit Model. *Aesthetic Surg J* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2022 Apr 23];36(4):NP153–62. Available from:

<https://academic.oup.com/asj/article/36/4/NP153/2613918>

46. McKinney P, Loomis MG, Wiedrich TA. Reconstruction of the nasal cap with a thin septal graft. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1993 [cited 2022 Apr 23];92(2):346–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8337288/>
47. Reich J. The application of dermis grafts in deformities of the nose. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1983 [cited 2022 Apr 23];71(6):772–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6344113/>
48. Baker TM, Courtiss EH. Temporalis fascia grafts in open secondary rhinoplasty. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1994 [cited 2022 Apr 23];93(4):802–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8134439/>
49. Kamer FM, Parkes ML. Gelatin film. A useful adjunct in rhinoplastic surgery. *Arch Otolaryngol* [Internet]. 1977 Nov 1 [cited 2022 Apr 23];103(11):667–70. Available from: <https://europepmc.org/article/med/411467>
50. Porter JP. Grafts in rhinoplasty: Alloplastic vs autogenous. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg* [Internet]. 2000 [cited 2022 Apr 23];126(4):558–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10772319/>
51. Young F. Autogenous cartilage grafts. *Surgery*. 1941;10:7.
52. PEER LA. Diced Cartilage Grafts: New Method for Repair of Skull Defects, Mastoid Fistula and Other Deformities. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg* [Internet]. 1943 Aug 1 [cited 2022 Apr 23];38(2):156–65. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamaotolaryngology/fullarticle/573865>
53. Firat C, Gurlek A, Aydn NE. Viability of cartilage grafts in various forms. *J Craniofac Surg*. 2011 Sep;22(5):1666–70.
54. Fatemi MJ, Hasani ME, Rahimian S, Bateni H, Pedram M, Mousavi SJ. Survival of block and fascial-wrapped diced cartilage grafts: An experimental study in rabbits. *Ann Plast Surg*. 2012 Sep;69(3):326–30.
55. Erol ÖO. The Turkish delight: A pliable graft for rhinoplasty. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2000 [cited 2021 Apr 4];105(6):2229–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10839424/>

56. Elahi MM, Jackson IT, Moreira-Gonzalez A, Yamini D. Nasal augmentation with Surgicel-wrapped diced cartilage: A review of 67 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg*. 2003 Mar;111(3):1309–18.
57. Yilmaz S, Erçöçen AR, Can Z, Yenidünya S, Edali N, Yormuk E. Viability of diced, crushed cartilage grafts and the effects of Surgicel (Oxidized regenerated cellulose) on cartilage grafts. *Plast Reconstr Surg [Internet]*. 2001 Nov 1 [cited 2022 Apr 23];108(4):1054–60. Available from: <https://academic.oup.com/asj/article/36/10/1176/2664521>
58. Daniel RK. Diced cartilage grafts in rhinoplasty surgery: Current techniques and applications. *Plast Reconstr Surg*. 2008;122(6):1883–91.
59. Daniel RK, Calvert JW. Diced cartilage grafts in rhinoplasty surgery. *Plast Reconstr Surg [Internet]*. 2004 Jun [cited 2021 Apr 5];113(7):2156–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15253210/>
60. Brenner KA, McConnell MP, Evans GRD, Calvert JW. Survival of diced cartilage grafts: An experimental study. *Plast Reconstr Surg [Internet]*. 2006 Jan [cited 2021 Apr 5];117(1):105–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16404256/>
61. Keyhan SO, Ramezanzade S, Bohluli B, Fallahi HR, Shakiba M, Yates J. A Systematic Review and Meta-Analysis of Complications Associated with Autogenous Diced Cartilage Wrapped in Fascia Used in Nasal Dorsum Augmentation. *Aesthetic Surg J*. 2021 Sep 1;41(9):NP1152–65.
62. Kemaloğlu CA, Tekin Y. A Comparison of Diced Cartilage Grafts Wrapped in Perichondrium Versus Fascia. *Aesthetic Plast Surg*. 2014 Dec 1;38(6):1164–8.
63. Jang YJ, Song HM, Yoon YJ, Sykes JM. Combined use of crushed cartilage and processed fascia lata for dorsal augmentation in rhinoplasty for asians. *Laryngoscope*. 2009 Jun;119(6):1088–92.
64. Gordon CR, Alghoul M, Goldberg JS, Habal MB, Papay F. Diced cartilage grafts wrapped in alloderm for dorsal nasal augmentation. *J Craniofac Surg [Internet]*. 2011 Jul [cited 2021 Apr 5];22(4):1196–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21772214/>

65. Kim HK, Chu LS, Kim JW, Park B, Kim MK, Bae TH, et al. The viability of diced cartilage grafts wrapped in autogenous fascia and AlloDerm® in a rabbit model. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg* [Internet]. 2011 [cited 2022 Apr 23];64(8):e193-200. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjps.2011.02.003>
66. Kazikdas KC, Ergur B, Tugyan K, Guneli E, Kaya D, Sahan M. Viability of crushed and diced cartilage grafts wrapped in oxidized regenerated cellulose and esterified hyaluronic acid: An experimental study. *Laryngoscope* [Internet]. 2007 Oct [cited 2021 Apr 5];117(10):1728–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17690607/>
67. Atespare A, Kara H, Ilter E, Boyaci Z, Çelik O, Midi A. Utility of cartilage grafts wrapped with amniotic membrane in dorsal nasal augmentation. *J Craniofac Surg*. 2016;27(4):938–42.
68. Bullocks JM, Echo A, Guerra G, Stal S, Yuksel E. A novel autologous scaffold for diced-cartilage grafts in dorsal augmentation rhinoplasty. *Aesthetic Plast Surg* [Internet]. 2011 Aug [cited 2021 Apr 5];35(4):569–79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21487909/>
69. Tasman AJ, Diener PA, Litschel R. The diced cartilage glue graft for nasal augmentation morphometric evidence of longevity. *JAMA Facial Plast Surg*. 2013 Mar;15(2):86–94.
70. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3).
71. Manafi AA, Kaviani Far K, Moradi M, Manafi AA, Manafi F. Effects of platelet-rich plasma on cartilage grafts in rabbits as an animal model. *World J Plast Surg* [Internet]. 2012 Jul [cited 2022 Apr 23];1(2):91–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25734050><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4345432>
72. Dong W, Han R, Fan F. Diced Cartilage Techniques in Rhinoplasty. *Aesthetic Plast Surg* [Internet]. 2021 Nov 3 [cited 2022 Apr 25];1–9. Available from:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00266-021-02628-2>

73. Güler I, Billur D, Aydın S, Kocatürk S. Efficacy of platelet-rich fibrin matrix on viability of diced cartilage grafts in a rabbit model. *Laryngoscope* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2021 Apr 5];125(3):E104–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25511111/>
74. Gode S, Ozturk A, Berber V, Klismall E. Effect of Injectable Platelet-Rich Fibrin on Diced Cartilage's Viability in Rhinoplasty. *Facial Plast Surg.* 2019;35(4):393–6.
75. Richmon JD, Sage AB, Shelton E, Schumacher BL, Sah RL, Watson D. Effect of growth factors on cell proliferation, matrix deposition, and morphology of human nasal septal chondrocytes cultured in monolayer. *Laryngoscope.* 2005;115(9):1553–60.