



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE
ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA YAĞ GREFTİ SAĞKALIMINA SİGARA
DUMANININ ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. ALP ERCAN

Tez Danışmanı:

PROF. DR. OĞUZ ÇETİNKALE

İSTANBUL - 2017

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerinin yanı sıra tecrübelerinden büyük kazançlar sağladığım ve yetişmemde sonsuz emekleri olan değerli hocalarım Sn. Prof. Dr. Oğuz ÇETİNKALE, Sn. Prof. Dr. Yağmur AYDIN, Sn. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN, Sn. Doç. Dr. Hakan ARSLAN, Uzm. Dr. Semih Bağhaki ve Uzm. Dr. Anıl Demiröze'ye sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Asistanlığımın ilk gününden itibaren benden destek, birikim ve hoşgörülerini esirgemeyen sayın tez hocam, tez danışmanım Prof Dr. Oğuz Çetinkale'ye, tez çalışması için yaptıkları katkılardan dolayı Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Övgü Aydın'a, Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Dildar Konukoğlu'na, tezimin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Dr. Mehmet Fatih OKYAY'a, Dr. Royal KHANKİSHİYEV'e, Dr. Tuğba Feryal YILDIZ'a, Dr. Hasan KÖMÜRCÜ'ye, Dr. Şamil SÜLEYMANOV'a, Dr. Beşir Öner'e, Dr. Başak Dağhan'a, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarı çalışanlarına sonsuz teşekkür ederim. Eğitim sürem boyunca kader birliği yaptığım asistan arkadaşlarıma, Plastik Cerrahi Kliniği hemşire ve personeline, Yanık Ünitesi hemşire ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Doğduğum günden bu yana dek desteklerini benden esirgemeyen, annem Sn. Fahriye Ercan ve babam Sn. Atilla Ercan'a ve tezimin hazırlanışı esnasında büyük özveri gösteren bu süreçte bana destek olan eşim Sn. Dr. Damla Ercan'a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu çalışma İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ tarafından desteklenmiştir.

Proje no: 23214

Dr. Alp ERCAN

İstanbul 2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO DİZİNİ.....	vi
FOTOĞRAF VE ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
GRAFİK DİZİNİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Yağ Dokusu.....	3
2.1.1.Yağ Dokusunun Görevleri	4
2.1.2.Yağ Dokusundaki Hücreler	5
2.2.Yumuşak Doku Defektleri ve Rekonstrüksiyonu	7
2.2.1.Dolgu Materyalleri	7
2.3. Otolog Yağ Dokusu Grefti Uygulamaları	11
2.3.1. Vücutta Yağ Dokusu Tipleri	11
2.3.2.Yağ Dokusu Greftlemesinde Tarihsel Gelişim.....	11
2.3.3 Yağ Dokusu Greftlemesi Cerrahisi	13
2.3.3.1.Verici Alan.....	14
2.3.3.2 Verici Alan Anestezisi	14
2.3.3.3 Yağ Alınması	14
2.3.3.4. Yağ Dokusu Greftinin Hazırlanması	15
2.3.3.5. Yağ Dokusu Grefti Enjeksiyonu.....	15
2.3.3.6. Alıcı Saha.....	15
2.3.3.7. Yağ Dokusu Greftlerinin Dondurularak Saklanması.....	16
2.3.3.8. Yağ Doku Grefti Uygulamalarının Komplikasyonları	16
2.4. Yağ Doku Greftlerin Sağkalım Modeli Teorileri.....	17
2.4.1 Adiposit Sağkalım Teorisi.....	17
2.4.2. Greft Dönüşümü Teorisi.....	19
2.4.1.3 Bölge Teoremi	20
2.5 Sigara ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri.....	25

2.6 Plastik Cerrahide Sigaranın Yeri.....	28
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1 BİRİNCİ AŞAMA	32
3.1.1 Sigara Maruziyet Sistemi Tasarımı	32
3.1.2 Sigara bağımlılığı oluşturulması.....	32
3.2 İKİNCİ AŞAMA	33
3.3 ÜÇÜNCÜ AŞAMA	38
3.4 DÖRDÜNCÜ AŞAMA.....	38
3.5 BULGULARIN DEĞERLENDİRİLME YÖNTEMLERİ	41
3.5.1 Denek Hayvanları ile İlgili Gözlemler	41
3.5.2 Ağırlık Analizi.....	42
3.5.3. Biyokimyasal İncelemeler	42
3.5.3.1 Kotinin Analizi	42
3.5.3.2 MDA Analizi	43
3.5.4 Histopatolojik Değerlendirme	43
3.5.4.1 Hematoksilen Eozin Boyama Prosedürü	43
3.5.4.2 İmmünohistokimya Boyama Prosedürü.....	44
4. BULGULAR.....	45
4.1 AĞIRLIK ANALİZİ	45
4.2 BİYOKİMYA ANALİZLERİ.....	46
4.2.1 Kotinin Düzeyleri ile Sigara Maruziyet Modelinin ve Gruplar Arası Maruziyet Farklarının Değerlendirilmesi	48
4.2.1.1 Serum Kotinin Düzeyleri Değerlendirilmesi (Grafik 4)	48
4.2.1.2 Doku Kotinin Düzeyleri Değerlendirilmesi (Grafik 5).....	49
4.2.2 MDA Seviyelerinin ve Buna Bağlı Oksidatif Stres Seviyelerinin Değerlendirilmesi; Gruplar Arasındaki Farkların Karşılaştırılması	49
4.2.2.1 Serum MDA Düzeyleri Değerlendirilmesi (Grafik 6).....	49
4.2.2.2 Doku MDA Düzeylerinin Değerlendirilmesi (Grafik 7)	50
4.3 SERUM KOTİNİN DÜZEYLERİ İLE GREFT AĞIRLIK KAYBI ARASINDAKİ İLİŞKİ	52
4.4 OKSİDATİF STRES DÜZEYLERİNİN GREFT KAYBIYLA İLİŞKİSİ	53
4.5 PATOLOJİK ANALİZLER.....	54
4.5.1 dipoz Doku/Fibrozis Oranı	54

4.5.2 Perilipin Boyalı Hücre Oranları.....	55
4.5.3 İnflamasyon ve Granülasyon Yoğunluğu.....	57
5. MİKROSKOPİK GÖRÜNTÜLERDEN ÖRNEKLER	58
6.TARTIŞMA	61
7. SONUÇ.....	71
8. KAYNAKLAR	72



TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Greft Ağırlıkları.....	45
Tablo 2: Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	46
Tablo 3: Kontrol Grubu-Bırakan Grubu Karşılaştırılması.....	46
Tablo 4: Kontrol Grubu-Devam Grubu Karşılaştırılması.....	47
Tablo 5: Bırakan Grubu-Devam Grubu Karşılaştırılması.....	47
Tablo 6 Korelasyon Analizi.....	51



FOTOĞRAF VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Yağ dokusunun yapısı	3
Şekil 2: Yağ Dokusunun kan akımının düzenlenmesi ve çevre dokularla iletişimi	4
Şekil 3: Yağ doku histolojik yapısı.....	6
Şekil 4: Yağ Doku Gelişimi ve Farklılaşması	6
Şekil 5: Yağ Dokusu Greftlemesinin Tarihsel Gelişimi	12
Şekil 6: Adiposit Sağkalım Teorisi	18
Şekil 7: Greft Dönüşümü Teorisi.....	19
Şekil 8: Çoğalan Kök Hücrelerin Biolimunesans Tekniği ile İnceleme Kesiti	21
Şekil 9: Yağ Dokusu Greftlerindeki Hücrelerin Yaşam Döngüsü.....	22
Şekil 10: 3 bölge Teorisi.....	23
Şekil 11: 6 hafta sonunda histolojik olarak ayrılabilen 3 bölge.....	24
Şekil 12 : 3 Bölge Teorisi	24
Şekil 13: Deney Düzenegi Şema	32
Şekil 14:Deney Düzenegi	33
Şekil 15: Cerrahiye Hazırlanmış Sıçan.....	34
Şekil 16: Sıçan Kasık Yağ Yastıkçığı.....	34
Şekil 17: Çıkarılmış Yağ Yastıkçığı	35
Şekil 18: Femoral Pedikül.....	35
Şekil 19: Kıyılmış Transfere Hazır Yağ Dokusu Grefti	36
Şekil 20: Kasık yağ yastıkçığına giden damar paketi	36
Şekil 21: Sıçan Sırt Bölgesi, Alıcı Alan	37
Şekil 22: Alıcı Saha (greft yerleştirilmeden önce).....	37
Şekil 23: Alıcı Saha (greft yerleştirilmiş halde)	38
Şekil 24: Mature Olmuş Yağ Dokusu Grefti, Kontrol Grubu.....	39
Şekil 25: Mature Olmuş Yağ Dokusu Grefti, Sigarayı Bırakan Grubu	40
Şekil 26: Rezorbe Olmuş Yağ Dokusu Grefti, Sigaraya Devam Eden Grubu	40
Şekil 27: İnceleme için Çıkartılmış Yağ Dokusu Grefti Örneği.....	41
Şekil 28: Adipoz doku	55
Şekil 29: İnflamasyon ve granülasyon yoğunluğu.....	57
Şekil 30: Greft içinde yeniden damarlanma alanları	58
Şekil 31: Adiposit öncülü hücrelerden zengin saha.....	58

Şekil 32: Adipoz dokuyu çevreleyen yoğun inflamasyon ve fibrozis alanları	59
Şekil 33: Cilt altındaki bütünlüğünü korumuş yağ doku grefti sahası.....	59
Şekil 34: Perilipin boyalı adipositlerin çevresinde yaygın fibrozis alanları	60
Şekil 35: Kotinin değerleri için yönerge	67
Şekil 36: Nikotin ve Metabolitlerinin Seruma Göre Değişik Dokulara Geçiş Oranları .	67
Şekil 37: Yüzdesel Olarak zamanla değişen yağ grefti ağırlık tablosu	69



GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1: Tüm Denekler Nihai Greft Ağırlık Miktarları.....	45
Grafik 2: Gruplar Arasında Greft Ağırlık Miktarı Farkları	46
Grafik 3: Gruplar Arası Kotinin Düzeyi Farklılıkları.....	48
Grafik 4: Gruplar Arası Serum Kotinin Düzeyleri Farklılıkları	48
Grafik 5: Gruplar Arası Doku Kotinin Düzeyi Farklılıkları	49
Grafik 6: Gruplar Arası Serum MDA Düzeyleri Farklılıkları	50
Grafik 7: Gruplar Arası Doku MDA Düzeyleri Farklılıkları	50
Grafik 8: Serum Kotinin Düzeyleri ile Greft Ağırlık Kaybı İlişkisi.....	52
Grafik 9: Doku MDA Düzeyleri ile Greft Ağırlık Kaybı İlişkisi	53
Grafik 10: Doku Oranları Grafiği	54
Grafik 11: Perilipin boyalı hücrelerin diğer yapılara oranı.....	55

ÖZET

SIÇANLARDA YAĞ GREFT SAĞKALIMINA SİGARA DUMANININ ETKİSİNİN DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Giriş ve Amaç: Yağ doku grefti ideale en yakın yumuşak doku dolgusudur. Yapay materyallere göre pek çok avantaja sahip olmasına rağmen; yağ dokusu greftinin geç dönem kalıcılığının ön görülememesi plastik cerrahinin en çok uğraştığı problemlerdendir. Birbirinden çok farklı tekniklerle benzer başarı oranlarının yakalanan yağ dokusu greftlemesinde, sağ kalıma olumlu yönde etkileyen faktörler yoğun olarak araştırılmasına karşın sağkalımı etkileyen olumsuz faktörler üzerine yeterli sayıda objektif çalışma yoktur. Yara iyileşmesine benzer mekanizmalarla canlılığını sürdüren yağ doku greftinin yara iyileşmesini bozan faktörlerden etkilenmesi beklenir. Sigara tüm dünyadaki en yaygın alışkanlıklardan olup aynı zamanda yara iyileşmesini bozan en önemli nedenlerdendir. Literatüre baktığımızda sigaranın yağ doku grefti sağkalımı üzerine etkisini gösteren deneysel bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı pasif maruziyet sistemi kullanarak sigara dumanının yağ doku grefti sağkalımı üzerine etkisinin olup olmadığını ve eğer varsa ne yönde olduğunu ortaya koymaktır.

Materyal ve Metot: Çalışmada 22 adet Sprague-Dawley cinsi, ağırlıkları 220-240 gr arası olan sıçan kullanıldı. Deneklere Braga-Gazelle'nin tariflediği pasif sigara maruziyet sistemi uygulandı. Sigaranın kronik etkilerinin ortaya çıkması için 4-5 hafta geçmesi gerektiğinden, maruziyet gruplarına yağ grefti transferi öncesi 6 hafta sigara dumanı tatbik edildi. Denekler maruziyet zamanına göre 3 gruba ayrıldı. Yağ dokusu grefti transferi öncesi 6 hafta ve transfer sonrası 6 hafta sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlar sigara devam grubu; transfer öncesi 6 hafta sigara dumanına maruz bırakılan ve transferden sonra maruziyeti kesilen sıçanlar sigara bırakan grubu; sigara dumanına maruz bırakılmayan sıçanlar ise kontrol grubu olarak adlandırıldı. Yağ dokusu transferi modeli olarak kasık yağ yastıkçığı çıkartılarak deneklerin sırtlarına transfer edildi, çıkartılan greftlerin ağırlıkları transfer öncesinde ölçüldü, tüm greftlerinin ağırlıkları aynı olacak şekilde transfer gerçekleştirildi. Yağ dokusu grefti maturasyonu için literatürde tariflenen şekilde 6 hafta beklenildi. Çalışmanın bitiminde çıkartılan greftlerin ağırlıkları kaydedildi, abdominal aortadan alınan arter kan gazı örneklemeğinde serum MDA ve serum kotinin değerleri, çıkartılan greft dokusunda doku MDA ve kotinin değerleri ölçüldü. MDA ölçümleri oksidasyon stresini ortaya koymak için, bir nikotin metaboliti

olan kotinin ölçümü ise maruziyet oranlarını karşılaştırabilmek amacıyla yapıldı. Çıkarılan greftler patolojik incelemeler için patolojiye teslim edildi. Patolojik incelemede adipoz dokunun çıkarılan doku parçasındaki oranı, perilipin boyalı matür adiposit oranları, kök hücre oranları, inflamasyon miktarı, granülasyon miktarı ve yeniden damarlanma miktarları değerlendirildi.

Bulgular: Çalışma verileri değerlendirilirken gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U, korelasyon analizlerinde Spearman's Rho testi kullanıldı. Klinik gözlem olarak sigara maruziyeti arttıkça greftlerinin nihai boyutlarının azaldığı izlendi. Kontrol grubu ile sigara devam ve sigara bırakan grupları arasında greft ağırlık değişimleri, serum kotinin oranları, doku MDA oranları, adipoz dokuların doku bloklarına oranları, kök hücre oranları, neovaskülerizasyon oranları, perilipin boyalı matür hücre oranları, inflamasyon ve granülasyon oranları açısından istatistiksel anlamlı farklar izlendi. Aynı zamanda doku kotinin, serum MDA ve greft ağırlık kaybı oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlara rastlandı.

Sonuç: Yara iyileşmesine benzer mekanizmalarla tutan yağ doku greftinin sağkalımında sigara dumanı maruziyetinin anlamlı ve olumsuz etkisi bulunmaktadır. Bunun mekanizmasında nikotinin yara iyileşme sürecini bozan ve uzatan etkileri olduğu düşünülmektedir. Sigara maruziyeti arttıkça, greft sahalarında granülasyon ve inflamasyon alanlarının artması, yani yara iyileşme sürecinde daha ileri safhalara geçemeyen alanların daha yaygın görülmesi bunu desteklemektedir. Nikotin metaboliti olan serum kotinin oranlarıyla doku MDA ve greft ağırlık kaybı arasında anlamlı korelasyon olması, serum kotinin ölçümünün oksidasyon stresi ve greft ağırlık kaybını öngörmede kullanılabileceğini düşündürmüştür. Sigara dumanı maruziyetiyle kök hücre kaybı oranlarının da ciddi şekilde artması, iskemiye dirençli olduğu düşünülen bu hücre tipinin üzerindeki hasarda iskemi dışında mekanizmaların da etkili olabileceğini akla getirmiştir. En sık yumuşak dolgu materyali olarak kullanılan ve elektif bir cerrahi olan yağ doku greftlemesinde başarı oranlarımızı arttırmak için hastalarımızın sigara maruziyetinin en az miktarda olması gerektiğini, aksi halde yağ greftlemesinin bu hasta grubunda güvenilirliğinin düşük olacağını düşünüyoruz.

ABSTRACT

Introduction: Fat graft is probably the closest thing to being the ideal soft tissue filler. Although it has many advantages over artificial soft tissue fillers, reliability of late term survival is one of the most debated topics in plastic surgery. Because there has been a wide variety of different techniques that can produce the same results, maybe it is time to lean on the negative factors that affect the success of graft take. The fat graft takes with the same principles as the wound healing, so one can expect it can be affected by the same factors that manipulate the wound healing. Smoking is one of those factors and there is no study in the literature that searches if smoking has a meaningful effect on fat graft survival. The aim of our study is to search if smoking has an effect on fat graft survival using a passive cigarette smoke exposure system .

Material and Methods: We used 22 Sprague-Dawley type rats weighing between 220-240 grs. Passive smoke exposure system had been used and rats were divided into three groups regarding their exposure period. The rats that were exposed to cigarette smoke both before and after fat graft transfer had been called continuous exposure group; the rats exposed to cigarette smoke before fat graft transfer but not after fat graft transfer had been called cigarette cessation group and rats not exposed to cigarette smoke at all had been called control group. We used inguinal fat pads as fat grafts and placed them under the dorsum. At the end of the study transplanted fat grafts were extracted and weighed with a precision scale, arterial blood sample had been taken and used to measure serum MDA and cotinine, we also measured tissue cotinine and MDA within the graft as well. The extracted grafts were sent to pathology for immunohistochemical assessment. Adipose tissue/fibrosis ratio, perilipin positive cell count, neovascularisation and inflammation density had been measured.

Results: We used Mann-Whitney U test to compare different groups and Spearman's Rho test for correlation analysis. There were statistically meaningful differences between control group and other two groups in graft weight loss, serum cotinine, tissue MDA, adipose tissue/fibrosis ratio, stem cell counts, perilipin positive cell density, inflammation density. Furthermore we detected meaningful correlations between serum cotinine, tissue MDA and graft weight loss.

Conclusion: Fat graft takes with the same mechanisms as a wound heals and exposure to cigarette smoke has a negative affect on fat graft survival. Nicotine might be to blame with its deteriorating effects on wound healing phases. Fat graft is being used extensively for soft tissue filling and by its nature is an elective procedure so in order to improve our late term success ratios cigarette smoke exposure should be kept to a minimum.



1.GİRİŞ

Travma, konjenital deformiteler, tümör cerrahisi ya da yaşlanma sonucu oluşan yumuşak doku hacmindeki eksikler ve kayıplar kişinin yaşam kalitesini bozan önemli sağlık problemleridir. Bu defektlerin rekonstrüksiyonu plastik cerrahların sık uğraştığı problemlerden olup, branşımızın gelişimi ile paralel üzerinde en çok emek harcanan sahalardan biridir. Rekonstrüktif cerrahinin temel prensibi; eksik olan dokunun benzer özellikler taşıyan dokularla yerine konulmasıdır. Yumuşak dokudaki hacim defektlerini onarmaya yönelik sentetik materyallerin kullanımı pek çok belirgin dezavantaja sahiptir (1). Otolog doku yerine kullanılan sentetik materyallerle elde edilen sonuçlar sıklıkla kalıcı değildir ve kullanılan materyallerin çoğu; fibröz kapsül kontraksiyonu, alerjik reaksiyonlar, belirsiz sonuçlar, distorsiyon, yer değiştirme ve uzun dönemde rezorbsiyon gibi sınırlamalara sahiptir (2).

Otolog yağ doku transferi, ideal yumuşak doku dolgu özelliklerinin çoğunu karşılamaktadır; doku uyumu mevcuttur, teratojenik ve karsinojenik olmayan ucuz, kolay ve tekrar edilebilir bir uygulamadır (3). Bu nedenlerle yağ doku grefti uygulamaları, hem estetik hem rekonstrüksiyon amacıyla sıkça yapılan ameliyatlarda yerlerini almıştır(1).

Yaşlanan cildin formunu geriye döndürmek, ciltteki nedbe dokusunu yumuşatmak ve bunun getirdiği cilt kalitesinde artış, bir kontur defektini gidermek, yüz-meme-kalça gibi bölgelerde estetik amaçlı projeksiyon artışı, radyoterapi görmüş ciltlerde görülen sertleşmeyi gidermek, bir bölgedeki doku azlığını gidermek yağ doku greftinin kullanım alanlarından sadece birkaçıdır(1). Yağ doku greftinin resorbsiyonuna bağlı greft hacim kayıpları bu işlemin en önemli problemini teşkil etmektedir(2). Yağ doku greft uygulamalarında güvenilir, tekrar edilebilir sonuçların elde edilebilmesi için gerekli koşullar üzerine çalışmalar yapılmış ve yağ doku greftinin sağkalım oranları plastik cerrahinin önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir(3-5). Yapılan teknik modifikasyonların temel amacı adipositlerin narin yapısını korunmak, yağ hücrelerine güvenilir kan desteği sağlanması ve bu sayede yağ doku greftlerinin daha güvenilir bir teknik olarak cephanemizde yerini almasıdır.

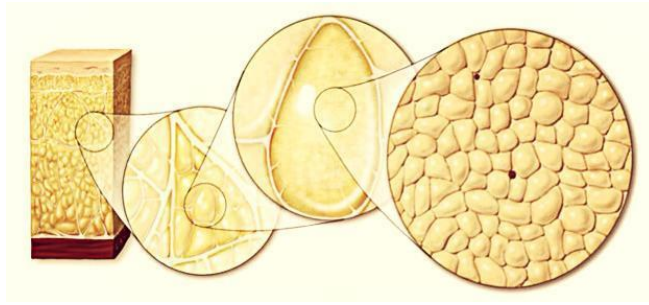
Günümüzde yağ doku transferi çalışmaları hücresele düzeye odaklanmaya başlamış, pek çok çalışma sağ kalıma etkisi olan mikro etkenleri ortaya koymaya çalışmaktadır. Sigara ve içeriğindeki maddeler bağımlılık yapıcı nitelikleri nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olması yanı sıra klinik pratiğimizde de sık sık karşımıza çıkan hasta kaynaklı ve engellenebilir önemli bir problemdir. Tütün ürünlerinin yara iyileşmesindeki olumsuz etkileri bilinmektedir ve çeşitli modellerde ortaya konmuştur(6,7). Yağ doku grefti sağ kalımı üzerine, sigaranın negatif etkisinin olup olmadığını gösteren deneysel bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim deneysel çalışmamızın amacı sigara dumanının ve en önemli metaboliti olan nikotinin yağ grefti sağkalımı üzerine etkisi araştırmak ve eğer varsa ne ölçüde olduğunu ortaya koymaktır

Çalışmamızda; sıçan modelinde, sigara bağımlılığının perioperatif dönemde yağ doku grefti sağ kalımına etkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda hem girişim öncesi hem de girişim sonrası dönemde sigara dumanına maruz bırakılan, girişim öncesi dönemde sigara dumanına maruz bırakılıp girişim sonrası dönemde maruziyeti sonlandırılan ve sigara dumanına maruz bırakılmayan sıçan denekleri üzerinden sigara kullanımının yağ doku grefti sağ kalımına ne ölçüde etki ettiğini ortaya koymak araştırmamızın temelini oluşturmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Yağ Dokusu

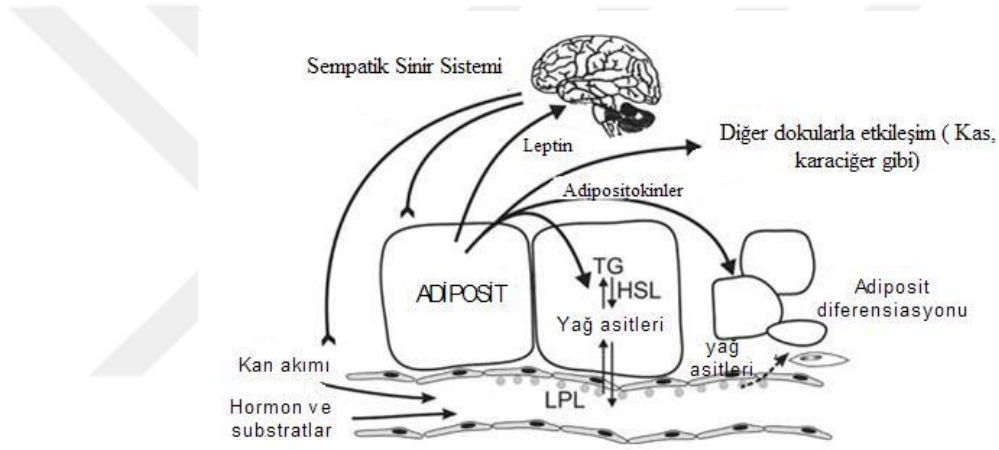
Yağ dokusu; vücudun her bölgesinde bulunması ve eşsiz gelişim kapasitesiyle, insan anatomi ve fizyolojisinde çok önemli bir role sahiptir (8). Geçmişte yağ dokusu önemsiz, cansız, kansız ve izole bir doku olarak ele alınsa da, günümüzde yağ dokusunun iyi vaskülerize, yüksek metabolik aktivitesi olan bir doku olduğu bilinmektedir (9). Yağ dokusu; diğer organları destekleyip izole etmenin yanında, tanımlanmış diğer fonksiyonları ile artık ayrı bir organ olarak ele alınmaktadır. Yağ hücreleri pasif hücreler olmayıp, günlük enerji alımına bağlı olarak sürekli hacim değişikliği göstermekte, çeşitli sitokinleri ve hormonları sentezlemektedir. Yağ dokusu; içerdiği sabit hücre sayısına rağmen içerisindeki depo yağ miktarına göre yaşam boyu sürekli hacim değişikliği gösteren bir dokudur. Yağ dokusu; ince membranlı, lipid dolu yağ hücrelerinden oluşur ve fibröz ağ ile kuşatılmıştır. Hücrelerin boyutu 10-200 mikrometre arasında değişmektedir (10). Destekleyici liflerin yokluğunda hücreler kollaps eğilimindedir. Adipositlerin etrafı fibroblast, immün sistem hücreleri, kollajen lifler ve kan damarlarından oluşan stromal vasküler hücrelerle çevrilidir (11). Ekstraselüler matriks adipositleri birbirine bağlar, konnektif dokunun ilave destek ağıyla yağ lobullerini oluşturur.



Şekil 1: Yağ dokusunun yapısı(10)

Yağ dokusunun görevlerini yerine getirebilmesi yeterli kan desteği ile mümkündür (8). Yağ dokusu ve yağ hücreleri kan damarları ile yakın ilişki içerisinde ve iyi gelişmiş bir kapiller ağına sahiptir (10). Yağ depolarının artışı ve yeni adipositlerin farklılaşması ile yeni kan damarları ihtiyacı ortaya çıkar (12). Yağ dokusunda

anjioenezisin doku içerisinde üretilen faktörlerle düzenlendiği düşünülmektedir. Leptin bu faktörlerden en önemlisidir (13). Matür adipoz dokunun eşsiz bir anjiogenik potansiyele sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Adipoz doku kan akımı her zaman sabit değildir ve yağ depoları arasında ve farklı metabolik durumlar arasında değişkenlik göstermektedir. Yağ dokusu kan akımı düzenlenmesi oldukça karışıktır ve pek çok mekanizma eş zamanlı etkileşerek kan akımını kontrol etmektedir. Bu çoklu kontrol mekanizması aynı zamanda enerji dengesini de düzenlemektedir (8). Kan akımı düzenlenmesinde sempatik sinir sistemi etkilidir ve adrenerjik etki baskındır (13). Lipid metabolizmasında rol oynayan lokal etkili hormon ve substrat konsantrasyonları da kan akımı düzenlenmesinde etkilidir (8).



Şekil 2: Yağ Dokusunun kan akımının düzenlenmesi ve çevre dokularla iletişimi(10)

2.1.1.Yağ Dokusunun Görevleri (14,16,17)

Yağ dokusunun ana görevleri şöyle sıralanabilir:

- 1) Metabolizma fazlası enerjiyi trigliseritlere çevirerek depolamak,
- 2) İhtiyaç durumunda depo trigliseritleri yağ asitlerine dönüştürerek kana vermek,
- 3) Hormonal ve nöral yollarla metabolik kontrolü sağlamak, iştah düzenlenmesini kontrol etmek,
- 4) Endokrin organ gibi hareket etmek,
- 5) Diğer organları desteklemek,
- 6) İmmünolojik yanıt oluşturulmasında rol oynayan faktörler sentezlemek,

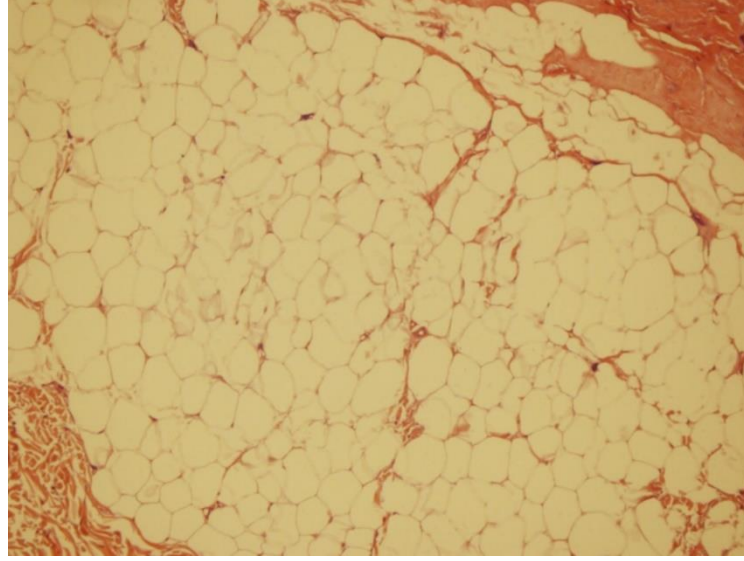
- 7) Vasküler fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan, renin-anjiyotensin sistemi komponentleri gibi proteinleri sentezlemek,
- 8) Yağda çözünen vitaminleri depolamak,
- 9) Isı kaybına karşı koruyucu bir tabaka oluşturmak.

Yağ dokusunun temel görevlerinden birisi enerji depolamaktır. Yağ dokusu insanlarda serbest yağ asitlerinin ana kaynağıdır. Negatif enerji dengesi durumlarında, adipositler trigliserid depolarını kaybeder (13). Yağ hücreleri enerji depolama ve üretme görevlerini yerine getirirken pek çok sistem tarafından kontrol edilmektedir(14).

Yağ dokusu günümüzde, enerji dengesini ve kendi metabolizmasını düzenleyen önemli molekülleri sentezleyip kan akımına verme kapasitesine sahip, endokrin bir organ olarak ele alınmaktadır (9). Adipositler lipoprotein lipaz sentez ve sekresyonunda önemli rol oynamaktadır. Yağ dokusu seks steroid hormonlarının sentez ve aktifleşmesinde önemli görevler üstlenmektedir. Adipositler endokrin bezlerden salgılanan hormonlara yanıt oluşturmanın yanında, diğer hücreler tarafından tanınan ve kullanılan, peptid ve peptid olmayan; adenozin (antilipolitik ve vazodilatatör etkili), anjiyotensin II (vazokonstriktör) ve prostoglandinler gibi, faktörler sentezleme ve salgılama yeteneğindedir (18). İnsanlarda yağ dokusunun %50'si cilt altında, %15'i omentum ve mezenterde, %15-20'si üreme organları çevresinde, %12'si böbreklerde ve %5-8'i kaslar arasında yer almaktadır(10,11).

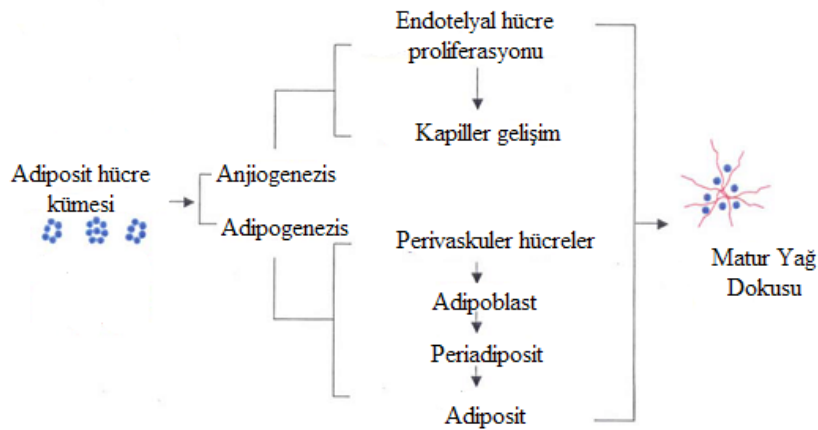
2.1.2.Yağ Dokusundaki Hücreler

Adipositler; yağ dokusundaki toplam hücre sayısının %33-66'sını oluşturmaktadır (15,16). Adipositlerin çevresinde; kan hücreleri, endotelial hücreler, perisitler, çeşitli derecede diferensiyel adipoz öncü hücreler ve fibroblastlar bulunmaktadır (17,18). Yağ hücrelerinde yağ lipid damlacıkları trigliserit olarak depolanır ve bu damlacıklar hücrenin yaklaşık %90'ını oluşturur, geri kalan bölümü ise diğer hücre organelleri oluşturmaktadır (10). Adipositlerin boyutları lipid depolanması veya mobilizasyonuna göre artıp azalabilmektedir (13). Adipoz doku öncü hücreleri; daha önceleri interstisyel hücreler, lipid yüklü olmayan mezenşimal hücreler veya farklılaşmamış mezenşimal hücreler olarak da isimlendirilmiştir (19).



Şekil 3: Yağ doku histolojik yapısı (Kontrol Grubu, Hematoksilen&Eozin x200)

Adipoz doku öncü hücreleri; multipotent kök hücrelerden köken almaktadır. Bu hücreler adiposit, kondrosit, osteoblast ve miyosit gibi mezodermal hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahiptir. Adipoblastlar, adipojenik seriye ait erken evre unipotent hücrelerdir (19). Adipoz hücre diferensiasyonu; adipoblastların preadipoz hücre olan preadipositlere dönüşümü ile başlamakta ve sonrasında immatür adipoz hücre ve matür adipoz hücre şeklinde devam etmektedir. Yağ dokusu hücrelerinin farklılaşma basamakları aşağıda özetlenmiştir(21). (şekil 4).



Şekil 4: Yağ Doku Gelişimi ve Farklılaşması(16)

2.2.Yumuşak Doku Defektleri ve Rekonstrüksiyonu

Yumuşak doku defekti terimi; tümör eksizyonu, konjenital malformasyon, travma, yaşlanma sonucu veya metabolik hastalıklara bağlı oluşan, önemli kısmı subkutanöz yağ doku kaybını içeren, kontur defektleri ile sonuçlanan bir dizi fiziksel eksikliği kapsar (20). Bu defektler kozmetik sorunlara yol açabilir, emosyonel durumu etkiler ve fonksiyonu bozabilir. Bu defektlerin rekonstrüksiyonu plastik cerrahinin temel görevlerinden birisidir. Günümüze kadar bu defektlerin rekonstrüksiyonu için enjekte edilebilir veya implante edilebilir, kalıcı veya resorbe olabilen, olog veya olog olmayan pek çok materyal kullanılmıştır.

2.2.1.Dolgu Materyalleri

Günümüzde yumuşak doku defektlerinin rekonstrüksiyonu hala zordur çünkü bu defektlerin düzeltilmesinde kullanılacak ideal materyal hala bulunamamıştır. Son zamanlarda yumuşak doku defektlerinin rekonstrüksiyonunda daha az invazif metodların kullanımı yaygınlaşmış ve enjekte edilebilir materyaller daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Bir ürün veya bir aracın yumuşak doku defektlerinde genel olarak kullanılabilmesi için bazı kriterleri karşılaması gerekmektedir ;

- 1) Doku uyumluluğu olmalı,
- 2) Kolay bulunabilir olmalı,
- 3) Karsinojenik veya teratojenik olmamalı,
- 4) Ucuz olmalı,
- 5) Uzun etkili olmalı,
- 6) İmplantasyon sonrası yer değiştirmemeli,
- 7) Doğal bir görünüm oluşturulmalı,
- 8) İmmünolojik reaksiyonlara yol açmamalı,
- 9) Alıcı sahaya uygulaması kolay olmalı,
- 10) Yanlış veya gelişigüzel kullanımı önemli morbidite yaratmamalı,
- 11) Tutarlı ve yinelenebilir sonuçlar oluşturmalı.
- 12) İstenilen sonucu minimum istenmeyen yan etki ile oluşturabilmelidir (7, 22, 25-27).

Yumuşak doku defektlerinin düzeltilmesinde pek çok materyal kullanılmıştır. Fakat bu kriterlerin tümünü karşılayan implant bulunmamaktadır. Bu materyallerin çoğunda kalıcı etki oluşturamama, yabancı cisim reaksiyonu, doğal olmayan görünüm gibi sorunlarla karşılaşmaktadır (24). Ek olarak bu ürünlerin çoğu pahalıdır. Yine de pek çoğu vaadedilen özellikleri belli bir oranda yerine getirebilmekte, hastaları memnun etmekte ve kabul edilebilir bir güvenlik profili sunmaktadır (25,26). Amaca yönelik mükemmel materyal araştırmaları sürmektedir. Günümüzde yumuşak defektlerin onarımında lokal/rejyonel ve serbest mikrovasküler flepler, dermal yağ greftleri, yağ greftleri ve farklı alloplastik ve allojenik ürünler kullanılmaktadır (27,28). Otolog dokular çeşitli avantajlara sahiptir ve ideal ürün özelliklerinin çoğunu karşılayabilmektedir. Dermis ve fasya gibi dokular geniş defektlerin düzeltilmesinde uzun süre kullanılmıştır. Fakat bu dokuların elde edilmesinde ilave insizyonlar gerekmekte ve ek skar oluşturulmaktadır. Bu ürünler likid ve yarı likid ürünlerin esnekliğine sahip değildir (13).

Silikon gibi bazı materyaller geçmişte yaygın olarak kullanılmıştır. Silikon pek çok hastada istenilen estetik sonuca ulaşılmasını sağladığından yüksek kullanım potansiyeline sahip olmuş, bununla birlikte uygunsuz ve kötüye kullanımı da artış göstermiştir (26). Likid silikon, defekt alanına gerekenden az miktarda enjekte edilerek gelişecek yumuşak doku reaksiyonu ile ek hacim elde edilmeye çalışılmıştır. İstenilen etkiye ulaşılabilmesi için birden fazla uygulama gerekmektedir (27). Silikon uygulaması öncesi cilt testine gerek olmaması, etkisinin kalıcılığı, ucuz olması ve oda ısısında saklanabilmesi ürünün avantajlarıdır. Gelişen geç komplikasyonlar arasında kronik ödem, lenfadenopati, skar gelişimi, cilt ülserasyonu, ciltte incelme ve renk değişikliği ve silikoma bildirilmiştir (27). Sorunların gelişmesinde temel sebep silikonun çok yüksek miktarlarda uygulanması ve diğer mineral yağlarla karıştırılarak uygulanmasıdır (27). Günümüzde silikon tercih edilen bir ürün değildir.

Geliştirildiğinde yaygın olarak kullanılan fakat klinik kullanımı giderek azalan ürünlerden birisi saflaştırılmış sığır kollajenidir. Zyderm I ve II ve Zyplast (Inamed, Santa Barbara, California) isminde üç ticari formu mevcuttur. Özellikle ince yüz çizgilerinin düzeltilmesinde yararlıdır. Sığır kollajeni enjeksiyon sonrası yabancı cisim olarak algılanmakta ve kollajenaz enzimi tarafından ayrıştırılmaktadır (29). En önemli dezavantajı etki süresinin kısa olmasıdır; 2-3 ay içerisinde tamamen rezorbe olmaktadır (25). Ayrıca sığır kaynaklı kollajen kullanıldığından, allerjik reaksiyon varlığını

değerlendirmek için; kullanımdan bir ay önce iki hafta aralarla iki cilt testi yapılmalıdır. Lokal yan etkileri; eritem, ödem, kaşıntı ve ciltte renk değişikliğidir (25). Bovine spongiform ensefalopati (deli dana) hastalığı ile ilgili kaygılar nedeniyle sığır kaynaklı kollajen kullanımı azalmaktadır.

Hyaluronik asid, ekstraselüler matriksin komponentlerinden birisidir. Kollajenin aksine tüm hayvan türlerinde ve mikroorganizmalarda özdeştir ve bu özelliği nedeniyle immünolojik reaksiyon oluşturmaz. Su bağlama yeteneği ile cilt turgorunun sağlanmasına katkıda bulunur. Hyalen jel; yüksek moleküler ağırlıklı hyalurinan polimer moleküllerinin çapraz bağlanmasıyla elde edilmiştir. Hyalaform jel (Biomatrix, Ridgefield, New Jersey) horoz ibiğinden elde edilen hyaluronik asitten üretilmektedir. Etki süresi 3-6 aydır (25). Restylane (Q-Med AB, Uppsala, Sweden); streptokok bakteri kültürlerinden fermentasyon yoluyla elde edilen hyalorinik asit içermektedir. Fermente edilen materyal, glikozaminoglikan zincirlerin çapraz bağlanması ile stabilize edilir. Akışkan özelliği nedeniyle uygulaması kolaydır, kalıcılığı 6-12 aydır (30). Ödem, kızarıklık, morarma gibi lokal yan etkiler kollajen bazlı ürünlere göre daha sık gözlenir ve ürün daha pahalıdır.

Solid politetrafloroetilen (Gore-Tex; W.L. Gore and Associates, Flagstaff, Arizona); plastik cerrahide kullanılan ürünlere birisidir. Çeşitli boyutlarda, tabaka, tüp ve parça formları mevcuttur. Ürünün enjekte edilebilir formu bulunmamaktadır, rijittir ve doğal olmayan görünüm oluşturabilir. Alıcı doku ile bütünleşmediğinden gerektiğinde kolaylıkla çıkartılabilir (31).

Yeni ürünlere birisi olan Alloderm (Life Cell, Woodlands, Texas), insan dermisinden elde edilmektedir. Hücreden yoksun dermal matriks hastanın fibroblastları ve endotel hücreleri için iskele görevi üstlenmektedir. Tabaka şeklinde olduğundan kullanım alanı sınırlıdır. İnsan kaynaklı olduğundan alıcı yatakta revaskulerize olmakta ve daha doğal bir görünüm oluşturmaktadır. Dezavantajı; pahalı oluşu, implantasyon için cerrahi insizyon gerektirmesi ve olası hastalık geçiş riskidir (29).

Cymetra (Life Cell, Branchberg, New Jersey), Alloderm'in küçük parçalara ayrılmasıyla elde edilen enjekte edilebilir hücreden yoksun dermal allogrefttir (32). Ürün toz halinde olduğundan enjeksiyon öncesi %1 Lidokain ile sulandırılmalıdır. Uygulama öncesi cilt testine gerek yoktur. Cymetra büyük partikül boyutuna sahip olduğundan

enjeksiyonu daha ağırlıdır ve enjeksiyon alanında kontur düzensizliği ve ödem oluşabilir (25). Kalıcılık süresi 5-7 ay olarak bildirilmiştir (27).

Fascian (Fascian Biosystems, Beverly Hills, California); insan kadavrasından elde edilen fasya latadan hazırlanan, daha yoğun karakterde, enjekte edilebilir allogrefttir (33). Fascian partikülleri 0.25 mm, 0.5 mm ve 2.0 mm gibi değişik boyutlardadır ve enjeksiyon öncesi salin veya lidokain ile sulandırılması gerekir (27) Materyal subdermal olarak enjekte edilmelidir, daha yüzeysel enjeksiyonu enflamasyona ve düzensizliklere sebep olabilir (27). Fascian derin kırışıklıkların, skarların ve yağ atrofisinin düzeltilmesinde endikedir (34). Kalıcılığı 6-8 ay olarak bildirilmektedir (25).

Poly-L-laktik asid (Sculptra; Dermic Aesthetics, Berwyn, PA) laktik asid sentetik polimeridir. Günlük kullanımdaki pek çok sütür materyalinin üretildiği emilebilir plastik materyalden üretilmektedir. Dokuda çözünebilme, rezorbe olma ve doku uyumluluğu özellikleri mevcuttur. Skar ve kırışıklıkların tedavisi yanında HIV (Human Insufficiency Virus) hastalığı ile ilişkili fasiyal lipoatrofi tedavisinde kullanılabilir (27). Kalıcılığı 1-2 yıldır (25).

Yumuşak doku defektlerinde kullanılan materyallerin kalıcılığını artırmak için emilebilir ve emilemeyen komponentler enjekte edilebilir bileşimde bir araya getirilmeye çalışılmıştır (25).

Radiesse (Bioform, Franksville, Wis); sentetik hidroksiapatit küresel partiküllerinin, su bazlı jel taşıyıcı ile karıştırılmasıyla elde edilmiş enjekte edilebilir bir implanttır (35). Kalsiyum hidroksiapatit bioseramik partikülleri yüksek dansitesi ve düşük çözünürlüğü ile implantın kalıcılığını ve doku uyumunu sağlar (25). Taşıyıcı jel selüloz, gliserin ve sudan oluşmaktadır. Klinik etkilerinin kalıcılığı iki yıl olarak raporlanmıştır. (25). Enjeksiyon öncesi cilt testine gerek yoktur, antijenik ve enflamatuar reaksiyonlar raporlanmamıştır (25, 27). Çok sayıda yeni enjekte edilebilir dolgu maddesi geliştirildiğinden, bu ürünlerin içerikleri ve özellikleri dikkatlice incelenmeli, hastanın ihtiyaçlarını karşılayabilecek ve yan etkileri minimum olan ürünler seçilmelidir.

2.3. Otolog Yağ Dokusu Grefti Uygulamaları

2.3.1. Vücutta Yağ Dokusu Tipleri

Vücudumuzda bol miktarda bulunan yağ dokusu rezervleri otolog yağ greftlemesi için büyük bir avantaj teşkil etmektedir. Yağ dokusunun bölgelere göre dağılımı çok spesifikdir ve donör alan seçimimizi belirler.(28). Kan akımı ve nöroendokrin faktörlere cevap farklılıklarından dolayı; adipositlerin sayısı vücut bölgelerine değişkenlik göstermektedir(29).

Y. J. Illouz iki çeşit yağ dokusu tariflemiştir:

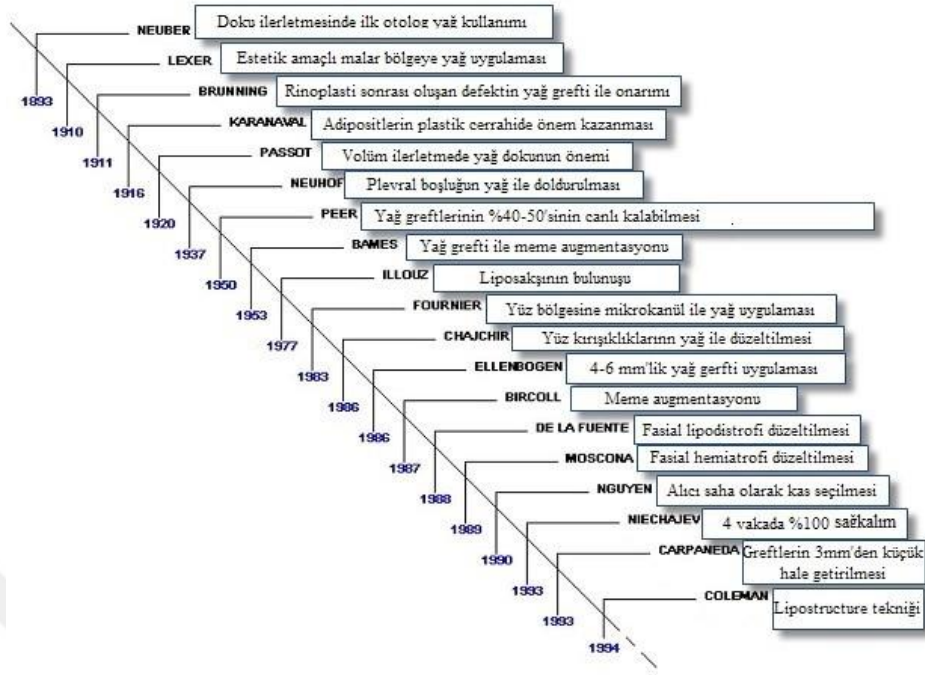
- a) hacmi değişken olan 'standart' yağ doku
- b) malnutrisyon durumu dışında azalmayan 'rezerv' yağ doku(30)

Bu 2 çeşit yağ dokusunun varlığı, vücutta lipoliz sinyallerine cevaptan sorumlu olan Beta-1 ve alfa-2 reseptörlerinin düzenli olmayan dağılımı nedeniyledir. Bazı hastaların pelvik, torakanterik ve uyluk bölgelerindeki yağ kitlesinin kilo vermeye rağmen azalmaması burada bulunan alfa-2 reseptörlerin lipolizi baskılamasına bağlanmıştır(30). Yağ grefti donör alanı olarak bu bölgeleri kullanmak bu nedenle hastaya ikincil bir yarar sağlar.

2.3.2.Yağ Dokusu Greftlemesinde Tarihsel Gelişim

Yağ dokusu greftlerinin yumuşak doku defektlerinde düzeltilmesinde veya estetik amaçlı kullanılması 19. yüzyılın sonlarına değin uzanır. Mojallal yağ greftlemesini tarihsel olarak 3 ana döneme ayırmıştır (31).

- 1) Birinci dönem - Lipoaspirasyonun keşfinden önceki 'açık cerrahi' dönemi (1893-1977)
- 2) İkinci dönem – lipoaspirasyonun keşfinden sonraki 'travmatik,rafine edilmemiş' dönem (1977-1994)
- 3) Üçüncü dönem – S.R. Coleman'ın atravmatik tekniğinin popülerleşmesinden sonraki 'rafine' dönem (1994-günümüz)



Şekil 5: Yağ Dokusu Greftlemesinin Tarihsel Gelişimi

'Açık cerrahi' dönemi yağ dokunun herhangi bir değişiklik olmadan tek parça transplantasyonunu temsil eder. Otolog yağ grefti konusundaki ilk bilimsel yayın 1893 senesinde G. Neuber tarafından yapılmıştır. Skara bağlı depresyon hatlarını doldurmak için ufak parçalar halinde yağ kullanmış, iyi sayılabilecek post-op sonuçlar elde etmiş ancak büyük volümlerde totale yakın kayıp yaşadığını bildirmiştir (31).

20.yüzyılın ilk yarısında metod hızla popularite kazanıp pek çok cerrahi branş tarafından kullanılmış. Plastik cerrahi kullanıcıların en başında olup meme rekonstruksiyonu, augmentasyonu, derin yüz çizgilerinin düzeltilmesi, düzeltici rinoplasti ve malar bölge augmentasyonu gibi pek çok alanda yağ doku greftlemesi kullanıma girmiştir. (29) Pek çok yayında erken iyi sonuçlar bildirilse de çok geniş bir aralıkta rezorbsiyon oranları ile güvenilmez bir profil çizilmiştir. Bu da geç dönem stabiliteye ulaşmak için pek çok teknik modifikasyonlar tanımlanmasına yol açmıştır, ancak, başarılı bir yöntem ortaya konamamıştır.

İkinci dönem 1977'de liposakşının efektif bir yöntem olarak ortaya konması ile başlamıştır (32). İlk başta vücuttaki orantısız yağ bloklarının yok edilmesi için yaratılan tekniğin zaman geçtikçe yağ greftlemesi için ideal bir sağlayıcı olduğu ortaya çıkmıştır.

İşlenmemiş yağ aspiratını ilk kullanan yine Illouz olmuştur. Daha sonra, 1989'da Fournier lipofilling denilen tekniğini kullanmaya başlamış ancak sonuçları gene instabil olarak kabul edilmiştir (33). Bu dönemde kıta Avrupa'sı ve Amerika'da pek çok cerrah kendi tekniğini tanımlamıştır; ancak bir tanesi, C.R.Coleman, pek çok cerraha ulaşıp popülerleşen tekniği 'Lipostructure' ile rafine dönem olarak adlandırılan üçüncü dönemi başlatmıştır (34). Bu teknik 3 aşamadan oluşmaktadır;

1. Düşük basınçta elle lipoaspirasyon
2. 3 dakika süren bir santrifüj
3. Çok planlı enjeksiyon

Dokuyla uyumlu,kalıcı ve doğal görünümlü sonuçlar elde edilen bu teknik uygulama kolaylığı ile hızla yayılmıştır. Bu tekniği ile Coleman özellikle atravmatik yöntemin ve çok planlı enjeksiyonların yağ grefti başarısındaki önemini ortaya koymuş ve bu prensiplerle pek çok tekniğin başarılı sonuçlara ulaşmasına öncülük etmiştir. Günümüzde altın standart kabul edilse de pek çok merkez ve cerrah değişik yöntemlerle benzer başarı oranları gösteren sonuçlar yayınlamakta ve kullanmaktadır. Liposakşın cihazı-manuel aspirasyon, santrifüj-bekletme-direkt verme gibi parametreler üzerinden pek çok teknik tanımlanmıştır. Sonuç olarak en iyi, en doğru yöntem konusunda tartışmalar ve araştırmalar devam etmektedir.

2.3.3 Yağ Dokusu Greftlemesi Cerrahisi

Otolog yağ dokusu transferi çok aşamalı bir prosedürdür. Son yirmi yılda, çok sayıda yağ enjeksiyon tekniği geliştirilse de, herkesin uygulayabileceği standart bir prosedür bulunamamıştır (35,36). Her bir adımı uygularken pek çok prosedür seçeneği bulunmaktadır. Geliştirilen tekniklerin genel hedefi daha fazla adiposit yaşamasını sağlamak ve sonuç olarak daha güvenilir sonuçlar elde etmektir (37). Maksimum greft yaşayabilirliğini sağlayabilecek en uygun yağ dokusu greftleme metodu konusunda görüş birliği bulunmamaktadır (29). Prosedürün çok sayıda çelişkili yönü ve çok az başarı kanıtı olmasına rağmen daha iyi bir alternatifi bulunmadığı için, uygulamalar yaygın olarak devam etmektedir (5).

2.3.3.1. Verici Alan

İnsan vücudundaki tüm adipositler aynı özellikleri taşımayabilir ve farklı vücut bölgeleri, farklı metabolik ve vasküler gereksinimler gerektirebilir (38). Araştırmalarda optimal donor alan konusunda görüş birliği yoktur ve verici alanın sonuca minimal etkisi olduğu belirtilmektedir (39). Coleman; verici alanın yağ dokusu grefti uygulamalarının sonucunda etkili olmadığını ve greftlerin kolay ulaşılabilir ve hastanın konturunu düzeltecek bölgelerden alınmasını önermiştir. Bazı çalışmalarda ise diyetteki değişikliklere dirençli, alfa-2 reseptörlerden zengin, vasküleritesi az olan alanlardan yağ alınması önerilmektedir (40).

2.3.3.2 Verici Alan Anestezisi

Pek çok araştırmacı lokal anestezi uygulamasının hidrolik ve kimyasal travma gibi olumsuz etkilere neden olduğunu belirtse de, literatür gözden geçirildiğinde lokal anestezi uygulanarak veya uygulanmadan aspire edilen yağ dokusu hücrelerinin sağ kalım oranlarının benzer olduğu gösterilmiştir (41,42). Epinefrin lokal uygulamasının, kan akımını azaltarak greft üzerinde zararlı etkilere sahip olduğu kabul edilse de, bu görüş hiç bir çalışmada klinik olarak kanıtlanamamıştır (42,43). Lidokainin adipositlerde glukoz transportunu ve lipolizi inhibe ettiği ve hücrelerin kültürde üremelerini engellediği fakat bu etkinin sadece ilaç ortamdayken geçerli olduğu, yıkama işleminden sonra hücrelerin fonksiyonlarını ve gelişim potansiyellerini tekrar kazandıkları gösterilmiştir (44).

2.3.3.3 Yağ Alınması

Yağ elde etmek için; vakum makinesi yardımlı yağ alma (liposakşın), manuel enjektör ile aspirasyon veya direkt eksizyon yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. Yağ dokusu greftlemesinin başarısızlık sebeplerinden biri olarak iskemi suçlanmaktadır. Liposakşın prosedürünün travmatik etkisinin adiposit canlılığı üzerine etkisi bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada liposakşın yoluyla elde edilen yağ dokusu grefti, eksizyon ile elde edilen yağ dokusu grefti ile karşılaştırılmış ve artmış yağ hücre hasarı saptanmamıştır (45). Diğer bir çalışmada liposuction ile alınan yağ dokusu greftleri incelendiğinde; %90 veya daha fazla yağ hücresinin canlı olduğu bulunmuştur (46). Makine veya enjektör yardımıyla elde edilen yağ greftlerinde, hücre canlılığı ve hayatta kalma süresi açısından fark saptanmamıştır (41, 45). Liposakşın kanülü veya iğne ile elde edilen yağda, sağ kalım açısından bağlantı saptanmamıştır (41).

2.3.3.4. Yağ Dokusu Greftinin Hazırlanması

Transplante edilen yağ dokusu grefti içerisinde kan bulunması makrofaj aktivitesini uyararak, yağ hücrelerinin emilimini hızlandırmaktadır (46). Bu nedenle çeşitli yayınlarda elde edilen yağın implantasyon öncesi normal salin solüsyon ile yıkanması veya santrifüj uygulanması önerilmektedir (42, 45). Ancak bekleyerek tabakalanmanın oluşmasının sağlanmasını veya direkt vermeyi de savunan pek çok yayın ve merkez vardır.(45)

2.3.3.5. Yağ Dokusu Grefti Enjeksiyonu

Enjeksiyonda kullanılan iğne çapı ile elde edilen düzemenin kalıcılığı arasında bağlantı bulunamamıştır (35). Elde edilen yağ dokusu; vücutta kullanılacağı bölgeye göre farklı kanül çapları, uzunlukları ve uçları tercih edilerek enjekte edilebilir. Künt uçlu kanül kullanımı daha güvenli ve daha az travmatiktir (34). Keskin uçlu kanüller, yapışıklıkları açmak için kullanılabilir(rigotomi) (34). Enjeksiyon uygulanırken retrograd yöntem tercih edilmelidir yani iğne veya kanül geri çekilirken yağ dokusu enjekte edilmelidir ve her geçişte çok küçük miktarda yağ infiltre edilerek yeni greftlenen yağ dokusu adaları birbirinden ayrılmaya çalışılmalıdır (34). Greft adaları birbirinden ayrılarak yeni alıcı doku ile daha geniş temas alanı sağlanır ve böylece mevcut vasküler yatakla temas artar, yağ dokusu hücreleri stabilize edilerek migrasyon önlenir (34). Defektin yönüne göre yağ enjeksiyonu düz veya eğimli olarak yapılabilir, uygun düzeltme işlemi için, farklı seviyelere enjeksiyon uygulaması gerekebilir (34, 36). Bazı araştırmacılar multipl plan uygulamasının alıcı yatakta travmaya sebep olarak ödemi ve enflamatuvar yanıtı artırdığını ve bunun sonucunda da greft rezorbsiyonunu artırdığını düşünmektedir (34).

2.3.3.6. Alıcı Saha

Enjeksiyon alanı hastanın spesifik ihtiyaçlarına göre belirlenmektedir. Guerrerosantos ve Eppley çalışmalarında yağ dokusu hücrelerinin; kanlanması yüksek olan kas ve benzeri dokular içerisine enjekte edildiğinde yağ dokusu hücrelerinin yaşayabilirliğinin daha yüksek olduğunu raporlamıştır (41). Ancak klinik pratiklerde hemifasial atrofi ve postravmatik skarlar gibi azalmış kanlanması olan dokularda da uzun süreli yaşayabilirlik klinik olarak kanıtlanmıştır (35). Carpenada ve Ribeiro; greft canlılık oranının, greft kalınlığı ve geometrik şekline bağımlı olduğunu, greft çapı 3 mm'den daha

büyükse yağ greft canlılığının azaldığını bildirmişlerdir (36, 42). Yağ hücrelerinin plazmatik imbibisyon ile beslenebilmesi için vaskülarize kenardan en fazla 1,5 mm uzaklıkta olması gerektiğini göstermişlerdir. Bu çalışmalar sonunda 3mm kalınlıkta yağ dokusu damlacıklarının, neovaskülarizasyon için boşluk bırakarak uygulandığı tekniklerini geliştirilmiştir. Butterwick ve Lack; yağın yüz mimik kasları içerisine enjekte edildiği, yağ otogreftinin kas enjeksiyonu (FAMI) olarak adlandırılan yeni bir teknikle 100 hastadaki deneyimlerini sunmuşlardır (37). Bu teknikte yağ dokusu grefti atravmatik ve steril olarak alınmış, santrifüj edilmiş ve özel künt uçlu kanüllerle farklı kas gruplarına enjekte edilmiştir. Bu teknikle simetrik ve uzun süreli sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir.

2.3.3.7. Yağ Dokusu Greftlerinin Dondurularak Saklanması

Çok tartışmalı bir konudur. Destekleyen yayınlarda alınan fazla yağ dokunun soğutulmuş olarak saklanabildiği ve tekrarlanan enjeksiyonlar için kullanılabilirliği ve sonuçların normalde kullanılan taze implantlardakinden farklı olmadığı bildirilmektedir (33). Elde edilen yağ dokunun normal salin ile yıkanarak, kan ve ürünlerini içeren bölüm uzaklaştırıldıktan sonra kapalı enjektörler içerisinde dondurucuda saklanabilmektedir (33). Dikkat edilmesi gereken dondurma işleminin mümkün olduğunca hızlı, çözme işlemininse yavaş yapılmasıdır (33).

2.3.3.8. Yağ Doku Grefti Uygulamalarının Komplikasyonları

Yağ doku enjeksiyonu uygulamaları sonucunda ciddi komplikasyonlar nadirdir ve sıklıkla uygun olmayan aletlerin veya tekniğin kullanımı sonucu oluşmaktadır. Yağ doku grefti uygulamaları sonucunda oluşan komplikasyonların çoğu estetiklidir. Yağ dokunun belirlenen bölgeye çok fazla veya gerektiğinden az yerleştirilmesi problemler oluşturabilir. Diğer bir yaygın problem oluşan düzensizliklerdir. Bu düzensizlikler hastanın vücut yapısından, kullanılan enjeksiyon tekniğinden ve uygulanan yağ doku greftinin migrasyonu sonucu oluşabilmektedir. Yağ doku grefti kümelenmeleri, alt göz kapağı gibi duyarlı bir alana fazla miktarda yağ enjeksiyonu veya yağın çok yüzeysel olarak enjekte edilmesi sonucu oluşan, enjekte edilen yağın ayrı bir kitle şeklinde görüldüğü durumdur (43). Bazı durumlarda bu kitlesel oluşumların eksizyonu gerekebilir. Operasyon sonrası görülen ödem bir komplikasyon olarak değil operasyonun bir parçası olarak ele alınmalıdır. Ekimoz ve eritem kısa süreli olarak, ağrı, enfeksiyon ve rahatsızlık hissi nadir olarak görülmektedir (44). Yüksek miktarda yağ doku enjeksiyonu

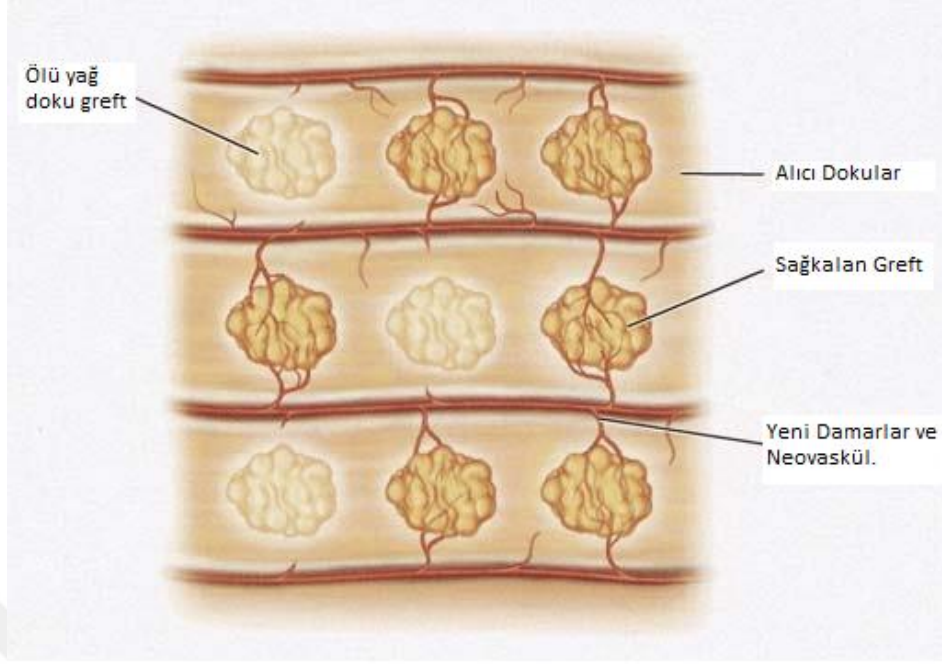
uygulandığında gelişen komplikasyonlar artmaktadır. Dikkatsiz yapılan enjeksiyonlar sonucu emboli gelişimi, en ciddi potansiyel komplikasyondur. Egido ve arkadaşları, glabellar bölgeye yağ doku enjeksiyonu sonrası intravasküler enjeksiyona bağlı orta serebral arterde emboli ve görme kaybı olan vakalar yayınlamışlardır (36,41). Yağ doku greftinin elde edilmesinde ve enjeksiyonunda künt uçlu kanüller kullanılsa bile alttaki kas, sinir veya damar gibi yapılarda hasarlanmalar olabilir . Küçük yağ kistlerinin oluşumu, kilo alımına bağlı oluşan yağ hipertrofisi, yağ nekrozu ve kalsifikasyon oluşumu, intramusküler enjeksiyonlar sonrası görülen yüz kaslarında güçsüzlük gelişebilecek diğer komplikasyonlar olarak sıralanabilir (37). Yumuşak doku defektlerinin düzeltilmesinde otolog yağ doku grefti kullanımı kabul görmüş bir teknik olsa da elde edilen düzeltmenin devamlılığının sağlanması uygulanan tekniklerde ilerlemelere rağmen önceden tahmin edilememektedir. Erken dönemde sonuçlar mükemmel olsa da yüksek oranda hacim kaybı tekrarlayan prosedürler gerektirmektedir.

2.4. Yağ Doku Greftlerin Sağkalım Modeli Teorileri

Yağ doku greftinin nasıl sağ kaldığı, ne şartlarda rezorbe olduğu, hangi durumda ebatlarını koruduğu, buna etki eden faktörler plastik cerrahinin en yoğun araştırdığı alanlardan biri olup halen günümüzde konuya kesin açıklama getiren bir araştırma ortaya konamamıştır. Ancak pek çok araştırmacının ikna edici kanıtlar gösteren çalışmaları sonucu çeşitli teoriler üretilebilmiştir.

2.4.1 Adiposit Sağkalım Teorisi

Peer'ın ortaya koyduğu bu popüler teori greftlemenin başarılı olması için en temel olarak aktarılan adipositlerin sağkalması şarttır prensibine dayanır(45). Bu nedenle en travmatik yöntemle alınmalı, serum ve kan hücrelerinden arındırılarak en konsantrasyon halinde işlenmelidir. Carbaneda ve Ribeiro'nun(46) çalışmasında göre yağ dokusu greftinin sadece en dış 1,5-2 mmlik bölümü çevre dokudan difüzyonla beslenebilir ve dolayısıyla sağ kalabilir. Bu nedenle bir seferde maksimum hacim yerleştirilmeye çalışılmamalı ve her enjeksiyon sırasında minimum yağ doku grefti enjekte edilmeli. Bu sayede maksimum sayıda adiposit çevre doku ile temas sağlayarak sağ kalabilir.

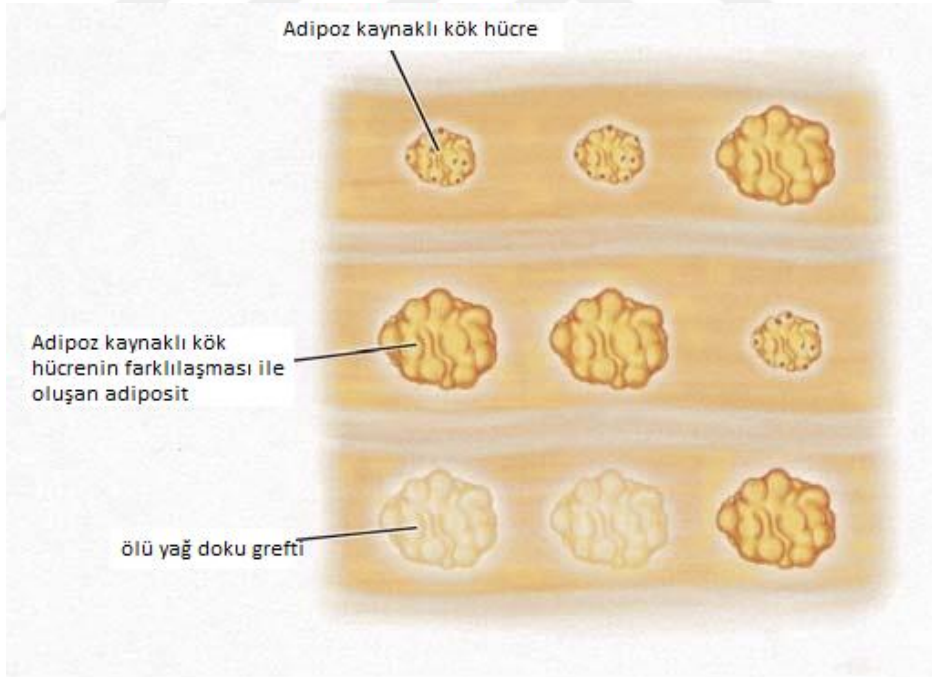


Şekil 6: Adiposit Sağkalım Teorisi (57)

Bu fikirden yola çıkarak Zhao ve ark. deneysel bir çalışma yapmıştır(47). Yağ greftlerinin aktarıldığı sahada gerçekten sağ kalıp kalmadığını görmek için, rastgele birbiriyle eşleştirilmiş C57BL/6-gfp ve C57BL/6 fareler kullanılmıştır. Her çift diğerinden yağ grefti alacak şekilde, her fareye diğerinden alınan 0,2 cc yağ grefti sırt bölgesine yerleştirilmiştir. 3., 7., 14., 28., 60. ve 120. günlerde doku örnekleri alınmış ve bunlar değerlendirilmiştir. Farklı renkler ile kodlanan yağ greftleri gerçekten de aktarım sonrası sağkalmış ve yapılan immunhistokimya boyamaları ile verici kaynaklı adipositlerin alıcı kaynaklı damarlanmalarla sağkaldığı izlenmiş. Değişik zamanlarda alınan örneklerde yağ dokusu greftinin yara iyileşmesi fazlarından(inflamasyon, proliferasyon, remodelling, maturasyon) geçtiği gözlenmiş. Bu deney sayesinde verici alan adipositlerinin alıcı alan damarlanması ile sağ kalabildiği ortaya konmuş. Greft sağkalım teoremi bu deney ile desteklense de yağ greftinin hacimsel değişimlerini ve çevre dokulara olan rejeneratif etkilerini açıklamak konusunda yetersiz kalmakta ve bu da klinisyen olarak bizi başka mekanizmaların da bu süreçte aktif olduğunu düşündürmektedir.

2.4.2. Greft Dönüşümü Teorisi

Non-vaskülarize yağ doku greftlemesinden sonra adipositlerin kaderi Tokyo Üniversitesi'nden Yoshimura ve arkadaşları tarafından detaylı bir şekilde incelenmiştir(48). Bu çalışmada aktarılan adipositlerin uzun süre sağkaldığı genelkanısına meydan okumuşlardır. Oluşturulan deneysel modelde farenin kasık yağ yastıkçığı, besleyen damarı hasarlanarak iskemiye sokulmuştur. Değişik oranlarda hipoksi ile iskemik değişiklikler analiz edilmiştir. Bu hayvan modeliyle, araştırmacılar 3 değişik iskemi derecesi ile(ılımlı, orta, ciddi) hipoksik koşullarda adiposit sağkalımını hem in vitro hem de in vivo koşullarda inceleyebilmişlerdir. Ciddi iskemik koşullarda adipositlerin dejeneratif değişiklikler geçirdiği ve yağ yastıkçığı içindeki adipositlerin iskemi arttıkça çok kolay öldüğü bulunmuş. Buna karşılık kök hücreler ise iskemik koşullarda sağkalıp aktive hale geldiği ve ileriki dönemde yağ dokusu tamirini sağladıkları izlenmiş. Bundan yola çıkarak araştırmacılar greft dönüşümü teorisini ortaya koymuşlar.(48,49)



Şekil 7: Greft Dönüşümü Teorisi (57)

Aynı araştırmacılar takip eden bir çalışmada, adipositlerin erken dönemde öldüğünün ve adipoz doku kaynaklı kök hücrelerin adipositlere farklılaşarak adipositlerin

yerine geçtiğinin kanıtlarına ulaşmıştır(50). Bu önemli çalışmada, araştırmacılar adipositlerin çoğunun ilk günden öldüğünü sadece alıcı dokuya 300 mikrometre mesafedeki adipositlerin sağkalabildiğini göstermişlerdir. 3. günde proliferen olan hücre sayısında anlamlı bir artış izlenmiş, 7. günde ise canlı adipositlerin sayısı belirgin olarak artmıştır. Bu bulgular 3-7 günler arasında ölü adipositlerin onarımının başladığını göstermiştir. Çalışmanın geç dönemlerinde iç içe geçmiş 3 saha izlenmiş. İç sahada hem adipositlerin hem kök hücrelerin ölü olduğu, orta sahada adipositlerin öldüğü kök hücrelerin sağ kaldığı, dış sahada ise hem adipositlerin hem de kök hücrelerinin sağ kaldığı gözlenmiştir. Bu çalışma yağ dokunun onarım sırasında dinamik bir rejenerasyon sürecinden geçtiğini ortaya koymuştur.

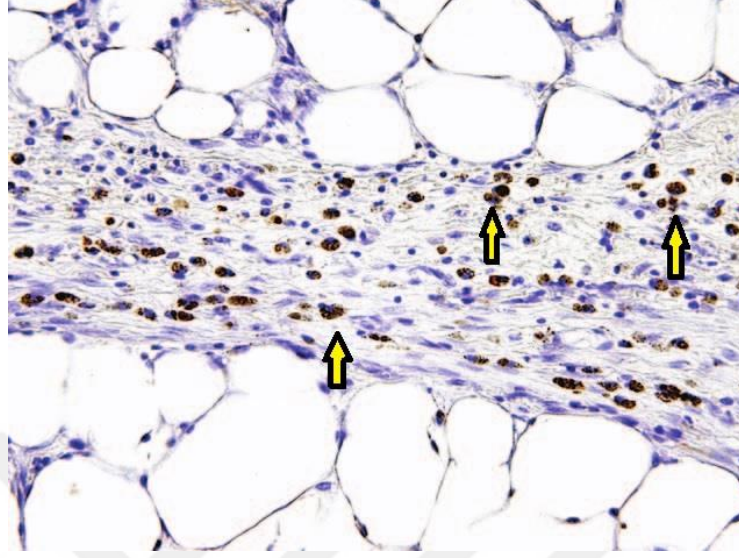
2.4.1.3 Bölge Teoremi

Daha önce Yoshimura ve ark.'nın ortaya koyduğu greft yerine geçme teorisi baz alınarak non-vaskülarize yağ dokusu greftinin sağkalımı, Sunaga ve arkadaşları tarafından detaylı olarak ve vaskülarize yağ dokusu greftleri ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Sıçan modelinde yapılan incelemede histolojik olarak yağ dokusu grefti maturasyonu aşama aşama ortaya koyulmuş ve önemli teoriler oluşturulmuştur. Bu hem adipositlerin hem de yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin hayat döngüsünü iki aşamalı olarak açıklar.(4,50,51)

a) Erken dönem (ilk iki hafta)

Yağ dokusu greftinin yeni ortamında sağkalması dinamik bir apoptoz ve rejenerasyon sürecidir. Bunun için de temel ihtiyaç her dokuda olduğu gibi dolaşımın sağlanmasıdır. Pankreas adacık greftleri(52), paratiroid greftleri(53) gibi yapılarda olduğu gibi yağ dokusu greftlerinde de 3-7 gün arası hızlıca artan bir revaskülarizasyon süreci izlenmiştir. Takip eden 7-12. günler arasında plato çizerek neredeyse vaskülarize yağ dokusu greftleri ile eşlenik bir damarlanma izlenmiştir. Bu her ikisini karşılaştıran çalışmada yeni damarlanmayı gösteren bioluminesans sinyal yoğunluğundaki eşdeğer sonuçlar ile görülmüştür. İmmunohistolojik inceleme için canlı adipositleri ölü adipositlerden ayırabilen perilipin antikoru kullanılmıştır. 1. ve 2. haftada perilipin pozitif adipositlerde, özellikle merkezdeki alıcı alandaki damarlara en uzak kalan bölgede, çok dramatik bir azalma gözlenir. Bu greft kitlesi merkezindeki adipositlerin neredeyse

tamamının öldüğünü göstermektedir. Buna karşılıksa greft içindeki yağ doku kaynaklı kök hücrelerde kompansatuvar bir proliferasyon izlenir(şekil 8).

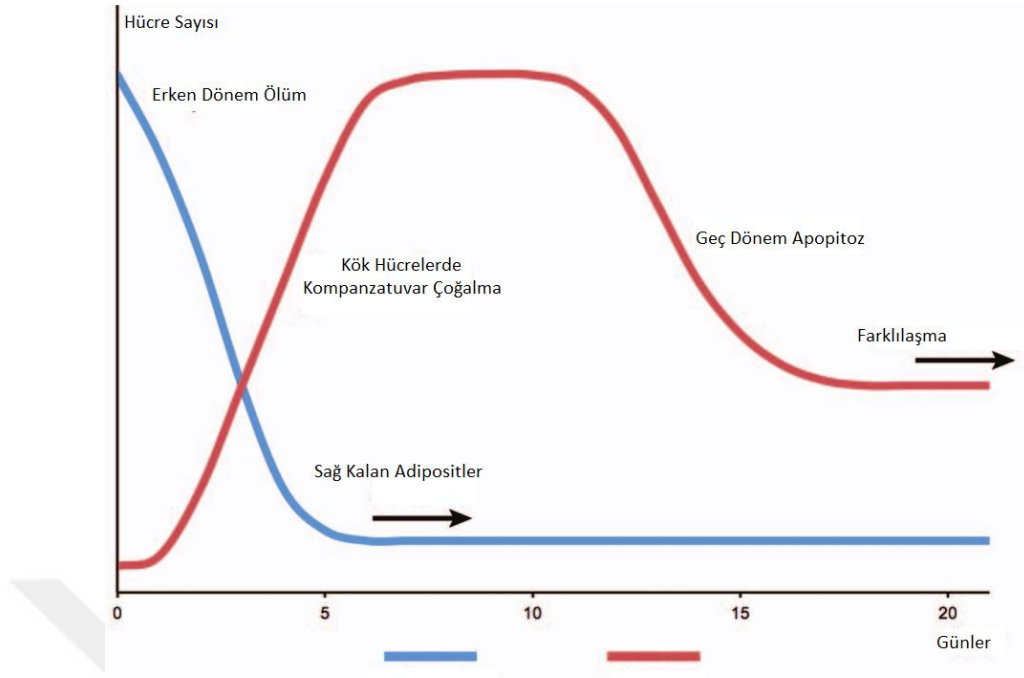


Şekil 8: Çoğalan Kök Hücrelerin Biolimunesans Tekniği ile İnceleme Kesiti x200 (56) (sarı oklar kök hücreleri göstermektedir)

b) Geç dönem (3-4. Hafta)

12.-17. günlerde non-vaskularize yağ dokusu greft sahasındaki maksimum sinyal yoğunluğu azalır, aynı zamanda daha önce kompansatuvar çoğalan kök hücrelerde apoptoz süreci başlayarak kök hücre sayılarında belirgin bir azalma izlenir. Çoğalma sonrası izlenen bu apoptozu neyin tetiklediği henüz ortaya konulamamıştır.

17. günden sonra sinyal yoğunluğundaki azalma sona erer dahası perilipin pozitif adipositler sadece greftin periferik sahalarında değil; nekrotik saha ile sağkalan saha arasındaki alanlarda, özellikle damar çevresindeki alanlarda da izlenmeye başlanır. Bu apoptozu gitmeyip sağkalan kök hücrelerin yeni adipositlere dönüştüğünü gösteren önemli bir kanıttır.(4)



Şekil 9: Yağ Dokusu Greftlerindeki Hücrelerin Yaşam Döngüsü(56) (Mavi çizgi adiposit, kırmızı çizgi kök hücre döngüsünü göstermektedir)

Yine benzer bir çalışma olan Eto ve ark.'ın çalışmasında da (50) yağ dokusu greftinin sağ kalımında 3 saha teorisi önerilmiştir.(şekil 10)

1. Nekrotik saha

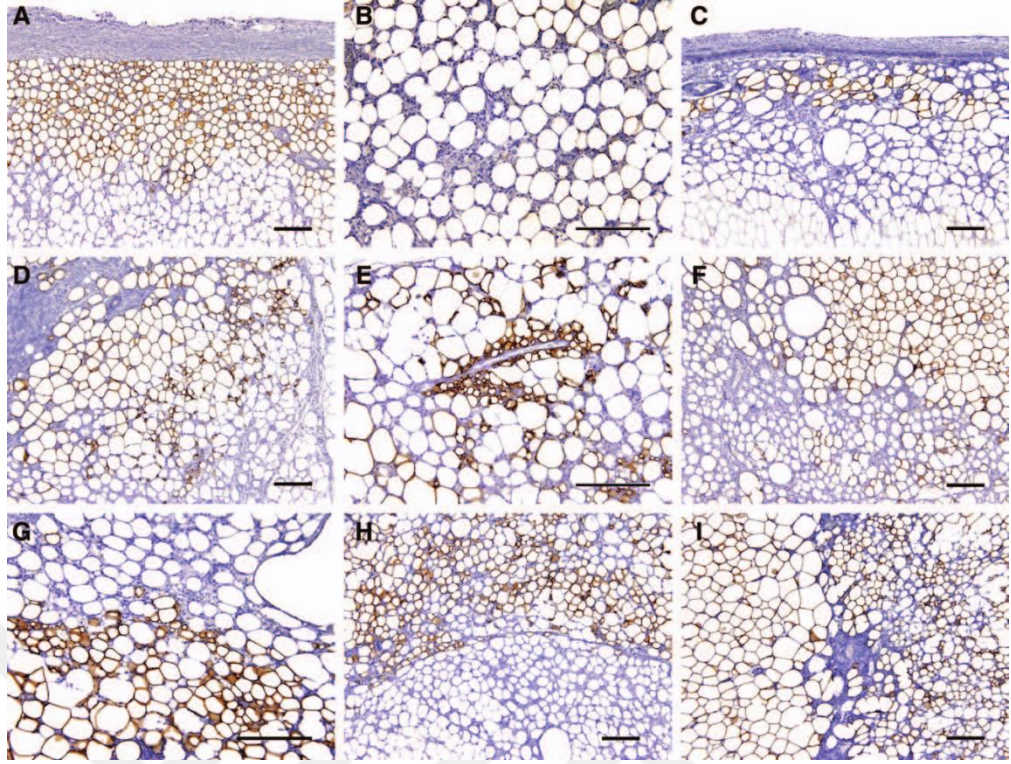
Hem adipositler hem kök hücreler ölür, ölen hücrelerin yerini fibrozis alır.

2. Rejenerasyon sahası

Adipositler ölür, kök hücrelerin profilerasyon-apoptoz döngüsü sonrası sağ kalan kök hücreler adipositlere farklılaşır.

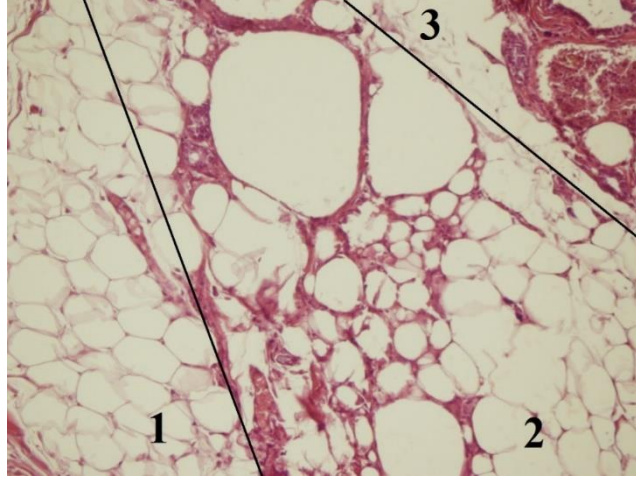
3. Sağkalan saha

Adipositler sağkalır.

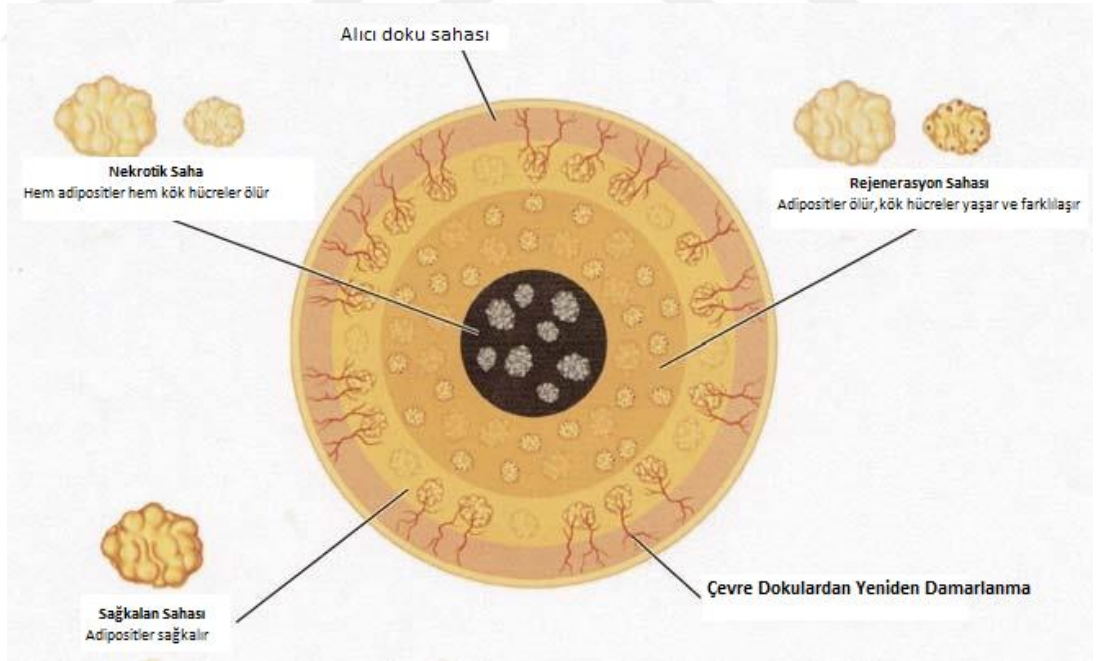


Şekil 10: 3 bölge Teorisi (56) Perilipin pozitif hücreler erken dönemde periferik alanlarda izlenir(A-C),3. Hafta ortalarında perivasküler alanlarda da perilipin pozitif hücreler izlenmeye başlanır (D-F), geç dönemde ise greftte 3 sahanın ayrımı rahatlıkla yapılabilir (G-I)

Bu teoriler ışığında klinik olarak rezorbsiyon olarak tanımladığımız süreci tekrar gözden geçirmemiz gerektiği açıktır. Yağ dokusu grefti aktarıldığı yerde maturasyonunu tamamladıktan sonraki nihai hacmi ve miktarı, esas olarak aktarılan adipositlerle sağlanmayıp, kök hücrelerin ne kadarının proliferasyon-apoptoz döngüsünden çıkarak yeni adipositlere farklılaşabildiği ile ilişkilidir(4). Çünkü ilk aşamada aktarılan adipositlerin periferde kalanlar dışında büyük çoğunluğu ölmekte, bir miktarı ise merkezde fibrozis olarak hacim oluşturmaktadır.(şekil 11)



Şekil 11: 6 hafta sonunda histolojik olarak ayrılabilen 3 bölge, 1 numara en dış alan yağ hücrelerinden zengin saha, 2 numaralı ara sahada nekroza giden adipositlerin bıraktığı fibrotik doku alanları izlenmekte, iç bölgede ise neredeyse tamamen fibrozis hakim (Hematoksilen&Eozin, Sigara Bırakan Grubu x200)



Şekil 12 : 3 Bölge Teorisi (51)

En kabul gören 2 teorinin birleşimi olan 3 bölge teorisi, dinamik bir süreç sonunda geç dönemde greft sahasında belirgin ayrılabilen 3 saha olduğunu öne sürer

2.5 Sigara ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri

Yara iyileşmesi, herhangi bir nedenle doku bütünlüğünün bozulmasıyla başlayan, biyokimyasal ve hücrel aktivitenin düzenli ve art arda çalışmasıyla gerçekleşen, anatomik ve fonksiyonel bütünlüğün onarımı ile sonuçlanan biyolojik, mekanik ve sistemik faktörlerden etkilenen komplike bir süreçtir. İnflamasyon, proliferasyon ve maturasyon olmak üzere üç evreden oluşur. Kısaca özetlenecek olursa; inflamasyon evresinde hemostazis ve inflamatuvar infiltrasyon gerçekleşir. Proliferatif evrede fibroplazi, granülasyon, anjiogenezis, kontraksiyon ve epitelizasyon olur. Maturasyon evresinde skar dokusu oluşur. İnflamatuvar cevabın başlaması ve granülasyon dokusunun oluşması için gerekli olan sitokinler, fibroblastlar ve mezenkimal hücreler tarafından üretilirler. Nötrofil ve diğer lökositlerin yara bölgesine kemotaksisi için gerekli olan kemokinler, fibroblastlar ve mezenkimal kök hücreler tarafından salgılanır.

Fibroblastlar, myofibroblastlara farklılaşarak yaranın kapanması ve kontraksiyonunda görev alırlar. Sağlıklı bir doku iyileşmesi, fibroblasttan zengin granülasyon dokusunun oluşmasıyla alakalı bir dizi mekanizmayla gerçekleşir. Bu sürecin bozulması ciddi sonuçlara neden olur. Sigara içmenin bu biyolojik süreci bozduğu düşünülmektedir.

Yılda 5 milyon insan sigara kullanımını nedeniyle hayatını kaybetmektedir. 2030 yılında bu sayının 8 milyonu bulması tahmin edilmektedir. Sigara dünyada gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerin pek çoğunda önlenebilir hastalıkların ve ölüm nedenlerinin en başında gelmektedir. Sigara tüketimi gelişmiş ülkelerde azalmakta ya da yatay seyretmekteyken gelişmekte olan ülkelerde artmaya devam etmektedir.(55)

Periferal bir vazokonstrüktör olan sigara, içerdiği nikotinle birlikte trombosit adezyonunu ve mikrovasküler tıkanıklığı artırarak dokuda iskemiye neden olur(56). Sigara içilmesiyle salınan katekolamin damarlarda vazokonstrüksiyona yol açar ve doku perfüzyonu azalır. Sigaranın, enfeksiyonlara karşı savunmada ilk önce görev alan nötrofil fonksiyonlarını bozarak, doğuştan ve kazanılmış bağışıklık sistemini baskılayarak enfeksiyonlara yatkınlığı artırdığı düşünülmektedir.

Tütünün yanması ile distilasyon ve oksitlenme sonucu, kompleks bir aerosol olan, sigara dumanı ortaya çıkar. Sigara dumanı, içeriğinde karsinogenik, toksik ve mutajenik

olduğu bilinen 4000'den fazla kimyasal madde barındırır(57). Sigara dumanı gaz ve partiküler faz olmak üzere iki bölümden oluşur. Gaz şeklinde olan bölümü yaklaşık %95'ini oluşturur ve karbonmonoksit, karbondioksit, amonyak, nitrojen, hidrojen siyanid ve benzen de dahil yaklaşık 500 farklı gaz içerir. Partiküler faz ise nikotin, nornikotin, ağır metaller gibi yaklaşık 3500 farklı kimyasal maddeden oluşur.

Sigara kullanımı, insan vücudundaki neredeyse bütün organları etkilemektedir. Koroner kalp hastalığı, felç, ateroskleroz, solunum sistemi hastalıkları ve çok sayıda kanser türüyle ilişkilidir.

Sorensen'in (58), genel cerrahi, torasik, ortopedik, plastik ve rekonstrüktif cerrahi kaynaklı çalışmalarını dahil ederek derlediği çalışmasında, sigara kullanan, kullanmayan ve bırakmış hastalarda yara iyileşme komplikasyonlarını (yara nekrozu, gecikmiş iyileşme, cerrahi alanın enfeksiyonu, dehissens) değerlendirilmiştir. Erken ve geç dönemde yara iyileşmesinde gecikme ve yara dehissensi insidansı sigara içenlerde içmeyenlere göre 2 kat yüksektir. Sigarayı bırakmış hastalar ile sigara kullanımına devam eden hastalarda yara iyileşmesinin karşılaştırıldığı çalışmalarda, postoperatif yara iyileşmesinde komplikasyon insidansı 1,3 kat fazla bulunmuştur. Cerrahi öncesinde 2 ile 8 hafta arasında sigara kullanımı kesilerek yapılan çalışmalarda, iyileşme komplikasyonlarında azalma olup olmadığı konusunda bir konsensüs bulunmamaktadır. Ancak bu çalışmaların sonuçlarına göre sigara içenler; hiç sigara içmemiş ve sigarayı bırakmış olan hastalara göre postoperatif iyileşme komplikasyonları açısından daha yüksek bir risk altındadırlar (58).

Sigaranın inflamasyon belirteçlerinde ve sempatik aktivitede artışa neden olduğu görülmüştür (59). İnflamatuar yanıtta öncü hücreler nötrofillerdir. Akut inflamatuvar olaylar ve bakteriyel enfeksiyonlar nötrofil yapımını ve inflamasyonu artırır. Myeloperoksidaz enzimi, nötrofildeki primer granüllerde saklanır, inflamasyon ve oksidatif hasarın engellenmesinde rol alır (60). Sigara dumanına maruziyetin kandaki inflamatuvar mediatörlere etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, myeloperoksidaz miktarında artış gözlenmiştir(61). Sigara mukozal yüzeylerde inflamasyonu artırır ve dış antijenlere karşı verilen konak cevabını değiştirir(62). Akut sigara dumanına maruziyet, akciğerde makrofaj ve nötrofil sayısının artması sonucu lokal inflamasyonu artırır(63).

Sigaranın yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerine içeriğindeki hangi maddelerin yol açtığı henüz tam olarak bilinmemekle birlikte sigaranın yara iyileşmesini bozmasında etkili mekanizmalar; cerrahi bölgesinde iskemiye neden olan vazokonstriksiyon, hipoksi, inflamatuvar iyileşme cevabının bozulmasıyla bakteriosit mekanizmaların hasar görmesi ve kollajen metabolizmasının bozulması olarak açıklanmaktadır(58).

Yara iyileşmesindeki gecikmeden özellikle nikotin, CO (karbon monoksit) ve hidrojen siyanid sorumlu tutulmaktadır(64). Sigara dumanının farmakolojik olarak en etkili bileşeni olan nikotinin yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyen özellikleri şu şekildedir;

- 1) Nikotinin yara üzerindeki hücresel seviyede etkisi endoteller, fibroblastlar ve makrofajlar üzerinden gerçekleşir(65). Nikotin yüksek dozlarda eritrosit, fibroblast ve makrofajların proliferasyonunu ve migrasyonunu azaltır, hafif dozlarda primer fibroblastlarda ATP üretimine neden olur ve stres cevap proteinlerinin proliferasyonunu artırır. Hücrenin yaşam süresinin uzaması ilk bakışta olumlu olarak düşünülse de gerçekte bu mekanizma ile fibroblastların artması, normal üstünde bir fibrozis ve skar oluşumuyla sonuçlanır(63).
- 2) Nikotin trombosit adezyonunu artırarak mikropıhtı oluşmasına neden olur ve mikroperfüzyonu azaltır. Mikroperfüzyonun azalması trombotik mikrovasküler tıkanıklığa ve doku iskemisine neden olmaktadır(66).
- 3) Nikotinin plazma hormonlarına önemli ve çeşitli etkileri vardır. Sigara içenlerde kanda Beta endorfin gibi katekolaminlerin, adrenokortikotropik hormonun (ACTH) ve kortizolun seviyeleri yüksek bulunmuştur. Katekolamin salınımı, epitel oluşumunu azaltan ve yara iyileşmesini geciktiren hormonların oluşumunu stimüle etmektedir(66). Adrenal ve periferik katekolaminlerin salınması kalp hızını, kan basıncını, oksijen ihtiyacını artırır ve dokudaki kan akımını ve oksijenlenmeyi azaltarak ciltte vazokonstriksiyona yol açar(67). Sigara içimini takiben akut dönemde de orta ve büyük çaplı arterlerde kan akımının azaldığı rapor edilmiştir(68).

Dumadaki CO, hemoglobine oksijenden 200 kat daha fazla ilgi duymaktadır. Böylece hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini azaltmakta ve dokulara ulaşan oksijen

konsantrasyonunu azaltmaktadır. On dakika sigara içilmesi dokularda O₂ 'nin 1 saat azalmasına neden olur, günde 20 adet sigara içen bir insanda 20 saat doku hipoksisi olur(69). Hücrel hipoksiye bağılı olarak iyileşme gecikmektedir.

Johnson ve Bain, yara iyileşmesinin bozulmasını, sigara tüketiminin ardından plazmada artmış adrenalin ve noradrenalin seviyelerinin periferel vazokonstrüksiyona ve polimorfonükleer lökositlerin fonksiyonlarının bozulmasına neden olmasıyla açıklamaktadırlar(70).

Sigara dumanı içerisinde bulunan pek çok toksik ve iritan kimyasal maddenin damar endotelinde hasara neden olduğu belirtilmiştir(71). Endotel hasarının görüldüğü bölgelerde trombositlerin aktive oldukları ve bu bölgelerde agregasyona uğrayarak damar çapını daralttıkları ve salgıladıkları vazokonstrüktör maddeler nedeni ile kan akımını azalttıkları bilinmektedir(72). Sigara dumanı içinde bulunan oksidan maddelerin endotel membranındaki lipidlerde peroksidasyona yol açtığı gösterilmiştir. Lipid peroksidasyon ürünlerinin de yine endotel hücrelerine toksik etki yaptıkları bilinmektedir(73). Bu etkiler sigara ve doku nekrozu riski arasındaki ilişkiyi açıklamaktadır.

Sigaranın trombositlerde bulunan tromboksan A₂ (TxA₂) üretimini de uyardığı bilinmektedir(74). TxA₂ inaktif durumdaki trombositleri aktive eder ve damarlar üzerinde kuvvetli vazokonstrüktör etki gösterir. TxA₂ sentezindeki artış da sigara içimi sonrası arteriyel kan akımında görülen akut azalmanın bir nedeni olabilir.

2.6 Plastik Cerrahide Sigaranın Yeri

Dünya üzerindeki en yaygın bağımlılık olan sigara yaklaşık 2000 yıl önce Amerika kıtasındaki yerliler tarafından keyif amaçlı kullanılmasından beri hayatımızda önemli bir yere sahiptir(75). Eski Dünya'nın sigara ile tanışması Columbus'un Haiti'deki yerlilerle karşılaşmasıyla olmuştur(76). Asırlar geçtikçe yerküre üzerindeki en büyük endüstrilerden biri haline gelen sigara endüstrisinin şu anki değeri yaklaşık 720 milyar dolar civarındadır ve yılda tüm sağlık kampanyalarına rağmen %4 oranında büyümektedir(77). Yılda tüm Dünya'da 5,5 trilyon sigara izmariti üretilmekte ve tüketilmektedir. Sadece Amerika'daki yetişkinlerin %19,3'ü tarafından tüketilmekte ve yılda önlenebilir ölümlerin 443.000'e sebep olmaktadır. Halk tarafından da bilinen bu verilere rağmen sadece Amerika'da yılda 13 milyar dolar harcanan reklam gücüyle sigara

tüketimi anlamlı azalma olmadan insan sağlığını pek çok şekilde tehdit etmeye devam etmektedir(78).

Plastik cerrahlar olarak kabaca bir hespla her 5,6 hastamızdan biri sigara bağımlısı olacaktır. Sigara kullanımını bir bağımlılık, bir önlenebilir sağlık problem olması yanı sıra bir yaşam tazi olarak da insanlığın ve hastalarımızın hayatında yer almaktadır(79). Bu da çoğu hastanın bunu bir sağlık problemi olarak ciddiye almamasına, bahsedilen yüzdelerin ve ihtimallerin kendisi için geçerli olmadığı yanılığısına kapılmasına yol açmaktadır. Branşımız özelinde değerlendirecek olursak hastaların yaşadıkları komplikasyonlar cerrahi (enfeksiyon, yara ayrışması ve nekroz) ve dahili (derin ven trombozu, pulmoner tromboemboli ve sepsis) olarak gruplandırabiliriz. Tabii ki hastaların ek komorbiditeleri (diyabet, hipertansiyon) bu komplikasyonları arttırmaktadır ancak yapılan 1. ve 2. seviye kanıt sunan çalışmalar aktif sigara içiciliğinin ameliyat sonrası yara yeri enfeksiyonu ve yara ayrışması riskini 2-3 kat arttırdığını ortaya koymaktadır(58). Sigara kullanımını ile en yüksek risk bildirilen ameliyatlara şunlardır;

- meme rekonstrüksiyonu (mastektomi fleplerinde nekroz, olası artmış kapsül kontraktürü oranları) (80)
- abdominoplasti işlemleri (geniş diseksiyon alanı, abdominoplasti flebinin uç kısımlarındaki hali hazırdaki dolaşım sıkıntısının sigara ile çok yüksek oranlara ulaşması ve özellikle rektus plikasyonunun yarattığı karın içi yüksek basınç nedeniyle tromboza eğilimli olan bu hastalar sigara ile saatli bir bomba haline gelirler) (81)
- yüz germe (geniş alanda yapılan diseksiyonlar ve yüz dolaşımının nikotin gibi vazoaaktif ajanlara duyarlılığı) (82)
- meme küçültme (yağ nekrozu, meme başı kaybı, yara ayrışması) (83)
- replantasyon-revaskülerizasyon (uzuv kaybı) (84)
- serbest flep operasyonları (yara ayrışması, artmış verici alan komplikasyonları) (85)

Bu prosedürlerin çoğunun elektif ve özellikle estetik açıdan hasta tatmini gerektiren işlemler olduğunu düşünürsek, plastik cerrahların hastalarına sigara bırakma

konusunda cesaretlendirici olmalarının önemi daha da ortaya çıkar. Bu hem hastayı tıbbi olarak hem de kendimizi hukuki açıdan korumak için gereklidir. Maliyet analizlerinde de sigaranın artmış komplikasyon yönetimi giderleri nedeniyle ciddi bir ek maliyet girdisi olduğu görülmüştür. Hasta ve olgu bazında değerlendirilmesi gerekse de her koşulda en akılcı yol, riskleri hastaya iyi anlatarak, bu konuda iyi bilgilendirilmesini sağlamak, gerekirse cerrahi işlemi ertelemek ve hatta sigara bırakma tedavileri için hastayı bir danışmana yönlendirmek olacaktır.



3.GEREÇ VE YÖNTEM

Yağ doku transferi sırasında enflamasyon, proliferasyon, remodeling şeklinde yara iyileşme süreçleri yaşanır. Sigaranın pek çok yara modelinde bu süreçleri etkilediği bilinmektedir. Bu çalışmada yağ dokusu transferi sonrasında yaşanan yara iyileşmesinin, sigaradan etkilenip etkilenmediğın araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda ağırlıkları 200-240 gr arasında değişen 22 adet Sprague-Dawley tipi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar çalışma boyunca; her kafeste en fazla 4 hayvan olacak şekilde 6 adet polikarbonat kafeste, 21-22° C oda sıcaklığında, 12 saat gündüz / 12 saat gece fotoperiyodunda, %18-20 protein içeren pellet sıçan yemi ve serbest içme suyu sağlanarak tutulmuştur. Çalışma öncesi İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmış ve çalışma boyunca hayvan deneyleri araştırma protokollerine sadık kalınmıştır. Denekler sigara grubu ve kontrol grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Sigara grubunda 14 denek, kontrol gurubunda ise 8 denek bulundurulmuştur. Deneyin yağ doku greftlemesi aşamasından sonra ise sigara grubu ikiye ayrılarak, 7 sıçan ile sigarayı bırakan grubu, 7 sıçan ile ise sigaraya devam eden grubu oluşturulması planlanmıştır.

Çalışmanın patolojik ve biyokimyasal incelemeleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji A.D. ve Biyokimya A.D.'de yapılmıştır.

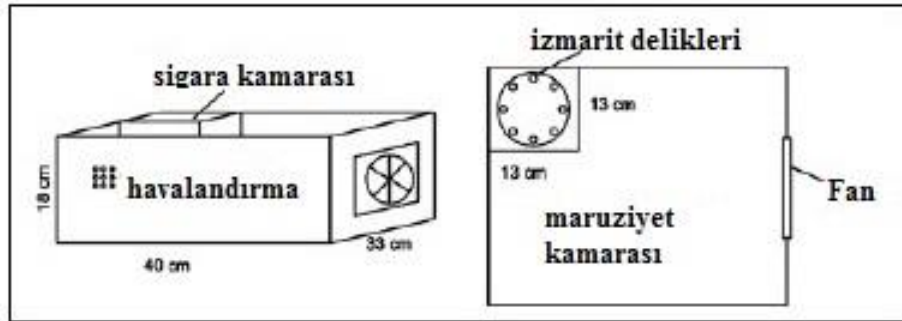
Çalışmamız temel olarak 5 aşamadan oluşmaktadır.

1. Deneklerde sigara bağımlılığı modelinin sağlanması
2. Ototolog yağ dokusu grefti operasyonu
3. Cerrahi sonrası yağ dokusu grefti maturasyonu için gereken sürenin beklenmesi
4. Transfer edilmiş yağ dokusu grefti örneklerinin geri alınarak, patoloji ve biyokimya birimlerine inceleme için teslim edilmesi. Biyokimyasal tetkikler için abdominal aortadan arter kan gazı örnekleme alınması
5. Deneklerin Sakrifiye edilmesi

3.1 BİRİNCİ AŞAMA

3.1.1 Sigara Maruziyet Sistemi Tasarımı

Hayvanların sigara dumanına maruziyeti için Braga-Gazelle'nin tarif ettiği sigara dumanı maruziyet modeli kullanılmıştır (86). Bu sistemde 40*33*17 cm ebatlarında, üstü kapaklı, dış duvarlarında havalanma aralıkları bulunan bir kutu tasarlanmıştır. Bu kutu delikli duvarlarla 2 odacığa ayrılacak şekilde inşa edilmiştir.(Şekil 13 ve 14) Büyük oda toplamda 4 adet sıçanın işlem sırasında tutulması için dizayn edilmiştir. Küçük oda ise tabanda sekiz adet sigarayı dikine tutacak hazneye sahip metal bir disk bulunan, delikli duvarlarla büyük odadan ayrılan ufak bir oda olarak sigaraların sıçanlardan ayrı tutulmasını sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Küçük odanın tam tersi tarafındaki duvara düşük voltajda çalışan bir bilgisayar fanı takılmıştır. Bu fan sayesinde oda içerisinde sürekli bir hava akımı oluşur ve ufak odadan büyük odaya yayılan sigara dumanı havalanma aralıklarında sistemi terk edebilir. Deney sırasında sisteme yayılan duman küçük odada kendiliğinden yanan sigaraların sisteme yaydığı dumandır, yani esas olarak pasif içicilik taklit edilen bir sistemdir.



Şekil 13: Deney Düzenegi Şema

3.1.2 Sigara bağımlılığı oluşturulması

Daha önce van Adrichen ve ark., Nolan J. Ve ark.'nın yaptığı çalışmalarda sıçanda sigara içim modelinin insandaki bağımlılık modeli taklit etmesi için 6 haftalık ön koşullanmaya ihtiyaç duyduğu ortaya koyulmuştur(87-90). Bu verilerden yola çıkarak 14 denekten oluşan sigara grubu, her seferinde sisteme maksimum 4 adet sıçan yerleştirilerek, her seferinde 8 adet sigara kullanılarak, günde 1 saat olacak şekilde

haftanın 5 günü sigaraya maruz bırakılmıştır. Deney boyunca aynı marka ticari sigara kullanılmıştır, kullanılan sigara izmariti yüksek miktarda katran(10 mg), karbon monoksit(10 mg) ve nikotin içermektedir(0,8 mg) içermektedir. 6.hafta bitiminde tüm sıçanlar cerrahi girişime tabii tutulmuştur.



Şekil 14: Deney Düzeneği

3.2 İKİNCİ AŞAMA

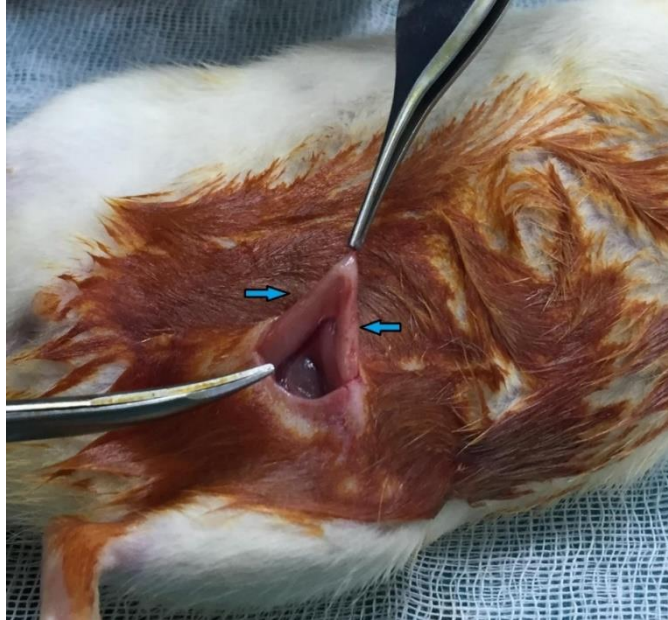
Sıçanlarda kutanöz sistem altında insan modeline benzer şekilde yağ dokusu depoları bulunmamaktadır. Donör alan olarak ulaşması kolay ve morbiditesi az olmasından dolayı inguinal bölgedeki yağ yastıkçıkları kullanılmıştır(91).

Cerrahi öncesi sıçanlara genel anestezi için intraperitoneal 30-35 mg/kg ketamin+10 mg/kg xylasin kombinasyonu enjeksiyonu uygulanmış, lokal asepsi kurallarına uygun olarak cerrahi alan olan kasık ve sırt bölgeleri traşlanmış ve povidon iyot ile temizlenmiştir(şekil 13 ve 14), enfeksiyon profilaksisi amaçlı cerrahi öncesi tek doz subkutan 150 mg/kg ampisilin+sulbaktam tatbik edilmiştir.

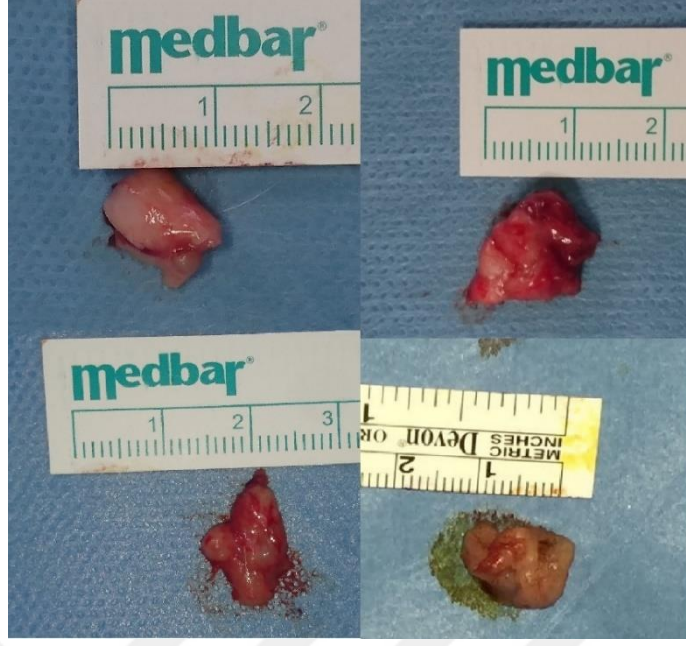


Şekil 15: Cerrahiye Hazırlanmış Sıçan

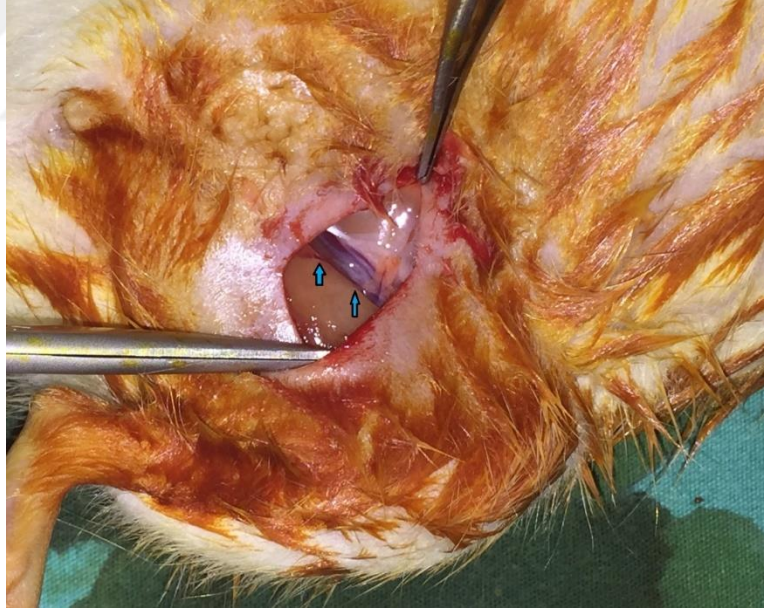
Kasık bölgesine yapılan kesi ile cilt altına geçilip kasık yağ yastıkçığı femoral pedikülden serbestlenerek ayrılmış tek parça yağ dokusu grefti olarak alınmıştır(şekil 15,16,17). Alınan yağ greftlerinin daha sonraki ağırlık ölçümlerinde anlamlı bir sonuç elde etmek için birbirlerine eş olmasına çalışılmıştır. Lenf ödem oluşturup, fazladan bir stress durumu yaratmamak için tüm yağ yastıkçığı alınmamıştır. Greft elde etme aşamasında kasık yağ yastıkçığına giden damar paketinin bağlanması sonrasında kanama ve hayvan kaybı riskini en aza indirmek için önemlidir.(19)



Şekil 16: Sıçan Kasık Yağ Yastıkçığı



Şekil 17: Çıkarılmış Yağ Yastıkçığı



Şekil 18: Femoral Pedikül

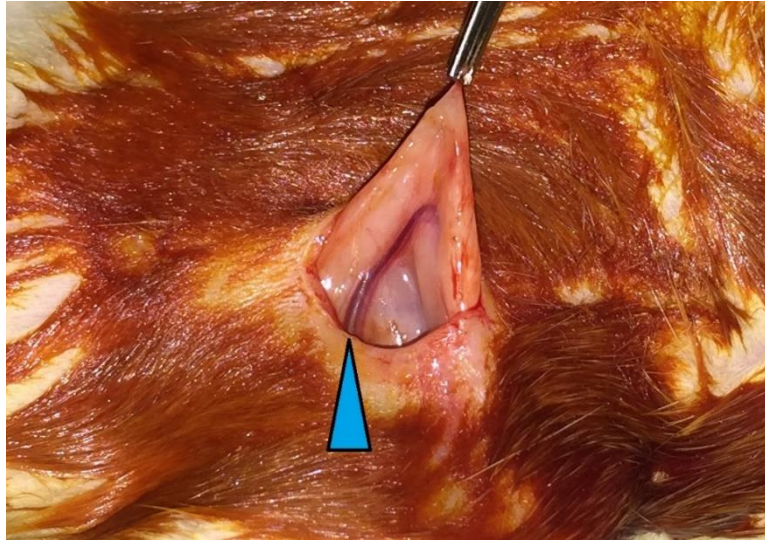
Greft kurumadan hızlı bir şekilde hassas terazi ile yapılan ölçümde alınan gretlerin ağırlıkları ölçülmüş, greftler 50 mg olacak şekilde ayarlama yapılmıştır. Alınan yağ doku grefti tabla üzerinde bistüri ile ince parçalara ayrılarak kıyılmış halde transfere hazır hale getirilmiştir(şekil 18). Bu sayede maksimum difüzyon için çevre dokuyla maksimum temas ilkesi sağlanmaya çalışılmıştır.



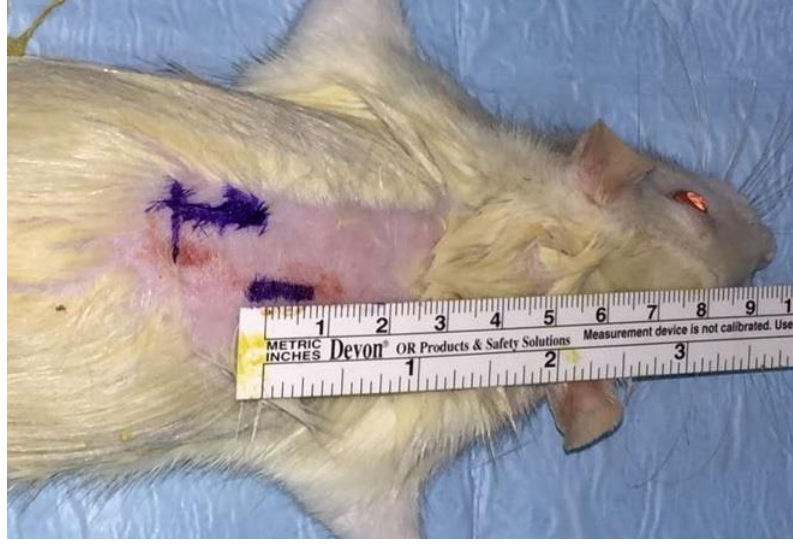
Şekil 19: Kıyılmış Transfere Hazır Yağ Dokusu Grefti

Alıcı alan olarak yağ doku içermeyen, sırt cilt altı-kas üstü plan seçilmiştir. Bu sayede patolojik incelemenin daha objektif olması hedeflenmiştir.

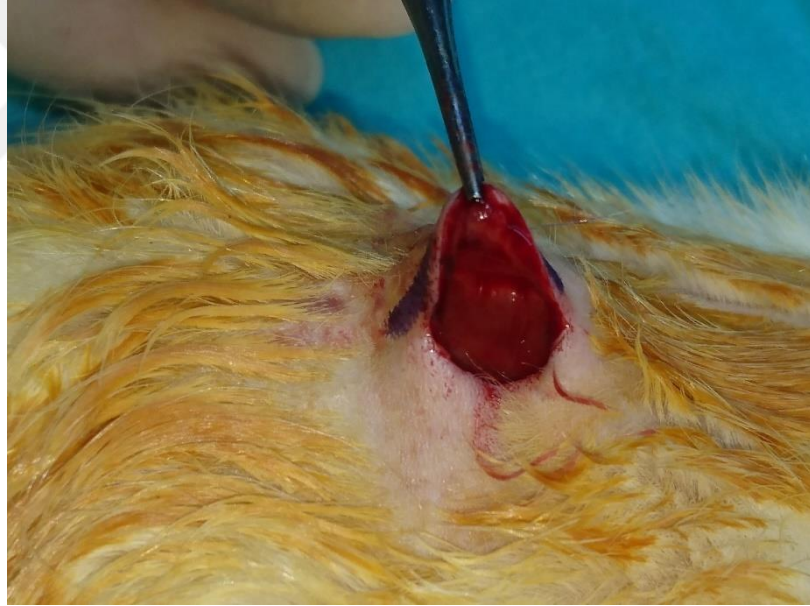
Sırt orta hatta yapılan yaklaşık 1,5 cm cilt kesisi ile girilip, cilt altı makas yardımı ile dekole edilerek kas üstü planda alıcı alan hazırlanmıştır (Şekil 20,21). Alıcı alana hazırlanan yağ dokusu grefti yayılarak yerleştirilmiş (Şekil 22). Sonrasında verici alan ve alıcı alan sütüre edilerek operasyona son verilmiştir. Tarif edilen yöntemle sigara ve kontrol gurubundaki 22 hayvan ameliyat edilmiş, operasyon sonrası sigara grubunda kanamaya bağlı bir adet denek kaybı yaşanmıştır. Bu kasık yağ yastıkçığına giden damar paketinin bağlanmasının önemini göstermiştir.



Şekil 20: Kasık yağ yastıkçığına giden damar paketi



Şekil 21: Sıçan Sırt Bölgesi, Alıcı Alan



Şekil 22: Alıcı Saha (greft yerleştirilmeden önce)



Şekil 23: Alıcı Saha (greft yerleştirilmiş halde)

3.3 ÜÇÜNCÜ AŞAMA

Sunaga ve ark.'ın ve Alexandra Conde-Green ve ark.'ın çalışma nonvaskülarize yağ doku greftlemesi sağkalımı üzerinde yaptığı çalışmalarda(4,5) yağ greftinin histolojik maturasyonu için yaklaşık 6 hafta gerektiği ortaya koyulmuştur. Bu çalışma model alınarak cerrahi sonrası deneklerdeki yağ doku greftlerinin sağ kalımını gözleyebilmek için cerrahi sonrası 6 hafta daha deneye devam edilmiştir.

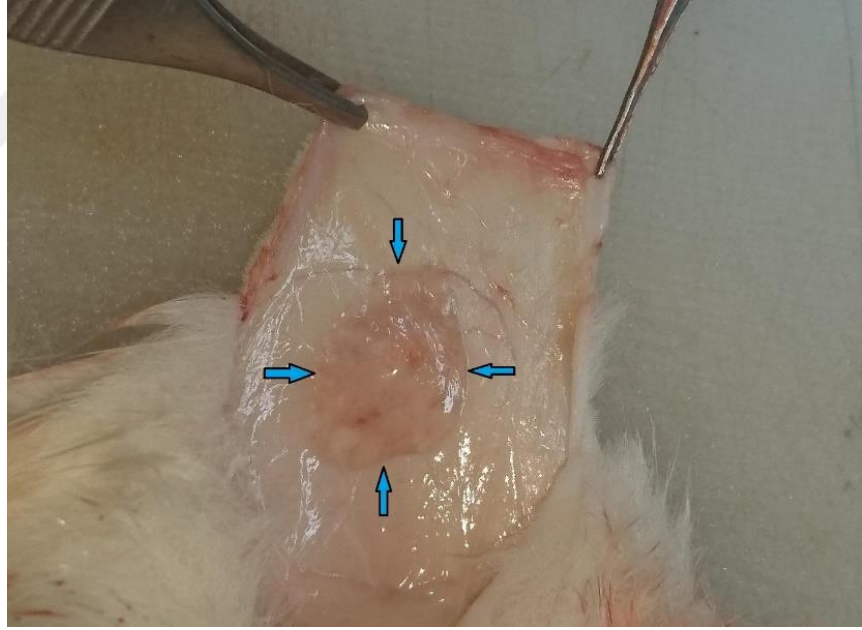
Cerrahi sonrası sigara gurubundaki 13 denek rastgele seçim sonrası iki gruba ayrılmış 7 deneğe tarif edilen modelle sigara maruziyetine devam edilmiştir. Grubun adı sigaraya devam eden grup olarak belirlenmiştir. 6 adet deneğin ise maruziyeti sonlandırılmış grup olarak sigarayı bırakan grup olarak adlandırılmıştır. 8 adet sıçandan oluşan kontrol grubuna ise cerrahi öncesi ile aynı koşullarda bakıma devam edilmiştir.

3.4 DÖRDÜNCÜ AŞAMA

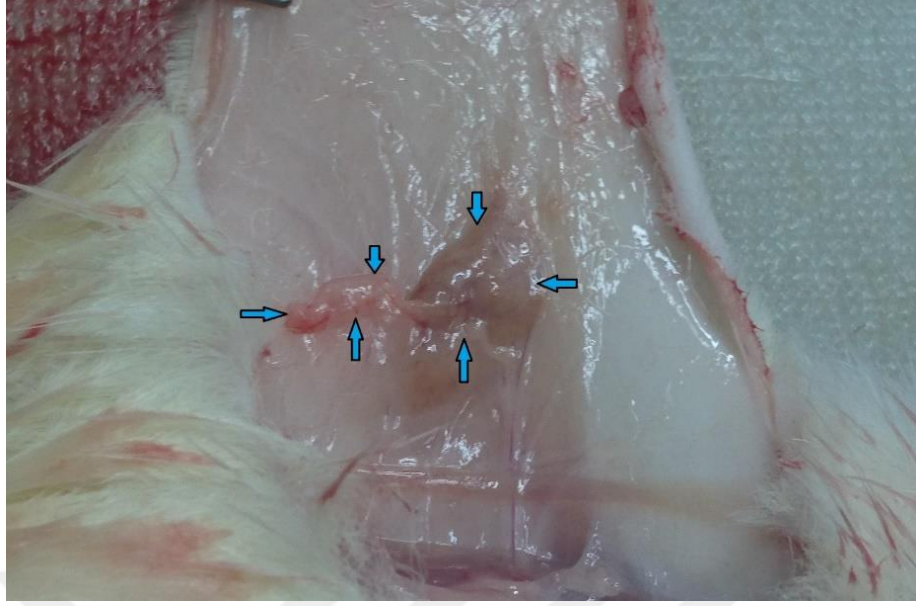
Yağ dokusu greftlerinin maturasyonunu tamamlaması amacıyla otolog transfer sonrası 6 hafta beklenmiş. Ardından nihai cerrahiye geçilmiştir.

Cerrahi öncesi sıçanlara genel anestezi için intraperitoneal 30-35 mg/kg ketamin+10 mg/kg xylasin kombinasyonu enjeksiyonu uygulanmış, lokal asepsi

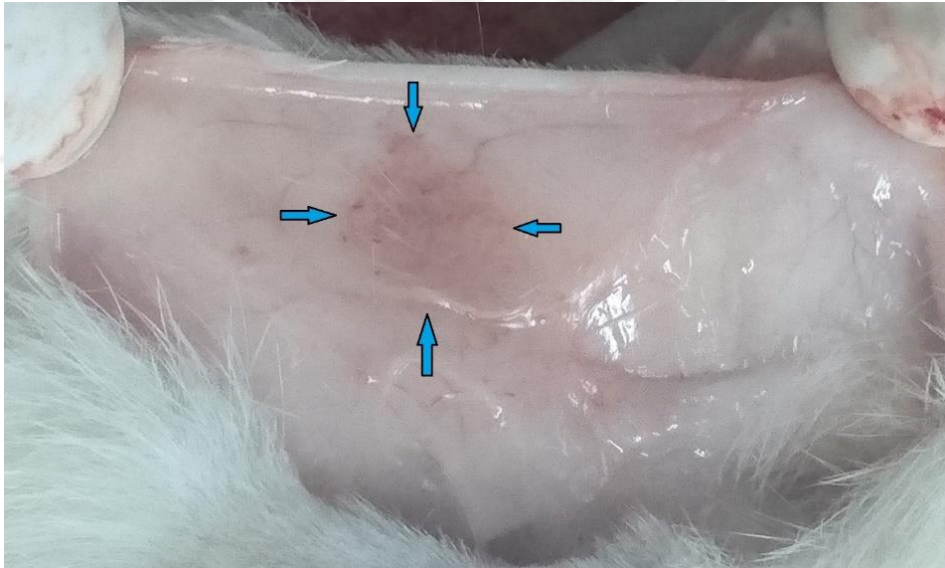
kurallarına uygun olarak cerrahi alan sırt bölgeleri traşlanmış ve povidon iyot ile temizlenmiştir. Sırt bölgesinde cilt altı alana geçilerek inspeksiyonla yağ dokusu grefti tespit edilmiştir, bu aşamada klinik gözlem ile sigara içmeyen kontrol grubu, sigaraya devam grubu ve sigarayı bırakan grubu arasında fark olduğu izlenmiştir(figür 23,24,25). Sonrasında çıkartılan greft hassas terazi ile tartılmıştır(şekil 25). Tartım sonrası patolojik inceleme için %10 formolaldehit içeren solüsyon içerisinde patoloji laboratuvarına teslim edilmiştir. Patolojik incelemede hematoksilin&eoziin ve perilipin boyama kullanılmıştır. Perilipin immunohistokimya boyama yöntemi canlı adipositleri, ölü adipositlerden ayırmak amacıyla kullanılmakta ve bunu da canlı adipositlerdeki lipid damlacıklarına bağlanarak yapmaktadır. Boyalı preparatlarda adipoz doku/fibrozis oranlarına, perilipinle boyanan adiposit ve kök hücre oranlarına, dokularda inflamasyon ve granülasyon doku yoğunluğuna ve yeniden damarlanma oranlarına bakılmıştır.



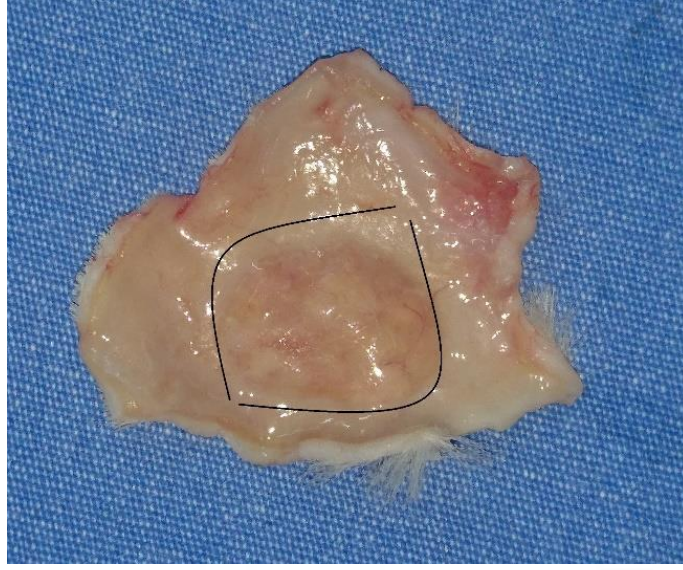
Şekil 24: Mature Olmuş Yağ Dokusu Grefti, Kontrol Grubu



Şekil 25: Mature Olmuş Yağ Dokusu Grefti, Sigarayı Bırakan Grubu



Şekil 26: Rezorbe Olmuş Yağ Dokusu Grefti, Sigaraya Devam Eden Grubu (yağ dokusu grefti kitlesi tamama yakın kaybolmuş durumda, inflamasyon benzeri saha izlenmekte)



Şekil 27: İnceleme için Çıkarılmış Yağ Dokusu Grefti Örneği, Kontrol Grubu
(Çıkarılan cilt-yağ grefti bloğuna greft tarafından bakılmaktadır. Çizgili saha içinde yağ doku grefti alanı izlenmektedir.)

Karın bölgesinden laparotomi insizyonu ile girilmiş nikotin metaboliti olan kotinin ve MDA ölçümü için abdominal aortadan alınan kanda arter kan gazı örnekleme yapılmıştır. Kotinin en önemli ve en sık ölçüm amaçlı kullanılan nikotin metabolitidir. Kısa dönem maruziyeti göstermesi dışında bazı kaynaklarda uzun dönem maruziyeti de gösterebildiği belirtilmiştir. Kotinin miktarı ile hem gruplar arası maruziyet karşılaştırılacak hem de sistemin yeterli maruziyet oluşturup oluşturmadığı ortaya konulacaktır. MDA ise lipid peroksidasyonunun son bozunma ürünlerindedir ve ölçülmesindeki amaç MDA miktarı üzerinde oksidasyon stresini belirlemek ve gruplar arası karşılaştırmaktır. Biyokimya için örnekler alındıktan sonra denekler intraperitoneal yüksek doz ketamin verilerek sakrifiye edilmiştir.

3.5 BULGULARIN DEĞERLENDİRİLME YÖNTEMLERİ

3.5.1 Denek Hayvanları ile İlgili Gözlemler

Deney boyunca hayvanların genel durumu ile ilgili bir probleme rastlanmadı. Sigara dumanına maruz bırakılan hayvanların tüylerinde kontrol grubuna göre belirgin sararma izlendi. Bırakan grubundaki hayvanlarda sigara maruziyeti kesildikten sonra, tüy sararmasında geriye dönüş olmadı. Tüm denekler çalışma öncesinde ve çalışma sonunda

tartıldı. 3 gruptaki denekler arasında deney boyunca en fazla besin tüketen grup ve diğer gruplara göre anlamlı kilo artışı olan grubun sigarayı bırakan grubundaki hayvanlar olduğu görüldü. Her hangi bir gruptaki deneklerde kendilerini öne çıkartacak şekilde bağımlılık ya da ajitasyon içeren davranış paternlerine rastlanmadı.

3.5.2 Ağırlık Analizi

İlk cerrahi sırasında kasıktan çıkartılan greftlerin ağırlıkları, greftler kıyılmadan önce hızlıca ve kurumasına izin verilmeden hassas terazide tartıldı ve mikrogram cinsinden kaydedildi. Elde edilen sonuçlar greftlerin yerleştirilmeden önceki ağırlığı ile karşılaştırılmıştır. Bu değerlendirme sırasında sıçanların deney başındaki ağırlıkları ile en son ağırlıkları karşılaştırılmış, ağırlık değişimi olan sıçanların sonuç greft ağırlıklarında düzeltilmiş değerler dikkate alınmıştır.

3.5.3. Biyokimyasal İncelemeler

Yağ grefti bölgesinden alınan örneklerde ve serumda, yağ peroksidasyonunu gösteren biyogösterge olan MDA ve uzun dönem sigara maruziyetini gösteren bir nikotin(94) metaboliti olan kotinin ölçümleri yapıldı. Anlamlı(yoğun pasif içicilik, alt seviye aktif içicilik) sigara maruziyeti için kotinin serum alt düzeyi 5 ng/ml(101) olarak belirlendi.

Sprague- Dawley ırkı sıçanlardan alınan yağ dokuları serum fizyolojik ile yıkanarak hemen donduruldu ve -80 °C 'de analiz gününe kadar saklandı. Tam kan örnekleri 3000 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve elde edilen serum örnekleri -80 °C 'de dondurularak analiz gününe kadar saklandı.

Çalışma günü serum ve doku örnekleri oda sıcaklığına getirildi. Doku ağırlıkları ölçüldü. Dokular son hacimde mL'de 50 mg doku olacak şekilde ileve edilen fosfat tampon çözeltisinde (1 Molar, pH 7.4) buz üzerinde el homojenizatörü ile homojenize edildi. Homojenatların santrifijü ile elde edilen süpernatatlar kotinin ve MDA analizinde kullanıldı.

3.5.3.1 Kotinin Analizi

Kotinin analizinde ticari, yarışmalı Elisa kiti kullanıldı (Elabscience, Catalog No: E-EL-0064). Seri dilüsyonla stok standarttan çalışma standartları referans (40;

20;10;5;2.5; 1.25; 0.625 ng/mL) hazırlandı. 50 µl referans standart, serum ve doku örnekleri ELISA kuyucuklara uygulandı, akabinde biyotinle işaretlenmiş antikor eklendi. Mikrokuyucuklar, 37°C' de etüvde ağzı kapalı şekilde 45 dakika inkübe edildi. Kuyucuklar yıkama çözeltisi ile yıkandı. Enzim konjugatı ve substratı eklendikten sonra 37°C'de 2.inkübasyon yapıldı. Reaksiyonları durdurma çözeltisinin ilave edilmesinden sonraki ilk 10 dakika içinde 450 nm'de kotinin absorbans ölçümleri yapıldı. Çizilen standart eğriden, örneklerin okunan absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyonlar bulundu. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

3.5.3.2 MDA Analizi

MDA analizinde ticari, yarışmalı Elisa kiti kullanıldı (Elabscience, Catalog No: E-EL-0060). Seri dilüsyonla stok standarttan çalışma standartları referans (2000, 1000, 500,250,125,62.5, 31.25, 0 ng/mL) hazırlandı. 50 µl referans standart, serum ve doku örnekleri ELISA kuyucuklara uygulandı, akabinde biyotinle işaretlenmiş antikor eklendi. Mikrokuyucuklar, 37°C' de etüvde ağzı kapalı şekilde 45 dakika inkübe edildi. Kuyucuklar yıkama çözeltisi ile yıkandı. Enzim konjugatı ve substratı eklendikten sonra 37°C'de 2.inkübasyon yapıldı. Reaksiyonları durdurma çözeltisinin ilave edilmesinden sonraki ilk 10 dakika içinde 450 nm'de kotinin absorbans ölçümleri yapıldı. Çizilen standart eğriden, örneklerin okunan absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyonlar bulundu. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

3.5.4 Histopatolojik Değerlendirme

Perilipin immünohistokimyasal boyası, H&E boyalı lamalarla eş zamanlı değerlendirildi. Perilipinle boyanan lipoblast ve matür adiposit miktarı tespit edildi. H&E ile dokulardaki inflamasyon, yeniden damarlanma, adipoz doku/fibrozis oranları değerlendirildi.

3.5.4.1 Hematoksilen Eozin Boyama Prosedürü

Formol içindeki dokular kasetlenerek takip cihazına girdi. Parafinize olmuş dokulardan blok lama işlemi gerçekleştirildi. Parafin bloklardan 3 mikronluk kesitler lama alındı. Sonra sırayla boyama işlemi gerçekleştirildi:

Dokular, 10'ar dakika sürelerle Xylol içerisinde bekletilerek deparafinize edildi. Deparafinize edilmiş dokular dehidrasyon amacıyla sırasıyla Absolut alkol, %95'lik

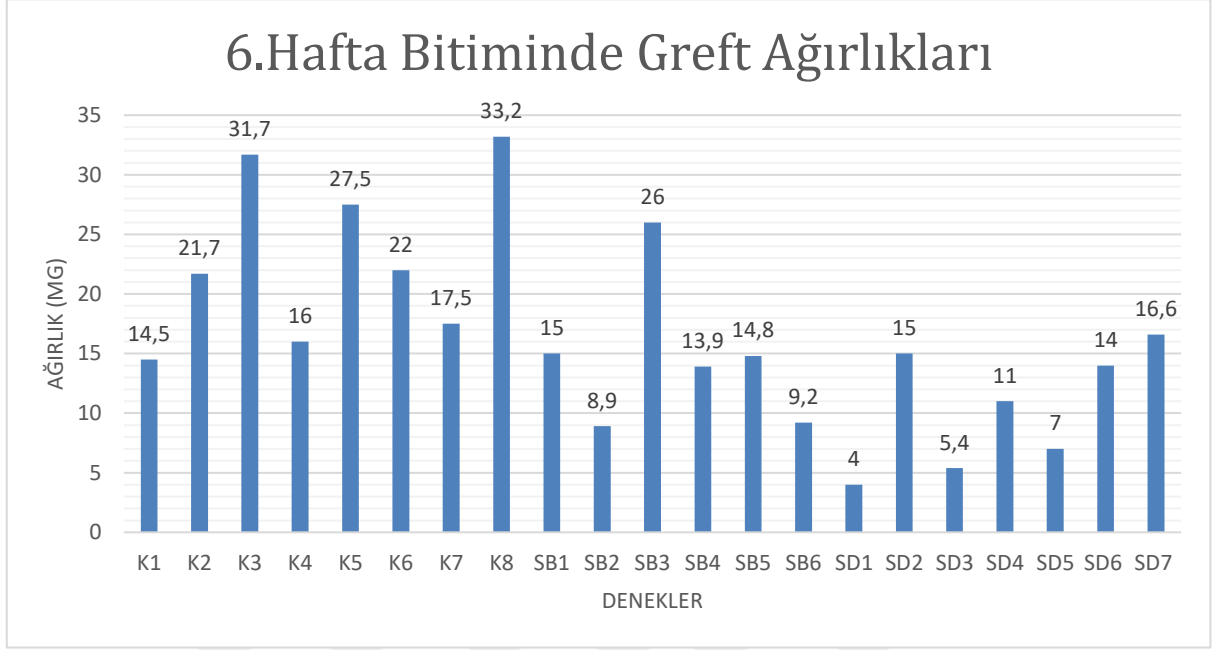
alkol, %80'lik alkol ve %70'lik alkolden 10'ar dakika süreyle geçirildi. Dokular hematoksilene alınıp 5-6 dakika boyunca tutuldu. Hematoksilenden çıkarılan dokular akan su altında yaklaşık olarak 5-10 dakika boyunca yıkandı. Yıkanan dokular asit alkole daldırılıp birkaç saniye soluk mavi renk alana kadar tutuldu ve ikinci yıkamaya alındı. 5 dakika akan suda yıkandı. İkinci yıkamaya tabi tutulan dokular eozine daldırılıp 3-4 dakika boyunca tutuldu. Dokulardaki fazla eozini uzaklaştırmak için sırasıyla %70, %80, %95 ve absolut alkolden geçirildi. İlk 3 alkole dokular daldırılıp çıkarılırken absolut alkolde 15-20 dakika tutuldu. Çıkış Xylo'u ve yapıştırma aşamalarından sonra dokular kurumaya bırakıldı.

3.5.4.2 İmmünohistokimya Boyama Prosedürü

Olguların tümünde immünohistokimyasal inceleme için formalin tespitle parafine gömülü dokulardan elektrostatik yüklü lamlara 5 mikron kalınlıkta kesitler alındı. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarmada dahil olmak üzere tüm immünohistokimyasal boyama işlemleri otomatik immünohistokimya boyama cihazında (VENTANA Benchmark XT, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) gerçekleştirildi. İşlem için cihaza uygun biyotinsiz HRP multimer bazlı hidrojen peroksit substrat ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni içeren hazır kit (Ventana) kullanıldı. Perilipin için 1/100 dilüsyon uygulandı. Zıt boyaması boyama cihazında hematoksilin ve mavileştirici solüsyonla tamamlanıp dehidratasyon ve ksilen aşamalarından sonra işlem sonlandırıldı. Işık mikroskobu altında 200 büyütmede perilipin ile boyalı lipoblast ve matür yağ dokusu hücreleri değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1 AĞIRLIK ANALİZİ



Grafik 1: Tüm Denekler Nihai Greft Ağırlık Miktarları

Tablo 1: Greft Ağırlıkları

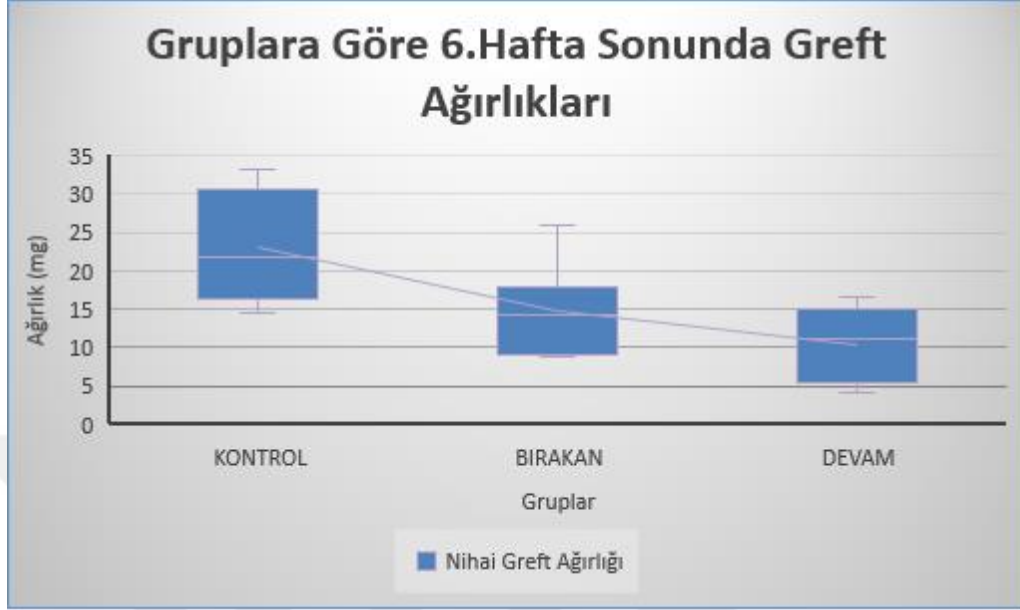
Grup	Mean	N	Std. Sapma	Std. Hata Mean
KONTROL Pair 1 Başlangıç Ağırlığı	50	8	0	0
Nihai Ağırlık	23,0125	8	7,11305	2,51484
BIRAKANLAR Pair 1 Başlangıç Ağırlığı	50	6	0	0
Nihai Ağırlık	13,2667	6	5,56225	2,27078
DEVAM Pair 1 Başlangıç Ağırlığı	50	7	0	0
Nihai Ağırlık	10,4286	7	5,00723	1,89256

Gruplar arasındaki greft ağırlıkları ve greft ağırlık kaybı miktarlarını karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi uygulandı.

Kontrol grubu ile bırakan grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p < 0,05$)

Kontrol grubu ile devam grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. ($p < 0,05$)

Birakan grubu ile devam grubu arasında greft ağırlıkları azalmakla istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p < 0,05$)



Grafik 2: Gruplar Arasında Greft Ağırlık Miktarı Farkları

4.2 BİYOKİMYA ANALİZLERİ

Tablo 2: Biyokimyasal Analiz Sonuçları

GRUPLAR		Serum Kotinin ng/mL	Doku kotinin ng/mL	Serum MDA ng/mL	Doku MDA ng/mL
KONTROL	Ortalama	4,3175	1,6786	140,8138	24,4263
	Adet	8	7	8	8
	Std. Sapma	1,39535	1,01282	53,06332	4,98301
SİGARAYI BIRAKAN	Ortalama	7,2275	2,2667	268,49	30,16
	Adet	5	4	6	5
	Std. Sapma	1,55122	0,48274	261,86674	3,00035
SİGARAYA DEVAM EDEN	Ortalama	7,8286	2,9386	256,0057	35,4157
	Adet	7	7	7	7
	Std. Sapma	1,53365	1,08038	161,18796	3,32216
Toplam	Ortalama	6,2237	2,3012	210,1321	29,6556
	Adet	20	18	21	20
	Std. Sapma	2,18694	1,09502	157,78246	6,46175

Tablo 3: Kontrol Grubu-Birakan Grubu Karşılaştırılması

X	Serum kotinin ng/mL	Doku kotinin ng/mL	Serum MDA ng/mL	Doku MDA ng/mL
Mann-Whitney U	3	6	7	3
Wilcoxon W	39	34	43	39
Z	-2,212	-1,026	-1,529	-1,837
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,027	0,305	0,126	0,039
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,028 ^a	,383 ^a	,154 ^a	,044 ^a

Tablo 4: Kontrol Grubu-Devam Grubu Karşılaştırılması

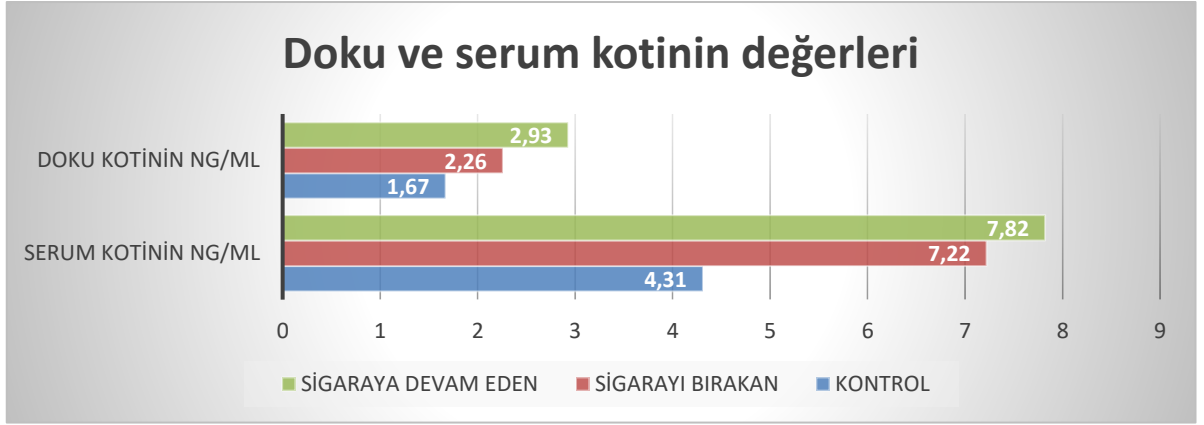
Sütun1	Serum cotinin ng/mL	Doku kotinin ng/mL	Serum MDA ng/mL	Doku MDA ng/mL
Mann-Whitney U	3	7	14	1
Wilcoxon W	39	35	50	37
Z	-2,896	-2,236	-1,62	-3,125
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,004	0,025	0,105	0,002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^a	,026 ^a	,121 ^a	,001 ^a

Tablo 5: Bİrakan Grubu-Devam Grubu Karşılaştırılması

X	Serum kotinin ng/mL	Doku kotinin ng/mL	Serum MDA ng/mL	Doku MDA ng/mL
Mann-Whitney U	9	7	12	2
Wilcoxon W	19	13	22	8
Z	-0,945	-0,798	-0,378	-1,937
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,345	0,425	0,705	0,053
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,412 ^a	,517 ^a	,788 ^a	,067 ^a

Biyokimyasal sonuçların değerlendirilmesinde gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. İkili ilişkiler değerlendirilmiştir.

4.2.1 Kotinin Düzeyleri ile Sigara Maruziyet Modelinin ve Gruplar Arası Maruziyet Farklarının Değerlendirilmesi



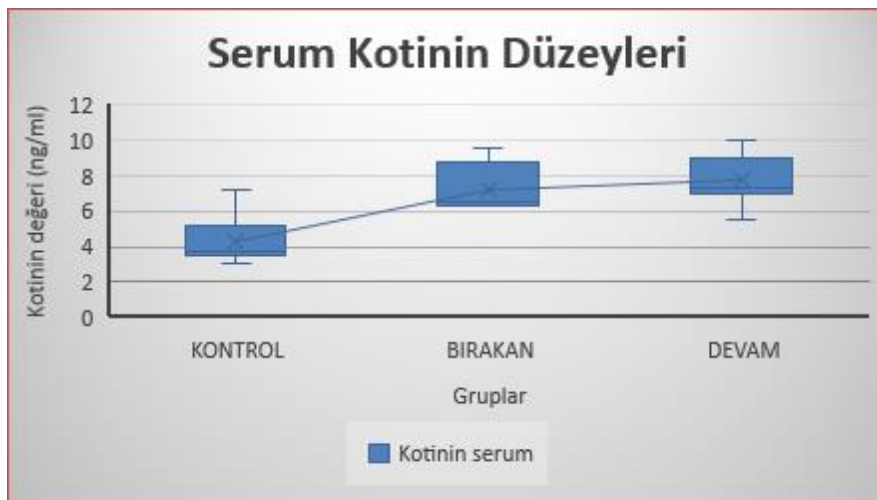
Grafik 3: Gruplar Arası Kotinin Düzeyi Farklılıkları

4.2.1.1 Serum Kotinin Düzeyleri Değerlendirilmesi (Grafik 4)

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p < 0,05$) (Tablo 3)

Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p < 0,05$) (Tablo 4)

Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p < 0,05$) (Tablo 5)



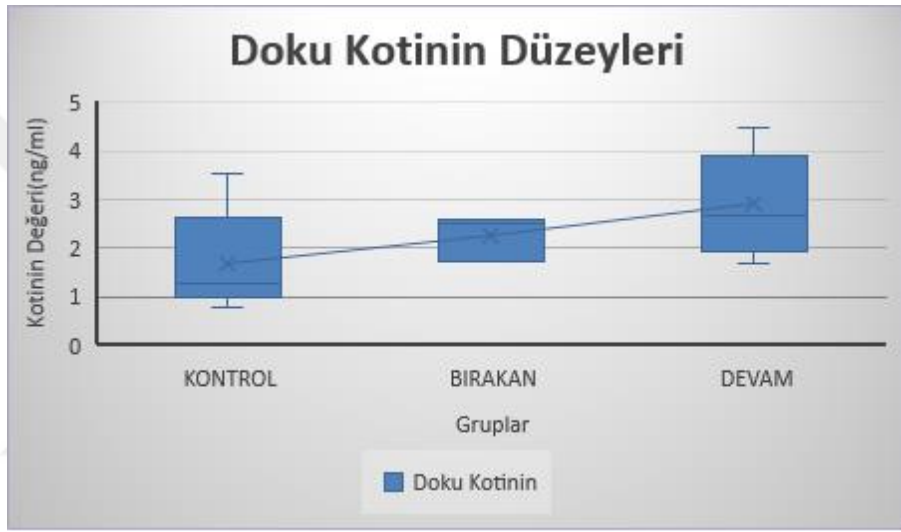
Grafik 4: Gruplar Arası Serum Kotinin Düzeyleri Farklılıkları

4.2.1.2 Doku Kotinin Düzeyleri Değerlendirilmesi (Grafik 5)

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p<0,05$) (Tablo 3)

Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p<0,05$) (Tablo 4)

Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p<0,05$) (Tablo 5)



Grafik 5: Gruplar Arası Doku Kotinin Düzeyi Farklılıkları

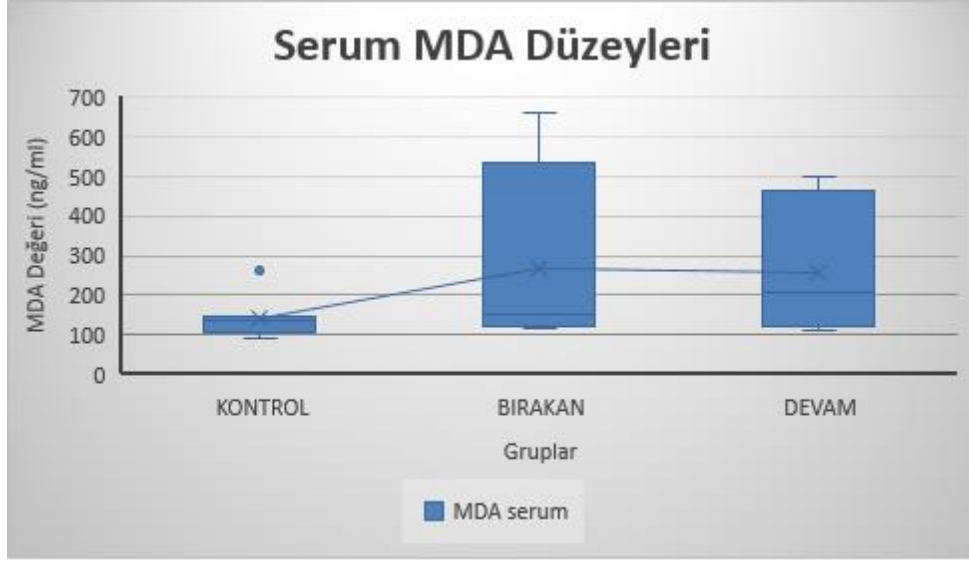
4.2.2 MDA Seviyelerinin ve Buna Bağlı Oksidatif Stres Seviyelerinin Değerlendirilmesi; Gruplar Arasındaki Farkların Karşılaştırılması

4.2.2.1 Serum MDA Düzeyleri Değerlendirilmesi (Grafik 6)

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p<0,05$) (Tablo 3)

Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p<0,05$) (Tablo 4)

Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p<0,05$) (Tablo 5)



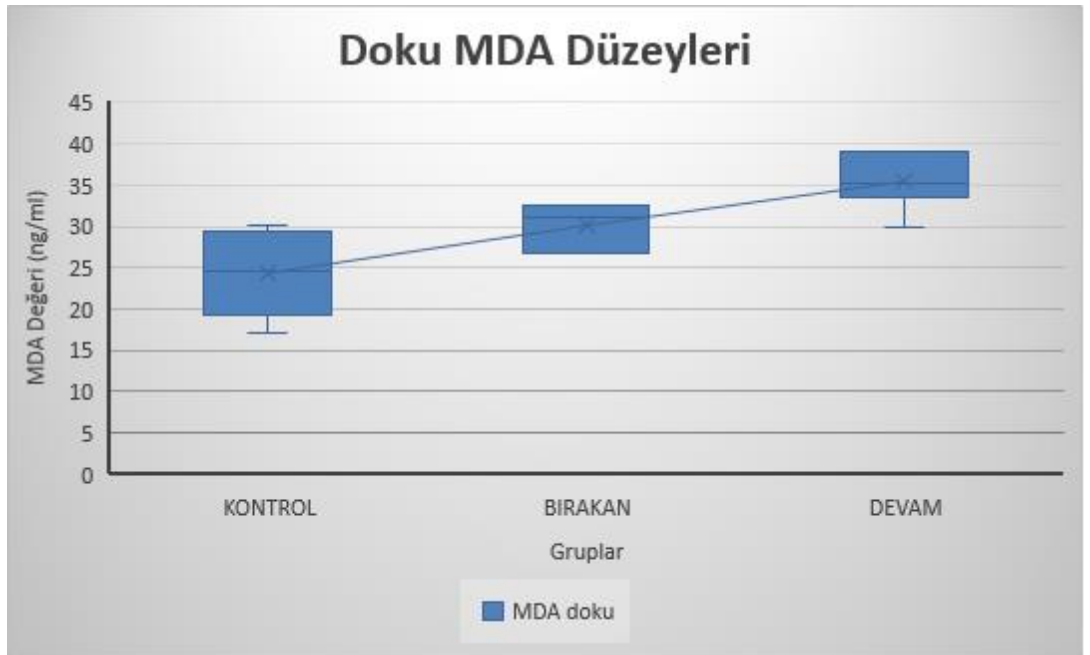
Grafik 6: Gruplar Arası Serum MDA Düzeyleri Farklılıkları

4.2.2.2 Doku MDA Düzeylerinin Değerlendirilmesi (Grafik 7)

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p < 0,05$) (Tablo 3)

Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p < 0,05$) (Tablo 4)

Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p < 0,05$) (Tablo 5)

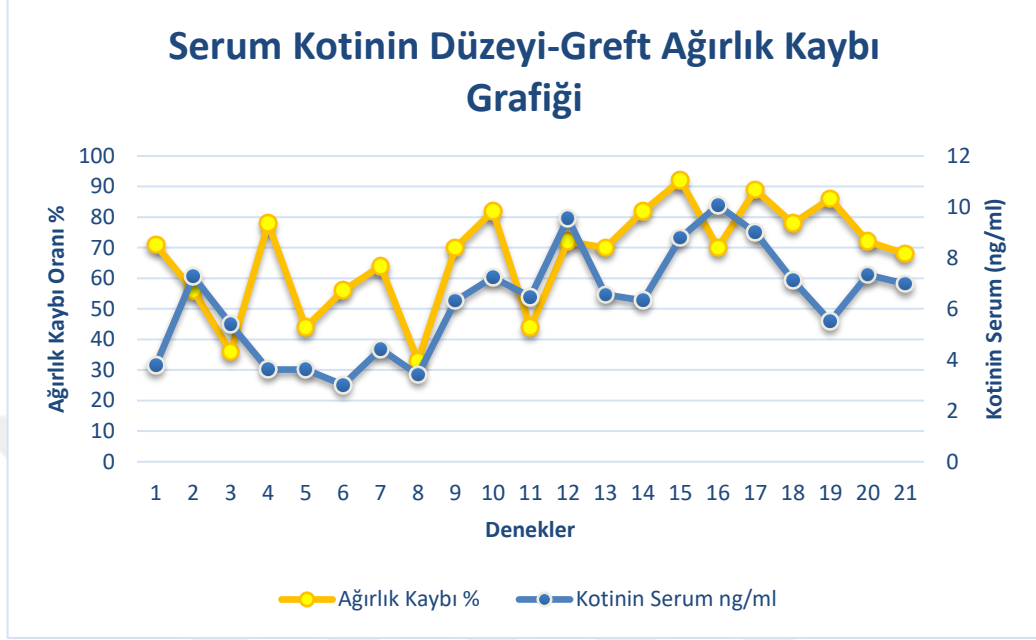


Grafik 7: Gruplar Arası Doku MDA Düzeyleri Farklılıkları

Tablo 6 Korelasyon Analizi (KOTS-Serum Kotinin, KOTD- Doku Kotinin, MDAS- Serum MDA, MDAD- Doku MDA)

GRUPLAR	DEĞERLER	KİLOKAYBI	KİLO KORUNMASI	KOTS	KOTD	MDAS	MDAD	İLK AĞIRLIK	NİHAİ AĞIRLIK
KİLOKAYBI	Korelasyon Katsayısı	1	-,997**	,557**	0,397	0,349	,594**	.	-,997**
	Sig. (2-tailed)	.	0	0,009	0,092	0,122	0,006	.	0
	Adet	21	21	21	19	21	20	21	21
KİLO KORUNMASI	Korelasyon Katsayısı	-,997**	1	-,542*	-0,394	-0,346	-,588**	.	1,000**
	Sig. (2-tailed)	0	.	0,011	0,095	0,125	0,006	.	.
	Adet	21	21	21	19	21	20	21	21
KOTS	Korelasyon Katsayısı	,557**	-,542*	1	0,28	,546*	,638**	.	-,542*
	Sig. (2-tailed)	0,009	0,011	.	0,245	0,01	0,002	.	0,011
	Adet	21	21	21	19	21	20	21	21
KOTD	Korelasyon Katsayısı	0,397	-0,394	0,28	1	0,162	,764**	.	-0,394
	Sig. (2-tailed)	0,092	0,095	0,245	.	0,508	0	.	0,095
	Adet	19	19	19	19	19	19	19	19
MDAS	Korelasyon Katsayısı	0,349	-0,346	,546*	0,162	1	,480*	.	-0,346
	Sig. (2-tailed)	0,122	0,125	0,01	0,508	.	0,032	.	0,125
	Adet	21	21	21	19	21	20	21	21
MDAD	Korelasyon Katsayısı	,594**	-,588**	,638**	,764**	,480*	1	.	-,588**
	Sig. (2-tailed)	0,006	0,006	0,002	0	0,032	.	.	0,006
	Adet	20	20	20	19	20	20	20	20
İLK AĞIRLIK	Korelasyon Katsayısı
	Sig. (2-tailed)
	Adet	21	21	21	19	21	20	21	21
NİHAİ AĞIRLIK	Korelasyon Katsayısı	-,997**	1,000**	-,542*	-0,394	-0,346	-,588**	.	1
	Sig. (2-tailed)	0	.	0,011	0,095	0,125	0,006	.	.
	Adet	21	21	21	19	21	20	21	21

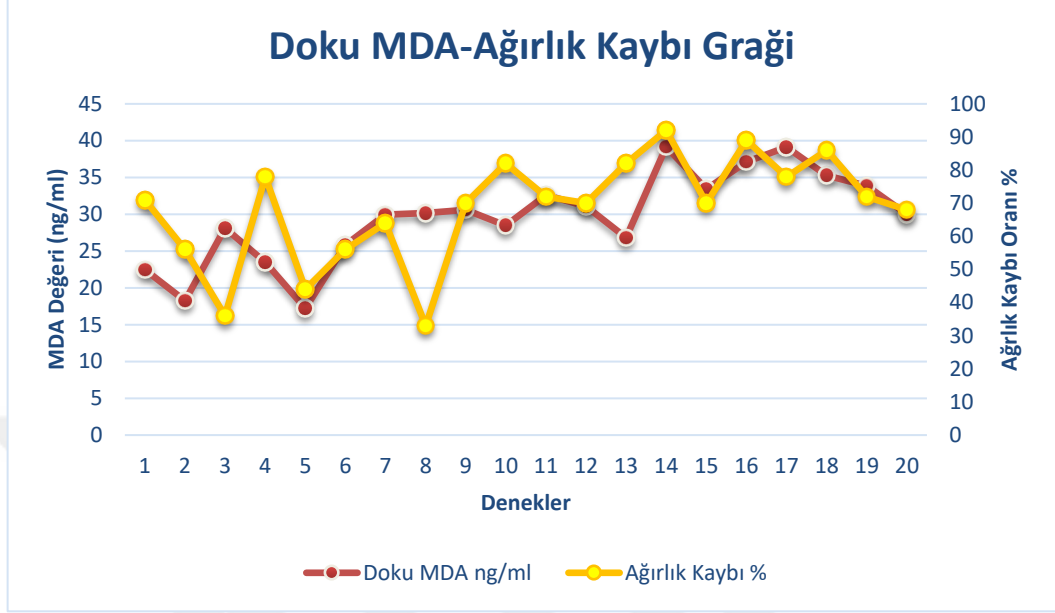
4.3 SERUM KOTİNİN DÜZEYLERİ İLE GREFT AĞIRLIK KAYBI ARASINDAKİ İLİŞKİ



Grafik 8: Serum Kotinin Düzeyleri ile Greft Ağırlık Kaybı İlişkisi

Serum kotinin düzeyleri ile greft ağırlık kaybı arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için nonparametrik korelasyon analizi Spearman's rho testi uygulandı. Serum kotinin düzeyleri ile greft ağırlık kaybı miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu görüldü ($p < 0,05$) (Grafik 8)

4.4 OKSİDATİF STRES DÜZEYLERİNİN GREFT KAYBIYLA İLİŞKİSİ



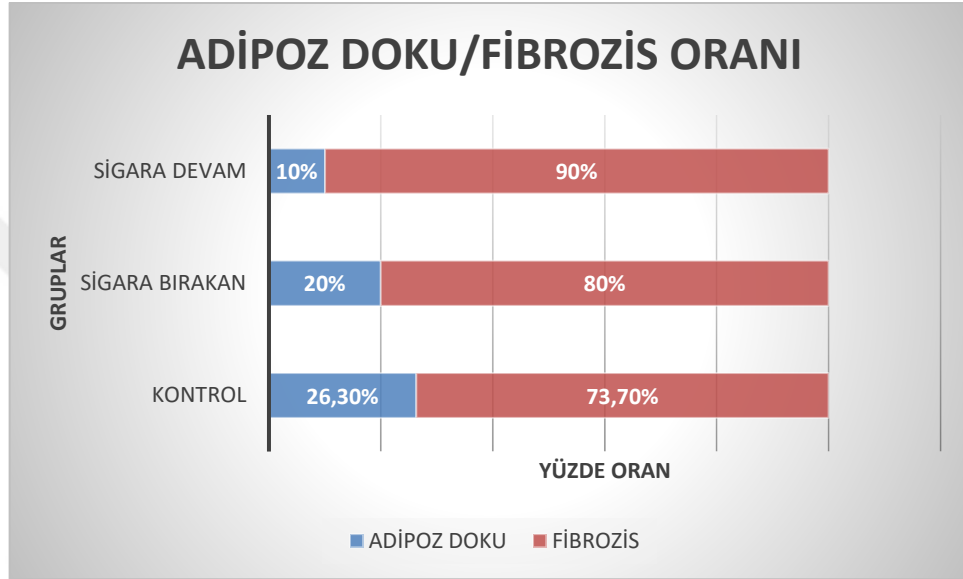
Grafik 9: Doku MDA Düzeyleri ile Greft Ağırlık Kaybı İlişkisi

Doku MDA düzeyleri ile greft ağırlık kaybı miktarı arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için nonparametrik korelasyon analizi Spearman's rho testi kullanıldı. Doku MDA düzeyleri ile greft ağırlık kaybı arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu görüldü ($p < 0,05$) (Grafik 9)

4.5 PATOLOJİK ANALİZLER

4.5.1 dipoz Doku/Fibrozis Oranı

Adipoz dokunun fibrotik dokuya oranı H&E ve perilipin boyalı preparatlarda incelenerek, 6. hafta sonundaki greftteki doku yapısı incelendi.



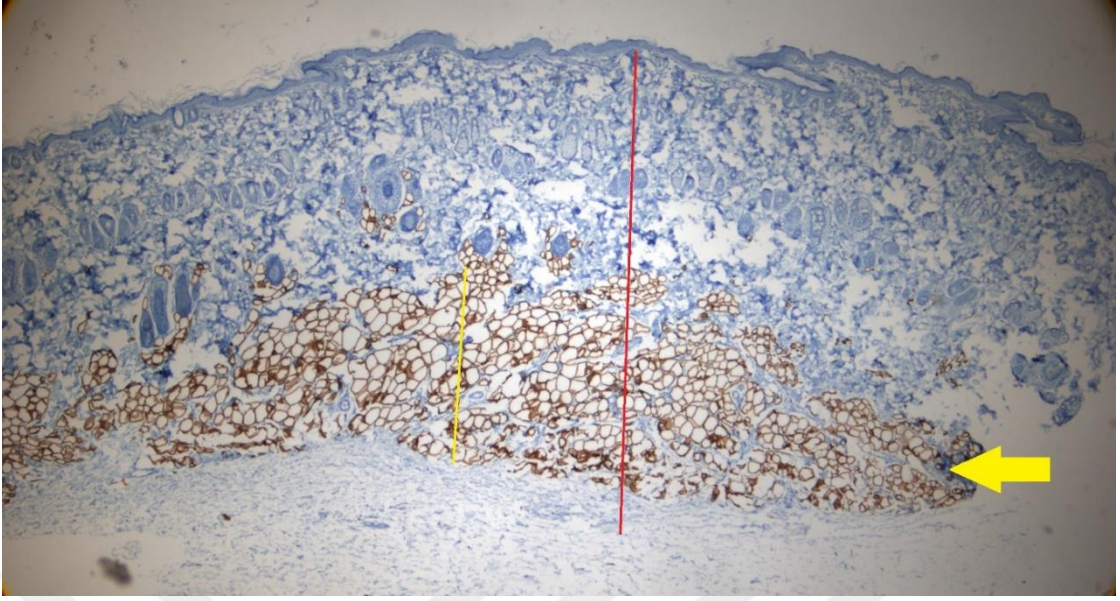
Grafik 10: Doku Oranları Grafiği

İkili gruplar arası farklar Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p < 0,05$)

Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p < 0,05$)

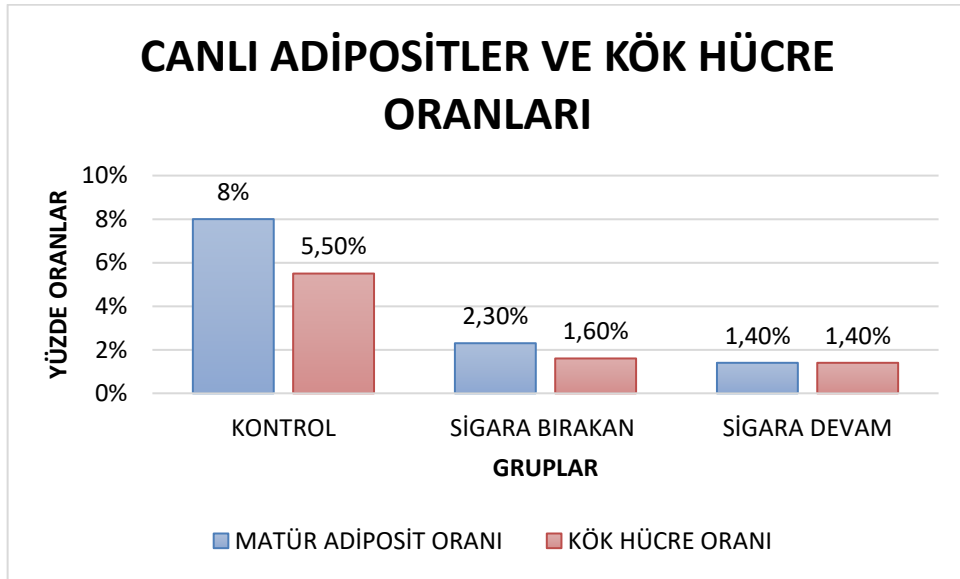
Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p < 0,05$)



Şekil 28: Adipoz doku/fibrozis hesaplanması için kullanılan format, 3mm/ 10 mm kesit. Sarı ok perilipin sahasını, sarı çizgi perilipinle boyanan adiposit sahasının kalınlığını, kırmızı çizgi ise tüm greft kesitinin kalınlığını göstermekte (Kontrol Grubu, Perilipin Boyalı, x40)

4.5.2 Perilipin Boyalı Hücre Oranları

Perilipinle boyanan canlı adipositlerin ve adiposit öncüllerinin oranları 6. hafta sonundaki greftte değerlendirildi.



Grafik 11: Perilipin boyalı hücrelerin diğer yapılara oranı

Perilipin boyalı canlı adipositlerde ikili gruplar arası farkların incelenmesinde Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p<0,05$)

Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p<0,05$)

Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p<0,05$)

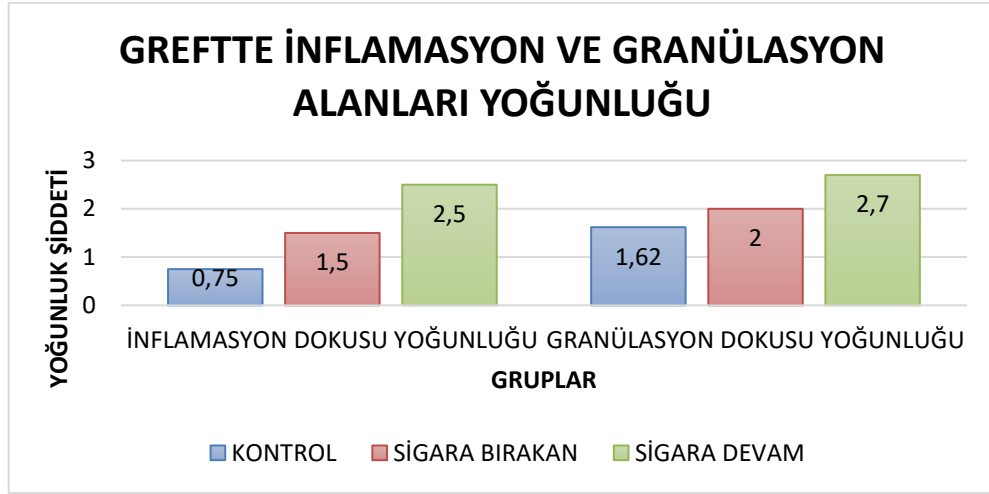
Perilipin boyalı adiposit öncüllerinde ikili gruplar arası farkların incelenmesinde Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p<0,05$)

Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p<0,05$)

Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p<0,05$)

4.5.3 İnflamasyon ve Granülasyon Yoğunluğu



Şekil 29: İnflamasyon ve granülasyon yoğunluğu (0-1 arası düşük yoğunluk, 1-2 arası orta yoğunluk, 2-3 arası şiddetli yoğunluk, 3-4 arası çok şiddetli yoğunluk olarak belirlendi)

İnflamasyon alanları yoğunluğunda ikili gruplar arası farkların incelenmesinde Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p < 0,05$)

Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p < 0,05$)

Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p < 0,05$)

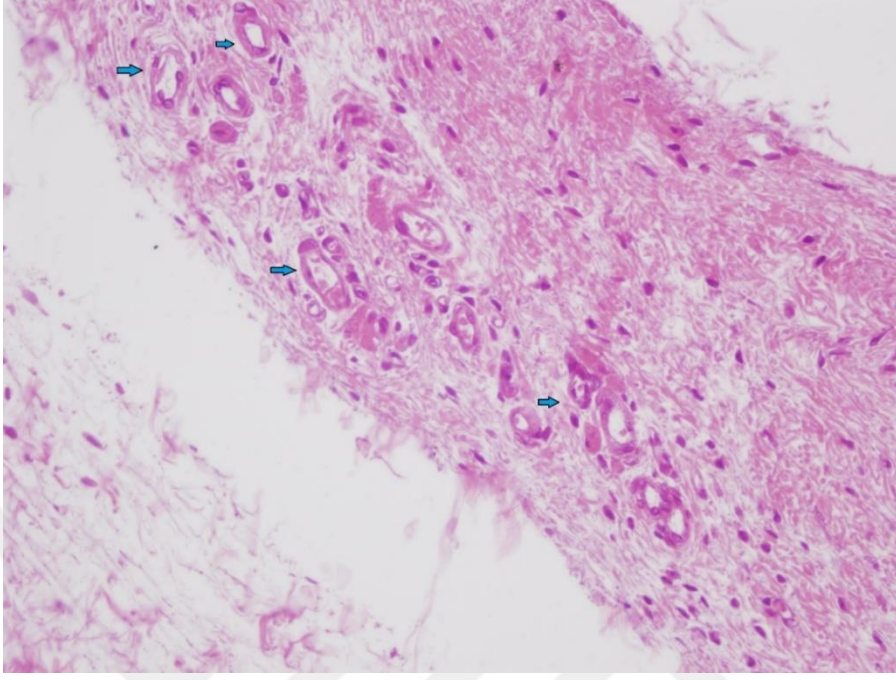
Granülasyon alanları yoğunluğunda ikili gruplar arası farkların incelenmesinde Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile Bırakan Grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p < 0,05$)

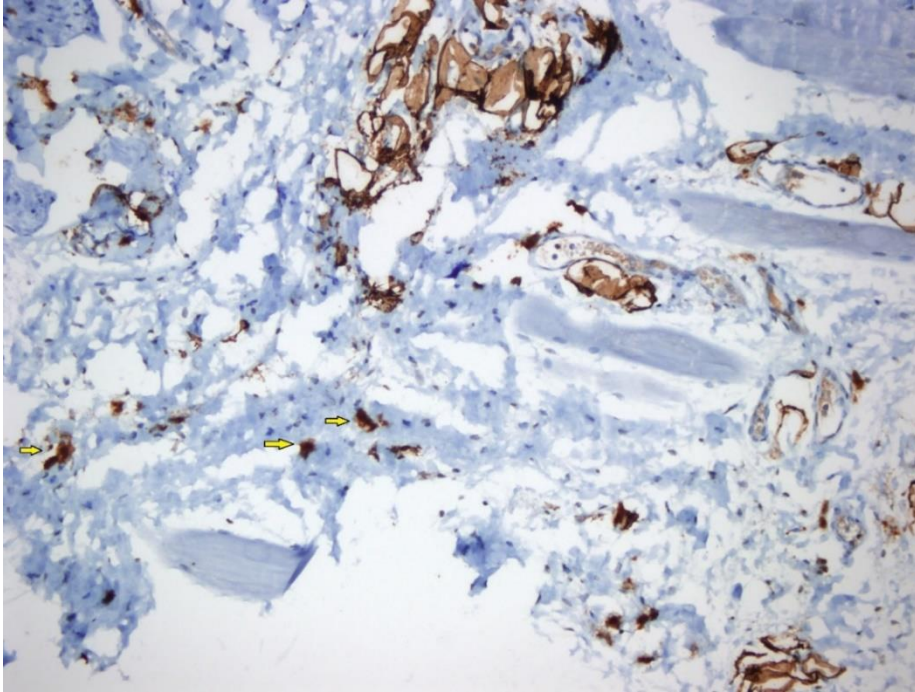
Kontrol grubu ile Devam Grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir. ($p < 0,05$)

Bırakan grubu ile Devam Grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. ($p < 0,05$)

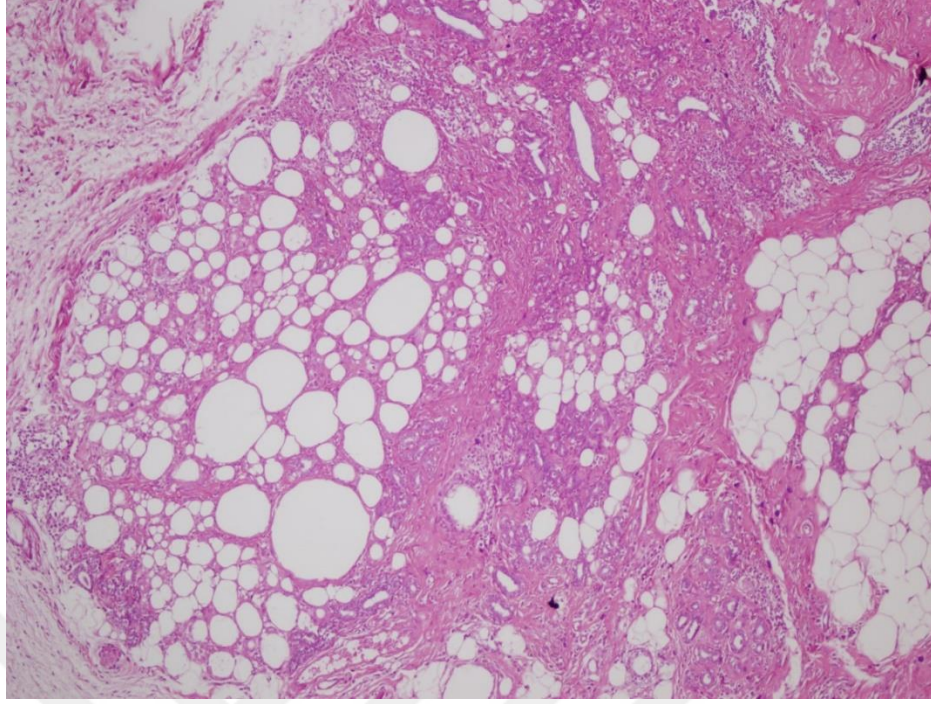
5. MİKROSKOPİK GÖRÜNTÜLERDEN ÖRNEKLER



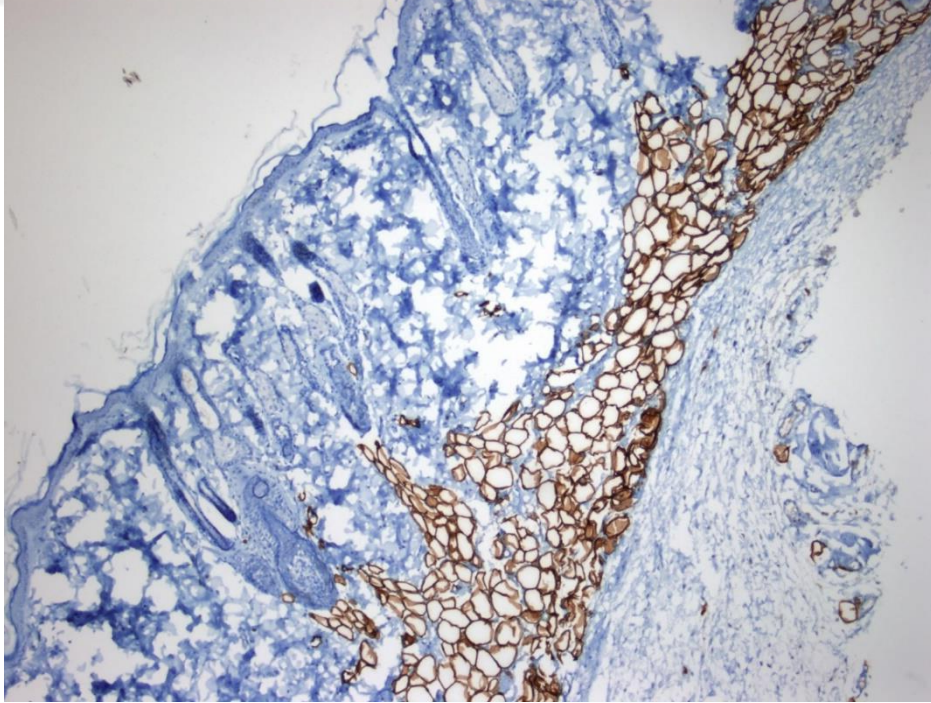
Şekil 30: Greft içinde yeniden damarlanma alanları (Kontrol Grubu, Hematoksilen&Eozin, x200)



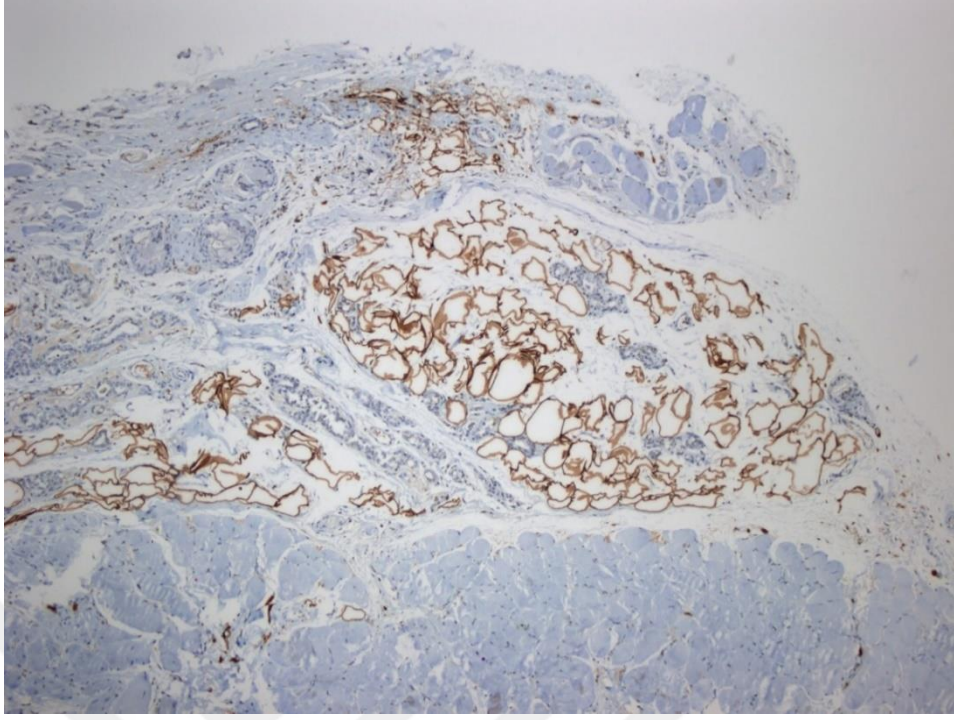
Şekil 31: Adiposit öncülü hücrelerden zengin saha (Kontrol Grubu, Perilipin boyası x200)



Şekil 32: Adipoz dokuyu çevreleyen yoğun inflamasyon ve fibrosis alanları (Sigara Devam Grubu, Hematoksilen&Eozin x100)



Şekil 33: Cilt altındaki bütünlüğünü korumuş yağ doku grefti sahası (Kontrol Grubu, Perilipin boyası, x100)



Şekil 34: Perilipin boyalı adipositlerin çevresinde yaygın fibrozis alanları
(Sigara Bırakan Grubu, Perilipin boyası x100)

6.TARTIŞMA

Çok sayıda hastada; yanık, avulsiyon, konjenital anomali veya cerrahi sonrası oluşan travmalar gibi nedenlerle yumuşak doku kaybına rastlanır. Bu defektlerin rekonstrüksiyonu zor ve uğraştırıcıdır. Plastik cerrahide eksik olan dokuların benzer olan dokularla onarılması prensipi yaygın olarak kabul edilmektedir. Yumuşak dokudaki bu eksikliği onarmaya yönelik lokal ve serbest flepler, dermofat greftler, sentetik materyaller ve otolog yağ doku greftleri gibi pek çok yaklaşım tanımlanmıştır. Bu olası yaklaşımların çoğu belirgin avantajlara ve dezavantajlara sahiptir (1).

Son zamanlarda minimal invazif yaklaşımların yaygınlaşmasıyla yumuşak doku defektlerinin onarımında enjekte edilebilir materyaller daha çok tercih edilmektedir. Sentetik dolgu materyallerinin çeşitliliğine rağmen ideal materyal kriterlerinin tümünü karşılayan ürün bulunmamaktadır (25,26). Bu materyallerin çoğunda yabancı cisim reaksiyonu, doğal olmayan görünüm, tutarlı ve kalıcı etki oluşturmama gibi sorunlarla karşılaşmaktadır (26). Ek olarak bu ürünlerin çoğu maliyetlidir. Yumuşak doku defektlerinin onarımında, hastanın kendi dokularının kullanımı her zaman ilk yönelilen seçenek olmuştur (3). Otolog dokular ideal dolgu maddesi özelliklerinin tanımlamasındaki kriterlerin çoğunu karşılamaktadır (4).

Otolog yağ dokusu transplantasyonu, 1893'den bu yana değişken başarı oranları ile plastik cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır (32). Yağ dokusu, ihtiyaç duyulduğunda veya estetik amaçlı olarak vücutta kullanılabilir en doğal dolgu materyalidir. Yağ dokusu; hasta vücut kompozisyonuna bağlı olsa da kolay ve gereken miktarda bulunabilir, mükemmel doku uyumuna sahiptir, allerjik reaksiyonlara neden olmaz, basit ve düşük morbiditeli bir işlem ile temin edilebilir (4).

Hastanın kendi yağ dokusunun kullanılması pek çok avantaj sunsa da bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Yağ doku transferi çok aşamalı bir prosedürdür ve çok sayıda yağ transplantasyon işlemi geliştirilmesine rağmen, kabul edilmiş standart bir prosedür bulunmamıştır (31,32). Yağ doku greftlemede en iyi teknik hangisidir, bu soruya hala net bir cevap vermek mümkün değildir. Amerikan Estetik Plastik Cerrahi Derneği'nin yaptığı son ulusal konsensus anketi; yağ grefti elde etme, hazırlama, uygulama tekniklerini ve kısa ve uzun dönem sonuç algıları ile ilgili 508 cerrahı uygulamıştır (92). Anket sonucunda, otolog yağ doku transferi oldukça yaygın uygulanan

bir işlemken, çok az cerrahın birbirine tamamen özdeş teknik kullandığı görülmüştür. Bu da çok farklı tekniklerle benzer başarılar elde edilebileceğini düşündürmüştür.

Otolog yağ doku transplantasyonlarında karşılaşılan en önemli sorun; yağ doku greftlerinin kalıcılığıdır başka bir deyişle ne kadar kalıcı olacaklarının tam olarak ön görülebilmesidir(91). Yağ doku grefti uygulamalarının kalıcılığı ile ilgili üç ekol mevcuttur;

1. yağ doku greftleri kalıcı değildir (bu ekol artık tartışmadaki yerini kaybetmiştir)
2. yağ doku greftleri kalıcıdır
3. yağ doku greftleri tekrarlayan enjeksiyonlar uygulandığında kalıcıdır (31).

Pek çok çalışmada yağ doku greftlerinin tamamen kalıcı olmadığı, bir yıl içerisinde % 30-70 resorbe olduğu ve fibröz doku ve yağ kisti ile yer değiştirerek, belirsiz sonuçlara neden olduğu raporlanmıştır (1, 4, 49). Bu durumu açıklamak için, son dönemde popüler olan kök hücre proliferasyon-apoptoz döngüsü ve buna eşlik eden 3 saha teorisi dahil olmak üzere pek çok teori ileri sürülmüştür (3,4). Teorilerin ortak noktası greft uygulaması sonrası öncelikle yara iyileşme sürecinin gerçekleşmekte olduğu, ve greftlenen yağ doku ve çevresinde yeni damar oluşumu meydana gelmesidir. Anjiogenezis safhası transfer edilen yağ doku hücrelerinin bulunduğu ortama büyüme faktörlerini de taşımaktadır. Modern teoremde kök hücre ve büyüme faktörlerinin yağ dokusu greftiyle beraber ortama geldiği hipotezi de çok güçlü destek kazanmıştır. Özellikle doku mühendisliği ile yağ dokusundan elde edilen pek çok kök hücre ve büyüme faktörü bu hipotezi desteklemektedir.

Yağ dokusu greftinin çevresindeki yeni damar oluşumu başlangıçta sınırlı bir alanı etkilediğinden greftin iç bölgelerinde apoptoz, hücre ölümü ve doku nekrozuyla sonuçlanmaktadır (39,40). Bu süreç sonucunda greft boyutunu azaltarak yeniden yapılanmaya başlar (41). Bunun yanında sağ kalan adipositlerdeki volüm kaybının da yağ dokusu greftlerinin başarısını etkilediği düşünülmektedir (32).

Yağ dokusu greftlerinin kalıcı olduğunu savunan Coleman; 1997 yılında tanımladığı tekniğiyle, küçük miktarlarda yağ dokusunun, alıcı yatakta oluşturulan çok sayıda tünel içerisine yerleştirilmesinin başarılı estetik düzeltme için en etkili yöntem

olduğunu savunmuştur (36). Coleman, başarılı üç boyutlu şekillendirmenin; hastanın uygun hazırlanmasına, dikkatli ve titiz planlamaya bağlı olduğunu vurgulamıştır.

Yağ dokusu künt uçlu kanül yardımıyla ve düşük basınçlı liposakşın yöntemiyle alınarak, kan ve sıvılaşmış yağ ayrıldıktan sonra iğne yardımıyla, çoklu tabakalar şeklinde enjekte edilmiştir (32). Coleman'a göre oluşturulan çok sayıda tünel içerisine küçük miktarlarda yağ doku yerleştirilmesi, yağ doku yaşayabilirliğini artırma ve uygun estetik düzeltim için gereken unsurların çoğunu yerine getirmektedir (32).

Günümüzde yağ doku yapılandırma metodu; yüz bölgesinin şekillendirilmesinde otolog yağ dokusu greftini kullanan güvenilir ve uzun etkili bir metod olarak görülmektedir (32). Çoklu tabaka şeklinde enjeksiyon uygulanırken oluşturulan travma ve bunun sonucunda oluşan enflamatuvar yanıtın, uzun dönem sonuçlardan sorumlu olduğu savunularak eleştirilmiştir (5). Yağ doku grefti uygulamalarında karşılaşılan sorunlardan birisi transplante edilen yağ dokunun kalıcılığıdır ve buna etki eden faktörlerle ilgili literatürde çok az sayıda objektif çalışma bulunmasıdır (31). Sonuçları objektif bir biçimde ortaya koyacak pratik bir metoda ulaşamamıştır. Kalıcılık ve sağkalım değerlendirme konusunda yapılan çalışmaları birbiriyle karşılaştırmak zordur çünkü farklı araştırmacılar farklı yağ doku elde etme teknikleri, farklı işleme ve enjeksiyon teknikleri ve farklı sonuç değerlendirme teknikleri kullanmaktadır (30,31). Canlı greftleri alıcı metabolizmasıyla etkileşime girmeden işaretleyecek ve canlı-nekrotik greftlerin oranını ölçecek bir metod bulunamamıştır (4,42,43).

Bu problemi çözmek için yağ doku greftleri değişik hayvan modellerinde fizyolojik olarak yağdan yoksun alıcı sahalara implante edilmiştir. Eto ve ark, Sommer ve Sattler; farklı modellerle otolog yağ doku greftleri ile yapılan onarımların süresi ve sağkalım ile ilgili tartışmalar üzerinde çalışmışlardır(46). Aspire edilen yağ dokusunu histolojik değerlendirmesini yaparak, literatürde bulunan bulgularla karşılaştırmışlardır.

Genel olarak yağ grefti çalışmalarında sıçan ve fare modelleri kullanılmaktadır. Sıçan ve fare dayanıklı, kolay cerrahi uygulanabilir, ulaşımı ve beslenmesi kolay olan bir denek modelidir. Yağ doku grefti dışında özellikle flep cerrahisi araştırmalarında da çok sık kullanılan sıçan modelinin, cilt-cilt altı yapısı ve bu yapının daha derin yerleşimli kas ve fasyal yapılarla ilişkisinin insan anatomisinden farklıdır. Bundan dolayı bu modelinin yetersizliğine ve bu modelden çıkan sonuçların insan modeline uygun olamayabileceğine

dair eleştiriler literatürde mevcuttur. Aynı şekilde alıcı alan olarak stabil olmayan, oldukça hareketli bir plan olan sıçan sırt bölgesi sonuçlar açısından rehber olmakta kısıtlı bir role sahip olabilir. Bu nedenle insan anatomisine daha yakın olan hayvanlarda da yağ doku grefti modellerinin çalışılması gerekebilir(93).

Otolog yağ transferi ile yapılan düzeltmenin kalıcılığının; transfer edilen canlı yağ hücre sayısı, döngüden sağ çıkan ve farklılaşan kök hücre sayısı ve bu süreçte oluşan fibrozisin derecesi ile belirlendiği saptanmıştır. Aspire edilen yağ hücre greftlerinin sağ kalımı; temel olarak alıcı sahanın anatomik yerine, mobilitesine ve vaskülaritesine, altta yatan sebep ve hastalıklara ve daha az olarak da yağ doku alma-yeniden enjekte etme metoduna bağımlı olduğu bulunmuştur.

Yağ dokusunun metabolik ihtiyacı az olsa da özellikle aktarım sırasında iskemiye toleransı düşüktür (40). Hedef adiposit ve kök hücrelerin çoğunluğunun yaşamasını sağlamaktır ve bunu etkileyen pozitif ve negatif faktörler belirlenmelidir. Bu faktörler araştırılmış fakat objektif ve kesin cevaplar bulunamamıştır. Sonuçları iyileştirmek için yağ doku örnekleri daha az travmatik teknikler kullanılarak alınmış, elde edilen örnekler küçük fragmanlara ayrılmış, greft revaskülarizasyonunu artırmak için daha iyi vaskülarize alıcı sahalara tercih edilmeye çalışılmıştır ve en nihayetinde stromal kök hücrelerle zenginleştirmek gibi ileri teknikler kullanılmaya başlanmıştır. En uzun transplant yaşayabilirliğini sağlama hedefiyle, doku elde edilmesinde, işlenmesinde ve transferinde alternatif teknikler geliştirilmiştir.

Tranplante edilen dokunun ilk iskemik hasarı atlatması ve yeni damar oluşumunun sağlanması ana hedeftir. Küçük yağ doku parçaların enjeksiyonu, hacime göre daha geniş alan sağlayarak besleyici akımı en üst düzeye çıkarma amacıyla kullanılmıştır (8). Bazı araştırmacılar intramuskuler alan gibi iyi vaskülarize alıcı saha sağlama yoluyla, ilk rezorbsiyonu azaltarak sınırlı oranda başarı elde etmişlerdir (8).

Sigara dumanı ve ana metaboliti olan nikotin vücutta mikrosirkülasyon düzeyinde iskemi oluşturma mekanizmaları ve yolaklarından çıkan serbest radikallerle bu süreci sekteye uğratabilecek olağan bir şüpheli olarak akla gelmelidir. Sigara dumanının ortaya çıkardığı serbest radikaller, doku mikrosirkülasyonunda gevşeme/kasılma dengesini düzenleyen sitokinlerin dengesini kasılma lehine değiştirir. Bunun yanında sigara dumanının ana metaboliti olan nikotin akut dönemde damar duvarı üzerinde güçlü ve

direkt kasılma etkisi gösterir. Bu etki hipertansiyon mekanizmasının oluşmasındaki ve kısır döngü haline gelip kırılmamasındaki önemli faktörlerden biridir. Düzenli kullanımda veya maruziyette sigara dumanı ile temas nikotin yarı ömründen daha sık olduğu takdirde hem genel tonus kasılma lehinde olacak, hem de gevşetme ajanlarına zayıf ve gecikmiş yanıt oluşacaktır. Sigara dumanı serbest radikallerle lipid peroksidasyonuna yol açarak damar endoteline hasar verir. Bu hasarda hücre membranındaki lipidlerin, glikolipidlerin ve lipoproteinlerin oksitlenmesinin payı bulunmaktadır. DNA yapıtaşlarının oksitlenmesi hücre çoğalması ve tamirini bozarak, fibroblast ailesindeki hücrelerde baskılanmaya yol açar. Bu da her ne kadar metabolik ihtiyacı çok yüksek olmasa da çevre dokudan beslenmeye muhtaç yeni yağ doku greftinin tutmasında ve varlığını sürdürmesinde gerekli olan yara iyileşme mekanizmalarında aksaklıklara yol açacaktır. Yağ doku üzerine direkt etkileri tam olarak ortaya koyulmamış olan sigaranın bu mekanizmalarla yerleştirilen yağ dokunun hayatta kalması üzerine anlamlı ve olumsuz etkide bulunduğu öne sürülebilir. Bu etkinin tam olarak ortaya koyulabilmesi için değişik dönemlerde alınan örneklerin elektron mikroskopik incelemeyle hücre zarlarındaki olası bozunmaların tespiti gerekebilir.

Çalışmamızda tasarlanan sigara maruziyet modelinde elde ettiğimiz sigara maruziyeti ve gruplar arasındaki farklar kotinin miktarı ile değerlendirilmiştir. Kotinin tütün yapraklarında bulunan bir alkaloiddir. Nikotinin ana metaboliti olup, sigara maruziyetini gösteren anlamlı bir biyogöstergedir(94). Serum, tükürük ve idrarda yapılan ölçümleri popülasyon analizlerinde ikincil sigara maruziyeti ve buna bağlı risk ölçümleri için kullanılmıştır. Her ne kadar bazı besinler içerdikleri eser miktarda nikotinle kotinin seviyelerinde yükselme yapsa da özellikle yarı-ömrünün nikotinden daha uzun (15-40 saat) olması sebebiyle yakın tarihli maruziyette kotinin güvenilir bir ölçektir. Bunun yanında yapılan uzun dönemli, longitudinal, gruplar arası araştırmalarda kotininin maruz kalınan sigara dumanı miktarındaki değişikliklerle iyi korele olduğu takiplerde gösterilmiştir. Bu da uzun dönem maruziyette de kotininin en çok genel geçer kabul gören gösterge olmasını sağlamıştır. Burada üzerinde durulması gereken başka bir önemli nokta pasif içicilikte nikotin ve kotininin vücuttaki yarı ömrünün aktif içiciliğe göre daha uzun olmasıdır. Bu durumun nedeni olarak ileri sürülen dokulara daha yavaş bir şekilde nüfuz eden nikotinin, kendisinin dokulardan salınımının daha yavaş olmasına yol açmasıdır.

Aktif içicilerde ve pasif içicilerde nikotin idrar klirensinin aynı olduğu görülmüştür. Bu da bahsedilen görüşü destekler nitelikte bir veridir.

Çalışmamızda anlamlı sigara maruziyeti ölçümü için kotinin değeri alt sınırı 5ng/ml olarak belirlenmiştir. Erişkin Amerikan popülasyonunda hispanik olmayan beyaz nüfusta 5-20 ng/ml arası kotinin serum düzeyleri ağır pasif-hafif aktif içicilik anlamına gelmektedir(95). 20 ng/ml düzeyi ve üstü ise orta-ağır içicilik göstermektedir. Ağır içicilerde bu değerler 200 ng/ml düzeylerine kadar çıkabilmektedir(96). Deney düzeneğinde sigaraya maruz bırakılan farelerde (hem bırakan hem devam eden) en düşük serum değeri 5,51 ng/ml en yüksek ise 10,06 ng/ml olarak bulunmuştur. Bundan yola çıkarak denek düzeneğinin ağır pasif-hafif aktif içiciliği oluşturmakta istikrarlı bir şekilde başarılı ancak orta-ağır aktif içicilik modeli oluşturmakta yetersiz olduğu söylenebilir. Bunun yanı sıra sigara bırakan yani en son sigara maruziyeti 6 hafta önce olan grupta 5 ng/ml'nin üstü kotinin değerleri ölçülmesi, esasında genellikle yakın dönem (7-14 gün) maruziyeti göstermekte kullanılan kotininin bazı çalışmalarda belirtildiği gibi uzun dönem maruziyeti de gösterebileceğini gösterebilir. Kontrol grubundaki iki adet sıçanda 5 ng/ml üzeri kotinin değerleri izlenmesi yıkımda görev alan bir karaciğer enzimi olan CYP2A6'nın genetik varyasyonuna bağlı olabilir(96). Yağ doku nikotin ve metabolitlerinin en düşük miktarlarda geçtiği ve depolandığı dokulardan biridir(doku/serum miktarı %25-50). (97) Dokularda ölçülen kotinin değerlerinin serum kotinin değerlerine göre düşüklüğü bunu desteklemektedir. Serum kotinin miktarları ile serum MDA miktarları arasında anlamlı ilişki bulunamamış ancak serum kotinin miktarları ile doku MDA miktarları arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu da serum kotinin ölçümünün dokulardaki oksidatif stress yoğunluğunu da göstermekte kullanılabileceğini düşündürmüştür. Ancak bu teorinin pratik kullanımda manası olması için serum kotinin miktarı ve sigarayla ilişkisi kanıtlanan ateroskleroz, hipertansiyon, kalp krizi, inme ya da akciğer kanseri gibi hastalıklar arasında anlamlı bir ilişkinin olup olmadığının araştırılması gerekmektedir.

Serum kotinin miktarları ile doku kotinin miktarları arasında bir korelasyon olduğu görülmüş ancak bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Non-vaskülarize yağ doku grefti, aktarıldığı yerde yeni damarlanma oluşana kadar çevre dokudan difüzyonla beslenmektedir. Bu süreçte nikotin ve metabolitlerinin tüm dokuya geçişinin ne ölçüde olduğu bir soru işaretidir.

Race/ethnicity	Adult cutoff	Adolescent cutoff
Non-Hispanic whites	5 ng/mL	3 ng/mL
Non-Hispanic blacks	6 ng/mL	3 ng/mL
Mexican-Americans	1 ng/mL	1 ng/mL

Şekil 35: Kotinin değerleri için yönerge (Guideline for interpreting cotinine levels, UNITED STATES) (99)

TABLE 4.--Steady state distribution of nicotine

Tissue	Tissue to blood ratio
Blood	1.0
Brain	3.0
Heart	3.7
Muscle	2.0
Adipose	0.5
Kidney	21.6
Liver	3.7
Lung	2.0
Gastrointestinal	3.5

NOTE: Tissue to blood nicotine concentration ratios based on 24-hr constant i.v. infusion of nicotine in rabbits.
SOURCE: Benowitz (1986b).

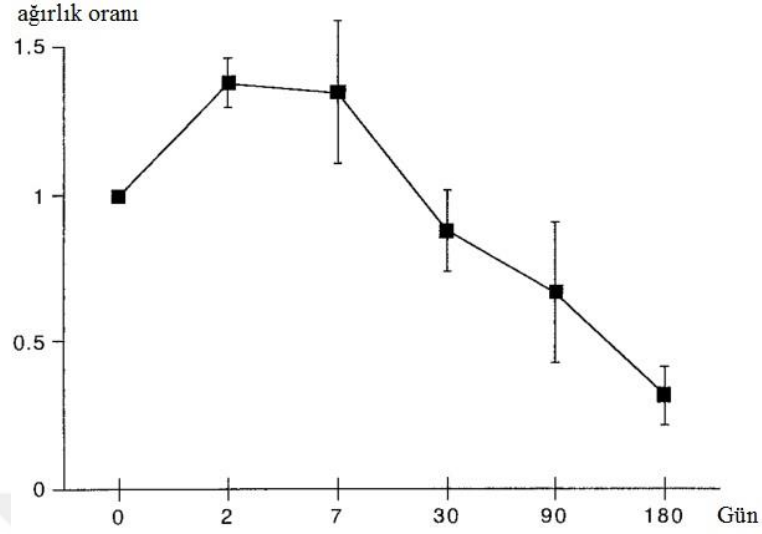
Şekil 36: Nikotin ve Metabolitlerinin Seruma Göre Değişik Dokulara Geçiş Oranları(97)

Sigara dumanı nitrojen, alkoksil ve peroksil radikalleri gibi reaktif oksijen ve nitrojen türleri açısından oldukça zengindir. Bunlar dokuda başka serbest radikallerin oluşmasına, sonuç olarak da lipid peroksidasyonun başlamasına sebep olur. Lipid peroksidasyon sonuç-ürünlerinden olan MDA, yüksek oranda toksik olup imino, sulfihidril grubu proteinlerle ve DNA ile reaksiyona girip toksik strese ve mutasyonlara sebep olur(98). Bu nedenle özellikle lipid dokuda oksidatif stresin önemli bir biogöstergesi olarak kullanılabilir. Serbest oksijen radikalleri ve bunların uyardığı lipid peroksidasyonu hücre zarındaki reseptörlerin lipid mikroçevresini değiştirir, bu da iyon kanalları, membran proteinleri gibi pek çok yapıya toksik etki ederek zar fonksiyonlarında bozulmaya yol açar. MDA seviyeleri sigara dumanı maruziyet düzeyleriyle paralellik göstermektedir bu nedenle MDA lipid peroksidasyonu

göstermede önemli bir ölçüt olabilir. Yapılan hayvan deneylerinde de sigara maruziyet miktarı arttıkça MDA'nın yükseldiği SOD'un düştüğü izlenmiştir, bu deneyde pasif sigara maruziyetindeki farelerde MDA oranları kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur(98). Diğer bir değişle serum MDA seviyeleri vücudun genel oksidasyonu ve oksidatif durumunu göstermektedir.

Sigara dumanının doku hasarı ve ateroskleroz mekanizmasındaki en toksik etkilerinden biri olan lipid peroksidasyonunun yağ doku grefti yaşam döngüsünde birincil mi dolaylı yoldan mı etkisinin olabileceğini söylemek, sigaranın yağ doku üzerindeki etkilerini direkt gösteren bir çalışma olmadığından mümkün değildir(93). Ancak gruplar arasında sigara maruziyeti arttıkça artan doku MDA seviyeleri izlenmiştir. Doku MDA düzeylerinde kontrol grubu ile sigaraya devam eden grup ve sigarayı bırakan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ancak sigaraya devam eden grupla sigarayı bırakan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. MDA seviyeleri özellikle lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olduğu için, yeni aktarıldığı yerde çevre dokudan difüzyonla beslenmek durumunda olan yağ dokusu greftini hem indirekt olarak bazal mikrodolaşımı zayıflatmak suretiyle hem de direkt olarak adipositler üzerinde oksidatif stress yaratmak suretiyle etkileyerek, greft kaybını arttırabilir. Çalışmamızda da doku MDA miktarları ile geç dönem yağ grefti ağırlık kayıpları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmuştur. Artan oksidasyon düzeyleri ile belirginleşen greft ağırlık kaybı, oksidatif stresin daha önce ortaya koyulmuş yağ doku grefti alım tekniği, işleme usülü, veriş tekniği, verilen yer, çeşitli ürünlerle zenginleştirme gibi sağ kalımı etkileyen faktörlere eklenebileceğini düşündürmüştür.

Yapılan hayvan çalışmalarında yağ grefti için optimum bir model oluşturulamamıştır, özellikle çalışılan sıçanların cilt-cilt altı örtü ilişkisi anatomik olarak insan modelinden farklı ve daha gevşektir. Nishimura ve ark.'nın 2000 yılında yayınladıkları bir çalışmada sıçanlar üzerinde benzer teknikle yağ greftlemesi yapılmış ve greftlerin değişik dönemlerde ağırlıkları ölçülmüştür ve geç dönemde greft ağırlığının %50-60'ının kaybolduğu gösterilmiştir(100). Bizim çalışmamızda da farkettiğimiz gibi yağ dokusunun çevresinde oluşan fibröz dokudan ayrılması mümkün değildir. Bu nedenle ağırlık ölçümü sırasında spesimen olarak beraber ölçülüp, örneklenmiştir. Ağırlık ölçümleri, sıçanların ağırlık değişimleri ile oranlanmış böylece daha net bir sonuç elde edilmiştir.



Şekil 37: Yüzdesele Olarak zamanla değişen yağ grefti ağırlık tablosu(100)

Bizim alışmamızda sigara devam ve kontrol gruplarında anlamlı ağırlık alımı ya da kaybı olmamış ancak sigara bırakan gruptaki sıçanlarda %7-12 arası ağırlık artışı olmuştur. Bu sonuç, sigara bırakan popülasyonda leptin yolağındaki değişikliklere bağlı kilo alımını gösteren çalışmalarla da uyumludur. Nishumura ve ark.'nın çalışmasında 30-90 günler arasındaki periyotta ağırlığın yaklaşık %20-40'nın kaybedildiği gösterilmiştir. 6 aylık periyotta ise %80 oranında ağırlık kayıpları izlenmiştir. Çalışmamızda kontrol grubu ile sigaraya devam eden ve sigarayı bırakan gruplar arasında istatikselle olarak anlamlı fark bulunmuştur. Sigara bırakan ve sigara devam eden grup arasında ise istatikselle olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Daha önce belirtildiği gibi doku MDA miktarı ile ağırlık kaybı arasında istatikselle olarak anlamlı korelasyon bulunmuştur. Aynı zamanda serum kotinin miktarı ile ağırlık kaybı arasında da istatikselle olarak anlamlı korelasyon bulunmuştur. Pratik anlamda kullanım açısından sigara kullanan hastalarda dolaylı yoldan serum kotinin ölçümü ile yağ doku grefti kaybı miktarının öngörülebileceği düşünülebilir.

Geçmiş çalışmalarda yağ doku greftinin, difüzyonla beslenemeyen santral bölgelerinde daha yoğun olmak üzere fibrozisle iyileştiği gösterilmiştir. Bu merkezi fibrozisin hacim etkisine katkısı bulunmakla beraber yağ dokunun yarattığı rejeneratif etkiyi vermek konusunda bir fonksiyonu yoktur. Fibrozis temel olarak adipositlerin ldği sahalarda daha belirgin izlenir. Sağ kalım araştıran çalışmalarda adipoz

doku/fibrozis oranı adipositlerin sağ kalma oranlarını göstermek için indirekt bir gösterge olarak ölçülmüştür. Yapılan bir çalışmada greft elde etme yöntemleri karşılaştırılmış, daha travmatik yöntemlerde daha büyük bir fibrozis/adipoz doku oranı görülmüştür. Bizim çalışmamızda da sigara dumanı oksidatif bir travma olarak kabul edilmiş ve sigara dumanı maruziyeti arttıkça istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde adiposit/fibrozis oranının fibrozis lehine değişmekte olduğu görülmüştür. Oksidasyon stresi arttıkça ilk iskemik atağı atlatabilecek ve kritik iskemi döneminde yeterince beslenebilecek adiposit oranı düşecektir bu da greftin daha büyük bir alanının fibrozisle iyileşmesine yol açacaktır. Buna katkı sağlayan bir faktörde sigara maruziyet dönemi uzadıkça azalan yeniden damarlanmadır. Nikotinin damar yapılarında yarattığı mikropalakların yanında iyileşme dokusunda yeni damar oluşumunu engellediği görülmüştür. Bu veriler, sigara maruziyet zamanı uzadıkça arttığı görülen uzamış inflamasyon cevabı ve yaygınlığı artan granülasyon dokusu benzeri yapılar sigara dumanının yara iyileşmesini hem yavaşlattığını hem de bozduğunu göstermektedir. Bu koşulların da greftte fibrozisle iyileşen alanların genişlemesine sebep olduğu düşünülmektedir.

Perilipin canlı adipositlerin içindeki lipid damlacıklarına bağlanır ve canlı adipositleri ölü adipositlerden ayırmak için en spesifik yöntemdir. Bu sayede daha spesifik bir şekilde greft içerisindeki canlı adiposit oranlarını ortaya koymak mümkün olmaktadır. Greftlerdeki perilipin boyalı hücre oranlarına baktığımızda, sigara maruziyeti olan gruplarla sigara maruziyeti olmayan kontrol grubu arasındaki anlamlı fark sigara maruziyeti nedeniyle ilk iskemik ataktan çok daha az adipositin sağ çıkabildiğini göstermektedir. Anlamlı kök hücre popülasyonu kontrol grubunda belirgin olarak izlenirken sigara maruziyeti olan gruplarda ise izlenmemiştir. Bu da adiposit kökenli kök hücrelerin, her ne kadar iskemiye dirençli olarak bilinseler dahi, sigaranın oksidatif stresi altında sağ kalamadıklarını göstermektedir. Hem adipositlerdeki hem kök hücrelerdeki bu anlamlı azalma nihai greft ağırlığı ve hacmindeki düşüşün sebeplerinden biri olabilir.

7. SONUÇ

Yağ grefti optimum yumuşak doku dolgusuna en yakın materyaldir ancak en temel problemi erken ve geç dönem öngörülemeyen kayıplardır. Günümüzde birbirinden çok bağımsız ve hatta temelde birbirinin prensiplerine ters tekniklerle benzer başarı oranı gösteren pek çok cerrah ve çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle odağımızı teknik incelikler yanında yağ grefti sağkalımına olumsuz yönde etki eden lokal ve sistemik faktörlere yöneltmeliyiz. Yağ grefti yara iyileşme mekanizmasına benzer mekanizmalarla tuttuğundan dolayı bu negatif faktörler arasındaki en önemli olağan şüphelilerden biri de sistemik olarak yara iyileşmesini bozan sigaradır. Çalışmamızda sigaranın yağ grefti üzerinde anlamlı derecede sağkalımı bozan etkileri olduğu görülmüştür. Her ne kadar sıçan modeli yağ grefti deney modeli açısından eleştiriye açık olsa da klinik gözlemlerimiz de bu etkiyi desteklemektedir. Bu nedenle sigaranın başarısını olumsuz yönde etkilediği işlemlerin arasına yağ doku grefti transferinin de alınması gerektiğini düşünüyoruz

8. KAYNAKLAR

- 1-Delay E, Garson S, Sinna R. Fat injection to the breast: technique, results and indications based on 880 procedures over 10 years. *Aesthetic Surg J.* 2009;29(5):360-376
- 2-Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconst Surg.* 1989;83(2):368-381
- 3- Davis K, Rasko Y, Oni G et al. Comparison of adipocyte viability and fat graft survival in an animal model using a new tissue liquefaction liposuction device vs standart coleman method for harvesting. *Aesthetic Surg J.* 2013;33(8):1175-1185
- 4-Sunaga A, Sugawara Y, Kasuragi-Tomioka Y, Kobayashi E. The fate of nonvascularized fat grats: histological and bioluminescent study. *Plast Reconst Surg.* 2013; Go:1-8
- 5-Conde-Green A, Wu I, Graham I et al. Comparison of 3 techniques of fat grafting and cell-supplemented lipotransfer in athymic rats: a pilot study. *Aesthetic Surg J.* 2012;33(5):713-721
- 6-Tosun Z, Bite U. A comparative study of the influence of smoking on skin flap survival in pregnant rats. *British J Plast Surg.* 2005; 58: 812-816
- 7-Campos JH, Gomes HC et al. Effect of nicotine treatment and withdrawal on random-pattern skin flaps in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 2008;60:449-452
- 8-Crandall DL, Hausman GJ, Kral JG. A review of the microcirculation of adipose tissue: anatomic, metabolic, and angiogenic perspectives. *Microcirculation* 1997; 4(2): 211-232.
- 9-Tholpady A. Facial fat grafting. www.emedicine.com. 2009.
- 10-Ergün A. Yağ hücresi ve salgı ürünlerinin fonksiyonları. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2003; 56(3): 179-88.
- 11-Jatana KR, Smith SP, Jr. The scientific basis for lipotransfer: is it the idea filler? *Facial Plast Surg Clin North Am* 2008; 16(4): 443-448.
- 12-Crandall DL, Hausman GJ, Kral JG. A review of the microcirculation of adipose tissue: anatomic, metabolic, and angiogenic perspectives. *Microcirculation* 1997; 4(2): 211-232.
- 13- Frayn KN, Karpe F, Fielding BA, Macdonald IA, Coppack SW. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27(8): 875-888.
- 14-Nishimura T, Hashimoto H, Nakanishi I, Furukawa M. Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts. *Laryngoscope.* 2000;110(8):1333-1338.

- 15-Temiz G, Sirinoglu H, Yesiloglu N, Filinte D, Kaçmaz C. Effects of Deferoxamine on Fat Graft Survival. *Facial Plast Surg* 2016; 32: 438-443
- 16- Gregoire FM, Smas CM, Sul HS. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev* 1998; 78(3): 783-809.
- 17- Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH. Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118(3 Suppl): 121-128.
- 18- Ailhaud G, Grimaldi P, Negrel R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 207-233.
- 19- Sorisky A. From preadipocyte to adipocyte: differentiation-directed signals of insulin from the cell surface to the nucleus. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1999 ; 36(1): 1-34.
- 20- Niemela SM, Miettinen S, Konttinen Y, Waris T, Kellomaki M, Ashammakhi NA, et al. Fat tissue: views on reconstruction and exploitation. *J Craniofac Surg* 2007; 18(2): 325-335.
- 21- Hausman GJ, Campion DR, Martin RJ. Search for the adipocyte precursor cell and factors that promote its differentiation. *J Lipid Res* 1980; 21(6): 657-670.
- 22-Bucky LP, Percec I. The science of autologous fat grafting: views on current and future approaches to neoadipogenesis. *Aesthet Surg J* 2008; 28(3): 313-321.
- 23- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13(12): 4279-4295.
- 24- Marler JJ, Guha A, Rowley J, Koka R, Mooney D, Upton J, et al. Soft-tissue augmentation with injectable alginate and syngeneic fibroblasts. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105(6): 2049-2058.
- 25- Eppley BL, Dadvand B. Injectable soft-tissue fillers: clinical overview. *Plast Reconstr Surg* 2006; 15; 118(4): 98-106.
- 26- Klein AW, Elson ML. The history of substances for soft tissue augmentation. *Dermatol Surg* 2000; 26(12): 1096-1105.
- 27- Narins RS, Bowman PH. Injectable skin fillers. *Clin Plast Surg* 2005; 32(2): 151-162
- 28-Ryan TJ, Curri SB. The cutaneous adipose tissue. *Clin Dermatol* 1989;7: 37-47
- 29-Casteilla L, Charriere G, Laharrague P, Cousin B, Planat-Benard V, Pericaud L, Chavoïn J.P. Adipose tissue, plastic and reconstructive surgery: come back to sources *Ann Chir Plast Esthet* 2004; 49: 409-418
- 30-Markman B. Anatomy and physiology of adipose tissue. *Clin Plast Surg* 1989; 16: 235-241
- 31-Mojallal A., Foyatier J.L Historique de l'utilisation du tissu adipeux comme produit de comblement en chirurgie plastique. *Ann chir plast esthet* 2004; 49: 419-425
- 32-Illouz Y.G. Present results of fat injection. *Aesth. Plast. Surg* 1998;(12): 175-181

- 33- Fournier PF. Fat grafting: my technique. *Dermatol Surg* 2000; 26(12): 168-182
- 34-Coleman S.R. Long term survival of fat transplants: Controlled Demonstrations. *Aesth. Plast. Surg.* 1995;19: 421-425
- 35- Sommer B, Sattler G. Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of the literature. *Dermatol Surg* 2000;26(12): 1159-1166.
- 36- Fulton JE, Parastouk N. Fat grafting. *Dermatol Clin* 2001; 19(3): 523-530.
- 37- Butterwick KJ, Lack EA. Facial volume restoration with the fat autograft muscle injection technique. *Dermatol Surg* 2003 ; 29(10): 1019-1026.
- 38-Coleman S.R. Structural fat grafts: the ideal filler? *Clin. Plast. Surg.* 2001; 28: 111-119
- 39-Smith P, Adams WP, Jr., Lipschitz AH, Chau B, Sorokin E, Rohrich RJ, et al. Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117(6): 1836-1844.
- 40-Shiffman MA, Mirrafati S. Fat transfer techniques: the effect of harvest and transfer methods on adipocyte viability and review of the literature. *Dermatol Surg* 2001; 27(9): 819-826.
- 41-Toledo LS, Mauad R. Fat injection: a 20-year revision. *Clin Plast Surg* 2006 ; 33(1) :47-53.
- 42-Carpaneda CA, Ribeiro MT. Percentage of graft viability versus injected volume in adipose autotransplants. *Aesthetic Plast Surg* 1994; 18(1): 17-19
- 43-Lam SM, Glasgold RA, Glasgold MJ. Limitations, complications, and long-term sequelae of fat transfer. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2008; 16(4): 391-399
- 44-Coleman WP, III. Fat transplantation. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2008; 16(4): 451-458.
- 45-Peer LA. Loss of weight and volume in human fat grafts with postulation of a “Cell Survival Theory”. *Plast Reconstr Surg.* 2002;5: 217–230.
- 46-Carpaneda CA, Ribeiro MT. Percentage of graft viability versus injected volume in adipose autotransplants. *Aesthetic Plast Surg.* 1994; 18: 17–19
- 47-Zhao J, Yi C, Li L, et al. Observation on the survival and neovascularization of fat grafts interchanged between C57BL/6-gfp and C57BL/6 mice. *Plast Reconstr Surg.* 2012;130: 398–406.
- 48-Yoshimura K, Eto H, Kato H, et al. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. *Regen Med.* 2011;6(suppl 6):33–41.
- 49-Suga H, Eto H, Aoi N, et al. Adipose tissue remodeling under ischemic conditions: death of adipocytes and activation of stem/progenitor cells. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126: 1911–1923.

- 50-Eto H, Kato H, Suga H, et al. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129:1081–1092.
- 51- Pu LL. Mechanism of fat graft survival; *Ann Plast Surg* 2016;77: 84–86
- 52-Vajkoczy P, Menger MD, Simpson E, et al. Angiogenesis and vascularization of murine pancreatic islet isografts. *Transplantation* 1995;60:123–127.
- 53-Strieth S, von Johnston V, Eichhorn ME, et al. A new animal model to assess angiogenesis and endocrine function of parathyroid heterografts in vivo. *Transplantation* 2005;79:392–400.
- 54-Altındaş M. Yara İyileşmesi. *Plastik,Rekonstruktif ve Estetik Cerrahi Ders Kitabı* 2011;1; 3-17
- 55- Tobacco, A Health Priority Report WHO 2011
- 56- Pryor WA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke:Radicals hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite. *Ann NY Acad Sci* 1993; 686: 12-27.
- 57- Church DF, Pryor, WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985; 64: 111-126.
- 58- Sorensen LT. Wound Healing and Infection in Surgery. *Arch Surg* 2012;147:373-383.
- 59- Chang LD, Buncke G, Slezak S, et al. Cigarette smoking, plastic surgery and microsurgery. *J Reconstr Microsurg*. 1996 ;12: 467-474.
- 60- Ear T, McDonald PP. Cytokine generation, promoter activation, and oxidant-independent NF kappa B activation in a transfectable human neutrophilic cellular model. *BMC Immunol* 2008; 9:14.
- 61- Bosken CH, Doerschuk CM, English D, Hogg JC. Neutrophil kinetics during active cigarette smoking in rabbits. *J Appl Physiol* 1991; 71:630-637.
- 62- Lee J, Taneja V, Vassallo R. Cigarette smoking and Inflammation: Cellular and molecular mechanisms. *J Dent Res* 2012; 91: 142-149.
- 63- Van der Vaart H, Postma DS, Timens W, Ten Hacken NHT. Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: A review. *Thorax* 2004; 59 : 713-721.
- 64- Hawn MT, Houston TK, Campagna EJ, et al. The attributable risk of smoking on surgical complications. *Ann Surg*. 2011;254: 914-920
- 65- Gullihorn L, Karpman R, Lippiello L. Differential effects of nicotine and smoke condensate on bone cell metabolic activity. *J Orthop Trauma* 2005; 19:17-22.
- 66- Mosely LH, Finseth F. Cigarette smoking: Impairment of digital blood flow and wound healing in the hand. *Hand* 1977; 9: 97-101
- 67- Seyler Jr LE, Fertig J, Pomerleau O, Hunt D, Parker K. The effects of smoking on ACTH and cortisol secretion. *Life Sci* 1984; 34: 57-65.

- 68- Jensen JA, Goodson WH, Hopf HW, et al. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg* 1991; 126: 1131.
- 69- Krupski WC. The peripheral vascular consequences of Smoking *Ann Vasc Surg* 1991; 5:291-304.
- 70- Johnson NW, Bain CA. Tobacco and oral disease. EU-working group on tobacco and oral health. *Br Dent J* 2000; 189:200-206.
- 71- Pittilo RM. Cigarette smoking, endothelial injury and cardiovascular disease. *Int J Exp Pathol* 2000; 81:219-230.
- 72- Zucker MB, Nachmias VT. Platelet activation. *Arteriosclerosis* 1985; 5:2-18.
- 73- Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis. *Circulation* 1991; 84:142-145.
- 74- Wennmalm A, Benthin G, Granström EF, Persson L, Petersson AS, Winell S. Relation between tobacco use and urinary excretion of thromboxane A2 and prostacyclin metabolites in young men. *Circulation* 1991; 83:1698-1704.
- 75- Gately I. *Tobacco: The Story of How Tobacco Seduced the World*. 1st American ed. New York, NY: Grove Press 2001; 36-41
- 76- Morison SE. *Admiral of the Ocean Sea: A Life of Christopher Columbus*. Boston, Mass: Little, Brown, and Co. 1942; 98-110
- 77- Federal Trade Commission. *Federal Trade Commission Cigarette Report for 2007 and 2008*. Washington, DC: Federal Trade Commission; 2011
- 78- British American Tobacco Corp. *British American Tobacco Annual Report*. London, UK: British American Tobacco; 2011.
- 79- World Health Organization. *World Health Statistics 2011*. Geneva, Switzerland: WHO Press 2011
- 80- McCarthy CM, Mehrara BJ, Riedel E, et al. Predicting complications following expander/implant breast reconstruction: an outcomes analysis based on pre-operative clinical risk. *Plast Reconstr Surg*. 2008;121: 1886-1892
- 81- Manassa EH, Hertl CH, Olbrisch RR. Wound healing problems in smokers and nonsmokers after 132 abdominoplasties. *Plast Reconstr Surg*. 2003; 111: 2082-2087
- 82- Riefkohl R, Wolfe JA, Cox EB, et al. Association between cutaneous occlusive vascular disease, cigarette smoking, and skin slough after rhytidectomy. *Plast Reconstr Surg*. 1986; 77: 592-595
- 83- Bikhchandani J, Varma SK, Henderson HP. Is it justified to refuse breast reduction to smokers? *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2007; 60: 1050-1054
- 84- van Adrichem LN, Hovius SE, van Strik R, et al. The acute effect of cigarette smoking on the microcirculation of a replanted digit. *J Hand Surg*. 1992; 17: 230-234

- 85- Eckardt A, Fokas K. Microsurgical reconstruction in the head and neck region: an 18-year experience with 500 consecutive cases. *J Craniomaxillofac Surg.* 2003; 31: 197-201
- 86- Braga-Silva J, Gazzalle A, Mano LFM, et al. Is statistical validation of an effective, low-cost experimental smoke-exposure device to study passive smoking possible with 10 rats? *Rev. Bras. Cir. Plast.* 2011; 26: 194-197
- 87-van Adrichem LN, Hoegen R, Hovius SE, et al. The effect of cigarette smoking on the survival of free vascularized and pedicled epigastric flaps in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1996; 97: 86-96
- 88- Davies BW, Lewis RD, Pennington G. The impact of vasodilators on random-pattern skin flap survival in the rat following mainstream smoke exposure. *Ann Plast Surg.* 1998; 40: 630-636
- 89- Craig S, Rees TD. The effects of smoking on experimental skin flaps in hamsters. *Plast Reconstr Surg.* 1985; 75: 842-846
- 90- Nolan J, Jenkins RA, Kurihara K, et al. The acute effects of cigarette smoke exposure on experimental skin flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1985; 75: 544-551
- 91- Rieck B, Schlaak S. Measurement in vivo of the survival rate in autologous adipocyte transplantation. *Plast Reconstr Surg.* 2003; 111: 2315–2323
- 92- Kaufman MR, Bradley JP, Dickinson B, Heller JB, Wasson K, O'Hara C, et al. Autologous fat transfer national consensus survey: trends in techniques for harvest, preparation, and application, and perception of short- and long-term results. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119(1): 323-331
- 93-Oğuz Çetinkale Personal Communication
- 94-Moran VE. Cotinine: beyond that expected, more than a biomarker of tobacco consumption. *Fron. Pharmacology* 2012; 173(3) : 1-9
- 95-Guidelines for Interpreting Cotinine Levels: United States 2009
- 96-Baltar VT, Xun W. et al. Smoking, secondhand smoke, and cotinine levels in a subset of epic cohort; *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20(5)
- 97-Surgeon General's report on smoking and health Chapter II; Nicotine: Pharmacokinetics, Metabolism, And Pharmacodynamics 1998; 40-52
- 98-Benowitz NL. Cotinine as a Biomarker of Environmental Tobacco Smoke Exposure; *Epidemiol Rev* 1996 ;18(2)
- 99-Benowitz N.L., Bernert, J.T., Caraballo, R.S., et.al. Optimal serum cotinine levels for distinguishing smokers and nonsmokers within different racial/ethnic groups in the United States between 1999-20004 *Am J Epidemiol* 2009; 169(2), 236-248
- 100-Nishimura T, Hashimoto H, Nakanishi I, Furukawa M. Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of fat grafts *The Laryng.* 2000; 110; 1133-1138