



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



TOPIKAL NİTROGLİSERİN UYGULAMASININ YAĞ GREFTİ YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Elvin ALİYEV

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Serdar Mehmet GÜLTAN

ANKARA

2021

Elvin ALİYEV

AÜTF – PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ TIPTA UZMANLIK TEZİ (2021)

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TOPIKAL NİTROGLİSERİN UYGULAMASININ YAĞ GREFTİ
YAŞAYABİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Elvin ALİYEV

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Serdar Mehmet GÜLTAN

ANKARA

2021

Ankara Üniversitesi

Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “**Topikal Nitrogliserin Uygulamasının Yağ Grefti Yaşayabilirliği Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerkere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımca yapılmış olup tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler **Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu** tarafından, **17/06/2020** tarihinde, **2020–11-97** numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Elvin ALİYEV

Tarih: 14.03.2021

İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Topikal Nitrogliserin Uygulamasının Yağ Grefti Yaşayabilirliği Üzerine Etkilerinin Araştırılması

ORJİNALLİK RAPORU

%**9**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**8**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**0**

YAYINLAR

%**3**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

Gönderim Tarihi: 15-Nis-2021 05:38PM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 1559991807

Dosya adı: Ya_Grefti_Ya_ayabilirli_i_zerine_Etkilerinin_Ara_t_r_lmas.docx (11.1M)

Kelime sayısı: 10147

Karakter sayısı: 67774

KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı: Dr. Elvin Aliyev	Sınav tarihi: 16 / 04 / 2021
Anabilim/Bilim Dalı: Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.D	
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Serdar M. Gültan	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Topikal Nitrogliserin Uygulamasının Yağ Grefti Yaşayabilirliği Üzerine Etkilerinin Araştırılması	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☐ 1 ☒ 2 ☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız.	

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Serdar M. Gültan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Savaş Serel

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Kemal Fındıkçıoğlu

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Eğitimim süresince her zaman beni destekleyen ve bir adım daha ileri gitmem için çaba sarf eden sayın hocalarım Prof. Dr. Serdar Mehmet GÜLTAN, Prof. Dr. Mustafa Rıza ÖZBEK, Prof. Dr. Kutlu SEVİN, Prof. Dr. Zeki CAN, Prof. Dr. Savaş SEREL ve Doç. Dr. Burak KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi hazırlarken her konuda yardımcı olan sayın Prof. Dr. Rifki Hazıroğlu'na, Dr. Selin Arda Tunç'a, aynı zamanda değerli arkadaşlarım Dr. Necip Sefa Özden'e ve eşi Dr. Merve Özden'e teşekkürü borç bilirim.

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Kampüsü Cerrahi binasının adeta ikinci evim olmasında katkıları olan, 5,5 yıl boyunca hüznümü, sevincimi paylaşan asistan, hemşire ve bütün iş arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Özgünlük Raporu	iii
Kabul ve Onay Sayfası	iv
Önsöz	v
İçindekiler	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller Dizini	ix
Tablolar Dizini	x
1. TÜRKÇE ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1 Yağ Greftinin Genel Özellikleri	5
4.1.1 Yağ Grefti Nedir	5
4.1.2 Yağ Greftinin Tarihçesi ve Özellikleri	7
4.1.3 Yağ Greftinin Tutma Mekanizması	8
4.2 Nitrogliserin	9
4.2.1 Nitrogliserin Tarihçesi	9
4.2.2 Nitrogliserin Hakkında Genel Bilgiler	9
5. GEREÇ ve YÖNTEM	13
5.1 Kullanılan İlaçlar, Cihazlar ve Araç-Gereçler	13
5.1.1 Kullanılan İlaçlar	13
5.1.2 Kullanılan Cihazlar	15
5.1.3 Kullanılan Araç-Gereçler	15
5.2 Gruplar	16
5.3 Topikal Nitrogliserin Uygulanması	16
5.4 Cerrahi Yöntem	16
5.5 Biyokimyasal Yöntem	24
5.6 Histolojik Yöntem	25
5.7 İstatistiksel Analiz	25

6.	BULGULAR	26
6.1	Makroskopik Bulgular	26
6.2	Histolojik Bulgular	28
6.3	İstatistiksel Değerlendirme	33
7.	TARTIŞMA	36
8.	SONUÇ ve ÖNERİLER	40
9.	KAYNAKLAR	41
10.	EKLER	48



SİMGELER VE KISALTMALAR

Arb:	Arbitrary Unit	Rasgele Ünite
ASC:	Adipose Stem Cells	Adipoz Kök Hücre
ASP:	Acylation Stimulating Protein	Asilasyon Uyarıcı Protein
ATP:	Adenosine Triphosphate	Adenozin Trifosfat
cGMP:	Cyclic Guanosine Monophosphate	Siklik Guanozin Monofosfat
EGF:	Epidermal Growth Factor	Epidermal Büyüme Faktörü
EPO:	Erythropoetin	Eritropoetin
FDA:	Food and Drug Administration	Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu
FDGF:	Fibroblast Derived Growth Factor	Fibroblast Kaynaklı Büyüme Faktörü
FGF:	Fibroblast Growth Factor	Fibroblast Büyüme Faktörü
H-ESI:	Heated Electrospray Ionization	Isıtılmış Elektrosprey İyonizasyonu
H-E:	Hematoxylin - Eosin	Hematoksilen – Eozin
HIF-1α:	Hypoxia-inducible Factor-1 α	Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1 α
IGF:	Insulin like Growth Factor	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-6:	Interleukin-1	İnterlökin-1
MIF:	Migration Inhibiting Factor	Migrasyon İnhibisyon Faktörü
mg:	Milligram	Miligram
μl:	Microliter	Mikrolitre
mL:	Milliliter	Mililitre
mRNA:	Messenger RNA	Mesajcı RNA
NO:	Nitric Oxide	Nitrik Oksit
NOS:	Nitric Oxide Synthase	Nitrik Oksit Sentaz
PAI-1:	Plasminogen Activator Inhibitor-1	Plazminojen Aktivitör İnhibitörü-1
PGI₂:	Prostacyclin 2	Prostasiklin 2
PGF_{2α}:	Prostaglandin F2 Alpha	Prostaglandin F2 Alfa
PRP:	Platelet Rich Plasma	Plateletten Zengin Plazma
TNF-β:	Tumor Necrosis Factor- β	Tümör Nekroz Faktörü- β
TGF-β:	Transforming Growth Factor- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β
VEGF:	Vascular Endothelial Growth Factor	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 2% Topikal Nitrogliserin, NITRO-BID®	13
Şekil 2. Aplikatör yardımı ile ilaç miktarı ayarlandı.	14
Şekil 3. Vazelin, Vaseline Original	14
Şekil 4. Anestezi uygulamasını takiben ense bölgesi tıraşlandı.	17
Şekil 5. Sağ inguinal bölge tıraşlandı.	17
Şekil 6. Bistüri ve yapışkan bant yardımı ile skalpe deskuamasyon yapıldı.	18
Şekil 7. İntrakardiyak kan örneği alınması.	18
Şekil 8. Alınan intrakardiyak kanlar lityum heparinli tüplere aktarıldı.	19
Şekil 9. İnguinal bölge povidon iyot ile temizlendikten sonra steril olarak örtüldü.	19
Şekil 10. Sağ inguinal yağ yastıkçığının alınması.	20
Şekil 11. Alınan yağ greftinin haciminin değerlendirilmesi.	21
Şekil 12. Alınan yağ greftinin ağırlığının değerlendirilmesi.	21
Şekil 13. Silikon disk yardımıyla alıcı saha standardizasyonu.	22
Şekil 14. Yağ grefti poşa yerleştirildi ve 3/0 keskin iğneli ipek ile suture edildi.	22
Şekil 15. Yağ grefti eksizyonu.	23
Şekil 16. İşlem sonrası alınan yağ grefti.	23
Şekil 17. Kontrol grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı ve mononükleer hücre infiltrasyonun içerisinde yer alan yabancı cisim dev hücresi (siyah ok) görülmektedir.	28
Şekil 18. Kontrol grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, mononükleer hücre infiltrasyonu (beyaz ok) ve bağ doku artışı (siyah ok) görülmektedir.	29
Şekil 19. Kontrol grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, nekrozla beraber (N) nötrofillerin varlığı (beyaz ok başı),	

mononükleer hücre infiltrasyonu (siyah ok başı), bağ doku artışı (beyaz oklar) ve yabancı cisim dev hücreleri (siyah oklar) izlenmektedir.	29
Şekil 20. Kontrol grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, mavi renkte boyanan bağ doku artışı (beyaz oklar) ve yabancı cisim dev hücreleri (siyah oklar) izlenmektedir.	30
Şekil 21. Deney grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, bağ doku artışı (beyaz oklar) ve yabancı cisim dev hücreleri (siyah oklar) izlenmektedir.	31
Şekil 22. Deney grubuna ait greftte az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu ile seyreden normal yapısını koruyan yağ vakuolleri görülmektedir.	31
Şekil 23. Deney grubuna ait greftte normal yapısını koruyan yağ vakuolleri görülmektedir.	32
Şekil 24. Deney grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, mavi renkte boyanan bağ doku artışı (beyaz oklar) ve yer yer nötrofil lökositlerle beraber seyreden mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmektedir.	32

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Yağ hücresine etki eden hormonlar ve yağ hücresinden salgılanan ürünler.	6
Tablo 2. Nitrogliserinin serumda tespiti için kullanılan LC-MS/MS iyon kaynağı metot optimizasyon parametreleri.	24
Tablo 3. Deney ve kontrol gruplarının bazı tanımlayıcı özellikleri.	26
Tablo 4. Greftlerin ağırlık ve hacim özelliklerinin dağılımı.	27
Tablo 5. Patolojik bulguların özelliklerinin dağılımı.	34
Tablo 6. Deney grubunda nitrogliserin seviyesine göre korelasyon değerlerinin dağılımı.	35

1. TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi'nin önemli uygulamalarından birisi, vücudun çeşitli bölgelerinde oluşan hacim kaybının önüne geçilmesi için kullanılan yağ enjeksiyonudur. Kolaylığı ve düşük maliyeti nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir dolgu yöntemidir. Otolog yağ enjeksiyonunun en büyük dezavantajı greft yaşayabilirliğinin tahmin edilememesidir. Otolog yağ grefti ile ilgili çalışmaların büyük bir çoğunluğu greft yaşayabilirliğini artırmaya yönelik çalışmalardır. Etken faktörlere baktığımızda alıcı sahanın damarlanmasının yüksek olmasının yağ grefti yaşayabilirliğini artırdığını görmekteyiz. Nitrogliserin, nitrat türevi potent bir vazodilatördür. Bunun yanı sıra nitrogliserin proanjiogenik, antioksidan ve antiplatelet özelliklere sahip olan bir maddedir. Bu çalışmada topikal olarak uygulanan nitrogliserinin yağ grefti yaşayabilirliği üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu amaçla 20 adet Wistars Albino rat deney hayvanı 2 grup halinde kullanıldı. Yağ grefti olarak sağ inguinal yağ yastıkçığı belirlendi. Skalp alıcı saha olarak kullanıldı. Deney grubuna vaskülarizasyonun artırılması için operasyondan 1 saat önce ve greft yerleştirildikten sonra takiben 1 hafta boyunca alıcı sahaya %2 topikal nitrogliserin uygulandı. Ratlar 6 hafta takip edildi ve yağ greftleri eksize edilerek histopatolojik incelemeye yollandı.

Bulgular: Yapılan çalışma sonucunda hem greftler eksize edilirken makroskopik olarak hem de histolojik analizindeki incelemelerde mikroskopik olarak nitrogliserinin yağ grefti yaşayabilirliği üzerine olumlu etki ettiği gözlemlendi. Lokal nitrogliserin uygulanan gruptaki greftlerdeki ağırlık kaybı diğerine göre daha az olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlıydı. Greftlerde oluşan nekroz ve yabancı dev hücre oluşumu değerlendirildiğinde nitrogliserin uygulanan gruplarda daha az oranda bu problemlerin olduğu görüldü. Nitrogliserinin greftte oluşan inflamasyonu istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttığı gözlemlendi. Adiposit bütünlüğüne bakıldığında lokal nitrogliserin uygulanan gruptaki adiposit bütünlüğü, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak da anlamlı bulundu. Ratların ense bölgelerine uygulanan topikal nitrogliserinin kanda tespit edilebilir seviyeye ulaştığı gösterildi. Serumdaki nitrogliserin seviyesi ile adiposit bütünlüğü arasında pozitif korelasyon saptandı. Nekroz, inflamasyon ve ağırlık azalması ile serum nitrogliserin seviyesi arasında negatif korelasyon saptandı.

Sonuç: Sıçanlar üzerinde yapılan bu çalışma topikal nitrogliserinin yağ grefti yaşayabilirliği üzerine olumlu etkisi olduğunu gösteren ilk bilimsel çalışmadır. Aynı zamanda, sıçanların ense bölgesine uygun deskuamasyon yapıldığında topikal nitrogliserinin kanda tespit edilebilir düzeye ulaştığını gösteren ilk çalışmadır. Hem hayvan sayısı artırılarak hem de metot modifiye edilerek daha iyi sonuçlar elde edilebileceği öngörülmektedir. Yapılacak daha ileri çalışmalarla, ucuz maliyeti ve kolay erişebilirliği nedeniyle bu topikal uygulama gelecekte insanda yapılan yağ grefti uygulamalarının bir parçası olma ihtimalini taşımaktadır.

Anahtar Sözcükler: nitrogliserin, greft yaşayabilirliği, otolog transplantasyon, adipoz doku, rekonstrüktif cerrahi işlemler

2. ABSTRACT

Aim: Fat grafting is one of the important procedures in Plastic and Reconstructive surgery which is used to prevent volume loss in various areas of the body. It is a frequently preferred filling method due to its simple obtainability and low cost. The biggest disadvantage of autologous fat injection is the inability to predict graft survival. Due to the unpredictability this method is considered unreliable. Most of the studies on autologous fat grafts are studies aimed at increasing the viability of the graft. Investigation of causative factors shows that the high vascularization of the recipient area increases the viability of the fat graft. Nitroglycerin is nitrate derivative with potent vasodilatory properties. In addition, nitroglycerin is a substance that has proangiogenic, antioxidant and antiplatelet properties. The aim of this study was to investigate the effects of topically applied nitroglycerin on fat graft viability.

Materials and Methods: For this purpose, 20 Wistars Albino rats were divided into 2 groups. Right inguinal fat pad was used as fat graft source. The scalp was used as the recipient area. In order to increase vascularization in the experimental group, 2% topical nitroglycerin was applied to the recipient area 1 hour before the operation and for 1 week after the graft was implanted. Rats were observed for 6 weeks and fat grafts were excised and sent for further histopathological investigation.

Results: As a result of the study, it was observed that nitroglycerin had a positive effect on fat graft viability in both macroscopic and histological analysis. The weight loss of the grafts in local nitroglycerin group was lower and it was statistically significant. Also, the nitroglycerin group had less necrosis and giant cells formed in the fat grafts. It was also noted that nitroglycerin significantly decreased the inflammation in the graft. Nitroglycerin also had positive effects on adipocyte integrity and it was statistically significant compared to the control group. At the same time, topical nitroglycerin applied to the scalp of rats had reached detectable levels in blood samples. There was a positive correlation between serum nitroglycerin levels and adipocyte integrity. Necrosis, inflammation and weight loss parameters were in negative correlation with serum nitroglycerin levels.

Conclusion: To our knowledge, this is the first scientific study showing positive effect of topical nitroglycerin on viability of fat grafts. Also, this is the first study to show that topical nitroglycerin reaches detectable blood levels when appropriate desquamation is applied to the scalp of rats. The better results could be obtained by both increasing the number of animals and modifying the method. With further studies conducted, this topical application could be used as a part of human fat grafting procedure in the future due to its low cost and easy availability.

Key Words: nitroglycerin, graft survival, autologous transplantation, adipose tissue, reconstructive surgical procedures

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Yağ grefti uygulamaları Plastik Cerrahi’de estetik form ve fonksiyon iyileştirilmesi için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Hastanın kendi dokularından alınması nedeniyle kolay bir şekilde yüksek hacimde otolog dolgu maddesi elde edilebilir. Özellikle meme rekonstrüksiyonu, gluteal augmentasyon gibi fazla dolgu maddesi gerektiren operasyonlarda basit ve hızlı erişim nedeniyle en sık kullanılan yöntemler arasındadır(1). Sentetik ve biyolojik dolgu maddelerine kıyasla alerji, yabancı cisim reaksiyonu gibi riskler taşımadığı için daha avantajlı olduğu kabul görmektedir(2).

Otolog yağ enjeksiyonunun çeşitli kullanım alanları mevcuttur. Klinikte temel olarak meme büyütmede, meme rekonstrüksiyonunda, yanık kontraktürlerinde, radyasyon hasarında, kontür düzeltilmesinde ve skar revizyonu için kullanılmaktadır(3).

Tüm cerrahi operasyonlarda olduğu gibi cerrahın deneyimi, yağ alınma şekli, kullanılan teknikler operasyon sonucunu etkilemektedir(4). Otolog yağ greftinin sonucunu etkileyen bir diğer önemli faktör ise greftinin yaşayabilirliğidir. Günümüzde yağ greftinin yaşayabilirliği tahmin edilememektedir. Bu alandaki çalışmalar yağ grefti sağkalımının %20-90 arasında değiştiğini göstermektedir(5-7). Choi ve ark. greft kalıcılığını 3 boyutlu fotoğraflarla takip ederek %40-50 arası kalıcılık bildirdiler(8). Greftin tutma oranı tahmin edilemediği için yağ grefti uygulamalarının güvenilirliği yüksek değildir. Bu nedenle yapılan çoğu bilimsel çalışma yağ grefti sağkalımını artırmak üzerine yapılmaktadır(8-10).

Greft sağkalımını etkileyen birçok faktör sıralanabilir. Bunlar arasında greft alımı ve enjeksiyonu sırasında kullanılan kanüller, enjektör hacmi, greftin hazırlanış şekli, kontaminasyonu, donör sahanın ve alıcı sahanın özellikleri yer almaktadır(11). Greft

yaşayabilirliğini artırmak için bu faktörleri modifiye ederek çeşitli yöntemler denenmektedir. Genel bakışta bu yöntemler greft alım tekniği, yağ greftinin çeşitli maddeler ile işlenmesi ve alıcı sahanın enjeksiyon öncesi hazırlanışı şeklinde sınıflandırılabilir. Yağ hücrelerinin hassasiyeti nedeniyle greft alımı sırasında uygulanan negatif basınç önemlidir(12). Alım sırasında kullanılan kanül büyüklüğü yağ greftinin büyüklüğünü belirler(9). Yağ greftinin boyutu aynı zamanda alıcı sahada greftin sağkalımını etkileyen faktörler arasındadır(13).

Yağ grefti aktarıldığı bölgede öncelikle difüzyon yolu ile beslenmektedir. Yağ greftinin enjeksiyon sonrası ikinci güne kadar beslenemeyen orta zonunda atrofi ve nekroz ortaya çıkmaktadır. İkinci günden sonra neovaskülarizasyon başlar(6).

Neovaskülarizasyonu hızlandıran maddeler arasında “Platelet rich plasma” (PRP), “Fibroblast Growth Factor” (FGF), “Vascular Endothelial Growth Factor” (VEGF), “Epidermal Growth Factor” (EGF) gibi çeşitli büyüme faktörleri, Eritropoetin (EPO), “Adipose derived stem cells” (ADSCs) bulunmaktadır(14-17). Özellikle VEGF’nin neovaskülarizasyonu artırıcı etkisinin yanında preadiposit farklılaşmasını aktive etme özelliği de bulunmaktadır(18). Sezgin ve ark. alıcı sahaya mikroporasyon uygulayarak, Jung Woo Lee ve ark. alıcı sahaya eksternal negatif basınç uygulamakla greft yaşayabilirliğinin artırılabilceğini göstermişlerdir(19, 20).

Nitrogliserin, anjina pectoris ve kalp yetmezliğinde sublingual ve topikal olarak uygulanan bir maddedir(21). Endotelden Prostatiklin (Pgl2) salınımı yoluyla hem arterler hem de venlerde vazodilatör etkiye sahiptir(22).

Waters ve ark. vazodilatör ajanlarla nitrogliserini karşılaştırdığı çalışmada en potent vazodilatör etkili ajanın nitrogliserin olduğunu göstermiştir(23). Literatürde birçok çalışmada nitrogliserinin random paternli fleplerde sağkalımı artırdığı gösterildi(23-25). Cheng ve ark. venöz ülser modeli üzerinde yaptıkları çalışmada topikal nitrogliserin uygulamasının VEGF, HIF-1, Ang-1 gibi maddelerinin moleküler ekspresiyonunu artırarak anjiogenezi artırdığını saptadılar(26). Buradan yola çıkarak alıcı sahada vazodilatasyon ve vaskülariteyi artıran bir madde olan topikal nitrogliserin ile alıcı saha etkileşiminin yağ grefti yaşayabilirliğini artıracığı hipotezi kuruldu.

4. GENEL BİLGİLER

4.1 Yağ Greftinin Genel Özellikleri

4.1.1. Yağ Grefti Nedir

Yağ dokusu embriyolojik olarak mezenkimal kaynaklıdır. Adiposit hücrelerin yanında stromal vasküler komponenti oluşturan nötrofiller, makrofajlar, fibroblastlar, perisitler, endotel hücreleri ve kök hücreleri içermektedir. Bu kök hücreleri, üç embriyonik tabaka (endoderm, ektoderm ve mezoderm) hücrelerine dönüşme özelliğine sahiptirler(27). Yaşlanma ile azalan bu hücrelerin fizyolojik olarak vasküler endoteliyal hücrelere dönüşme potansiyelleri de mevcuttur. Ayrıca yağ dokusu kaynaklı kök hücreler normal büyümede, obezitedeki yağ hiperplazisinde, iskemi ya da hasar sonrası onarımda, mekanik güçler sonrası doku genişlemesinde görev alırlar(28).

Erişkinlerde beyaz ve kahverengi olmak üzere iki çeşit yağ dokusu bulunmaktadır. Yenidoğan döneminde belli bölgelerde bulunan kahverengi yağ dokusu yaşla birlikte azalmaktadır. Yağ dokusunun esas görevleri yağ depolamak ve travmalara karşı iç organları ve iskelet sistemini korumaktır(29). Ayrıca yağ dokusunun endokrin ve metabolik görevleri de bulunmaktadır. Yağ dokusundan salınan birçok hormon sayesinde açlık ve tokluk düzenlenmektedir. Örneğin adipositlerden salınan leptin açlık durumunda azalıp tokluk döneminde artan ve beyinde tokluk sinyali oluşturan bir hormondur. Yağ dokusundan adipokin olarak adlandırılan peptit yapıda birtakım medyatörler de salınmaktadır. Adipokinlerin en önemlilerinden biri olan adiponektin kas dokusunda ve karaciğerde reseptörlere sahiptir. Glukoz ve yağ metabolizmasında görev almaktadır. Adipoz dokusundan salınan TGF- β , IL-1, IL-6 diğer maddeler arasındadır(30). Yağ dokusundan salınan maddeler ve fonksiyonları **Tablo 1** de özetlenmiştir(28, 31-33).

Yağ hücresinden Salgılanan Ürünler ve Fonksiyonları:	
ASP (Asilasyon Uyarıcı Protein)	Trigliserid sentez hızını ayarlar
Adipofilin	Lipid akümüasyonunun spesifik markıdır
Anjiotensinojen ve Anjiotensin II	Vazoaktif anjiotensin II prekürsörüdür ve kan basıncını regüle eder. Lipoblast diferansiasyonunu inhibe eder.
Leptin	Enerji homeostazını düzenler ve yağ dokusu hakkında hipotalamusa bilgi verir
Rezistin	İnsülin direnci ve periferik doku insülin hassasiyeti ile ilgilidir.
TNF- β	İnsülin reseptör sinyaline karışır ve obezlerde insülin direncine sebep olur
Adiponektin	Ailevi hiperlipidemi patogeneğinde yer alır ve insülin direnci ile ilgilidir.
Adipsin	Yağ dokusu metabolizmasından sorumludur
IL-6	Vücut savunmasında, glukoz ve yağ metabolizmasında görev alır.
PAI-1	Fibrinolitik sistemin en önemli inhibitörüdür.
TGF- β	Proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi süreçleri düzenler
IGF-1	Hücrelerde çoğalmayı uyarır ve büyüme hormonunun etkisine aracılık eder.
PGI ₂ ve PGF _{2α}	İnflamasyon, pıhtılaşma, ovülasyon, menstrüasyon gibi süreçlerin düzenlenmesi
MIF	İnflamasyon öncesi süreçler ve immüitenin düzenlenmesi.

Tablo 1. Yağ hücresine etki eden hormonlar ve yağ hücresinden salgılanan ürünler.

Adipoz kök hücre (ASC) bir çeşit erişkin kök hücredir ve 2000'li yıllarda bulunmasından itibaren çalışmalar giderek artmıştır. Kök hücreler perisitler ile adipositler arasında yer alır. Bu hücreler iskemik durumlarda anjiyojenik faktörler salgılayarak vasküler endotelial hücrelere dönüşürler. Yaşlılarda kök hücre sayısının azalmasına bağlı yağ yıkımı yapımının önüne geçer ve yağ dokusu miktarı azalır. Lipotransfer işlemine eklenen kök hücrelerinin, yağ dokusunun rejeneratif kapasitesini artırdığı gösterilmiştir(34).

Yağ dokusunda adipositler iskemiye en duyarlı hücrelerken, kök hücreler ise ciddi iskemide bile 3 gün süre ile canlı kalabilirler. Doku hasarı sonucu hasarlı hücrelerden salınan mediyatörler kök hücreleri aktive ederek hem proliferasyonu tetikler hem de kök hücrelerinin salgıladığı büyüme faktörleri ile fibroenez bastırılmaya çalışılır. Bu nedenle yağ greftleri skar iyileştirilmesi için sıklıkla kullanılmaktadır(35).

4.1.2 Yağ Greftinin Tarihçesi ve Özellikleri

Yağ grefti diğer doku greftleri gibi kan dolaşımı kesilerek vücudun bir bölgesinden başka bir bölgesine aktarılan yağ dokusudur. Klinikte temel olarak meme büyütmede, meme rekonstrüksiyonunda, yanık kontraktürlerinde, radyasyon hasarında, kontür düzeltilmesinde kullanılmaktadır.

İlk defa 1893 yılında Alman plastik cerrah Gustav Neuber yağ dokusunun deprese skar altına uygulanabilirliğini göstermiş ve hastanın kolundan aldığı yağ dokusunu orbital bölgedeki osteomiyelite bağlı skar dokusu altına yerleştirmiştir(36). Bundan kısa bir süre sonra 1895 yılında Viktor Czerny parsiyel mastektomi sonrası oluşan asimetriyi gidermek amacıyla hastanın uyluğunda bulunan lipomu eksize edip memeye yerleştirmiştir(37). Eugene Hollander kontür deformiteleri, depresyonlar, postmastektomi skarları için insan yağ dokusu ile koç yağ dokusunu karıştırmış ve bu karışımı sıvılaştıncaya kadar ısıttıktan sonra enjekte etmiş ve 2 haftalık geçici kızarıklık sonrası tatmin edici sonuçlar elde etmiştir(38). Erich Lexer 1911 yılında yağ enjeksiyonu sırasında greftin zarar görmesi sonrası greft hacminde azalma olduğunu saptamıştır. Yine Lexer 1919 yılında “Die freien Transplantationen” adlı 2 ciltlik kitabında 300’den fazla sayfayı yağ grefti için ayırmıştır. Soket rekonstrüksiyonu, meme asimetrisi, hemifasyal atrofi, deprese skar, mikrognați, tendon onarımı sonrası yapışıklık azaltılması gibi konular üzerine çalışmalar yapmıştır. Bu geniş serilerinde %66’lar düzeyinde sağkalım

olduğunu bildirmiştir. En sık kullandığı donör alanı ise uyluk lateralidir(39).

Yağ greftinin erken sonuçları tatmin edici olmasına rağmen uzun dönemde meydana gelen rezorpsiyon önemli problem oluşturmaktadır. Uzun dönem sonuçlarını iyileştirmek amacıyla optimizasyon çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Illouz 1980'lerde liposakşının yaygınlaşması ile aspire edilen yağ dokusunun greft olarak enjekte edilebileceğini göstermiş ve uygulamıştır(40, 41). Abel Chajchir yağ dokusunu serum fizyolojik ile yıkayarak debrisleri elimine edince greft sağkalımının artacağını öne sürmüştür(41). 1997 yılında Sydney Coleman geliştirdiği yöntemlerle yağ grefti uygulamalarında greft sağkalımını maksimumda tutmuştur. Lipostructure ismini verdiği işlemde 3 mm'lik künt kanülü 10 ml'lik enjektöre bağlayıp düşük basınçla aspire etmiştir. Ardından yağ greftinin 3 dakika boyunca dakikada 3000 devirde santrifüj edilerek ayrıştırılan yağ komponentinin 18-G kanül ile enjekte edilmesi gerektiğini belirtmiştir. Enjeksiyon sırasında 1 ml-3 ml şırınga kullanımı dokular arasında 0,1 ml'den daha az boşluk oluşturduğu için revaskülarizasyonun daha iyi olduğunu rapor etmiştir(2).

4.1.3 Yağ Greftinin Tutma Mekanizması

Yağ grefti diğer greftlere nazaran daha kolay travmatize ve enfekte olabilen bir dokudur. Literatürde yaşayabilirlik oranı %20-90 arasındadır. Alıcı sahaya aktarılan greft ilk iki gün çevre dokulardan plazmatik imbibisyon yolu ile beslenmektedir. İskemiye maruz kalan adipositlerin çoğu bu dönemde ölmektedir. Ölen adipositlerden salınan sitokinler ve makrofaj gibi hücreler yağ dokusuna infiltre olmaktadır(35).

Aktarılan yağ greftinin ilk 3 ay beslenmesi "yeniden yapılanma dönemi" olarak adlandırılır. Bu dönemde yağ grefti alıcı sahada 3 tabaka halinde bulunur. Bu tabakalar iç tabaka (nekroz tabakası), orta tabaka (yenilenme tabakası) ve dış tabaka (yaşayan tabaka) olarak sıralanabilir. Nekroz tabakasında bulunan adipositler fagositoz için makrofajlarca çevrelenirler fakat bu fagositoz haftalar bazen aylar sürebilir. Adiposit kaynaklı kök hücreler yaşayan tabaka ve yenilenme tabakasında doku onarımını sağlamaktadır(42). Kök hücre aracılı adipogenez 4. haftada en üst seviyeye ulaşır ve 3. ayda sonuçlanır. Ancak nekroz tabakasındaki hipoksi nedeniyle yenilenme olmamaktadır. Greftte meydana gelen bu yenilenme süreci son greft hacmini belirlemektedir. Bu süreç alıcı saha vaskülaritesine, greft büyüklüğüne ve greft

teknikğine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Yağ dokusu etrafında ortaya çıkan skar sonucunda yağ grefti stabilize olmaktadır. 8 mm'den büyük yağ parçacıklarının iç kısmında oluşan nekroz tabakası yağ kisti olarak kalıcı bir hal alır. İlerleyen dönemde yağ kisti inflamasyona sebep olur(43).

Yağ grefti uygulamalarında en önemli tartışma konusu yaşayabilirliktir. Literatürde birçok araştırma yağ greft uygulamalarını optimize etmeye çalışmaktadır. Ancak geliştirilen birçok teknikke rağmen yaşayabilirlik halen öngörülememektedir. Klinik uygulamalarda ikinci ya da üçüncü tekrarlar gerekmektedir. Yağ greftiyle birlikte uygulanan PRP, FGF, VEGF, EGF gibi çeşitli büyüme faktörleri ve EPO çalışılan maddeler arasındadır. Ayrıca alıcı sahanın damarlanmasındaki artış yağ grefti uygulama başarısını artıracığından; botulinum toksini, VEGF gibi çeşitli ajanlarla alıcı sahanın hazırlanması, aynı zamanda mikroporasyon, eksternal basınç uygulamaları da yapılan çalışmalar arasındadır(11, 17, 20, 44).

4.2 Nitrogliserin

4.2.1 Nitrogliserinin Tarihçesi

Gliseril trinitrat maddesi Askanio Sabrero tarafından 1847'de keşfedilmiştir. Bu madde ile çalışmaları sırasında, ciddi baş ağrısı ortaya çıktığını gözlemlemiştir. Gliseril trinitrat 19. yüzyılda dinamit ve çeşitli patlayıcı üreten fabrikalarda kullanılmıştır. Bu fabrikalarda çalışan işçilerin hafta içi baş ağrısı olduğunu, ama kalp hastalığı olanların semptomlarının azaldığının fark edilmesi üzerine farmakolojik özellikleri araştırılmaya başlanmıştır(45). Lauder Brunton'un nitritlerin güçlü vazodilatatör etkisini keşfetmesi ile, hipertansiyon, myokard enfarktüsü, kalp yetmezliği ve anjina pectoris gibi patolojilerde kullanılmasıyla ilgili araştırmalar yapılmaya başlanmıştır. 19. yüzyıl sonunda gliseril trinitrat anjina pectoris tedavisinde kullanılmaya başlansa da, etki mekanizması 1970'lerde ortaya konulmuştur(46). 1998 yılında Robert Furchgott ve ark. tarafından yapılan 'Kardiyovasküler Sistemde Sinyal Molekülü Olarak Nitrik Oksit' isimli çalışması Nobel ödülü kazanmıştır(46, 47).

4.2.2 Nitrogliserin Hakkında Genel Bilgiler

Nitrogliserin, damar endoteline penetre olur ve metabolizması sonrasında NO oluşumunda görev alır. Nitrogliserinin, NO salınımı sırasında etki gösteren guanilat siklazı aktive ederek siklik guanozin monofosfat (cGMP) seviyelerinde artışa sebep olduğu ileri sürülmüş, daha sonra nitrogliserinin nitrik oksite metabolize olduğu gösterilmiştir(44, 48). Chung ve ark. nitrogliserini nitrik oksite çeviren plazma membran bağlayıcı enzimin varlığını ortaya çıkarmıştır(49). Nitrogliserin vasküler düz kas relaksasyonuna sebep olur. Venöz dilatasyon arteryal dilatasyona göre daha belirgindir. Nitrogliserinin polivinilklorid tarafından tutulması nedeniyle, nitrogliserin ile yapılacak işlemlerde cam şişeler ve özel intravenöz setlerin kullanılması tavsiye edilir. Tolerans; NO oluşumu için gerekli olan reaktanların tükenmesi, vazokonstriktif maddelerin kompensatuar sekresyonu veya hacim genişlemesi nedeniyle gelişebilir. Nitrogliserin glutatyon organik nitrat redüktaz tarafından karaciğer ve kanda hızlı redüktif hidrolize uğrar. İnflamasyon anında vazodilatasyonu takiben damar geçirgenliğinde artış ve lökosit birikimi gözlenir. Renal glomerüler filtrasyon hızında azalma, dispepsi, akut böbrek yetmezliği, gastrik erozyon, interstisyel nefrit, peptik ülser, papiller nekroz, üst gastrointestinal sistem kanamasında çok sayıda mediyatörün katkısı olduğu gösterilmiştir. Nitrik oksit bu mediyatörlerden en önemlisidir. Aynı zamanda inflamatuvar sürecin pek çok aşamasında rol aldığı bilinmektedir(50).

Nitrik oksit multiple organ sistemlerinde fizyolojik işlevlerde geniş yer tutan endojen bir moleküldür(51). Vasküler düz kas hücrelerinde, makrofajlarda ve endotelyal hücrelerde oluşan NO, L-argininin NO sentaz enziminin katalizörlüğünde oksidasyon sonucunda oluşur. Vasküler tonus, miyokard kontraktilitesi, trombosit agregasyonu ve hücre proliferasyonu üzerine inhibitör etkileri mevcut(52). NO, 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki tarafından, damar endotelinden salınan 'Endotel kaynaklı gevşetici faktör' (EDRF) olarak tanımlandı. 7 sene sonra Furchgott ve Ignarro, birbirlerinden bağımsız olarak EDRF'nin NO olabileceğini öngördüler. NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile sentezlenir ve hem otokrin hem de parakrin mediyatör fonksiyonları mevcuttur. Çok basit kimyasal yapıya sahip olmasına rağmen oldukça farklı ve zıt etkileri bulunmaktadır. NOS enzim izoformlarından indüklenebilir NOS (iNOS), endotoksinler ve pro-inflamatuvar sitokinler gibi uyarılarla aktive olur ve NO üretimini artırır. Nöronal NOS (nNOS) sinir sisteminde ve akciğer, pankreas, mide, uterus gibi bazı dokularda bulunur. Endotelyal NOS ise (eNOS) endotel hücrelerde bulunur(53). NOS,

arjinini substrat olarak kullanarak NO ve sitrüllini oluşturur. NO aşırı üretimini azaltmanın en iyi yolu NOS için uygun substratı azaltan L-arjinin analoglarını kullanmaktır. Nitrik oksitin birçok etkisi çözünebilen guanilat siklaz aktivasyonu ile oluşur. Pankreasın asiner hücrelerinde guanilat siklaz enzimi ile guanozin 3,5-siklik monofosfat (cGMP) sentezi düzenlenir. Oluşan cGMP, hücre içi serbest kalsiyum seviyelerinde azalmaya neden olarak hücre içi olayların başlamasını sağlar(17). Nitrik oksitin biyolojik etkileri hücre içi kalsiyum seviyelerini etkileyen maddelerle yakın ilişkilidir. Serbest oksijen radikali olan NO oldukça reaktiftir ve birçok madde ile etkileşebilir. NO kanda hemoglobinin hem grubu ile etkileşerek hızlı bir şekilde nitrit ve nitrate metabolize olur. Kanda ortaya çıkan nitrat, nitrik oksitin esas stabil biyoreaksiyon ürünüdür. Hemoglobin olmayan doku kültüründe esas stabil biyoreaksiyon ürünü ise nitrittir(54).

Kardiyovasküler sistem üzerine etkilerine baktığımızda nitrik oksit öncelikle güçlü bir damar düz kas gevşeticisidir. Kalp miyositlerinde NOS ve inflamatuvar sitokinlerde iNOS ile etki gösterir. Kalp kontraktilesi üzerine net etkisi ise inhibisyon yönündedir. Ayrıca trombosit agregasyonunu inhibe eder. Gastrointestinal sistemde mideye kan akımını artırır. Mide tonus ve motilitesini aynı zamanda asit salgılanmasını azaltır. Solunum sisteminde bronkodilatatör etki yaratır. Paranasal sinüsler yüksek miktarda NO üretir. Ürogenital sistemde; renal fonksiyonların kontrolünde en önemli parakrin mediyatördür. Mesane ve üreterde inhibitör etkilidir. Santral sinir sisteminde ise öğrenme ve bellekte önemli rol oynar(17, 54). Bir diğer fonksiyon olarak nitrik oksit molekülü ile yapısal NOS (cNOS) fizyolojik ve koruyucu etkiler gösterir. Fizyolojik olarak mukus salgısını ve epitelyal hücrelerde sıvı sekresyonunu artırarak mikroorganizmalara, toksinlere ve diğer iritan maddelere karşı koruyucu etki gösterir. Endotel kaynaklı NO farklı organlarda kan basıncı, kan akımı ve vasküler tonusun düzenlenmesinde rol oynar. Dolaşımda tonik olarak salınan güçlü bir vazodilatördür. cGMP seviyelerini artıran nitrik oksitin sağladığı analjezik etkinin, afferent nöronlardaki sodyum kanalları üzerine olan inhibitör etkiden dolayı veya ATP bağımlı potasyum kanalları ile potasyum seviyesini artırarak oluştuğu düşünülmektedir(55). Nitrogliserin, hücre içinde nitrik oksite dönüşerek etki gösterir. Yarılanma ömrü 2,5 dakikadır. Nitrogliserin hücre içi cGMP konsantrasyonunu artırarak santral ve periferik sinir sisteminde ağrının modülasyonunda rol oynar(56). Oksidatif stres altında nitrik oksitin apoptozu, sitotoksiteyi, mutagenezi ve DNA hasarını artırdığı bilinmektedir. Ayrıca demir-sülfür içeren enzimlerin fonksiyonunu değiştirir, mitokondriyal solunumu bozar ve zararlı etkiler gösterir.

Nitratların insan dolaşım sisteminde en önemli etkisi düz kas gevşemesi sağlayarak periferik vasküler direncin azalması ve venodilatasyondur. Sistolik ve diastolik basıncını düşürmesinden dolayı, kardiyak yükü ve miyokardın oksijen ihtiyacını azaltmaktadır. Aynı zamanda, koroner arterlerde vazodilatasyona yol açar ve iskemik alanlarda kollateral sirkülasyonu artırır(57). Pulmoner hipertansiyonu olan hastalarda kullanıldığında, pulmoner arter direncinin ve havayolu obstrüksiyonunun azaldığı gözlemlenmiştir.

Günümüzde klinik olarak nitrogliserin sublingual, intravenöz, transdermal ve topikal formlarda kullanılmaktadır. Nitrogliserinin koroner arter hastalığına bağlı gelişen anjina pectoris profilaksisinde kullanımı FDA tarafından onay almıştır. Aynı zamanda FDA onayı olmadan kronik kalp yetmezliği, hipertansif kriz, özofageal varis kanaması, özofageal spastisite gibi durumlarda kullanılmaktadır. Endikasyon dışı uterin relaksasyon için de tercih edilebilir(58). Topikal formu kronik anal fissür tedavisi için kullanılabilir.

Nitrogliserinin farmakokinetik özelliklerine bakıldığında, uygulama sonrası 30 dakika sonra ve 24 saate kadar kanda tespit edilmiş, zirve seviyesine ise 4-6 saatte ulaştığı saptanmıştır(59). Wester ve ark. tarafından yapılan çalışmada topikal uygulamanın biyoyararlılığı %56,6 olduğu gösterildi. Mainer-Lenz ve ark. tarafından yapılan çalışmada, sublingual nitrogliserinin yarı ömrünün 8 dakika olduğu görüldü. Topikal uygulama sonrası nitrogliserinin 3 saate kadar plazmada tespit edilebilir düzeyde olduğu gösterildi(60). Anjinalı hastalarda topikal nitrogliserin uygulandığında ilacın etkisinin klinik olarak 8 saate kadar devam ettiği görülür. Nitrogliserin intravenöz uygulandığında dağılım hacmi 3,3 Lt/kg'dır. Plazmada inorganik nitrat ve 1,2- ve 1,3-dinitrogliserole metabolize olur. Dinitratlar daha düşük etkili vazoaktif ajanlar olsalar da yarı ömürleri daha uzundur. Takiben dinitratlar vazoaktif olmayan mononitrata ve karbon dioksit'e metabolize olurlar(57).

Topikal nitrogliserinin flep yaşayabilirliği üzerine olumlu etkilerini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır(61, 62). Fukuto ve ark. diğer vazodilatör ajanlarla karşılaştırdıkları zaman nitrogliserinin en potent vazodilatör etkiye sahip olduğunu gösterdiler(63). Schonberger ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise alın bölgesine uygulanan topikal nitrogliserinin düşük kalibreli arteriollerdeki akımı %365 artırdığını gözlemlediler. Yumuşak dokuların hiyaluronik asit dolguları ile augmenstasyonu sonrası ortaya çıkabilen nadir ama ciddi komplikasyon olan nekroz tedavisinde hiyaluronidaz ile beraber kullanımı önerilmiştir(64). Literatürde birçok çalışmada random paternli fleplerde flep sağkalınımını

artırdığı gösterildi. Cheng ve ark. venöz ülser modeli üzerinde yaptıkları çalışmada topikal nitrogliserin uygulamasının VEGF, HIF-1, Ang-1 maddelerinin moleküler ekspresiyonunu artırarak anjiogenezi artırdığı saptamıştır(26). Topikal nitrogliserin uygulaması sonrası mastektomi flebi perfüzyonu artırdığı anjiografi ile değerlendirilerek gösterilmiştir(78). Buradan yola çıkarak alıcı sahada vazodilatasyon ve anjiogenezi artıracak bir madde olan nitrogliserin ile alıcı sahanın hazırlanmasının yağ greftinin yaşayabilirliğini artıracak hipotezi kuruldu.

6. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmış olan bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Kullanılan hayvanlar aynı laboratuvardan temin edilmiş ve orada barındırılmıştır. Çalışmada, ortalama ağırlıkları 300 ($\pm$ 50) gr olan, Wistar türü dişi sıçan kullanılmış olup her grupta 10' ar denek olmak üzere 2 grupta toplam 20 deney hayvanı kullanılmıştır. Hayvanlar normal diyet ile beslenmişlerdir.

Deney sırasında deney grubundan intrakardiyak kan örneği alınmıştır ve Clinlab laboratuvarında çalışılmıştır (TS EN ISO 15189 standardına göre akredite edilmiştir). Sıçanların sakrifikasyonunu takiben Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda histopatolojik çalışmalar yapılmıştır.

5.1 Kullanılan İlaçlar, Cihazlar ve Araç-Gereçler

5.1.1 Kullanılan ilaçlar

%2 Topikal Nitrogliserin (Şekil 1)

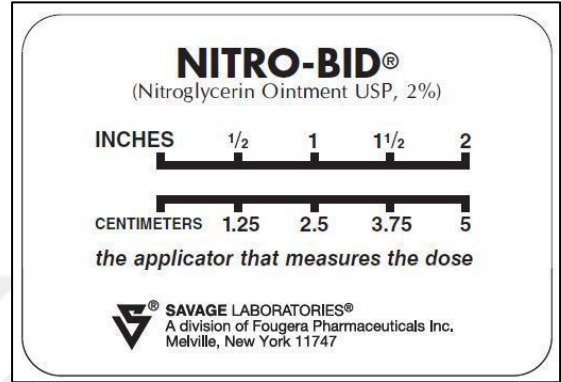
Kullanılan marka: NITRO-BID®

Üretici: Savage Laboratories



Şekil 1. %2 Topikal Nitrogliserin, NITRO-BID®

Çalışma sürecinde nitrogliserin 20°-25°C derece sıcaklıkta saklandı. İlaç kutusu içinde bulunan aplikatör yardımı ile sürülecek ilaç miktarı ayarlandı (**Şekil 2**). 1 inç %2 topikal nitrogliserin deney grubuna topikal olarak uygulandı.



Şekil 2. Aplikatör yardımı ile ilaç miktarı ayarlandı.

Vazelin (**Şekil 3**)

Kullanılan marka: Vaseline® Original

Üretici: Unilever



Şekil 3. Vazelin, Vaseline Original

Vazelin 20°-25°C derece sıcaklıkta saklandı. Kullanılacak vazelin miktarının standardizasyonu için nitrogliserin için kullanılan aplikatörün replikası yapıldı. Sürülecek vazelin miktarı oluşturulan aplikatör yardımı ile belirlendi. Kontrol grubuna topikal olarak 1 inç vazelin uygulandı.

Ketamin ve Ksilazin

Kullanılan marka: Ketalar (Ketamin hidroklorür) ve Xylazinbio %2 (Ksilazin hidroklorür)

Üretici: Pfizer (Ketalar) ve Bioveta (Xylazinbio %2)

5.1.2 Kullanılan cihazlar

- 1) Hassas Terazi (Radwag WTC 200)
- 2) Santrifüj (YUDA 800 D)
- 3) Sıvı Kromatografisi Sıralı Kütle Spektrometrisi (Jasco Single Quad LC-MS)

5.1.3 Kullanılan Araç-Gereçler

- 1) Lityum heparinli kan tüpleri
- 2) Makas
- 3) Adson Brown penset
- 4) Metzenbaum makas
- 5) Silikon disk
- 6) Alüminyum folyo
- 7) Bistüri
- 8) 3-0 İpek sütür
- 9) Povidon iyot
- 10) Steril mavi cerrahi örtü
- 11) Steril 7 numara pudrasız cerrahi eldiven
- 12) Steril spanç
- 13) İnsülin enjektörü, 26 G
- 14) Serum Fizyolojik 500 mL
- 15) Yapışkan bant
- 16) Enjektör, 10 cc
- 17) Bipolar koter

5.2 Gruplar

20 adet sıçan kontrol ve deney gruplarını oluşturmak amacıyla 2 gruba ayrıldı. Sıçanlar gruplara rastgele seçildi.

Grup 1 (Kontrol Grubu):

Kontrol grubu için 10 sıçanlık grup oluşturuldu. Yağ grefti konulacak alana operasyondan önce tıraşlama yapıldı. Sonrasında bistüri ile deskuamasyon yapıldı ve yapışkan bant ile debris temizlendi. Operasyondan önce ve işlem sonrası günde 1 kez 1 hafta boyunca 1 inç topikal vazelin sürüldü. Sıçanlar 6 hafta sonra sakrifiye edildi ve greft yaşayabilirliğinin değerlendirmesi için histopatolojik incelemeye yollandı.

Grup 2 (Yaşayabilirlik- Topikal Nitrogliserin Grubu):

Deney grubu için 10 sıçanlık grup oluşturuldu. Yağ grefti konulacak alan operasyondan önce tıraşlandı. Sonrasında bistüri ile deskuamasyon yapıldı ve yapışkan bant ile debris uzaklaştırıldı. Operasyondan 1 saat önce 1 inç %2 topikal nitrogliserin sürüldü. Operasyondan sonra 1 hafta boyunca aynı saatlerde günde 1 kez 1 inç %2 topikal nitrogliserin sürüldü. Sıçanlar 6 hafta sonra sakrifiye edildi ve greft yaşayabilirliğinin değerlendirmesi için histopatolojik incelemeye yollandı.

5.3 Topikal Nitrogliserin Uygulanması

Sıçanlarda donör saha olarak sağ inguinal yağ yastıkçıları kullanıldı. Skalp superioru hareketsiz olması ve sıçanların cerrahi sahaya zarar vermemeleri açısından alıcı saha olarak seçildi. İlaç kutusu içinde bulunan aplikatör yardımı ile sürülecek ilaç miktarı ayarlandı. Deney grubunda alıcı sahaya işlemten 1 saat önce ve takiben 1 hafta boyunca topikal olarak 1 inç %2 nitrogliserin sürüldü. Kontrol grubunda ise aynı protokol vazelin ile gerçekleştirildi.

5.4 Cerrahi Yöntem

Cerrahi prosedür sıçanlara intramusküler 45 mg/kg ketamin hidroklorür ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorür enjeksiyonu ile anestezi uygulanarak gerçekleştirildi. Anestezi uygulamasını takiben sıçanların ense bölgesi ve sağ inguinal bölgesi kıllardan temizlendi (**Şekil 4,5**).



Şekil 4. Anestezi uygulamasını takiben ense bölgesi tıraşlandı.



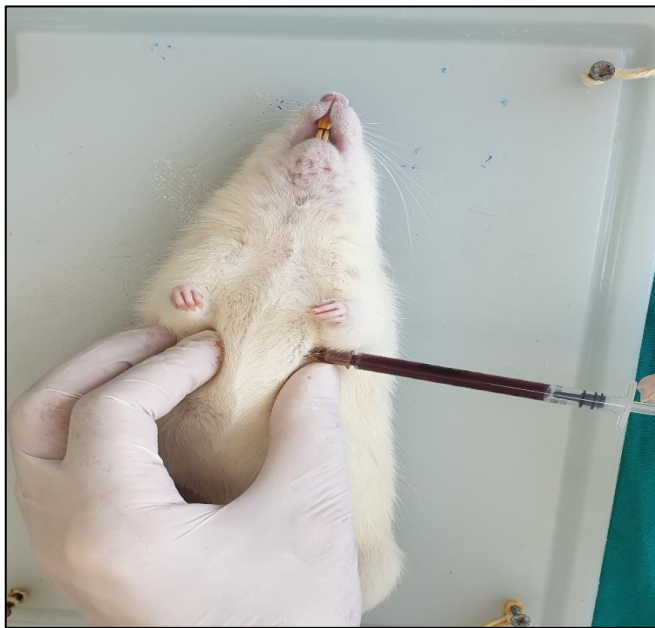
Şekil 5. Sağ inguinal bölge tıraşlandı.

Takiben bistüri yardımı ile deskuamasyon yapıldı, daha sonra debris temizlenmesi için yapışkan bant kullanıldı (**Şekil 6**). Operasyon öncesi kontrol grubuna vazelin, deney grubuna %2 topikal nitrogliserin sürüldü ve 1 saat beklendi.

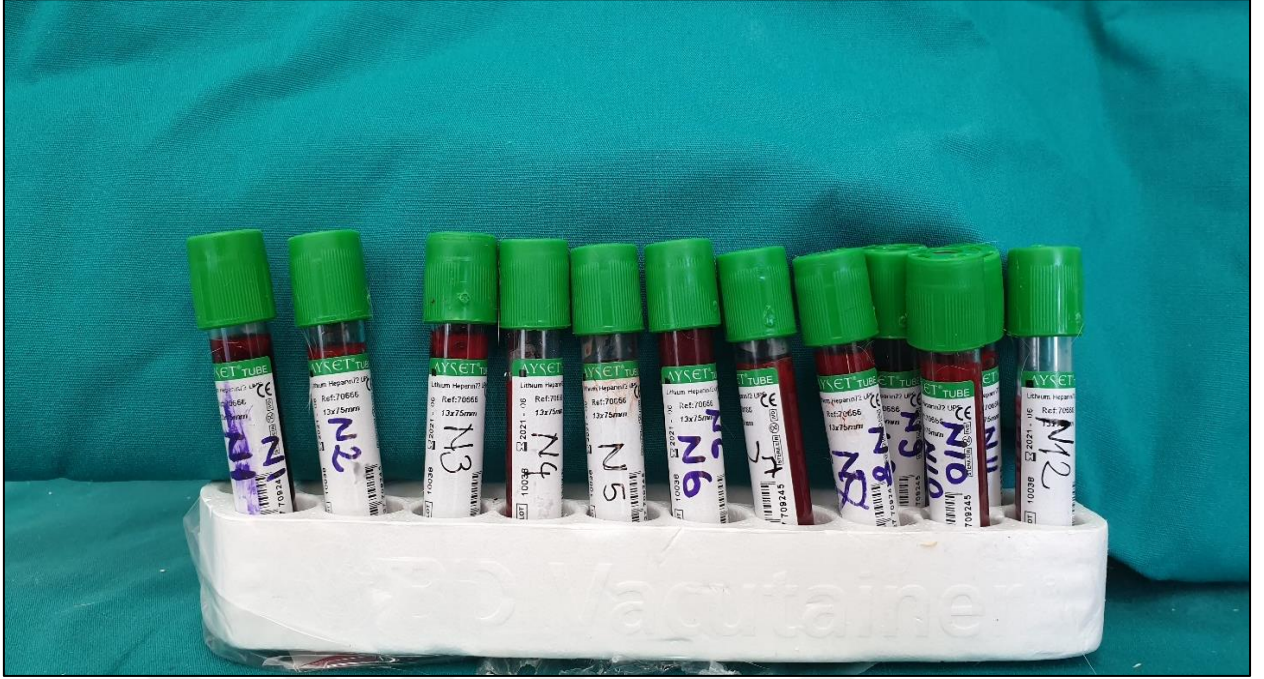


Şekil 6. Bistüri ve yapışkan bant yardımı ile skalpe deskuamasyon yapıldı.

1 saat geçtikten sonra deney grubundaki sıçanlardan intrakardiyak 1 cc kan örneği alındı ve lityum heparinli tüpe aktarıldı (**Şekil 7,8**) Tüpler daha sonra dakikada 4000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serum elde edildi ve biyokimya laboratuvarına analiz için teslim edildi.



Şekil 7. İntrakardiyak kan örneği alınması.



Şekil 8. Alınan intrakardiyak kanlar lityum heparinli tüplere aktarıldı.

Daha sonra sağ inguinal bölge povidon iyot ile temizlenerek steril olarak örtüldü (Şekil 9).



Şekil 9. İnguinal bölge povidon iyot ile temizlendikten sonra steril olarak örtüldü.

Sıçanların sadece sağ inguinal yağ yastıkçığı greft olarak kullanıldı. Yağ yastıkçığı, femoral bölgedeki nörovasküler yapılara zarar verilmeden künt diseksiyonla alındı (**Şekil 10**). Donör saha 3/0 atravmatik keskin iğneli ipek ile onarıldı.



Şekil 10. Sağ inguinal yağ yastıkçığının alınması.

Alınan yağ yastıkçığı önce hassas terazi ile ölçölerek ağırlığı kaydedildi. Daha sonra yağ greftinin hacim ölçölümü için 10 cc'lik enjektör yardımıyla düzenek kuruldu. Taşıırma yöntemi kullanılarak hacim hesaplandı ve kaydedildi (**Şekil 11, 12**).



Şekil 11. Alınan yağ greftinin hacminin değerlendirilmesi.



Şekil 12. Alınan yağ greftinin ağırlığının değerlendirilmesi.

Yağ grefti steril serum fizyolojik ile nemlendirilmiş tampon içerisinde saklanırken sıçan yüzüstü çevrilerek ön ve arka ayaklarından tespit edildi. Cerrahi saha povidon iyot ile temizlendi ve steril örtü ile örtüldü. Alıcı sahaya sıçanın ensesine yapılan yaklaşık 1 cm'lik horizontal insizyondan girilerek künt diseksiyon ile uygun poş hazırlandı. Poşların eşit ölçülerde

olması için 1 cm²'lik silikon diskler hazırlandı. Poşa yaklaşık 1 cm²'lik silikon disk yerleştirildi (Şekil 13). Alınan greft poşa yerleştirildi ve insizyon 3/0 atravmatik keskin iğneli ipek suture ile suture edildi (Şekil 14).



Şekil 13. Silikon disk yardımıyla alıcı saha standardizasyonu.



Şekil 14. Yağ grefti poşa yerleştirildi ve 3/0 keskin iğneli ipek ile suture edildi.

Sıçanlar 6 hafta süreyle takip edildi. Takip süresince donör saha ya da alıcı sahada sorun yaşanmadı. 6 hafta sonra sıçanların skalpine aktarılan yağ grefti eksize edildi (**Şekil 15, 16**). Eksizyon sonrasında sıçanlar sakrifiye edildi. Elde edilen yağ greftlerinin önce hassas terazide ağırlığı ölçüldü. Ağırlığı ölçülen yağ greftlerinin taşıma yöntemiyle hacimleri ölçülerek kayıt altına alındı.



Şekil 15. Yağ grefti eksizyonu.



Şekil 16. İşlem sonrası alınan yağ grefti.

5.5 Biyokimyasal Yöntem

Sıvı Kromatografisi Sıralı Kütle Spektrometrisi (LS-MS/MS) için yapılan çalışmalar

Deney grubundan izole edilen 50 µl serum üzerine 300 µl çalışma solüsyonu eklendi. Çalışma solüsyonu olarak metanol kullanıldı. Solüsyon 1 dakika boyunca karıştırma amacıyla vortekslendi. Takiben 12.000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Mobil faz için 350 ml metanole 150 ml amonyum nitrat çözeltisi (0,05 milimol) eklendi. Daha sonra uygun parametreler tanımlanarak sıvı kromatografisi sıralı kütle spektrometrisi ile analiz edildi (Tablo 2).

• İyon Kaynağı: H-ESI
• Nitrogliserin Kitle: 288,9
• Ürün: 289,740
• Çarpışma Enerjisi: 2 Volt
• Polarite: (-) Negatif
• Çarpışma Gaz Basıncı: 0,4 militorr
• Kılıf Gazı Basıncı: 30 arb
• Yardımcı Gaz Basıncı: 20 arb
• İyon Taraması Gazı Basıncı: 0 arb
• Kapiller Sıcaklık: 75 °C
• Buharlaştırıcı Sıcaklık: 150 °C
• Sprey Voltaj: 4500 volt
• Akım: 0,15 (ml/dk) izokritik
• Oluşum Süresi: 15 dakika

Tablo 2. Nitrogliserinin serumda tespiti için kullanılan LC-MS/MS iyon kaynağı metot optimizasyon parametreleri.

5.6 Histolojik Yöntem

Işık Mikroskobu İncelemeleri İçin Yapılan Çalışmalar

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na örnekler %10'luk tamponlu formaldehit içerisinde gönderildi. Doku kasetlerine greftler bütün olarak konuldu. Kasetler, rutin doku takibine alınarak parafinde bloklandı. Her bir bloktan 5 µ kalınlığında kesitler alınarak, deparafinizasyon ve dehidrasyondan sonra Hematoksilen-Eozin (HE) ve Masson'un Trikrom boyası ile boyandı. Tüm preparatlar ışık mikroskobunda (Leica DM 4000) incelenerek gerekli görülen alanlar fotoğraflandı (Leica DFC-280).

Histolojik Analiz

Histolojik analiz için Yi ve ark. ve Ramon ve ark. yaptığı derecelendirme tablosu kullanıldı. Bu tabloda 6 parametre değerlendirildi. Değerlendirilen parametreler arasında [1] kistlerin ve vakuollerin varlığı, [2] bağ dokusunun fibrozis ve diğer bileşenlerinin varlığı (kollajen ve elastik fibriller vb), [3] lenfositlerin ve makrofajların infiltrasyonunu içeren inflamasyon tablosu, [4] intakt ve nukleusları bozulmamış yağ hücrelerinin varlığı (yağ dokusu bütünlüğü), [5] nekroz varlığı, [6] yabancı cisim dev hücrelerinin varlığı yer aldı(79, 80). Bu parametrelerin her biri semikantitatif olarak 0'dan 3'e kadar derecelendirildi (0 = yok, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = yoğun).

5.7 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların operasyondan önce ve sonra tanımlayıcı özellikleri kaydedildi. Kaydedilen değişkenlerde sayı, yüzde, ortalama, en büyük ve en küçük değerler belirlendi. Hacim ve ağırlık bakımından önemli düzeyde bir farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla Wilcoxon testi kullanıldı. Kategorik değişkenler için ki-kare ya da Fisher's exact testi kullanıldı. Deney grubunda nitrogliserin seviyesinin etkilediği sayısal değişkenleri değerlendirmek için Spearman korelasyon analizi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1 Makroskopik Bulgular

Deney öncesi ve sonrası hayvanlar tartıldı. Sıçanların ağırlıklarında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Greftler sıçanların kafa derilerinin altına yerleştirilmesini takiben 6 hafta sonra eksize edildi. Bu süre içerisinde herhangi bir komplikasyon gelişmedi. Greftlerin hacim ve ağırlıkları kaydedildi (**Tablo 3**). İntrakardiyak olarak alınan plazmada nitrogliserin seviyeleri çalışıldı ve sonuçları raporlandı (**Ek 1**).

	Nitrogliserin seviyesi (ng/ml)	Greft ağırlığı önce (mg)	Greft ağırlığı sonra (mg)	Greft hacmi önce (ml)	Greft hacmi sonra (ml)
Deney					
1	3,46	549,00	200,00	0,75	0,18
2	2,32	857,00	267,00	1,22	0,26
3	3,00	670,00	116,00	0,89	0,11
4	4,02	808,00	365,00	1,00	0,32
5	4,00	728,00	558,00	0,88	0,77
6	4,60	901,00	346,00	1,30	0,31
7	4,53	475,00	280,00	0,51	0,24
8	3,52	657,00	251,00	0,69	0,24
9	2,90	405,00	324,00	0,42	0,36
10	1,72	1100,00	940,00	1,62	1,32
Kontrol					
1		627,00	250,00	0,82	0,23
2		605,00	199,00	0,80	0,18
3		468,00	130,00	0,66	0,12
4		582,00	170,00	0,79	0,13
5		468,00	212,00	0,55	0,19
6		649,00	247,00	0,88	0,24
7		800,00	301,00	1,00	0,28
8		453,00	141,00	0,52	0,13
9		340,00	150,00	0,30	0,13
10		676,00	220,00	0,89	0,21

Tablo 3. Deney ve kontrol gruplarının bazı tanımlayıcı özellikleri.

Greftlerin hacim ve ağırlıklarının deney öncesi ve sonrasındaki ölçümleri yapıldı. Kontrol ve deney hayvanlarında greftlerin ağırlıklarının anlamlı olarak değiştiği gözlemlendi.

Topikal nitrogliserin grubunda ağırlık azalmasının diğer gruplara göre daha az olduğu gözlemlendi (p = **0,008**) (**Tablo 4**). Nitrogliserin uygulanan grupta eksizyon esnasında yağ greftlerinin tek parça halinde oldukları gözlemlendi. Aynı zamanda greftlerin bütünlüğünün bozulmadığı görüldü.

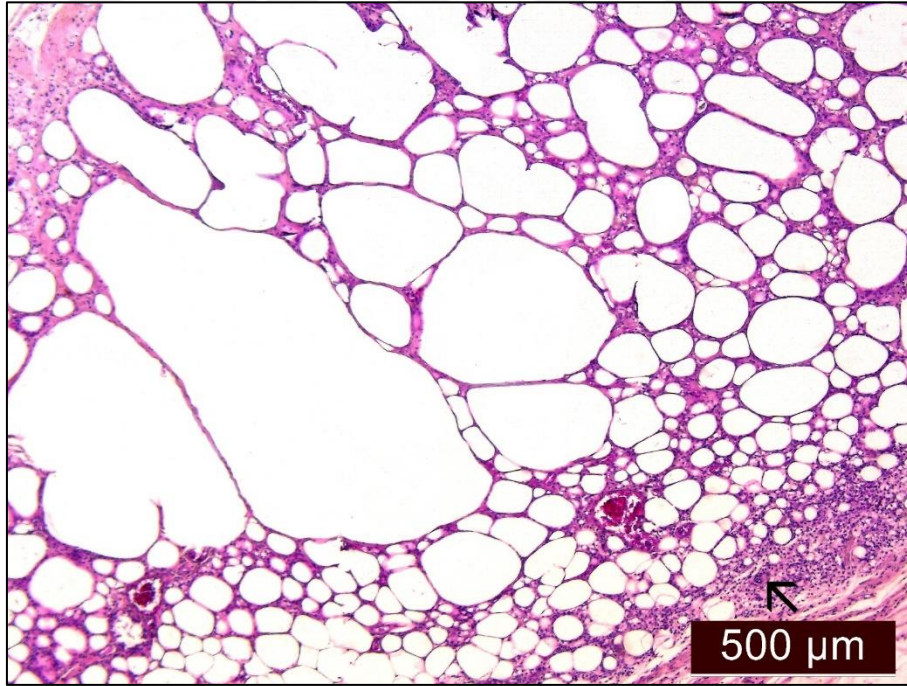
	Deney					Kontrol					p değeri
n=10	Ortalama	Standart sapma	Ortanca	En küçük	En büyük	Ortalama	Standart sapma	Ortanca	En küçük	En büyük	
Ağırlık önce (mg)	740,25	193,99	715,50	405,00	1100,00	579,42	107,09	575,00	392,00	800,00	0,01
Ağırlık sonra (mg)	487,75	213,96	451,50	224,00	940,00	174,58	61,72	160,00	100,00	301,00	<0,001
Ağırlık farkı (mg)	252,50	149,50	179,00	104,00	562,00	404,83	58,54	409,00	292,00	499,00	0,008
Hacim önce (ml)	0,99	0,37	1,01	0,42	1,62	0,73	0,19	0,75	0,35	1,00	0,06
Hacim sonra (ml)	0,55	0,33	0,51	0,21	1,42	0,15	0,05	0,13	0,09	0,28	<0,001
Hacim farkı (ml)	0,44	0,32	0,34	0,05	0,97	0,57	0,16	0,62	0,23	0,78	0,24

Tablo 4. Greftlerin ağırlık ve hacim özelliklerinin dağılımı.

*Wilcoxon testi kullanılmıştır

6.2 Histolojik bulgular

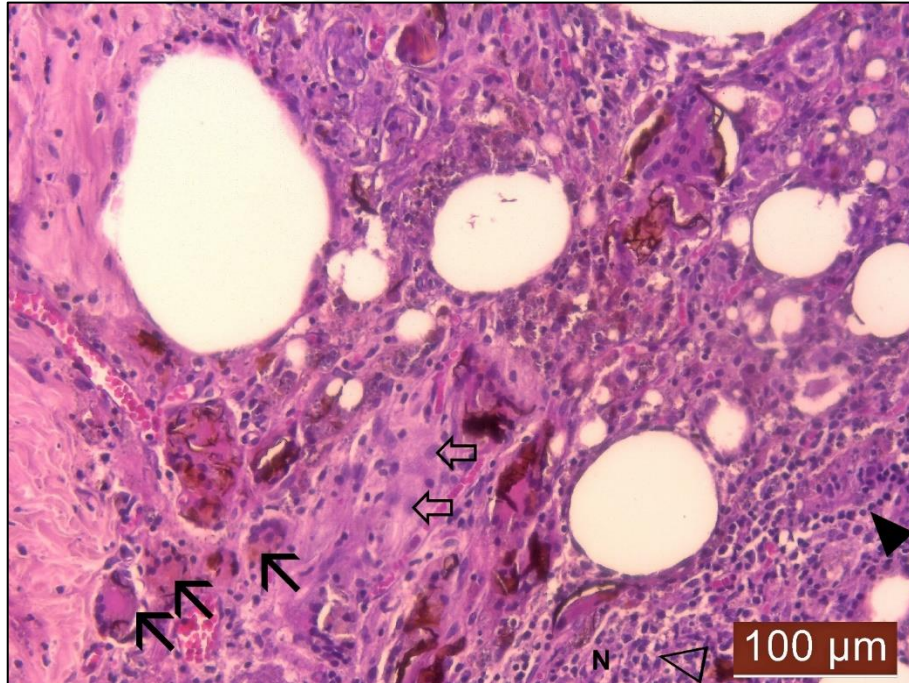
Histolojik bulgular ışık mikroskopu ile değerlendirildi ve fotoğraflandı. Şekillerde özellik taşıyan alanlar işaretlendi (Beyaz ok başı Δ , siyah ok başı $\blacktriangle$, beyaz ok $\uparrow$, siyah ok $\uparrow$, nekroz **N**). Kontrol grubuna ait örneklerde fibrozis alanları ile stromada mononükleer hücre infiltrasyonunun belirgin olduğu, nekroz alanlarında yağ kistleri, genişlemiş lipid vakuolleri ve bu vakuollerin çevresinde köpüksü doku makrofajlarının bol miktarda bulunduğu izlendi. Çekirdek içermeyen ve çoğu hücre bütünlüğünü yitirmiş adipositlerin varlığı dikkat çekti (Şekil 17-20).



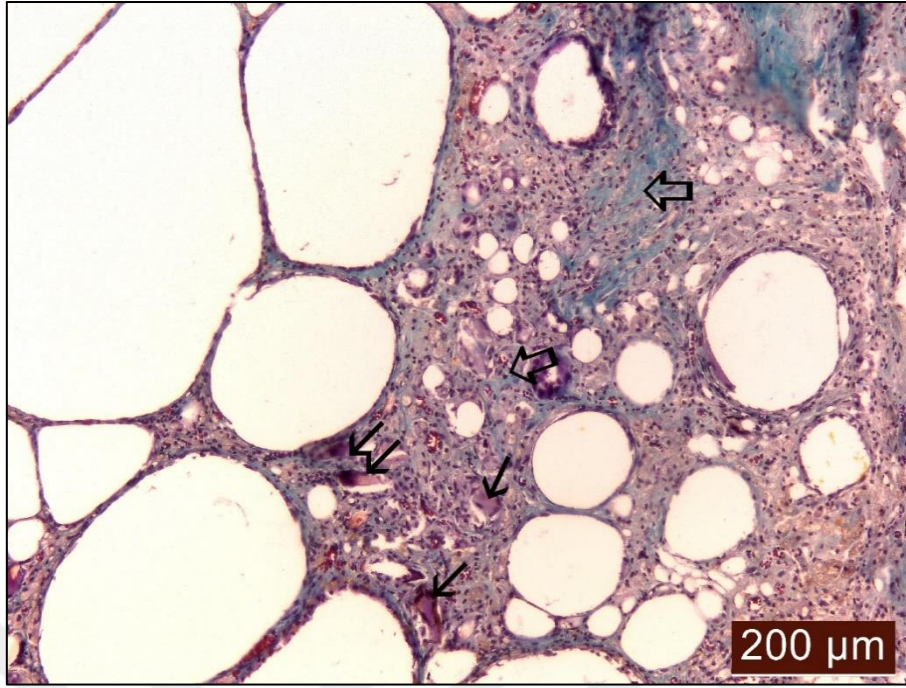
Şekil 17. Kontrol grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı ve mononükleer hücre infiltrasyonunun içerisinde yer alan yabancı cisim dev hücresi (siyah ok) görülmektedir.



Şekil 18. Kontrol grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, mononükleer hücre infiltrasyonu (beyaz ok) ve bağ doku artışı (siyah ok) görülmektedir.

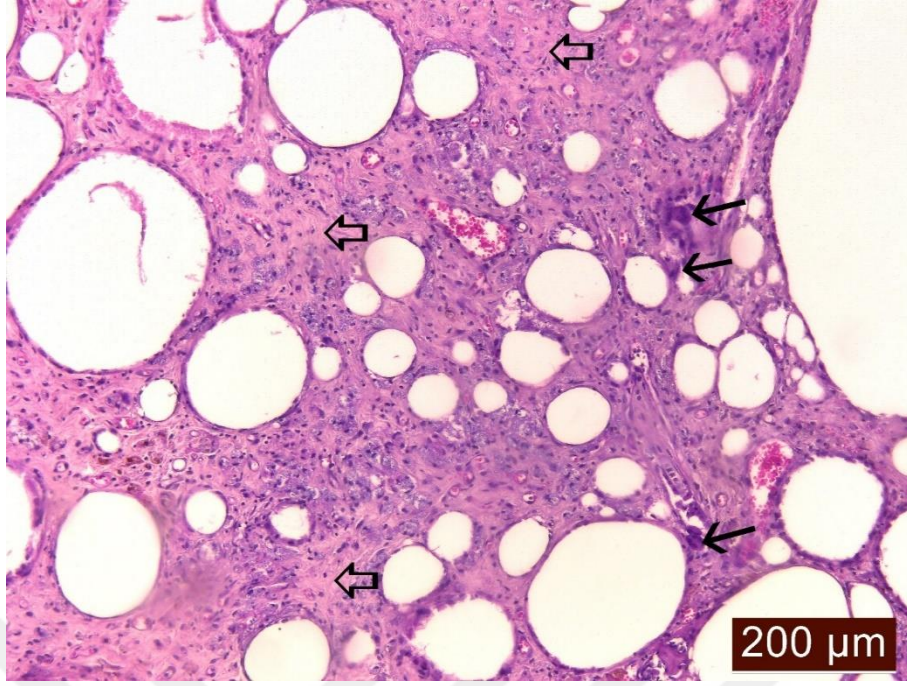


Şekil 19. Kontrol grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, nekrozla beraber (N) nötrofillerin varlığı (beyaz ok başı), mononükleer hücre infiltrasyonu (siyah ok başı), bağ doku artışı (beyaz oklar) ve yabancı cisim dev hücreleri (siyah oklar) izlenmektedir.

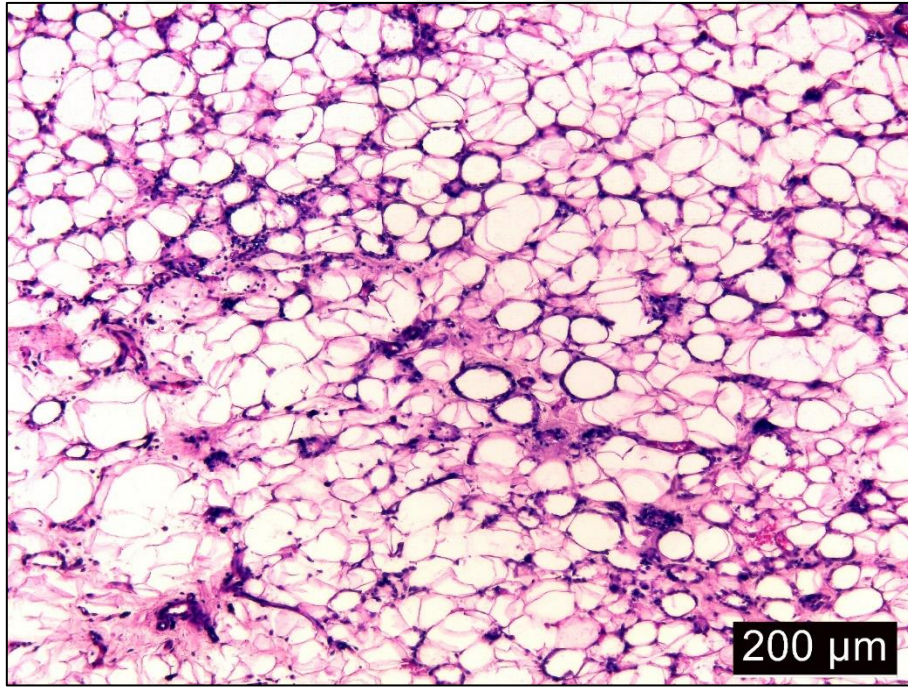


Şekil 20. Kontrol grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, mavi renkte boyanan bağ doku artışı (beyaz oklar) ve yabancı cisim dev hücreleri (siyah oklar) izlenmektedir.

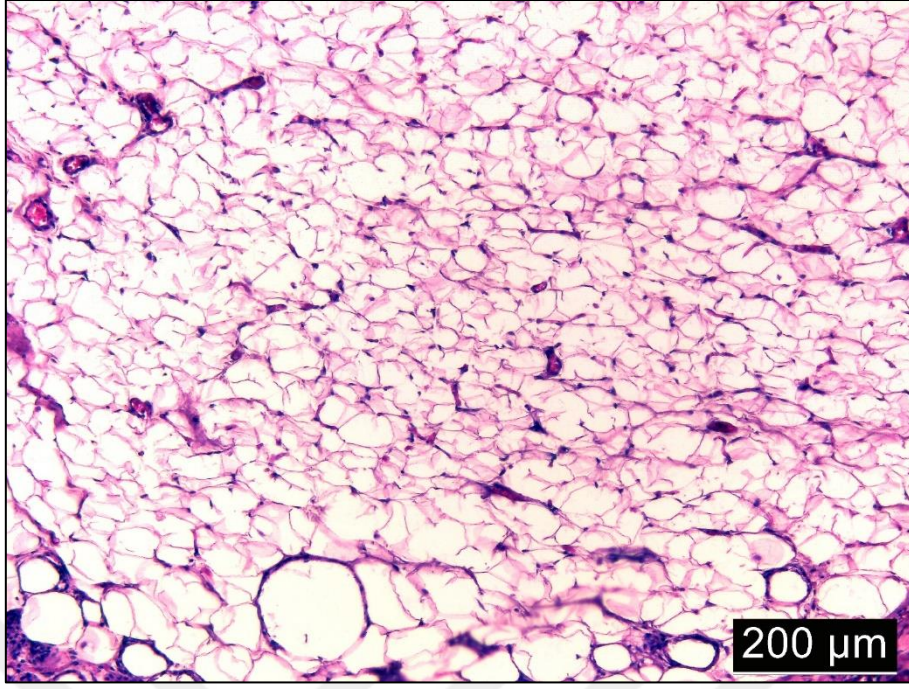
Deney grubuna ait nitrogliserin uygulanan ve 6. haftada sakrifiye edildikten sonra alınan yağ grefti örneklerinde; yağ kistleri, genişlemiş yağ vakuolleri ve yaşayabilirliğini yitirmiş adipositlerin yanında çekirdek içeren normal görünüme sahip adipositler izlendi. Kontrol grubuna oranla fibrotik alanların daha dar alanlarda olduğu dikkati çekti (**Şekil 21-24**).



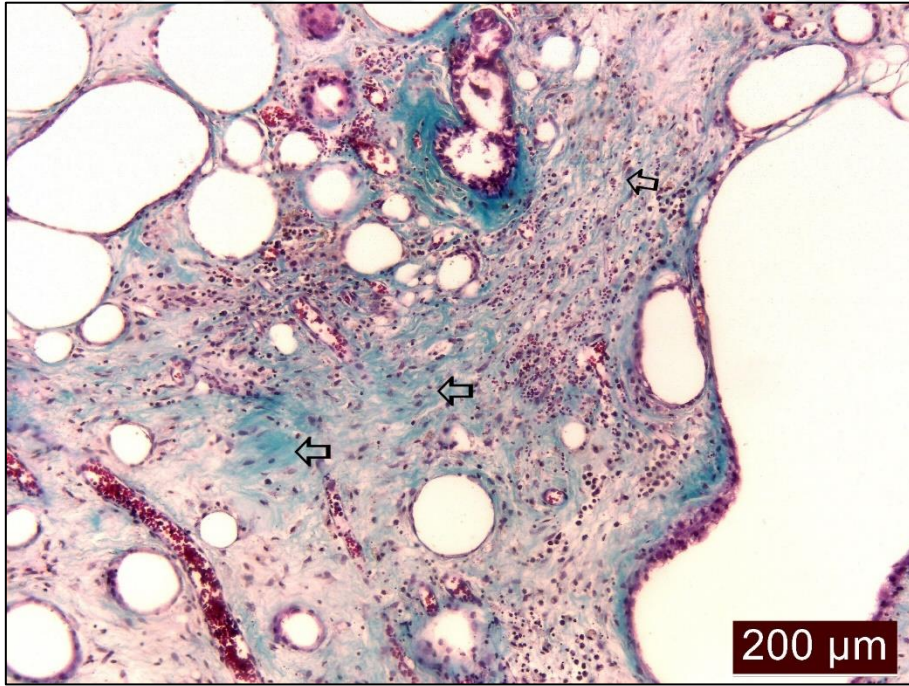
Şekil 21. Deney grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, bağ doku artışı (beyaz oklar) ve yabancı cisim dev hücreleri (siyah oklar) izlenmektedir.



Şekil 22. Deney grubuna ait greftte az sayıda mononukleer hücre infiltrasyonu ile seyreden normal yapısını koruyan yağ vakuolleri görülmektedir.



Şekil 23. Deney grubuna ait greftte normal yapısını koruyan yağ vakuolleri görülmektedir.



Şekil 24. Deney grubuna ait greftte değişen büyüklüklerde vakuollerin varlığı, mavi renkte boyanan bağ doku artışı (beyaz oklar) ve yer yer nötrofil lökositle beraber seyreden mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmektedir.

6.2 İstatistiksel Değerlendirme

Yapılan analiz sonucunda adiposit bütünlüğü ($p = 0,12$), kist oluşumu ($p = 0,97$), fibrozis ($p = 1,000$) özellikleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli olan bir farklılık bulunmamıştır. Ancak nekroz ($p = \mathbf{0,001}$), inflamasyon ($p = \mathbf{0,009}$), ve yabancı dev hücre oluşumu ($p = \mathbf{0,005^*}$) özellikleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu görülmüştür (**Tablo 5**).

	Deney		Kontrol		p değeri
n=10	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
Kist ve vakuol					
1	4	40,0	3	30,0	0,97
2	1	10,0	3	30,0	
3	5	50,0	4	40,0	
Fibrozis					
1	4	40,0	2	20,0	1,000
2	3	30,0	7	70,0	
3	3	30,0	1	10,0	
İnflamasyon					
0	4	40,0	-	-	0,009
1	2	20,0	-	-	
2	4	40,0	8	80,0	
3	-	-	2	20,0	
Yağ dokusu bütünlüğü					
0	1	10,0	3	30,0	0,12
1	3	30,0	4	40,0	
2	4	40,0	3	30,0	
3	2	20,0	-	-	
Nekroz					
0	5	50,0	-	-	0,001
1	3	30,0	1	10,0	
2	2	20,0	5	50,0	
3	-	-	4	40,0	
Yabancı cisim dev hücre					
Pozitif	1	10,0	8	80,0	0,005*
Negatif	9	90,0	2	20,0	

Tablo 5. Patolojik bulguların özelliklerinin dağılımı.

*Fisher's exact testi kullanılmıştır.

Deney grubunda Spearman korelasyon analizi ile nitrogliserin düzeyinin çeşitli etkenlere olan etkisi değerlendirildi. Yapılan analiz sonucunda nitrogliserin düzeyi ile kist oluşumu ($p = 0,10$), fibrozis ($p = 0,27$) özellikleri bakımından gruplar arasında pozitif korelasyon bulunmamaktadır. Adiposit bütünlüğü ($p = 0,04$) ile nitrogliserin seviyesi arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Nekroz ($p = 0,002$) ve inflamasyon ($p = 0,02$) özellikleri bakımından negatif korelasyon mevcuttur. Nitrogliserin düzeyi ile yağ kütlesi ağırlığında azalma arasında negatif korelasyon istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0,001$) hacimdeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı (**Tablo 6**).

	Nitrogliserin seviyesi	
	Korelasyon değeri *	p değeri
Ağırlık farkı	-0,909	<0,001
Hacim farkı	0,448	0,14
Kist ve vakuol	-0,549	0,10
Fibrozis	-0,385	0,27
İnflamasyon	-0,701	0,02
Yağ dokusu bütünlüğü	0,648	0,04
Nekroz	-0,855	0,002

Tablo 6. Deney grubunda nitrogliserin seviyesine göre korelasyon değerlerinin dağılımı.

*Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır.

7. TARTIŞMA

Yağ grefti uygulamaları hem rekonstrüktif hem de estetik amaçlı birçok endikasyon ile yapılmaktadır. İlk tariflendiği dönemlerde çoğunlukla rekonstrüktif amaçlı kullanılmasına rağmen son dönemde estetik amaçlı kullanım sıklığı artmıştır. En sık olarak dokuya hacim kazandırma amacı ile uygulanmaktadır. Bunun sebebi diğer dolgu maddelerine göre birtakım avantajlarının olmasıdır(40). Doku uyumunun iyi olması, alerjik reaksiyon geliştirmemesi, istenildiği kadar elde edilebilmesi ve deri kalitesini artırması avantajları arasında yer almaktadır. Ancak bu uygulamaların en önemli dezavantajı konulan yağ greftinin ne kadarının canlılığını devam ettireceğinin öngörülememesidir. Yapılan çalışmalar bu oranın %10- %90 arasında değişmekte olduğunu göstermektedir. Bu değişkenlik nedeni ile yağ greftinin sağkalımını artırmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır (66). Yağ greftinin tutma oranını belirleyen etkenler greft alım tekniği, greftin uygulama şekli, greftin ve alıcı sahanın vaskülarizasyonunu artıracak teknikler ile işlenmesidir.

Çeşitli farmakolojik ve kimyasal ajanlar yağ grefti yaşayabilirliğini artırmak için denenmektedir. En sık sıçan, kobay, tavşan ve fare üzerinde bu tür çalışmalar yapılmaktadır. Literatürü incelediğimizde sıçan ve tüysüz fare modellerinin denek olarak daha çok kullanıldığı göze çarpmaktadır. Sıçan modelinin çalışmamızda kullanılmasının sebebi sıçanların düşük maliyetli olması olup, otolog yağ grefti elde edilirken her hayvandan eşit ve yeterli miktar yağ grefti alınmasını sağlamaktaki zorluk ise çalışmanın dezavantajıdır. Sıçan ve fare deneklerinin kullanıldığı çalışmaların tamamında otolog donör alan inguinal bölgedir. Bunun sebebi inguinal yağ yastığının hayvanlardaki en büyük yağ dokusu olmasıdır(67). Yağ dokusu metabolizma aktivitesinin yüksek olması nedeniyle iskemiye duyarlıdır. Başka bir çalışmada ise yağ greftlerinin cilt altı, kas üstü ve kas altı olmak üzere üç farklı plana verildikten sonra sağkalımın en büyük oranda kas üstü planda olduğu tespit edilmiştir.

Literatürde tartışmalar olmakla birlikte insanda en dayanıklı yağ dokusunun trokanterik yağ dokusu olduğu bildirilmiştir(68). İlk 24 saatte adipositlerin apoptozunun gerçekleştiği ve kök hücrelerin 3 gün daha yaşayabildiği belirtilmiştir. 5-7 gün arasında ise prekürsör hücrelerin proliferasyonu ile çoğalan adipositler izlenmektedir. Adipositler greftin periferinden iç tabakaya doğru yani nekrotik zona doğru çoğalmaktadırlar. Preadipositlerin ve aynı zamanda adipoz kök hücrelerin etkinliği artırıldığında yağ greftinin de sağkalımı artacağına gösterilmiştir(18).

VEGF yağ greftinin canlılığını artırdığı öne sürülen büyüme faktörlerinden birisidir. VEGF'nin angiogenezi artırması nedeniyle yağ greftinin canlılığını artırdığı düşünülmektedir. Aynı zamanda Fukumura ve ark. yaptığı çalışmada VEGF-2 reseptörünün blokajı ile adipogenezin azaldığını gösterdi. Ortamda artmış VEGF ile VEGF-2 reseptörünün daha fazla uyarılması sonucu yağ yapımının arttığı öne sürüldü(68). Topçu ve ark. yaptığı çalışmada VEGF'nin hem damarlanmayı artırması hem de adipogenezi artırması nedeniyle yağ greftinin canlılığını artırdığını gösterdi(18). Yaptığımız çalışmada hem vazodilatasyon yapan hem de VEGF düzeyini artıran ajan olan nitrogliserinin yağ grefti sağkalımını artırdığı gözlemlendi.

Nitrogliserinin potent vazodilatör olduğu ve sublingual olarak kullanılabileceği 1879'dan beri bilinmektedir(22). En önemli etkisi olan vazodilatasyonu NO donörü olması sebebiyle gösterir. Damar düz kasında gevşemeye yol açarak venöz ve arteryal dilatasyon etkisi ortaya çıkar(69). Aynı zamanda nitrogliserin endotel hücrelerinde prostasiklin sentezini artırır. Prostrasiklin artışı ise vazodilatasyon ve platelet agregasyonunun engellenmesine yol açarak damarlarda trombüs oluşumunu engeller(70). Sonuç olarak nitrogliserinin anti agregan, proangiogenik ve antioksidatif özellikleri bulunmaktadır. Bu etkilerinden dolayı, günümüzde nitrogliserin çeşitli iskemik hastalıklarda ve kronik anal fissür tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Sublingual nitrogliserinin vaskülogenezi artırdığı bilinse de topikal uygulamanın flep vaskülarizasyonuna etkisi bilinmemektedir. Cui ve ark. sıçanlara nitratlı diyet uygulandığında iskemik flep sağkalımının arttığını gözlemlemiştir. Yine aynı araştırmada Cui ve ark. diyetle beraber alınan nitratların inflamatuvar mediyatörleri azalttığını ve iskemiye bağlı vaskülarizasyonu artırdığını öne sürmüştür(71). Bununla beraber topikal nitrogliserin

uygulamasının random paternli flep sağkalımını da artırdığı gösterilmiştir. Waters ve ark. tarafından yapılan çalışmada nitrogliserin 5 vazodilatör ajan ile karşılaştırılmış ve en potent vazodilatör etkiye sahip olduğu görülmüştür(23). Gdalevitch ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise meme rekonstrüksiyonu sonrasında mastektomi flebine nitrogliserin sürülmesinin nekroz insidansını yarı yarıya azalttığı gösterildi(72). Scheuer ve ark. tarafından 40 hasta üzerinde yapılan çalışmada topikal nitrogliserinin penil flep nekrozunu azalttığı gösterildi(73). Sistemik ve lokal etkilerinin olmasına rağmen literatür taramasında topikal nitrogliserinin yağ grefti üzerine etkileri ile ilgili çalışma bulunamamıştır.

Bu çalışmada alıcı saha olarak sıçanların ense derisi seçildi. Horhota ve ark. tarafından nitrogliserin emilimi üzerine yapılan araştırmada sıçanların ense bölgesine topikal nitrogliserin uygulandığında plazmada tespit edilemedi. Aynı makalede deskuamasyon yapıldığı takdirde nitrogliserin emilimi artacağı ve plazmada tespit edilebileceği düşünülmüştür(74). Çalışmamızda sıçanların ense bölgesine bistüri yardımıyla deskuamasyon yapıldı ve sonrasında yapışkan bant ile debris uzaklaştırıldı. Yaptığımız çalışmada bu teknik kullanılarak topikal nitrogliserin uygulamasının sistemik dolaşıma katıldığı gösterildi. Daha önce bu yöntem tarif edilse de çalışmamız sıçanların ense bölgesine uygulanan topikal nitrogliserinin plazmada biyokimyasal olarak tespit edilebilir seviyeye ulaştığını gösteren ilk çalışmadır.

Aral ve ark. sıçanlarda neovaskülarizasyonun postoperatif 7. günde en yüksek olduğunu gösterdi(75). Buradan yola çıkarak, topikal nitrogliserin uygulamasının en az 7 gün olması gerektiği düşünüldü. Tüysüz bölgelere sürüldüğünde nitrogliserin uygulamadan 30 dakika sonra yeterli plazma konsantrasyonuna ulaşır ve 4-6 saate kadar plazmada tespit edilebilir. Bu nedenle alıcı sahaya operasyondan 1 saat önce ve greft aktarıldıktan sonraki 7 gün boyunca nitrogliserin uygulaması yapıldı. Yaptığımız çalışmada bu uygulamanın alıcı saha vaskülarizasyonunu artırması beklendi.

Horhota ve ark. tarafından yapılan araştırmada topikal nitrogliserin uygulaması sonrasında kandaki nitrogliserin seviyesinin 1., 3. ve 4. saatlerde pik yaptığı gösterildi(72, 74). Çalışmamızda dolaşıma geçtiğini göstermek için nitrogliserin sürüldükten sonra 1 saat beklenildi ve intrakardiyak kan örneği alınarak biyokimyasal olarak incelendi. Nitrogliserin analizi için sıvı kromatografisi sıralı kütle spektrometrisi yöntemi kullanıldı(76). Aktarılan yağ grefti 6 hafta

beclendikten sonra tamamen eksize edildi ve son ağırlık ve hacimleri ölçüldü. Plazmadaki nitrogliserin seviyeleri ile bulgular karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olumlu etkileri saptandı. Nitrogliserin seviyesi ile ağırlık farkında azalma, inflamasyon ve nekroz arasında negatif korelasyon olduğu görüldü. Aynı zamanda adiposit bütünlüğü ile nitrogliserin düzeyleri arasında pozitif korelasyon istatistiksel olarak anlamlıydı.

Çalışma sonucunda deney grubunda greftler eksize edilirken makroskopik düzeyde olumlu etkiler görüldü. Eksizyon esnasında greftin bütünlüğünün bozulmadığı ve tek parça olarak eksize edildiği fark edildi. Histopatolojik incelemede nitrogliserinin yağ grefti yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri olduğu gösterildi. Lokal nitrogliserin uygulanan gruptaki greft ağırlık kaybının kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü. Gruplar arasındaki ağırlık farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Greftlerde oluşan nekroz ve yabancı dev hücre oluşumu değerlendirildiğinde nitrogliserin uygulanan gruplarda daha az oranda bu problemlerin oluştuğu görüldü. Nitrogliserinin greftte oluşan inflamasyonu istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttığı gözlemlendi. Nitrogliserin uygulaması nekrozu, yabancı cisim reaksiyonunu ile inflamasyonu azaltarak yağ grefti yaşayabilirliği üzerine olumlu etkilere sahiptir.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak nitrogliserin vazodilatasyon yoluyla VEGF miktarını artırarak damarlanmayı artırması ile yağ grefti yaşayabilirliği üzerine olumlu etkileri görüldü. İleride yapılacak araştırmalarda sistemik enjeksiyon, lokal ve sistemik olarak nitrogliserin enjekte edilmesi gibi farklı yöntemler karşılaştırılarak daha iyi sonuçlar alınabilir. Topikal nitrogliserin emilimini artırmak için bistüri ile yapılan deskuamasyon yöntemi için de standardizasyon yapılmasının daha iyi sonuç vereceği düşünülmektedir. Sıçanlar üzerinde yaptığımız bu çalışmada hayvan sayısı artırılarak, metot modifiye edilerek daha iyi sonuçlar elde edilebileceği öngörülebilir.

Yapılacak daha ileri çalışmalarla, topikal nitrogliserin uygulaması insanda yapılan yağ grefti uygulamalarının bir parçası olma ihtimalini taşımaktadır.

9. KAYNAKLAR

1. Nicareta B, Pereira LH, Sterodimas A, Illouz YG. Autologous gluteal lipograft. Aesthetic plastic surgery. 2011;35(2):216-24.
2. Coleman SR. Structural fat grafting: more than a permanent filler. Plastic and reconstructive surgery. 2006;118(3S):108S-20S.
3. Simonacci F, Bertozzi N, Grieco MP, Grignaffini E, Raposio E. Procedure, applications, and outcomes of autologous fat grafting. Annals of Medicine and Surgery. 2017;20:49-60.
4. Dixit VV, Wagh MS. Unfavourable outcomes of liposuction and their management. Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India. 2013;46(2):377.
5. Chajchir A. Fat injection: long-term follow-up. Aesthetic plastic surgery. 1996;20(4):291-6.
6. Niechajev I, Sevcuk O. Long-term results of fat transplantation: clinical and histologic studies. Plastic and reconstructive surgery. 1994;94(3):496-506.
7. Lewis CM. The current status of autologous fat grafting. Aesthetic plastic surgery. 1993;17(2):109-12.
8. Choi M, Small K, Levovitz C, Lee C, Fadl A, Karp NS. The volumetric analysis of fat graft survival in breast reconstruction. Plastic and reconstructive surgery. 2013;131(2):185-91.
9. Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, Sav A. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery. 2009;62(9):1210-4.
10. Yu N-Z, Huang J-Z, Zhang H, Wang Y, Wang X-J, Zhao R, et al. A systemic review of autologous fat grafting survival rate and related severe complications. Chinese Medical Journal. 2015;128(9):1245.
11. Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B. The current state of fat grafting: a review of harvesting, processing, and injection techniques. Plastic and reconstructive surgery. 2015;136(4):897.

12. Charles-de-Sá L, Gontijo de Amorim NF, Dantas D, Han JV, Amable P, Teixeira MVT, et al. Influence of negative pressure on the viability of adipocytes and mesenchymal stem cell, considering the device method used to harvest fat tissue. *Aesthetic surgery journal*. 2015;35(3):334-44.
13. Gause TM, Kling RE, Sivak WN, Marra KG, Rubin JP, Kokai LE. Particle size in fat graft retention: a review on the impact of harvesting technique in lipofilling surgical outcomes. *Adipocyte*. 2014;3(4):273-9.
14. Park B, Kong JS, Kang S, Kim YW. The effect of epidermal growth factor on autogenous fat graft. *Aesthetic plastic surgery*. 2011;35(5):738-44.
15. Seyhan N, Alhan D, Ural AU, Gunal A, Avunduk MC, Savaci N. The effect of combined use of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells on fat graft survival. *Annals of plastic surgery*. 2015;74(5):615-20.
16. Lin J-Y, Wang C, Pu LL. Can we standardize the techniques for fat grafting? *Clinics in plastic surgery*. 2015;42(2):199-208.
17. Baek RM, Park SO, Jeong EC, Oh HS, Kim SW, Minn KW, et al. The effect of botulinum toxin A on fat graft survival. *Aesthetic plastic surgery*. 2012;36(3):680-6.
18. Topcu A, Aydin OE, Ünlü M, Barutcu A, Atabey A. Increasing the viability of fat grafts by vascular endothelial growth factor. *Archives of facial plastic surgery*. 2012;14(4):270-6.
19. Sezgin B, Ozmen S, Bulam H, Omeroglu S, Yuksel S, Cayci B, et al. Improving fat graft survival through preconditioning of the recipient site with microneedling. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2014;67(5):712-20.
20. Lee JW, Han YS, Kim SR, Kim HK, Kim H, Park JH. A rabbit model of fat graft recipient site preconditioning using external negative pressure. *Archives of plastic surgery*. 2015;42(2):150.
21. EM A. Selwyn AP. Braunwald E. Ischemic heart disease. *Harrison's Principles of internal medicine*. 2008;17.
22. Smith DK, Dolan RW. Effects of vasoactive topical agents on the survival of dorsal skin flaps in rats. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 1999;121(3):220-3.

23. Waters LM, Pearl RM, Macaulay RM. A comparative analysis of the ability of five classes of pharmacological agents to augment skin flap survival in various models and species: an attempt to standardize skin flap research. *Annals of plastic surgery*. 1989;23(2):117-22.
24. Hendel PM, Lilien DL, Buncke HJ. A study of the pharmacologic control of blood flow to acute skin flaps using xenon washout. Part I. *Plastic and reconstructive surgery*. 1983;71(3):387-98.
25. Rohrich RJ, Cherry GW, Spira M. Enhancement of skin-flap survival using nitroglycerin ointment. *Plastic and reconstructive surgery*. 1984;73(6):943-8.
26. Cheng J, Mei R, Liu Z, Liu P, Mei L, Song H. Effect of Compound Nitroglycerin Gel on Skin Ulcer Wound in Rats. *Herald of Medicine*. 2015;34(12):1591-4.
27. Nguyen A, Guo J, Banyard DA, Fadavi D, Toranto JD, Wirth GA, et al. Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 1: Current concepts and review of the literature. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2016;69(2):170-9.
28. Ergün A. YAĞ HÜCREŚİ ve SALGI ÜRÜNLERİNİN FONKSİYONLARI.
29. Ishikawa M, Kitayama J, Nagawa H. Enhanced expression of leptin and leptin receptor (OB-R) in human breast cancer. *Clinical Cancer Research*. 2004;10(13):4325-31.
30. Freitas Lima LC, Braga VdA, do Socorro de França Silva M, Cruz JdC, Sousa Santos SH, de Oliveira Monteiro MM, et al. Adipokines, diabetes and atherosclerosis: an inflammatory association. *Frontiers in physiology*. 2015;6:304.
31. Schling P, Löffler G. Cross talk between adipose tissue cells: impact on pathophysiology. *Physiology*. 2018.
32. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998;83(3):847-50.
33. Miller Jr W, Faust I, Goldberger A, Hirsch J. Effects of severe long-term food deprivation and refeeding on adipose tissue cells in the rat. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1983;245(1):E74-E80.
34. Iyyanki T, Hubenak J, Liu J, Chang EI, Beahm EK, Zhang Q. Harvesting technique affects adipose-derived stem cell yield. *Aesthetic surgery journal*. 2015;35(4):467-76.

35. Kato H, Mineda K, Eto H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, et al. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue remodeling during the first 3 months. *Plastic and reconstructive surgery*. 2014;133(3):303e-13e.
36. Neuber G. Über die Wiederanheilung vollständig vom Körper getrennter, die ganze Fettschicht enthaltender Hautstücke. *Zentralblatt Chir*. 1893;30:16.
37. Czerny V. Drei plastische operationen. III. Plastischer Ersatz der Brustdrüse durch ein Lipom *Arch F Klin Chir*. 1895;50(544.1895).
38. Bruning P. Cited by Broeckaert TJ, Contribution a l'etude des greffes adipeuses. *Bull Acad Roy Med Belgique*. 1914;28:440.
39. Mazzola RF, Mazzola IC. History of fat grafting: from ram fat to stem cells. *Clinics in plastic surgery*. 2015;42(2):147-53.
40. Illouz Y-G. The fat cell "graft": a new technique to fill depressions. *Plastic and reconstructive surgery*. 1986;78(1):122.
41. Chajchir A, Benzaquen I. Fat-grafting injection for soft-tissue augmentation. *Plastic and reconstructive surgery*. 1989;84(6):921-34; discussion 35.
42. Mashiko T, Yoshimura K. How does fat survive and remodel after grafting? *Clinics in plastic surgery*. 2015;42(2):181-90.
43. Tuin AJ, Domerchie PN, Schepers RH, Willemsen JC, Dijkstra PU, Spijkervet FK, et al. What is the current optimal fat grafting processing technique? A systematic review. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2016;44(1):45-55.
44. Welch G, Loscalto J. Nitric oxide and the cardiovascular system. *Journal of cardiac surgery*. 1994;9(3):361-71.
45. Marsh N, Marsh A. A short history of nitroglycerine and nitric oxide in pharmacology and physiology. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2000;27(4):313-9.
46. Brunton TL. On the use of nitrite of amyl in angina pectoris. *The Lancet*. 1867;90(2291):97-8.
47. Ignarro LJ. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circulation research*. 1989;65(1):1-21.

48. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science*. 1992;258(5090):1898-902.
49. Fung H-L, Chung S-J, Bauer JA, Chong S, Kowaluk EA. Biochemical mechanism of organic nitrate action. *The American journal of cardiology*. 1992;70(8):B4-B10.
50. Meng Z, Zhang H. The vasodilator effect and its mechanism of sulfur dioxide-derivatives on isolated aortic rings of rats. *Inhalation toxicology*. 2007;19(11):979-86.
51. Marletta MA, Yoon PS, Iyengar R, Leaf CD, Wishnok JS. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. *Biochemistry*. 1988;27(24):8706-11.
52. Champe PC, Harvey RA. *Biochemistry (Lippincott's illustrated reviews)*: Lippincott; 1994.
53. Stuehr DJ, Griffith OW. Mammalian nitric oxide synthases. *Advances in enzymology and related subjects*. 1992;65:287-346.
54. Kuyumcu A, Düzgün AP, Özmen MM, Besler HT. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Derg*. 2004;10(3):149-59.
55. Levy D, Zochodne DW. NO pain: potential roles of nitric oxide in neuropathic pain. *Pain Practice*. 2004;4(1):11-8.
56. Sen S, Dost T, Aydın ON, Oğurlu M, Temuçin S, Gürsoy F. The effects of combination of two lornoxicam doses and nitroglycerine on acute pain in rats. *Agri: Agri (Algoloji) Derneği'nin Yayın organidir= The journal of the Turkish Society of Algology*. 2005;17(4):47-52.
57. Kleydman K, Cohen JL, Marmur E. Nitroglycerin: a review of its use in the treatment of vascular occlusion after soft tissue augmentation. *Dermatologic surgery*. 2012;38(12):1889-97.
58. Takahashi T. Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *Journal of gastroenterology*. 2003;38(5):421-30.
59. Fung H-L, Ogata H, Kamiya A, Maier G. Pharmacokinetics of nitroglycerin after parenteral and oral dosing in the rat. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1984;73(7):873-9.
60. WesterX RC, Noonan PK, Smeach S, Kosobud L. Pharmacokinetics and bioavailability of intravenous and topical nitroglycerin in the rhesus monkey: estimate of percutaneous first-pass metabolism. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1983;72(7):745-8.

61. Tao X-Y, Wang L, Gao W-Y, Ding J, Feng X-L, Zhou Z-W, et al. The effect of inducible nitric oxide synthase on multiterritory perforator flap survival in rats. *Journal of reconstructive microsurgery*. 2016;32(09):643-9.
62. Taleb S, Moghaddas P, Balaei MR, Taleb S, Rahimpour S, Abbasi A, et al. Metformin improves skin flap survival through nitric oxide system. *journal of surgical research*. 2014;192(2):686-91.
63. Fukuto J, Chiang K, Hszieh R, Wong P, Chaudhuri G. The pharmacological activity of nitroxyl: a potent vasodilator with activity similar to nitric oxide and/or endothelium-derived relaxing factor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1992;263(2):546-51.
64. Schonberger RB, Worden WS, Shahmohammadi K, Menn K, Silverman TJ, Stout RG, et al. Topical non-iontophoretic application of acetylcholine and nitroglycerin via a translucent patch: a new means for assessing microvascular reactivity. *The Yale journal of biology and medicine*. 2006;79(1):1.
65. Jimenez ER, Whitney-Caglia L. Treatment of chronic lower extremity wound pain with nitroglycerin ointment. *Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing*. 2012;39(6):649-52.
66. Khater R, Atanassova P. Autologous fat grafting—factors of influence on the therapeutic results. *Current Concepts in Plastic Surgery*. 2012:183-210.
67. Moscona R, Shoshani O, Lichtig H, Karnieli E. Viability of adipose tissue injected and treated by different methods: an experimental study in the rat. *Annals of plastic surgery*. 1994;33(5):500-6.
68. Fukumura D, Ushiyama A, Duda DG, Xu L, Tam J, Krishna V, et al. Paracrine regulation of angiogenesis and adipocyte differentiation during in vivo adipogenesis. *Circulation research*. 2003;93(9):e88-e97.
69. Murad F. Drugs used for treatment of angina: Organic nitrates, calcium-channel blockers, and β -adrenergic antagonists. *Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. 1990:764-83.
70. Levin RI, Jaffe EA, Weksler BB, Tack-Goldman K. Nitroglycerin stimulates synthesis of prostacyclin by cultured human endothelial cells. *The Journal of clinical investigation*. 1981;67(3):762-9.

71. Cui H, Wang Y, Feng Y, Li X, Bu L, Pang B, et al. Dietary nitrate protects skin flap against ischemia injury in rats via enhancing blood perfusion. *Biochemical and biophysical research communications*. 2019;515(1):44-9.
72. Gdalevitch P, Van Laeken N, Bahng S, Ho A, Bovill E, Lennox P, et al. Effects of nitroglycerin ointment on mastectomy flap necrosis in immediate breast reconstruction: a randomized controlled trial. *Plastic and reconstructive surgery*. 2015;135(6):1530-9.
73. Scheuer S, Hanna MK. Effect of nitroglycerin ointment on penile skin flap survival in hypospadias repair Experimental and clinical studies. *Urology*. 1986;27(5):438-40.
74. Horhota ST, ST H, FUNG HL. Site dependence for topical absorption of nitroglycerin in rats. 1978.
75. Aral M, Tuncer S, Şencan A, Elmas Ç, Ayhan S. The effect of thrombolytic, anticoagulant, and vasodilator agents on the survival of random pattern skin flap. *Journal of reconstructive microsurgery*. 2015;31(07):487-92.
76. Gelber L. High-performance liquid chromatographic analysis of nitroglycerin ointment. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1980;69(9):1084-6.
78. Sanniec K, Teotia S, Amirlak B. Management of Tissue Ischemia in Mastectomy Skin Flaps: Algorithm Integrating SPY Angiography and Topical Nitroglycerin. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 2016;4:e1075.
79. Yi C, Pan Y, Zhen Y, et al. Enhancement of viability of fat grafts in nude mice by endothelial progenitor cells. *Dermatol Surg*. 2006;32:1437–1443.
80. Ramon Y, Shoshani O, Peled IJ, et al. Enhancing the take of injected adipose tissue by a simple method for concentrating fat cells. *Plast Reconstr Surg*. 2005;115:197–201.

10. EKLER

Ek 1. Nitrogliserin plazma seviyesi raporu.

Tıbbi Laboratuvar Raporu						
ÖRNEK	İstek Tarihi:	Örnek Alım Tarihi	Örnek Kabul Tarihi	Rapor Onay Tarihi	Sonuç	Birim
F1	20.07.2020	20.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	3,457	ng/ml
F2	20.07.2020	20.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	2,319	ng/ml
F3	12.07.2020	12.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	3	ng/ml
F4	20.07.2020	20.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	4,024	ng/ml
F5	12.07.2020	12.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	3,995	ng/ml
F6	12.07.2020	12.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	4,596	ng/ml
F7	20.07.2020	20.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	4,528	ng/ml
F8	20.07.2020	20.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	3,523	ng/ml
F9	20.07.2020	20.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	2,904	ng/ml
F10	20.07.2020	20.07.2020	21.07.2020	22.07.2020	1,718	ng/ml

Lizbon Caddesi (Eski 2. Cad.) No: 37/2 Öveçler - Çankaya / ANKARA
www.clinlab.com.tr info@clinlab.com