

T.C

İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

DONDURULARAK SAKLANAN NANO YAĞ  
GREFTLERİNİN SKAR DOKUSU ÜZERİNE  
HİSTOLOJİK ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ  
Dr. Özgür Turan

TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Meltem Ayhan Oral

İZMİR  
KASIM-2023

T.C

İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DONDURULARAK SAKLANAN NANO YAĞ  
GREFTLERİNİN SKAR DOKUSU ÜZERİNE  
HİSTOLOJİK ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Özgür Turan**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Meltem Ayhan Oral**

**İZMİR**

**KASIM-2023**

## ÖNSÖZ

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi manevi yanımda olan ve beni yalnız bırakmayan babam Ramazan Turan, annem Hayriye Turan, abim Ferhat Turan, biricik kardeşlerim Mervan Turan, Yekbun Turan, Diyar Turan'a; yolumun asistanlık sürecinde keşiştiği ve bu yolda beni her düşüşümde ayağa kaldıran hayat arkadaşım, meslektaşım, sevgilim biricik Duygu Karakayalı'ya teşekkür ederim.

Asistanlık sürecimde bana yol gösteren, beni motive eden, destekleyen, tez danışmanlığımı yapan saygıdeğer Doç.Dr. Meltem Ayhan Oral'e çok teşekkür ederim.

Bu yolda tecrübelerini bana sürekli aktarmaya çalışsan, abiliğini hiç eksik etmeyen Doç.Dr. Ersin Akşam'a çok teşekkür ederim.

Geldiği günden itibaren hem benim hem de kliniğimizin estetik ve rekonstrüktif alanda yol almasında büyük çaba harcayan Dr. Öğr. Üyesi İlker Uyar'a çok teşekkür ederim.

Eğitim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, örnek aldığım, saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Erhan Sönmez'e, Prof. Dr. Mustafa Durğun'a, Doç.Dr. Önder Karaaslan'a;

Asistanlığım boyunca birlikte çalışma imkânı bulduğum uzmanlarımız Dr. Murat Tüzüner ve Dr. Fatih Alp Öztürk'e;

Beş yıllık süre zarfında keyifli zamanlar geçirdiğimiz, bana birçok katkısı olan kıdemlilerim; Dr. Rehber Marşil, Dr. Alper Derviş, Dr. Mehmet Alkan, Dr. Süleyman Köken, Dr. Musa Burak Çatalkaya'ya;

Asistanlık süresince birlikte çalıştığım, birlikte öğrendiğim Dr. Emrah Patat, Dr. Batuhan Sert, Dr. Batuhan Aksoy, Dr. Aytunç Özsoy, Dr. Kadir Yit, Dr. Tunahan Başol, Dr. Burak Şen, Dr. İsmail Arda Tufan, Dr. Burak Bilge Kağan Ayna, Dr. Süleyman Doğukan Gezer, Dr. Levent Yorgun, Dr. Zafer Avcı, Dr. Doğukan Yıldıztaş, Dr. Burak Köçer, Dr. Emre Kömürcü, Dr. Mehmet Can Şahin, Dr. Deniz Çavuşa;

Asistanlığım boyunca çabalarımı, çalışmamı hep takdir eden, poliklinikte varlığını hep hissettiren Mihriban Bayık'a;

İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin plastik cerrahi servisinde, ameliyathanesinde ve polikliniğinde görev yapan hemşire, sekreter ve personellerin tümüne; sonsuz minnettarlık duyar, teşekkürü borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
SİMGE VE KISALTMALAR.....	IV
ŞEKİLLER.....	V
TABLolar.....	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Yara iyileşmesi.....	2
2.1.1. Hemostaz.....	2
2.1.2. İnflamasyon .....	3
2.1.3. Proliferasyon.....	4
2.1.4. Remodelling.....	5
2.2. Skar oluşumu ve tedavisi.....	5
2.2.1. Skar dokusundaki histolojik değişiklikler.....	5
2.2.2. Patolojik skar oluşumu.....	6
2.2.3. Skar tedavisi.....	8
2.2.3.1. Lazer tedavisi.....	8
2.2.3.2. Kortikosteroid enjeksiyonu.....	8
2.2.3.3. Mikro iğneleme.....	9
2.2.3.4. Slikon yara örtüsü.....	9
2.2.3.5. Kriyoterapi.....	9
2.2.3.6. Basit eksizyon.....	9
2.2.3.7. Z- plasti.....	10
2.2.3.8. W- plasti.....	10
2.2.3.9. Radyoterapi.....	11
2.3. Yağ Greftleri.....	11
2.3.1. Yağ dokusunun özellikleri.....	11
2.3.2. Yağ greftlerinin tarihçesi.....	12
2.3.3. Yağ greftlerinin özellikleri.....	13

2.3.3.1. Yağ greftlerinin vaskülarizasyonu.....	14
2.3.3.2. Yağ greftlerinin hasatı.....	15
2.3.3.3. Yağ greftlerinin işlenmesi.....	16
2.3.3.4. Nano yağ greftlerinin hazırlanması ve uygulanması.....	17
<b>2.4. Nano yağ greftlerinin skar dokusu üzerine etkisi .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5. Dondurularak saklama (Kriyoprezervasyon) işlemi.....</b>	<b>18</b>
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1. Deney Hayvanları.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2. Gereçler.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3. Yöntem.....</b>	<b>21</b>
<b>3.3.1. Deney grupları.....</b>	<b>21</b>
3.3.1.1. Nano yağ greft enjeksiyonu yapılmayan grup.....	22
3.3.1.2. Taze nano yağ greft enjeksiyonu yapılan grup.....	23
3.3.1.3. Dondurularak saklanan nano yağ greft enjeksiyonu yapılan grup.....	24
<b>3.3.2. Histolojik değerlendirme .....</b>	<b>25</b>
<b>4) BULGULAR .....</b>	<b>26</b>
<b>4.1. Genel Bulgular.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2. Histopatolojik Bulgular.....</b>	<b>26</b>
<b>4.3. İstatiksel Bulgular .....</b>	<b>30</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>32</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>35</b>
<b>7. ÖZET.....</b>	<b>36</b>
<b>8. SUMMARY.....</b>	<b>37</b>
<b>9. KAYNAKÇA.....</b>	<b>38</b>

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

ADP: adenzin difosfat

ADSC: adipoz derive stem cell

BAT: kahverengi yağ dokusu

BM: bazal membran

CPA: kriyoprotektan ajan

ECM: ekstrasellüler matriks

EGF: epidermal growth faktör

FGF: fibroblast büyüme faktörü

H&E: hematoksilen eozin

HGF: hepatosit büyüme faktörü

IGF: insülin like growth faktör

PDGF: platelet derive growth faktör

PRP: platelet rich plazma

SVF: stromal vasküler fraksiyon

TGF-alfa: transforming growth factor-alfa

TGF- $\beta$ : transforming growth factor- $\beta$

vWF: von willebrand faktör

WAT: beyaz yağ dokusu

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Normal doku ve skar dokusu arasındaki epidermis kalınlığı karşılaştırılması .....	6
Şekil 2: Normal doku ve skar dokusu arasındaki BM kalınlığı ve varlığının karşılaştırılması.....	6
Şekil 3: Boynun sağ tarafında benign deri lezyonu eksizyonu sonrası oluşan hipertrofik skar .....	7
Şekil 4: Sağ skapular bölgede akne skarı sonrası oluşan keloid.....	7
Şekil 5: Sternal bölgede keloid ve bu keloidin eksizyonu sonrası 3 doz triamsinolon ve sikon yara örtüsü tedavisi sonrası görünümü .....	8
Şekil 6: Mikro iğnelemenin skar dokusu üzerine etkisi.....	9
Şekil 7: Z-plasti tekniği .....	10
Şekil 8: Sağ yüz yarımındaki skar dokusuna yönelik W- plasti tekniği uygulanan hastanın öncesi sonrası görüntüsü .....	10
Şekil 9: Popliteal bölgede hipertrofik skarı olan hasta (A) nano yağ grefti uygulandıktan sonra 1. yılı (B).....	11
Şekil 10: Yağ greftlerinin revaskülarizasyon mekanizması 1 greft + 1 alıcı (A), 10 greft + 2 alıcı (B), 4 greft + 4 alıcı (C) .....	14
Şekil 11: Yağ greftinin santrifüj sonrası farklı tabakalara ayrılması .....	17
Şekil 12: Cerrahi prosedürde kullanılan steril cerrahi set ve 5.0 prolon suture.....	20
Şekil 13: Alınan yağ greftlerinin nano yağ grefti haline getirilmesi için kullanılan yağ grefti hazırlama seti .....	21
Şekil 14: Sıçanların sırt bölgesinde vertikal uzanımlı 1 cm insizyonun planlanması.....	22
Şekil 15: İnguinal bölgeden yağ greftinin alınması .....	23
Şekil 16: Alınan yağ greftinin ortaya konulması.....	23
Şekil 17: Alınan yağ greftlerinin kilitli enjektör ve 1.2 tulip kullanılarak nano yağ grefti haline getirilmesi .....	24

Şekil 18: Nano yağ grefti buzdolabından çıkarılıp çözünmeye bırakılmış ve 25 künt uçlu kanül ile enjeksiyona hazır halde.....	24
Şekil 19: Nano yağ grefti enjeksiyonu yapılan grupta 2.ay biyopsinin planlanması.....	25
Şekil 20: Normal deride H&E (hematoksilen eozin) boyama ile kollajen demetlerinin görünümü.....	26
Şekil 21: Kontrol grubunda 2.ay biyopsi H&E boyama (A) ve masson trikrom boyama (B) ile skar dokusundaki kollajen demetlerinin yapısı.....	26
Şekil 22: Taze nano yağ grefti grubunda 2.ay biyopsi H&E boyama (A) ve masson trikrom boyama (B) ile kollajen demetlerinin yapısı .....	27
Şekil 23: Dondurularak saklanan nano yağ grefti grubunda 2.ay biyopsi H&E boyama (A) ve masson trikrom boyama (B) ile kollajen demetlerinin yapısı.....	27
Şekil 24: Kontrol grubunda 4.ay biyopsi H&E boyama (A) ve masson trikrom boyama (B) ile skar dokusundaki kollajen demetlerinin yapısı.....	27
Şekil 25: Taze yağ grefti grubunda 4.ay biyopsi H&E boyama (A) ve masson trikrom boyama (B) ile skar dokusundaki kollajen demetlerinin yapısı.....	28
Şekil 26: Dondurularak saklanan yağ grefti grubunda 4.ay biyopsi H&E boyama (A) ve masson trikrom boyama (B) ile skar dokusundaki kollajen demetlerinin yapısı....	28

## **TABLolar DİZİNİ**

Tablo 1: <i>Deney gruplarına uygulanacak olan prosedürler</i> .....	22
Tablo 2: Kontrol grubu 2.ay histopatolojik skora sonuçları .....	28
Tablo 3: Kontrol grubu 4.ay histopatolojik skora sonuçları .....	29
Tablo 4: Taze nano yağ grefti grubu 2.ay histopatolojik skora sonuçları .....	29
Tablo 5: Taze nano yağ grefti grubu 4.ay histopatolojik skora sonuçları.....	29
Tablo 6: Dondurularak saklanan nano yağ grefti grubu 2.ay histopatolojik skora sonuçları .....	29
Tablo 7: Dondurularak saklanan nano yağ grefti grubu 4.ay histopatolojik skora sonuçları.....	30
Tablo 8: İstatistik sonuçları.....	30

# 1.GİRİŞ

Skar dokusu, iyatrojenik (insizyon), travma veya yanık sonrası görülebilen yara iyileşmesinin nihai bir sonucudur. Skar dokusu hem estetik kaygılara hem de ağrı, kaşıntı, kontraktür gibi fonksiyonel bozukluklara neden olduğu için son derece önemlidir. Fonksiyonel bozukluklar yanıklar sonrası eklem yerlerinde kontraktür olarak görülebileceği gibi tümör eksizyonları sonrasında alt göz kapağında ektropion olarak da görülebilirler. Bu yüzden skar dokusunun tedavisi hem estetik hem rekonstrüktif bir gerekliliktir.

Plastik, rekonstüktif ve estetik cerrahide diğer kliniklerden farklı olarak skar dokusu görülmeyecek alanlara saklanmaya çalışıldığı gibi skar dokusunun daha ince olması, ciltten kabarık olmaması, soluk olması, az ağırlı ve kaşıntısız olması ayrıca kontraktürlere neden olmaması için çeşitli sutureasyon teknikleri uygulanır. Bu sutureasyon tekniklerine ilave olarak cerrahi ve cerrahi olmayan birden çok iyileştirici tedavi seçeneği mevcuttur. Hepsinin amacı skarların olabildiğince görünmez olmasını sağlamaktır.

Yağ greftlerinin tarihçesine bakılacak olursa temel olarak volüm augmentasyonu için kullanıldıkları görülür. Ancak yeni gelişmeler ile alınan yağ greftleri işlemde geçirilip mikro ve nano yağ greftleri haline getirilmiştir. Özellikle nano yağ greftlerinin volüm amaçlı değil rejenerasyon amaçlı kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu etkiyi içerdikleri adipoz kökenli kök hücreler aracılığı ile sağladıkları düşünülmektedir.

Makro ve mikro yağ greftlerinin beklenmeyen rezorpsiyon oranları nedeni ile tekrarlayan hasat prosedürlerinin hem hasta hem de cerrah için zorlayıcı olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı kriyoprezervasyon yöntemi ile alınan bu yağların tekrar kullanılması fikri ortaya atılmıştır. Çeşitli kriyoprezervasyon teknikleri mevcut olup halen belirlenmiş net bir prosedür mevcut değildir.

Literatüre bakıldığında Türkçe ve İngilizce kaynakların çoğunda ‘dondurularak saklama’ terimi yerine ‘kriyoprezervasyon’ terimi kullanıldığından çalışmanın geri kalan bölümlerinden ‘kriyoprezervasyon’ terimi kullanılacaktır.

Literatürde nano yağ greftlerinin skar dokusu üzerine hem estetik hem fonksiyonel olumlu etkileri olduğu ortaya konmuştur. Nano yağ greftlerinin intraoperatif olarak insizyonlara uygulanması sonrası skar dokusunda iyileşme sağladığı klinik ve deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Nano yağ greftlerinin kriyoprezerve edilerek postoperatif dönemde skar dokusuna uygulanıp iyileşmenin klinik bulgular üzerinden değerlendirildiği çalışmalar vardır ancak skar dokusundaki histolojik değişimlerinin izlendiği bir çalışma yoktur. Bu çalışmada alınan yağ greftleri işlendikten sonra nano yağ greftlerine çevrilmiş ve kriyoprezerve edilerek skar dokusuna postoperatif dönemde uygulanmıştır. Skar dokusundaki histolojik etkileri incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1) Yara İyileşmesi

Cilt, insan vücudunda yüzey alanı en geniş organdır. Dokuları ve organları mekanik hasardan, enfeksiyondan, ultraviyole ışınlarından koruyan kritik bir organdır. (1)

Yara, dokunun normal anatomik yapısı ve fonksiyonundaki bozulma ve hasar olarak tanımlanır. (2) Bu hasar veya bozulma cildin sadece epidermis tabakasında olabileceği gibi daha derinde yer alan dermis, subkutan doku, kas, sinir, damar, tendon, kemik veya organlarda da olabilmektedir. (3)

Yaralar, patogenezleri ve sonuçlarına göre akut ve kronik olarak iki grupta incelenir. Akut yaralarda, yapısal bütünlük nihai skar dokusu ile yeniden kazanılır. Ancak, kronik yaralar iyileşmezler. Devam eden inflamasyon, dirençli enfeksiyonlar ve nekroz gibi patolojik süreçlere evrilirler. (4)

Yara iyileşmesi, hasarlı dokuyu onarmak için koordineli bir şekilde ilerleyen ve sayısız hücresel olayı kapsayan dinamik ve karmaşık bir süreçtir. Akut yara iyileşmesi temel olarak dört safhaya ayrılır: Hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve remodelling. (5)

#### 2.1.1) Hemostaz

Yaralanmadan hemen sonra, hasarlanmış damarlar vazokonstrükte olur ve primer trombosit tıkaçı oluşur. Bu kanamanın azalmasını sağlamaktadır. (1,5)

Normal şartlarda hasarlanmamış endoteldeki antitrombotik faktörler nedeniyle trombosit aktivasyonu, adezyonu ve agregasyonu olmaz. Ancak damar hasarı sonrası ortaya çıkan subendotelyal matriks ile karşılaşan trombositler aktive olur. Trombositler reseptörleri (örn. Glikoprotein VI) ve ECM (hücre dışı matriks) proteinleri (örn. fibronektin, kollajen ve vWF) ile etkileşime girerek aktin ve integrin aktivasyonunu tetikler. Bu trombositlerin şekil değiştirmesini, birbirine ve yara bölgesine yapışmasını artırır. (1,5)

Aktive olmuş trombositlerden PDGF (platelet derive growth faktör), IGF (insülin like growth faktör, EGF (epidermal growth faktör), TGF- $\beta$  (Transforming growth factor- $\beta$ ) gibi büyüme faktörleri salgılanır. Bu büyüme faktörleri özellikle ilk saatlerde salgılanmalarına rağmen yaralanmanın 7. gününe kadar salgılanmaya devam eder. Ve düz kas hücreleri, endotel hücreleri, monositler, fibroblastlar üzerine parakrin etkileri mevcuttur. (1)

Aktive edilmiş trombositler tarafından salınan büyüme faktörlerinin bol miktarda bulunduğu bilinen PRP (platelet rich plazma), yaralar da dahil olmak üzere çeşitli yaralanmaların tedavisi için küçük ve büyük hayvan modellerinde yaygın olarak test edilmiştir ve olumlu sonuçlar alınmıştır. (1)

Trombositler, hemostaz için gerekli olsa da yoklukları yara iyileşmesinde kritik kusurlara yol açmaz. Yapılan fare deneylerinde trombosit yokluğunun veya düşük trombosit sayısının, yaraların iyileşmesi üzerinde derin bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Trombositopenili farelerde makrofaj ve T hücre sayısında artış görülürken, normal farelerle karşılaştırıldığında büyüme faktörü salınımında, yaranın yeniden epitelizasyon hızında, kollajen sentezinde veya anjiyogenezinde değişiklik olmadığı ortaya konmuştur. (1)

Hasarlı bölgede ortaya çıkan subendotelyal matriks hem intrinsik hem ekstrinsik yolaktaki faktör 10'un aktifleşmesini sağlar. Aktif faktör 10 protrombinin trombine, trombin ise fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlar. Faktör 8 sayesinde fibrin kovalent çapraz bağlar ile bağlanır. Ve bu primer trombosit tıkaçının, sekonder hemostaz tıkaçı olan trombüse dönüşümünü sağlar. (1)

Trombüs primer olarak yarayı tıkamayı ve kanamayı önlemeye hizmet eder. Bu çözünemeyen pıhtı yarayı bakterilerin istilasına karşı koruma sağlamak, gelen bağışıklık hücreleri için bir iskele görevi görmek ve erken onarımda bağışıklık hücrelerinin davranışına rehberlik etmek için bir sitokin ve büyüme faktörü rezervuarı barındırmak dahil bir dizi ikincil işlevi de yerine getirir. (1)

### **2.1.2) İnflamasyon**

Koagülasyonun geç evresinde başlayan erken inflamatuvar yanıtın birçok işlevi vardır. Burada amaç kompleman kaskadının aktivasyonunu takiben enfeksiyonun önlenmesi için nötrofillerin yara bölgesine infiltrasyonunu sağlamaktır.

Nötrofiller yara ortamına girdikten sonra yabancı maddeleri, bakterileri proteolitik enzimler ve serbest oksijen radikalleri salgılayarak yok eder. TGF- $\beta$ , C3a ve C5a gibi kompleman bileşenleri, bakteriler ve trombosit ürünleri tarafından üretilen formilmetiyonil peptidler dahil olmak üzere çeşitli kemoatraktif ajanlar tarafından yaralanmadan sonraki 24-36 saat içinde yara bölgesine çekilmeye başlanır. Yüzey adezyon moleküllerindeki değişiklikler nedeniyle, nötrofiller yapışkan hale gelir ve marjinaliyasyon süreciyle yarayı çevreleyen postkapiller venüllerdeki endotel hücrelerine yapışmaya başlarlar. Nötrofiller böylelikle endotel yüzeyi boyunca yuvarlanırlar. Bu yapışma ve yuvarlanma mekanizmalarına selektin bağımlı etkileşimler aracılık eder ve zayıf bağlar olarak sınıflandırılır. Endotel hücreleri tarafından salgılanan kemokinler, integrinlerin aracılık ettiği daha güçlü bir yapışma sistemini hızla aktive eder. Hücreler yuvarlanmayı durdurur ve diapedez olarak bilinen bir süreçle endotel hücreleri arasında sıkışarak venüllerden dışarı göç ederler. Sonraki göç artık kemokinlere ve diğer kemotaktik ajanlara bağlıdır. Nötrofiller yara ortamına girdikten sonra yabancı maddeleri, bakterileri proteolitik enzimler ve serbest oksijen radikalleri salgılayarak yok eder. Nötrofiller görevlerini tamamladıktan sonra, iyileşmenin bir

sonraki aşamasına geçmeden önce yaradan elimine edilmelidir. Hücre kalıntıları ve apoptotik cisimler daha sonra makrofajlar tarafından fagositoza uğrar. (6)

Geç inflamatuvar fazda, yaralanmadan 48-72 saat sonra makrofajlar yarada belirirler. Nötrofillerin başlattığı fagositoz sürecine devam ederler. Bu hücreler, inflamatuvar yanıtın geç aşamalarında temel düzenleyici hücreler olarak hareket ederler. Keratinositleri, fibroblastları ve endotel hücreleri aktive eden, başta TGF- $\beta$  olmak üzere güçlü doku büyüme faktörlerinin yanı sıra diğer araçların (TGF- $\alpha$  [Transforming growth factor-alfa], heparin bağlayıcı EGF, FGF [fibroblast büyüme faktörü]) bol miktarda rezervuarını sağlarlar. Trombositlerin aksine makrofajların yaradan uzaklaştırılması, zayıf yara debridmanı, gecikmiş proliferasyon, matürasyon ve anjiyogenez nedeniyle ciddi iyileşme bozukluklarına neden olarak yetersiz fibrozis ve daha zayıf onarılmış bir yara ile sonuçlanır. (6)

### 2.1.3) Proliferasyon

Hemostaz ve inflamasyon fazı başarılı bir şekilde sona erdiğinde, yara doku onarımına doğru kayar. Proliferatif faz, yaralanmadan sonraki 3.günde başlar ve bundan sonra yaklaşık 2 hafta sürer. Fibroblast göçü ve yeni sentezlenen ECM'nin birikimi ile karakterize olup, fibrin ve fibronektinden oluşan geçici ağın yerini alır. Makroskopik düzeyde, yara iyileşmesinin bu aşaması bol miktarda granülasyon dokusu oluşumu olarak görülebilir. (6)

Yaralanmayı takiben, çevre dokudaki fibroblastlar ve miyofibroblastlar ilk 3 gün boyunca çoğalmaları için uyarılır. Daha sonra, inflamatuvar hücreler ve trombositler tarafından salınan TGF- $\beta$  ve PDGF gibi faktörler tarafından çekilerek yaraya göç ederler. Fibroblastlar ilk olarak yaralanmadan sonraki 3. günde yarada ortaya çıkar. Yaraya girdikten sonra çoğalırlar ve matriks proteinleri olan hyaluronan, fibronektin, proteoglikanlar ile tip 1 ve tip 3 prokollajen üretirler. İlk haftanın sonunda, hücre göçünü daha da destekleyen ve onarım süreci için gerekli olan bol miktarda ECM birikir. Artık fibroblastlar miyofibroblastlara dönüşür. (6)

Kollajen yara iyileşmesinin tüm aşamalarında önemli bir bileşendir. Fibroblastlar tarafından sentezlenerek tüm dokulara bütünlük ve güç kazandırır. Özellikle onarımın proliferasyon ve remodelling aşamalarında kilit rol oynarlar. Kollajenler, yara içinde hücre içi matriks oluşumu için bir temel görevi görür. Normal dermis dokusunda %80 tip 1 ve %25 tip 3 kollajen içerirken, yara granülasyon dokusu %40 tip 3 kollajen ekspres eder. (6)

Yeni kan damarlarının oluşumu yara iyileşmesinde kritik öneme sahiptir ve onarım sürecinin tüm aşamalarında eş zamanlı olarak gerçekleşir. Nötrofilleri ve makrofajları çekmenin yanı sıra, hemostaz fazı sırasında salgılanan çok sayıda anjiyojenik faktör anjiyogenezi teşvik eder. FGF, VEGF, PDGF, anjiyogenin, TGF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$  bu anjiyojenik faktörlerdendir. (6)

Makrofajlar, fibroblastlar ve vaskülarize stroma, kollajen matriks, fibrinojen, fibronektin ve hyaluronik asit ile birlikte, fibrin bazlı geçici matriksin yerini alan akut

granülasyon dokusunu oluşturur. Kollajen birikimi ile kan damarlarının yoğunluğu azalır ve granülasyon dokusu yavaş yavaş olgunlaşarak skar dokusunu oluşturur. (6)

Epitel hücrelerinin göçü yara dudaklarından saatler içerisinde başlar. Geçici matrikse bağlanarak ilerleyen epitel hücreleri birbiriyle buluştuğunda göç durur ve bazal membran oluşmaya başlar. (6)

#### **2.1.4) Remodelling**

Yara iyileşmesinin son aşaması olan yeniden şekillenme aşaması, yeni epitel gelişmesinden ve nihai skar dokusu oluşumundan sorumludur. Proliferasyon ve yeniden şekillenme aşamalarında ECM sentezi, granülasyon dokusu gelişimi ile eşzamanlı olarak başlatılır. Bu faz 1-2 yıla kadar veya bazen daha da uzun bir süre devam edebilir. Akut bir yaranın yeniden şekillenmesi, normal yaraya yol açacak şekilde yapım ve yıkım arasında hassas bir dengenin korunması amacıyla düzenleyici mekanizmalar tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir. Hücre içi matriks olgunlaşmasıyla birlikte kollajen demetlerinin çapı artarken, hyaluronik asit ve fibronektinler bozulmaya başlar. Yaranın gerilme mukavemeti kollajen birikimine paralel olarak giderek artar. Kollajen lifleri, yaralanmamış dokuyla karşılaştırıldığında orijinal gücünün yaklaşık %80'ini geri kazanabilir. Yaradaki nötrofiller, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından üretilen matriks metalloproteinaz enzimleri, kollajenin parçalanmasından sorumludur. Zamanla metalloproteinazların doku inhibitörlerinin aktivitesi artar, metalloproteinaz enzimlerinin aktivitesinde bir düşüşle sonuçlanır ve böylece yeni matriks birikimi teşvik edilir. Kollajen demetlerinin başlangıçtaki birikimi oldukça düzensiz olmasına rağmen, yeni kollajen zamanla daha organize ve çapraz bağlı hale gelir. Alttaki bağ dokusunun boyutu küçülür ve ECM ile fibroblast etkileşimleri nedeniyle yara kenarlarını birbirine yakınlaştırır. Bu süreç bir dizi faktör tarafından düzenlenir; en önemlileri PDGF, TGF- $\beta$  ve FGF'dir. Yara iyileştikçe fibroblast ve makrofajların yoğunluğu apoptoz nedeniyle daha da azalır. Zamanla kılcal damarların büyümesi durur, bölgeye kan akışı azalır ve yara bölgesindeki metabolik aktivite azalır. Sonuçta hücre ve kan damarı sayısı azalmış, gerilme mukavemeti yüksek, tamamen olgunlaşmış bir yara izi yani skar dokusu oluşur. (6)

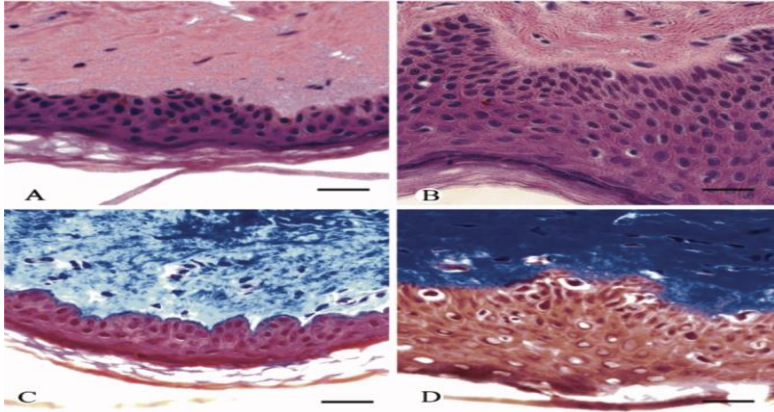
## **2.2) Skar Dokusu Oluşumu ve Tedavisi**

### **2.2.1) Skar dokusundaki histolojik değişiklikler**

Olgun bir skar dokusunda %80-90'ı tip I kollajen ve geri kalanı tip III olmak üzere büyük miktarda kollajenden oluşur. Skar dokusundaki kollajen deri yüzeyine paralel demetler halinde düzenlenirken, normal derideki kollajen paralel olmayan bir "sepet örgüsü" şeklinde düzenlenmiştir. (Şekil 20, 21) Skar dokusunun ECM'si normal deriden daha az elastin içerir, bu da skar dokusunda görülen elastikiyet eksikliğinin nedenidir. Miyofibroblastların aktivitesi, özellikle skar bir eklem üzerinde yer aldığı anda, ağrıya neden olan ve hareketi kısıtlayan kontraktürlere neden olabilir. (8)

Yang ve ark. yaptığı, skar dokusu ile çevresindeki normal dokunun histopatolojik olarak karşılaştırıldığı çalışmada HE (hematoksilin eozin) ve masson trikrom ile

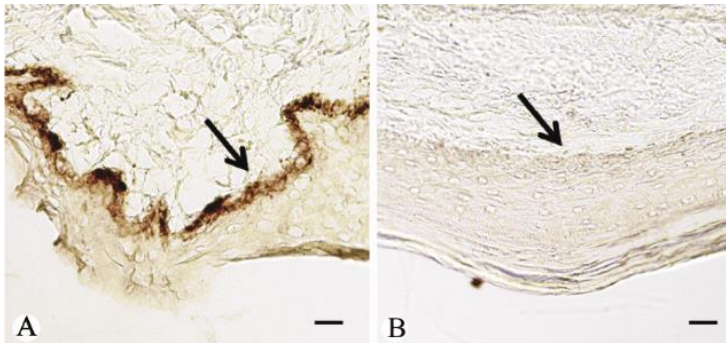
boyamada skar dokusunun zengin kanlanma, yüksek mezenkimal yoğunluk ve kalın epidermal tabaka ile normal deriden farklı olduğu görülmüştür. Dermis büyük ölçüde daha düzensiz şekilli ve daha büyük çaplı sert kollajen lifleri içeren düzensiz yoğun bağ dokusundan oluştuğu görülmüştür. Epidermiste çok sayıda keratinosit katmanı gözlenmesine rağmen, BM'nin histolojik yapısının skar dokusunda değişmiş olduğu görülmüştür. Ayrıca yara dokusunun epidermisi normal derininkinden açıkça daha kalın saptanmıştır. Bu çalışmada normal doku ve skar dokusu arasındaki epidermal kalınlık farkı anlamlı saptanmıştır. (7) (Şekil 1)



Şekil 1: Normal dokuda epiderminin daha ince olduğu (A-C), skar dokusunda (B-D) ise epiderminin daha kalın olduğu görülmekte (7)

Bu çalışmada metenamin gümüş ile boyama sonrasında normal dokuda BM saptanırken, skar dokusunda BM olmadığı görülmüştür. (7) (Şekil 2)

BM oluşumunun bazal keratinositleri bölünmeleri için uyurabileceği ve kutanöz yaraların iyileşmesini destekleyebileceği ve bu sayede skar dokusu oluşumunu teşvik ettiği düşünülmüştür. (7)



Şekil 2: Normal dokuda (A) BM'nin varlığı, skar dokusunda (B) BM'nin yokluğu (7)

### 2.2.2) Patolojik skar doku oluşumu

Tipik olarak, yara iyileşmesinde dinamik bir denge söz konusudur. Bu denge bozulduğunda, hipertrofik skar ve keloidler gibi istenmeyen skar dokuları oluşabilir. Bu patolojik yara iyileşmelerinin her ikisinde de iyileşme sırasında aşırı fibrinojen üretimi görülür. Her ikisi de semptomatik olabilir, en yaygın semptom kaşıntıdır, ancak aynı zamanda ağrılı olabilir, hareket kısıtlamalarına, kozmetik şekil

bozukluğuna neden olabilirler. Hipertrofik skar yaranın bölgesinin içinde kalır ve zamanla gerileyebilirken, keloidler ilk yaranın sınırlarının ötesine geçer ve gerilemezler. Histolojik incelemede, hipertrofik skarlar dalgalı, düzenli bir düzende kollajene sahip olma eğilimindeyken, keloidlerde belirgin bir kollajen düzeni yoktur. Hipertrofik skarlardaki kollajen demetleri keloidlerden daha incedir. Keloid oluşumunun genetik bir yatkınlığı varken hipertrofik skarda böyle bir genetik yatkınlık bulunmamaktadır. Keloidler ve hipertrofik skarlar koyu ten rengine sahip bireylerde daha sık görülürken bu ilişki keloidlerde daha belirgindir. Hipertrofik skarlar yaranın gerim altında kapatıldığı her durumda görülebilir. Bu patolojik yara iyileşmeleri normalde de gerimin fazla olduğu sternum, deltoid ve kulak bölgesinde daha sık görülürler. Bu patolojik skarlar 11-30 yaş arasında ortaya çıkma eğilimindedirler. Bunun genç popülasyondaki epidermal turnoverın artması ve artan kollajen üretiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Daha elastik bir cilde ve azalmış immün sistem yanıtına bağlı olarak yaşlılarda bu patolojik yara iyileşmeleri daha az görülür. (9) (Şekil 3 ve 4)



Şekil 3: Boynun sağ tarafında benign deri lezyonu eksizyonu sonrası oluşan hipertrofik skar (30)



Şekil 4: Sağ skapular bölgede akne skarı sonrası oluşan keloid (30)

Yara iyileşmesinin proliferatif fazında, yaranın bölgesindeki makrofajlar kollajen üretmek için fibroblastları aktive eden TGF- $\beta$  gibi büyüme faktörlerini salgırlar. Artmış TGF- $\beta$  seviyesinin bu tür patolojik skar oluşumlarına yol açtığı düşünülmektedir. TGF- $\beta$  ise diğerlerinin aksine fibroblast aktivitesinin azalmasına yol açar ve patolojik skar oluşumuna neden olmaz. Bu patolojik yara iyileşmelerinde artan keratinosit düzeyi nedeniyle epidermal kalınlık artmıştır. Her iki patolojik skar mikroskopik olarak incelendiğinde, hipertrofik skarlardaki kollajenler epidermise

paralel dalgalı bir paternde, kelloidal kollajen ise rastgele bir paternde düzenlenmiştir. Hipertrofik skarlardaki kollajen lifleri keloidlerden daha incedir. (9)

### 2.2.3) Skar tedavisi

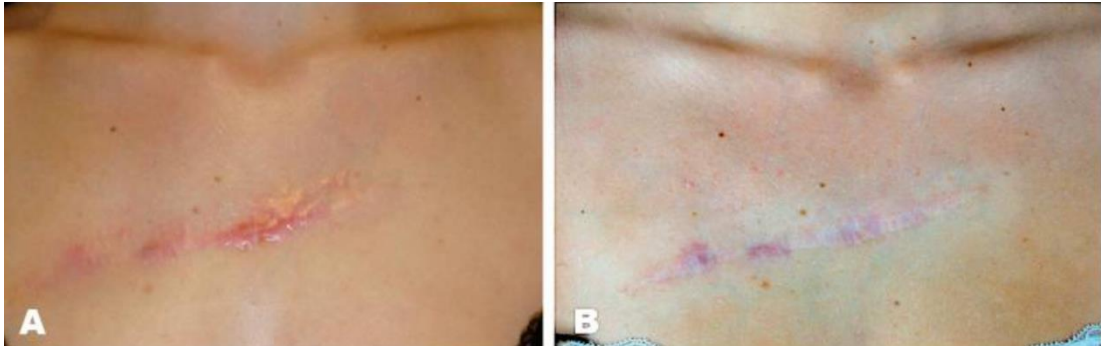
Skar, kozmetik bozukluğa neden olur ve belirgin skarlar duygusal, sosyal ve davranışsal sorunlara, hatta ilerleyen vakalarda depresyon ve anksiyete bozukluğuna neden olabilir. Skar dokusu ağrı ve ciddi kaşıntıya neden olabileceği gibi patolojik skarlar ise, kontraktürlere neden olarak fonksiyonel kısıtlamalara dahi neden olabilir. Tüm bu estetik ve fonksiyonel kaygılardan dolayı skar tedavisi üzerine çeşitli tedavi yöntemleri mevcuttur. (2)

#### 2.2.3.1) Lazer terapi

Lazer tedavisi, travmatik skarları ve kontraktürlerin tedavisinde güvenli ve etkili bir ilk basamak tedavidir. Bu tedavi seçeneğinin temel amacı var olan düzensiz kollajeni yok etmek ve yeni kollajen sentezi ve düzenlenmesini uyarmaktır. Ayrıca dye lazerler hipertrofik skarlardaki eritemi azaltmak amacı ile kullanılmaktadır. (8,10)

#### 2.2.3.2) Kortikosteroid enjeksiyonu

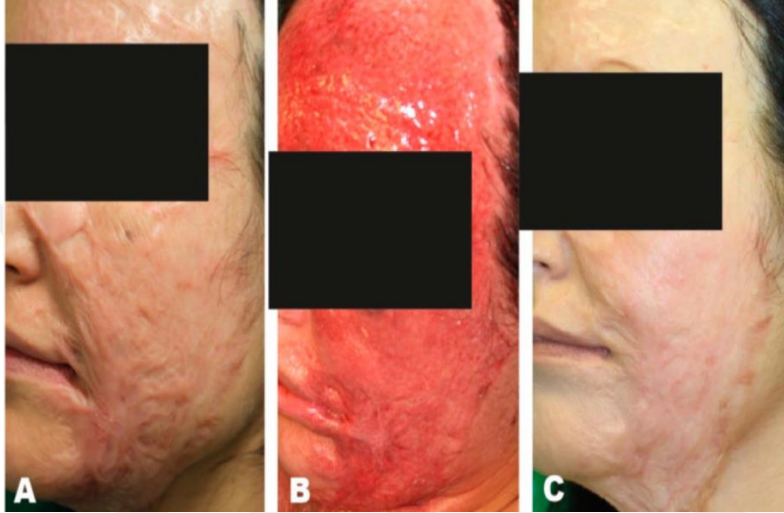
Hipertrofik skarlar ve keloidler, skar tedavisinde özel bir zorluk teşkil etmektedir. Triamsinolon asetatın intralezyonel enjeksiyonlarının kısa vadede etkili olduğu gösterilmiştir. (Şekil 5) Fibroblast aktivitesinde ve yoğunluğunda azalma yoluyla kollajen sentezinde azalmaya neden olmaları muhtemel etkileridir. Ayrıca triamsinolonun kan damarlarının endotelial tomurcuklanmasında azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Son çalışmalar keloidlerin %50'sinin triamsinolon enjeksiyonlarına yanıt vermediğini ve ilk yanıtın ardından önemli ölçüde nüks gösterebildiğini göstermiştir. Telenjektazi ve cilt atrofisi gibi yan etkiler görülebilir. Alternatif olarak kullanılan, verapamil ve 5-Fluorourasil kombinasyonu yan etkilerin daha az olması nedeniyle daha üstün sonuçlar verebilir. Son klinik çalışmalar, intralezyonel triamsinolon tedavisine kıyasla, triamsinolon ve 5-florourasil ile kombinasyon tedavisinin keloid ve hipertrofik skar tedavisinde daha etkili olduğunu göstermiştir. (10)



Şekil 5: Sternal bölgede keloid (A) ve bu keloidin eksizyonu sonrası 3 doz triamsinolon ve silikon yara örtüsü tedavisi sonrası görünüm (B) (10)

### 2.2.3.3) Mikro iğneleme

Perkütan mikro iğneler, hedef bölgeye uygulandığında dermiste bir dizi mikro yaraya neden olur. Bu işlemin epidermal yapıları korurken travma sonrası inflamatuvar yanıtı tetiklemesi, böylece cildin yenilenmesine ve kollajen oluşumuna izin vermesi beklenir. Böylece yeni kollajen üretimi ile skar dokusunda iyileşme sağlanır. Lazer tedavisinin aksine epidermise zarar vermemesi bu tedavi seçeneğini daha güvenilir bir yöntem haline getirmiştir. Bu nedenle, mikro iğneleme seansları optimum sonuçlar elde etmek için birden fazla kez gerçekleştirilebilir. (10) (Şekil 6)



Şekil 6: Preoperatif skar dokusu (A), Mikro iğneleme sonrası intraoperatif görüntü (B), Nihai skar dokusu (C) (10)

### 2.2.3.4) Slikon yara örtüsü

Silikon yara örtüleri, temel olarak stratum korneum tabakasının hidrasyonunu iyileştirir. Bu sayede skar dokusu oluşumunu azaltır. (8) (Şekil 5)

### 2.2.3.5) Kriyoterapi

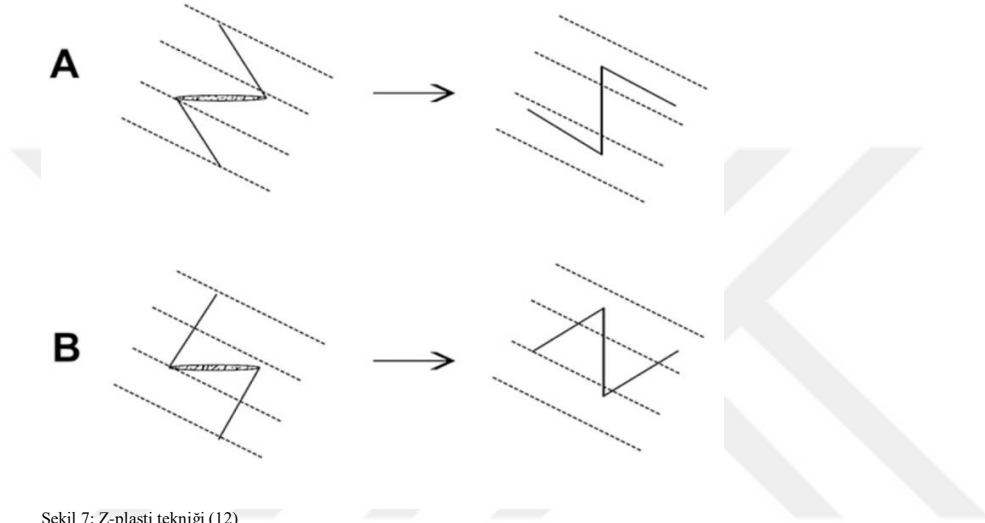
Kriyoterapi, intralezyonel kortikosteroidler veya cerrahi eksizyon ile birlikte hipertrofik skar ve keloidlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Atrofik depresif skarlar ve hipopigmentasyon gibi yan etkileri vakaların %75'inde bildirilmiştir. (11)

### 2.2.3.6) Basit eksizyon

Fusiform basit eksizyon uygun hastada tek başına basit bir seçenek sunar. Hipertrofik, atrofik veya düzensiz bir skarın daha ince hale getirmek amacıyla basit eksizyon yapılır. Fusiform eksizyon deri gerilim çizgilerine paralel olarak planlanması gerekir. Yeni skarı optimize etmek için yumuşak doku ve sütur teknikleri kullanılır. Bu teknikler cilt fleplerinin serbestlenmesi, yara dudaklarını manipüle ederken travmadan kaçınılması ve yara gerilimini azaltmak için fasya ve subkütiküler süturların atılmasını içerir. Bazı skarlar tek bir işlemle giderilemeyecek kadar büyüktür. Seri eksizyonlar, skarın 2 veya daha fazla prosedürde eksizyonun gerektiği büyük skar varlığında uygulanabilir. (12)

### 2.2.3.7) Z- plasti

Z- plasti, bir skarın yeniden yönlendirilmesine yardımcı olmak için kullanılabilir, böylece yeni skar dokusunun bir kısmının cilt gerim çizgilerine paralel uzanması sağlanır. Z- plasti, eksize edilecek skarın merkezi bacak olduğu bir çift transpozisyon flebini temsil eder. Flepler yerine transpoze edildikten sonra çıkan merkezi bacak orijinal skara dik olacaktır. Herhangi bir tek skar için, Z'nin bacaklarını tasarlamak için 2 seçenek vardır. Cilt gerim çizgilerine göre en uygun olan seçeneği seçmek önemlidir. (12) (Şekil 7)



Şekil 7: Z-plasti tekniği (12)

### 2.2.3.8) W-plasti

W- plasti doğrusal bir skarı düzensiz hale getirmek için tasarlanmıştır. Skar eksize edilir ve kapanmanın interdiijitat bir şekilde gerçekleşmesi için çoklu üçgen flepler oluşturulur. (12) (Şekil 8)



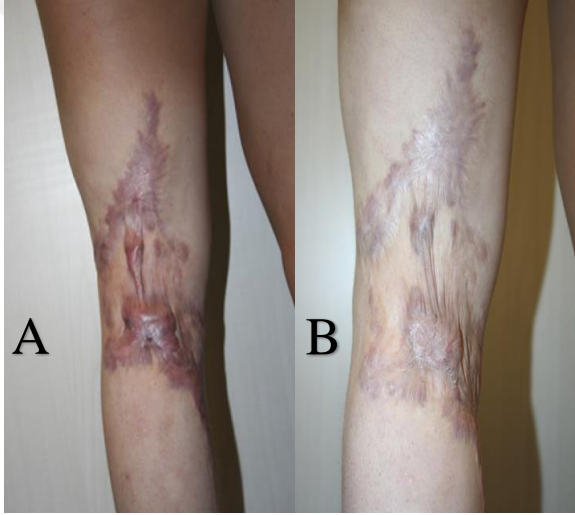
Şekil 8: Sağ yüz yarımındaki skar dokusuna yönelik W-plasti tekniği uygulanan hastanın öncesi (A) sonrası (B) görüntüsü (12)

### 2.2.3.9) Radyoterapi

Radyasyon zaman zaman keloid skarların tedavisinde kullanılır ancak tek başına kullanıldığında etkisizdir. Bunun yerine, radyasyon genellikle skarın cerrahi eksizyonunu takiben erken dönemde uygulanır ve nüks oranlarının %20 'nin altında olduğu bildirilmiştir. (8)

### 2.2.3.10) Yağ greftleri

Yağ greftleri, 19. yüzyılın sonlarından bu yana skar tedavisinde en umut verici yöntemlerden biri olmuştur. Kolay uygulanması ve toplanması, hacim eksikliğini ve elastikiyeti geri kazandırması ayrıca kontraktür, ağrı ve kaşıntı gibi semptomları önlemesi sayesinde popüler bir tedavi yöntemi haline gelmiştir. (Şekil 9) Tek başına kullanılabileceği gibi diğer tedaviler ile kombine edilebilir. (13)



Şekil 9: Popliteal bölgede hipertrofik skarı olan hasta öncesi (A) nano yağ grefti uygulandıktan sonra 1. yılı (B) (31)

## 2.3 Yağ Greftleri

### 2.3.1) Yağ dokusunun özellikleri

Yağ dokusu genel olarak iki başlık altında sınıflandırılır. Termojenik olarak aktif BAT (kahverengi yağ dokusu) ve enerji depolayan WAT (beyaz yağ dokusu). BAT, servikal, supraklaviküler, aksiller, paravertebral, mediastinal ve üst abdominal bölgelere dağılmıştır. Buna karşılık, insanlarda baskın yağ türü olan WAT ise visseral ya da subkutan alanda bulunur. Plastik ve rekonstrüktif cerrahi prosedürlerinde otolog yağ grefti için kullanılan yağ subkutanöz WAT'tır. (14)

Beyaz yağ dokusunun iki ana bileşeni vardır: Olgun adipositler ve SVF (stromal vasküler fraksiyon). SVF endotel hücreleri, düz kas hücreleri, perisitler, lökositler, fibroblastlar, mast hücreleri, preadipositler ve multipotent ADSC'den (adipoz kaynaklı kök hücre) oluşan heterojen bir hücre popülasyonudur. Yağ dokusu hacminin

yüzde 90'ından fazlası adipositlerden oluşur, ancak in vivo yağ dokusu toplam hücre sayısının yaklaşık %50'si ekstraselüler bir matris içinde ADSC, fibroblastlar, endotel hücreleri ve perisitlerden oluşur. (14)

Olgun bir insan adipositinin çapı 50 ila 150 µm arasında değişir ve bu hücreler 10 yıla kadar hayatta kalabilir. Olgun adipositler son derece kırılmandır. Mekanik travma ve iskemiye karşı toleransları düşüktür. Bu nedenle hasatlarında en az travmatik yol tercih edilmeli ve uygun alıcı alan sağlanmalıdır. Bunun aksine ADSC'ler travma ve iskemiye daha dayanıklıdır. (14)

### 2.3.2) Yağ greftlerinin tarihçesi

Otolog yağ transferi, 1889'te Meulen ve ark. diyafragma hernisinin tedavisinde omental yağı greftlerini kullanmaları ile ilk olarak ortaya atılmıştır. (14)

Neuber ve ark. 1893'te ön koldan aldıkları yağı yüzdeki skardan kaynaklanan hacim ve kontür düzensizliğini tedavi etmek için kullanmışlardır. (15)

1895'te Victor Czerny, bir lipomu, tek taraflı kısmi mastektomi yapılmış bir hastada, meme asimetrisini düzeltmek amacıyla transfer etmiştir. Günümüzde kullanıldığı gibi enjektör ve kanüller ile aktarım olana kadar, yağ greftlerinin nakli Victor Czerny'in yaptığı gibi en-blok olarak yapılmıştır. Birinci Dünya Savaşı yıllarında, Alman maksillofasial cerrah Lexer, yaralanan askerlerin yaralarının onarımında, lokal fleplerle kombine yağ greftlerini kullanmıştır. 1909 yılında Hollander, kanül ile yağ enjeksiyonunu ilk tanımlayan kişi olmuştur. (16)

1926 yılında, modern estetik cerrahinin babası olarak bilinen Amerikalı cerrah Miller "Canulla Implants" adlı kitabını yayınlamıştır. Bu kitabında cerrah, yağ greftlerini kanül yardımı ile yüz ve boyun bölgesindeki skar kontraktürü alanlarına cilt altı uygulamayı tariflemiştir. Tüm bu gelişmelere rağmen yağ transferi, liposakşının bulunana kadar, plastik cerrahi camiasında popüler olmamıştır. (16)

1930'lu yıllarda yağ transferleri artmaya başladıktan sonra öngörülemeyen rezorbsiyonlar ve yağ kisti oluşumları dikkat çekmeye başlamıştır.

1950'lerde Lyndon Peer, yağ greftinin 1 yıl sonra %50'sinin öldüğünü ve yerini fibröz bir dokunun aldığını belirtmiştir. Hatta yağ greftinde revaskülarizasyonun 4. günde başladığını ve bu revaskülarizasyon sağlanamazsa ölecek kistleştiklerini ortaya koymuştur. (16)

1980'li yıllarda Pierre Fournier ve Yves-Gerard Illouz liposakşını tanımlamışlardır. Bu teknik hızla tüm dünyaya yayılmıştır. Liposakşın ile alınan yağ dokusunun, deplese alanlarda kontür düzeltilmesi için kullanımı fikri, yeni bir ilgi alanı olmuştur. (16)

1980'lerin sonunda Abel Chajchir, ölü hücrelerin ayrıştırılması için salin ile aspiratın yıkanması fikrini ortaya atmış. Bu sayede vaskülarizasyonu artmış, rezorbsiyon oranı azalmış yağ greftleri elde edileceğini belirtmiştir. (16)

1990'lı yıllarda Sydney Coleman, prosedürü sistematize hale getirmiştir. Yağ greftinin, 10 ml'lik enjektöre bağlı, 3 mm'lik künt kanüller ile, travmayı en aza indirmek için düşük basınç altında alınması gerektiğini, santrifüj edildikten sonra da 18 G'lık kanüller ile tünelize edilerek verilmesi gerektiğini tariflemiş ve bu tekniğe "Lipostructure" ismini vermiştir. Sonraki yıllarda teknik hızla yayılmış ve birçok kullanım alanı bulmuştur. (16)

2000'li yılların başında, yağ dokusu içerisinde, mezanşimal kök hücreler olduğu fark edilmiş ve ADSC olarak isimlendirilmiştir. Bu hücrelerin diğer dokulara dönüşme yetenekleri olduğu bilinmektedir. Ayrıca SVF denen, preadipositler, perisitler, endotelial progenitor hücreler, T hücreleri, B hücreleri, nötrofil hücreleri, mast hücreleri yani yağ doku makrofajlarının kaynağı olan ve tamir, rejenerasyon potansiyeli olan lipoaspirat içeriği tariflenmiştir. SVF'nin yara iyileşmesini hızlandıran, kalitesini arttıran, zarar gören ya da ölen dokunun yerini alan hücreler olduğu düşünülmektedir. (17)

### **2.3.3) Yağ greftlerinin özellikleri**

Otolog yağ grefti tanım olarak; hastanın vücudunun bir bölgesinden yağın alınarak diğer bir alıcı bölgeye aktarılması işlemidir. Yağ greftlerinin kolay toplanması, allerjen olmaması, düşük donör saha morbiditesi, tekrar elde edilebilir oluşu, düşük maliyeti, çok amaçlı ve biyouyumlu oluşu gibi birçok avantajı mevcuttur. (17)

Yağ greftlerinin rekonstrüksiyon ve estetik amaçlı çok geniş bir kullanım alanı vardır. Yağ grefti esas olarak, doku kaybı ve atrofisi bulunan tüm cilt altı dokularda volüm augmentasyonu amacı ile kullanılabilir. Fasiyal hemiatrofi ve lipodistrofi düzeltilmesi, yüz ve el yaşlanmasında, kontur düzeltilmesinde, meme augmentasyonu ve rekonstrüksiyonunda, deplase skar tedavisi, gövde ve ekstremitelerde hacim ve kontur deformitelerinin estetik ve rekonstrüktif düzeltilmesi gibi durumlarda kullanılabilir. (17)

Başlangıçta yağ greftlerinin volüm augmentasyonu amaçlı kullanılmasına odaklanılsa da son araştırmalar yağ greftlerinin rejeneratif yeteneklerini ortaya koymuştur. (18)

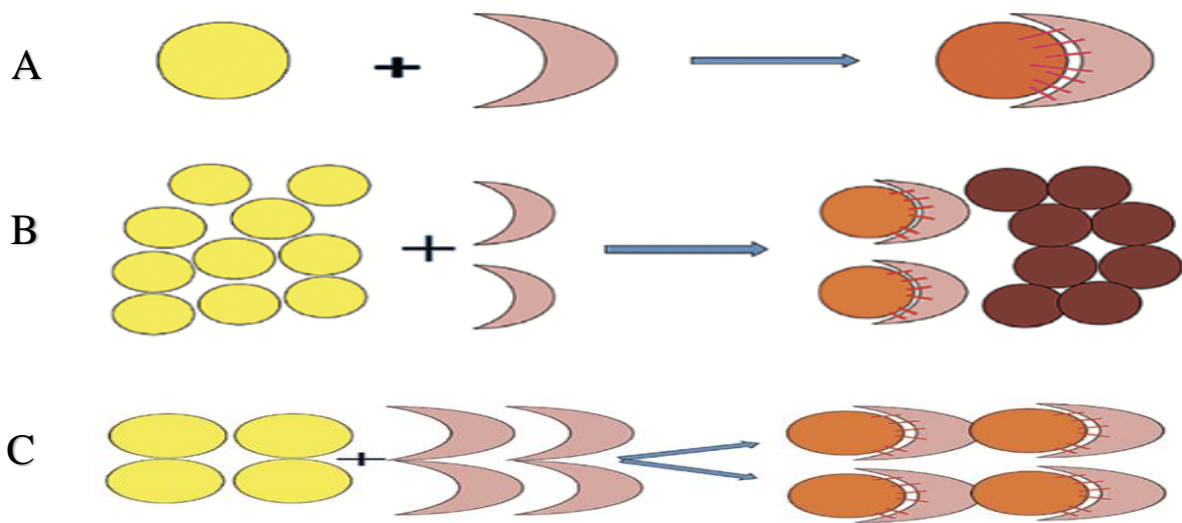
Çalışmamızın amacı yağ greftlerinin bu rejeneratif yeteneklerinin kriyoprezerve edildikten sonra devam edip etmediğini histolojik olarak ortaya koymaktır.

Yağ dokusunun rejeneratif potansiyelinin büyük bir kısmı SVF'deki ADSC'lerden kaynaklanmaktadır. Yağ dokusu, vücuttaki herhangi bir doku içinde en yüksek oranda yetişkin kök hücre içerir, hatta kemik iliğinden bile daha yüksektir. Mililitre kemik iliği başına sadece 100 ila 1.000 kök hücreye kıyasla mililitre yağ başına 4.500 kadar ADSC bulunmaktadır. ADSC'ler rejeneratif etkilerini sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin parakrin salgılanması yoluyla gerçekleştirir. ADSC'ler adiposit rejenerasyonundan sorumlu ana hücre popülasyonudur. Multipotensiye ek olarak, dokudaki ADSC yoğunluğu da adipoz doku rejenerasyonu potansiyeline katkıda bulunur. ADSC'lerin kapsamlı anjiyojenik ve rejeneratif özellikleri göz önüne

alındığında, yağ greftlerine konsantre ADSC'lerin dahil edilmesine büyük ilgi vardır. (14)

### 2.3.3.1) Yağ greftlerinin vaskülarizasyonu

Avasküler bir yağ greftinde, sadece en periferal adiposit tabakası hipoksiden kurtulur ve hemen altında, sadece ADSC'lerin revaskülarize olduğu ve yeni bir adiposit popülasyonunu yeniden oluşturduğu rejeneratif bölge bulunur. Rejeneratif bölgenin derinliklerinde ise hiçbir hücrenin yaşamadığı nekrotik bölge yer alır. İdeal koşullar altında rejeneratif bölgenin maksimum derinliği 1,6 mm'dir. Oksijen difüzyonu yağ greftlemede hız sınırlayıcı adımdır ve sadece 3 mm (2 x 1,6 mm) aralığındaki "mikro damlacıklar" revaskülarize olur ve hayatta kalır, bu da neovaskülarizasyon sınırını gösterir. Bundan dolayı 3 mm'den büyük greftler her zaman merkezi nekroza uğrayacaktır. Revaskülarizasyonun artırılması için büyük hacimde yağ greftlerinin üç boyutlu olarak farklı tabakalara veya konumlara yerleştirilmesi yani koleksiyon oluşturacak şekilde tek bir yere enjekte edilmemesi gerekir. Yağ grefti, kimyasal bir reaksiyonun sitokiyometrisiyle aynı şekilde kavramsallaştırılabilir; burada bir yağ damlacığı (G) bir kapiller alıcı bölgeyle (R) birleşerek revaskülarize bir greft-alıcı kompleksi (GR) oluşturur. Belirli bir miktardaki alıcı bölge (R), fazla greft birleşip nekroza uğramadan önce yalnızca sınırlı miktarda grefti (G) barındırabilir. (Şekil 10) Greftler birleşmeden dikkatlice yerleştirilirken, alıcı alanın eklenen hacmi karşılamak için gerilmesi gerekir. Dokuları germek için gereken basınç, dokular arasında değişen ve doğrusal olmayan mekanik uyumluluklarına göre belirlenir. Küçük hacimli artışlar için çoğu doku uyumludur. Bununla birlikte, greft hacmi arttıkça, interstisyel basınç sonunda kapiller perfüzyonu engelleyecek seviyelere yükselir. Bu durum greftlerin revaskülarize olmasını engeller. En iyi greftleme uygulaması ve alıcı alan varlığında greft yaşama şansı %30-50'dir. (18)



Şekil 10: Yağ greftlerinin revaskülarizasyon mekanizması 1 greft + 1 alıcı (A), 10 greft + 2 alıcı (B), 4 greft + 4 alıcı (C) (18)

Otolog yağ greftlerinin vitalizasyonu, 2012 yılında Eto ve ark. tarafından oluşturulan üç bölgeli hayatta kalma teorisi ile de açıklanabilir. Bu teori, avasküler yağ greftlerin transfer edildiğinde üç hücrenel bölgeye ayrılabilceğini belirtmektedir. En periferik bölge, kalınlığı 300 µm'den az olan ve greftlemeden sonra hayatta kalan adipositleri ve ADSC'leri içeren hayatta kalma bölgesidir. Hayatta kalma bölgesinin hemen altında 600 ila 1.200 µm kalınlığında rejeneratif bölge yer alır. Burada adipositler ölür ve rezorbe olur, ancak ADSC'ler hayatta kalır ve yeni adipositlere dönüşür. En içteki bölge, hipoksi nedeniyle hiçbir hücrenin hayatta kalamadığı merkezi nekrotik bölgedir. Bu bölgede rejenerasyon gerçekleşmez ve ölü alan ya rezorbe olur ya da fibrozis ile dolar. (14)

Yağ greftlerinin transferinden sonra, greftler başlangıçta birkaç gün boyunca çevredeki konak dokudan plazmatik difüzyonla beslenir. 48. saat gibi erken bir sürede, yeni kan damarları oluşmaya başlar. Revaskülarizasyon, sentripetal olarak gerçekleşir. Revaskülarizasyon gerçekleşene kadar, adipositlerin bir kısmı greftlemenin ilk 24 saati içinde ölecektir. Yağ dokusunun hücrenel bileşenleri arasında olgun adipositler iskemiye en duyarlı olanlardır ve ilk önce ölürler. ADSC'ler iskemiye nispeten dirençlidir ve ciddi iskemik koşullar altında 3 güne kadar hayatta kalabilir. Bu süre zarfında ADSC'ler, onarım sürecini kolaylaştırmak ve hasarlı dokuyu eski haline getirmek için yakındaki ölmekte olan hücrelerden gelen sinyallere yanıt olarak anjiyogenezi teşvik etmenin yanı sıra proliferasyon ve adipogenez geçirir. ADSC'lerden gelen adipogenez, aşılamaı takip eden 3 aya kadar rejeneratif bölgedeki ölü adipositlerin yerini alır. (14)

Yağ greftinin hayatta kalmasının "akut" rejeneratif ve adipojenik fazı 3 ayda tamamlanır ve bunu 9 aya kadar devam edebilen "kronik" bir stabilizasyon süreci izler. Rejeneratif veya merkezi nekrotik bölgelerde kalan ölü adipositler ya rezorbe olur ya fibrojeniz geçirir ya da yağ kistleri oluşturur. Rezorpsiyonun hızı lipid damlacıklarının çapına bağlıdır. Çapı <8 mm olan damlacıklar nispeten hızlı bir şekilde emilebilir ve yerini fibroze bırakabilir. Çapı 8 mm'den büyük damlacıklar daha yavaş emilir ve bu büyük damlacıklar tamamen emilmeden önce kalıcı yağ kistleri oluşur ve zamanla kronik inflamasyon ve kalsifikasyona yol açar. (14)

### **2.3.3.2) Yağ greftlerinin hasadı**

Hasat için vücut bölgesini seçmek söz konusu olduğunda flank, karın, uyluk ve diz daha tutarlı bir şekilde kullanılan donör bölgelerdir.

Fontes ve ark. yaptıkları çalışmada, farklı donör bölgelerden alınan greftler arasında ağırlık, hacim ve histolojik özellikler açısından anlamlı bir fark bulmamıştır. Ayrıca, hücre yüzey belirteçleri ve SVF düzeyleri de farklılık göstermemiştir. Bu nedenle yazarlar, erişilebilirlik ve hasta tercihi gibi faktörlerin donör bölgesi seçimi için öncelikli kriterler olarak kabul edilmesini önermişlerdir. (19)

Hasat yöntemi olarak doğrudan eksizyon, enjektör ile aspirasyon ve çeşitli basınçlar kullanarak (ve ayrıca bu basıncı oluşturmak için farklı mekanizmalar kullanarak) emme destekli liposuction şu anda kullanılan tekniklerden bazılarıdır. Buna ek olarak, liposuction ultrason veya lazer enerjisi ile de desteklenebilir.

Liposuction veya manuel aspirasyon gerçekleştirmek için negatif basınçlar gereklidir. Daha iyi işlevsel greftler elde etmek için farklı yazarlar tarafından önerilen toplama teknikleri (ve farklı basınçlar) arasındaki farklılığa rağmen, geleneksel liposuction'ın yüksek vakum basınçlarının doku için daha travmatik olduğu ve adiposit yapısal bozulmasına yol açtığı kabul görmektedir. (19)

Otomatik vakumlu geleneksel cihazlar yardımı ile yapılan hasatlarda yüksek hacim elde edilmesi bu tekniklerin avantajı iken, dezavantajlarının adiposit yapısında bozulma olduğu unutulmamalıdır. (19,20)

Manuel olarak düşük basınçta yağ emme işlemi Coleman tarafından geliştirilmiştir. Bu teknik şu anda kabul gören tekniktir. Bu teknikte yağ hasadı 3 mm'lik cilt insizyonlarından yapılır. 2 adet 2 mm'lik port içeren, 17 gauge künt uçlu kanül ve 10 ml'lik kilitli enjektör kullanılır. (20)

Yağ grefti hasadı için tümesansız (dry), tümesanlı (wet) teknikler mevcuttur. Yapılan çalışmalar, tümesansız tekniğe karşı tümesanlı teknik kullanıldığında hücre canlılığında önemli bir artış olduğunu göstermiştir. (20)

### **2.3.3.3) Yağ greftlerinin işlenmesi**

Yağ greftlerinin viabl kalması öncelikle bozulmamış adipositlerin yüksek oranda olması ve stromal bileşendeki mezenkimal kök hücrelerin korunmasına bağlıdır. Bu nedenle, hasat sonrası işlemenin genel amacı olgun adipositlerin, travmatik yırtılma kaynaklı serbest yağ, hücresel debris, eritrositler, diğer hematojen hücreler ve inflamatuvar substratlar gibi diğer canlı olmayan bileşenlerden uzaklaştırmaktır. Bu olgun atravmatik adiposit dışı hücreler ve substratlar alıcı bölgede inflamatuvar reaksiyonlara yol açarak yağ greftlerinin hayatta kalmasını riske atabilir. Çalışmalar eritrositlerin ve diğer heterojen bileşenlerin greftlenen yağın bozulmasını daha da hızlandırabileceğini göstermiştir. (20)

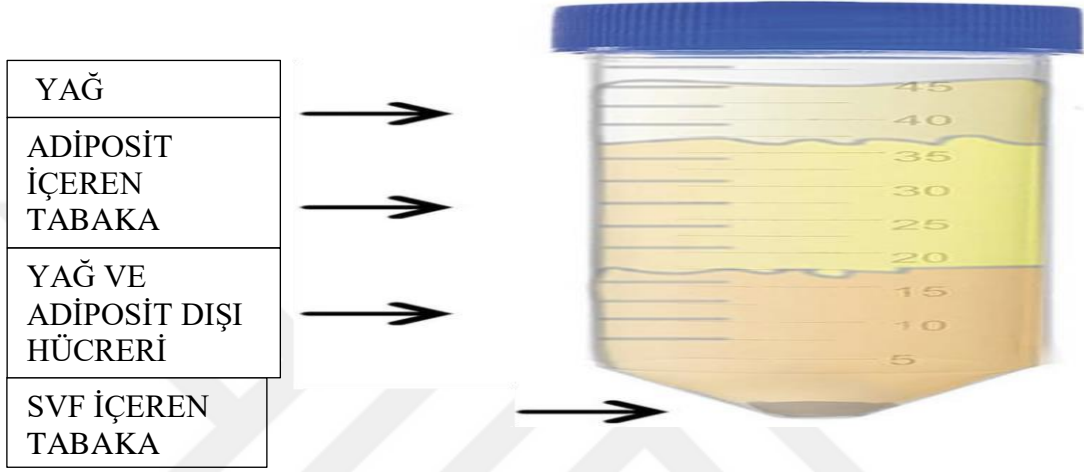
Sedimentasyon, canlı adiposit sayısını en üst düzeye çıkararak en atravmatik işleme tekniğidir. Bu teknikte temel olarak hasat edilen ürün yerçekimi etkisine bırakılır. Ve molekül yoğunluğuna göre katmanlara ayrılır. Bu teknikte yüksek düzeyde adiposit elde edilirken, stromal bileşen ve kök hücre sayısı azdır. Ayrıca eritrosit gibi inflamatuvar süreci tetikleyen ve greft sağ kalımını azaltan substratları ayırma konusunda zayıf bir tekniktir. Son çalışmalar santrifülemeye kıyasla greft viabilitesinin daha az olduğunu göstermektedir. (20)

Filtrasyon tekniğinde ise inflamatuvar süreci tetikleyen eritrosit ve benzeri substratları uzaklaştırdığı gibi hem adipositleri hem de stromal kökenli kök hücre sayısını en yüksek düzeyde tutar. Özellikle büyük hacimli yağ greft hasadı yapılacaksa kapalı sistem filtrasyon teknikleri sıklıkla kullanılır. (20)

Santrifüleme tekniği, en yaygın kullanılan tekniktir. Birçok kişi tarafından altın standart olarak kabul edilen santrifüleme tekniği ile burada tartışılan diğer işleme teknikleri arasında aslında önemli bir fark yoktur. Ancak teorik olarak santrifüleme greft bileşenlerinin en hassas şekilde ayrılmasını sağlar ve greft işlemede çok daha

hedefe yönelik bir yaklaşıma olanak tanır. Santrifüjleme, kolayca bölünebilen ve aktarılabilen katmanlar oluşturmak için bileşenleri yoğunluğa göre ayırır. Bu nedenle, diğer işleme teknikleriyle karşılaştırıldığında mümkün olan en yüksek adiposit ve mezenkimal kök hücre konsantrasyonunu elde eder. Buna rağmen, diğer tekniklerle karşılaştırıldığında genel greft viabilitesinde kanıtlanmış bir fark yoktur.

Coleman, 3000 rpm’de 3 dk santrifüjlemeyi önermiştir. Santrifüjleme sonrası en altta SVF tabakası, bunun üzerinde adiposit dışı hücreleri içeren tabaka, sonrasında adiposit tabakası, en üstte ise yağ tabakası toplanır. (20) (Şekil 11)



#### 2.3.3.4) Nano yağ greftinin hazırlanması ve uygulanması

Yağ greftleri işlendikten sonra nano yağ grefti haline getirilmesi için sıklıkla kullanılan teknik Tonnard’ın geliştirdiği tekniktir. Bu teknikte mikro yağ greftleri öncelikle 10 cc’lik kilitli enjektörle aktarılır. Sonrasında bu kilitli enjektörler arasında sırasıyla 2.4 mm, 1.4 mm, 1.2 mm’lik tulupler yardımı ile 30 defa aktarım sonrasında yağ greftleri nano yağ grefti haline getirilir. Burda özellikle yağ greftlerinin beyazlaşması dikkati çeker. Bu emülsifikasyon işleminden sonra elde edilen ürünün steril gazlı bez yardımı ile filtrasyonu yapılır. Böylelikle enjektör uçlarını tıkayabilecek bağ doku kalıntıları uzaklaştırılmış olur. Elde edilen son ürün nano yağ greftidir. Nano yağ grefti 1 cc’lik 27 gauge uçlu enjektörlere aktarılır. İntradermal ve subdermal olarak uygulanır. Uygulama ciltte sarımsı renk değişikliği görülene kadar yapılır. (21)

#### 2.4) Nano Yağ Greftlerinin Skar Dokusu Üzerine Etkisi

Nano yağ greftlerinin, cilt kalitesini arttırmaları ve skar dokusunda iyileşme gibi avantajları mevcuttur. Skar dokusunda kollajen sentezini uyardığı, kollajen dizilimini değiştirdiği, dermal kalınlığı artırarak cilt kalitesinde bir iyileşme sağladığı yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Nano yağ greftlerinin bu etkilerinden SVF’de bulunan ADSC’lerin sorumlu olduğu düşünülmektedir. (23)

Çalışmamızda sıçanlar üzerinde skar dokusu oluşturulmuş. Sıçanların inguinal bölgesinden alınan yağ greftleri nano yağ grefti haline getirilmiş. Kriyoprezerve edilerek skar dokusunun maturasyon döneminde skar dokusuna enjekte edilmiştir. Skar dokusundaki histolojik değişiklikler incelenmiştir.

Lin ve ark. sıçanlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada sıçanlarda yanık sonrası gelişen nöropatik ağrı tedavisinde inguinal bölgeden yağ grefti alınmış ve skar dokusuna enjekte edilmiş ve takiplerinde sıçanların nöropatik ağrılarında azalma olduğu ortaya konmuştur. (35)

Sangkum ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada sıçanların inguinal bölgesinden alınan yağ greftleri işleminden geçirildikten sonra ADSC bu yağ greftlerinden izole edilmiş ve üretral fibrozis alanlarına enjekte edilmiş. Enjeksiyon sonrası kollajen 1 ve kollajen 3'te anlamlı azalma saptanmakla birlikte skar formasyonunun azaldığı gösterilmiştir. (36)

Zografou ve ark. sıçanlar üzerindeki diyabetik ayak modelinde inguinal yağ yastıkçığından izole ettikleri ADSC'leri yine aynı sıçanda diyabetik ayak yarası greftlendikten sonra bu bölgeye uygulamışlardır. Sonuç olarak greft viabilitesinde artma saptamışlardır. Ayrıca VEGF ve TGF- $\beta$ 3 düzeyinde artma saptamıştır. (37)

Alınan yağ greftleri santrifüj edildikten sonra elde edilen SVF içinde; ADSC, preadiposit, vasküler progenitörler, fibroblastlar, perisitler, makrofajlar, mast hücreleri ve lenfositler bulunmaktadır. ADSC'ler adipositlere, osteoblastlara, kondrositlere, endotelial hücrelere, nöron benzeri hücrelere, miyositlere ve kardiyomiyositlere dönüşme potansiyelindedirler. (25)

ADSC'ler inflamasyonun iyileştirilmesi, büyüme faktörlerinin salınımı ve çeşitli hücre tiplerine farklılaşma kapasitesi de dahil olmak üzere çeşitli özellikleri aracılığıyla skar dokusunun modüle edilmesinde kilit rol oynarlar. Literatürdeki klinik çalışmalar, ADSC'lerin yukarıda bahsedilen özelliklerinden faydalanmak için çoğunlukla yağ dokusunu kullanmaktadır. Literatürdeki birçok çalışma, yağ greftinin yanık, travmatik ve cerrahi skarları olan hastalarda skar kalitesini ve skarla ilişkili semptomları iyileştiren rejenerasyon sağladığını göstermiştir. (24)

## **2.5) Kriyoprezervasyon (dondurarak saklama) işlemi**

Kriyoprezervasyon, alınan organellerin, hücrelerin, dokuların veya diğer biyolojik yapıların çok düşük sıcaklıklarda dondurularak saklandığı bir yöntemdir. Birçok tıbbi uygulamanın yanı sıra temel araştırmalarda kullanım için büyük potansiyele sahip olan kök hücreler ve diğer canlı dokular, buz kristali oluşumu, ozmotik şok ve sonuç olarak membran hasarı nedeniyle ölürlür. Hızlı soğutmada hücre hasarı hücre içi buz kristali oluşumuna bağlanırken, yavaş soğutmada ise hücre hasarı ozmotik değişikliklere bağlanır. CPA (kriyoprotektan ajan) kullanılarak su taşınımı, nükleasyon ve buz kristali oluşumu değiştirilebilir. Bu sayede doku veya hücreler korunmuş olur. (26)

Jang ve ark. yaptıkları çalışmada kriyoprezervasyonda temel yapılması gerekenleri şu şekilde sıralamışlardır; CPA'nın donduralacak örneğe eklenmesi, uygun

sıcaklıkta soğutup saklama, sonrasında işlem zamanında uygun ısıtma ile çözme işlemi ve en son basamak olarak CPA'nın uzaklaştırılması. Ayrıca bu çalışmada soğutmanın çok hızlı veya yavaş olmaması gerektiği önerilmiştir. (26)

Genellikle bir sıvı olan CPA, kriyoprezervasyon işleminden kaynaklanan donma hasarını azaltır. CPA'lar biyolojik olarak kabul edilebilir olmalı, hücrelere nüfuz edebilmeli ve düşük toksisiteye sahip olmalıdır. Sıklıkla kullanılan CPA'lar DMSO (dimetil sülfoksit), gliseroldür. (26)

Pu ve ark. yaptıkları çalışmada yağ greftleri hasat edilip işlendikten sonra CPA ile kombine edilmiştir. Sonrasında -30 dereceye kadar 1-2°C/dk soğuyacak şekilde -30°C kadar soğutma sonrasında -196 °C daldırma yapılmıştır. Bu kontrollü ve yavaş soğutma buz kristallerinin oluşumuna bağlı hücre ölümlerini azalttığı düşünülmüştür. Sonrasında 37 °C su banyosunda 35 °C /dk da çözülmesi sağlanmıştır. (27)

Li ve ark. yaptığı deneysel çalışmada insandan alınan yağ greftleri nude farelere enjekte edilmeden önce -20 °C, -80 °C, -196 °C gibi farklı derecelerde kriyoprezerve edilmiş. Ayrıca gruplar CPA eklenerek ve CPA eklenmeden ayrıca gruplandırılmış. Sonuç olarak ne saklanma derecesinin ne de CPA'nın yağ grefti viabilitesine herhangi bir etkisi olmadığı ortaya konmuştur. (28)

Shoshani ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada ise insandan alınan yağ greftleri kontrol grubunda hasat edilip işlendikten hemen sonra, deney grubunda ise -18 °C'de ev tipi buzdolabında 2 hafta saklandıktan sonra nude farelere enjekte edilmiş. 15 haftalık takip sonrası yağ greftleri ortaya konmuş. Yağ greftlerinin hacminde ve ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (29)

Otolog yağ greftleri, estetik ve rekonstrüktif cerrahide hem augmentasyon için hem de cilt kalitesinin artırıcı etkileri nedeniyle çok sık kullanılırlar. Bu prosedürlerin en büyük dezavantajı öngörülemeyen emilim oranları ve buna bağlı olarak yağ greftlerinin tekrar hasat edilmesinin gerekliliğidir. Bu durum hem hasta hem de doktor için zorlayıcı olabilmektedir. Bu durum alınan fazla yağ greftlerinin dondurularak saklanıp sonrasında tekrar uygulanabileceğini düşündürmüştür. (27)

Bizim çalışmamızda nano yağ greftleri kullanılmış olup, nano yağ greftlerinin volüm augmentasyonundan ziyade rejeneratif özellikleri baskındır. Bu nedenle kriyoprezervasyon tercih etmemizin nedeni öngörülemeyen rezorbsiyon oranları değildir. Kriyoprezervasyon yönteminin kullanılmasının nedeni özellikle patolojik skara yatkınlığı olan hastalarda intraoperatif alınan nano yağ greftlerinin erken postoperatif dönemde tek uygulama ve/ veya skar dokusu matürasyonu döneminde tekrarlayan dozlarda kullanılmasına imkan vermektir.

Çalışmamızda hazırlanan nano yağ greftleri CPA eklenmeden ve ev tip buzdolabında -18 °C'de 2 hafta saklanmış. Sonrasında skar dokusuna enjekte edilmiştir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel tez çalışması için Ege Üniversitesi Yerel Etik Kurulu'ndan 28.12.2022 tarih ve 2022-076 sayı numaralı onay alındı. Deney Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Elde edilen spesmenler İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi patoloji biriminde uzman patolog tarafından değerlendirildi.

#### 3.1) Deney Hayvanları

Çalışmada Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yetiştirilen 21 tane 8 haftalık (300 gr) erkek Wistar albino rat kullanıldı. Sıçanlar laboratuvarda uygun büyüklükteki kafeslerde tutuldu. Ortam sıcaklığı 21+/- 3 derece olacak şekilde, ışıklar sabah 08:00 da açılıp, 20:00 da kapatılarak 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ritmi sağlandı. Hayvanlar standart kemirgen yemi ile beslendi herhangi bir yem veya su kısıtlaması yapılmadı.

#### 3.2) Gereçler

Çalışmada anestetik madde olarak ketamin, ksilazin kullanıldı. Cerrahi sterilizasyon povidon-iyot çözeltisi ile sağlandı. Steril cerrahi eldiven kullanıldı. 1(bir) adet steril cerrahi set kullanıldı. Yağ greftlerinin işlemde geçirilmesi için kilitli 1 cc'lik enjektörler kullanıldı. Yağ greftinin işlemde geçirilmesi için yağ grefti hazırlama seti kullanıldı. Nano yağ greftleri enjeksiyonu 25 gauge künt uçlu kanül yardımı ile yapıldı. Cilt süturasyonu için 5.0 prolén suture kullanıldı. (Şekil 12 ve 13)



Şekil 12: Cerrahi prosedürde kullanılan steril cerrahi set ve 5.0 prolén suture



Şekil 13: Alman yağ greftlerinin nano yağ grefti haline getirilmesi için kullanılan yağ grefti hazırlama seti

### 3.3) Yöntem

Her grupta 7 (yedi) sıçan olacak şekilde üç grup oluşturuldu. Anestezi için intraperitoneal 80 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin kullanıldı. Anestezi derinliği göz refleksi, ayak refleksi ve solunum hareketleri izlenerek değerlendirildi.

Deney süresi 18 hafta olarak belirlendi. Sakrifikasyon yüksek doz anestetik madde enjeksiyonu ile yapıldı.

Veriler IBM SPSS Statistics Standard Concurrent User V 26 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler medyan (*M*), minimum (*min*), maksimum (*max*) değerleri olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis H testi ile yapıldı. Kruskal-Wallis H testinin önemli bulunması durumunda çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn-Bonferroni testi kullanıldı. Grup içi karşılaştırmalar Wilcoxon testi ile yapıldı.  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 3.3.1) Deney grupları

Çalışmamızda sıçanlar üç eşit gruba bölündü.

1. gruptaki sıçanlarda skar dokusu oluşturularak herhangi bir nano yağ grefti enjeksiyonu yapılmadı.
2. gruptaki sıçanlara oluşturulan skar dokusuna taze nano yağ grefti enjeksiyonu yapıldı.
3. gruptaki sıçanlara oluşturulan skar dokusuna kriyoprezerve nano yağ grefti enjeksiyonu yapıldı.

Tüm gruptaki sıçanların skar dokusundan 2. ve 4. ayda biyopsi alınarak histopatolojik incelemeye gönderildi. (Tablo 1)

Tüm gruplarda süturların alınma zamanı 1. hafta idi. 2. ve 3. gruptaki sıçanlara yağ enjeksiyonu süturların alınmasını takiben aynı seansta yapıldı. Bundan dolayı cerrahi prosedürler 3. grupta yağ alma, işleme ve kriyoprezervasyon işlemi ile başladı. 1 hafta sonrasında tüm gruplarda insizyonlar yapıldı. Bundan 1 hafta sonrasında ise tüm gruplarda süturların alınması, 2. grupta taze nano yağ grefti elde edilmesi ve skara enjeksiyonu, 3. grupta ise 2 hafta öncesinden alınan ve kriyoprezerve edilen nano yağ greftlerinin çözülmesi ve skara enjeksiyonu yapıldı. Bu zamansal farklılıkların nedeni skar dokusunun matürasyonun gruplar arasında değişmemesi içindir.

	inguinal yağ grefti	insizyon	taze nano yağ grefti	kriyoprezerve nano yağ grefti	2. ay biyopsi	4. ay biyopsi
1.grup	-	+	-	-	+	+
2.grup	+	+	+	-	+	+
3.grup	+	+	-	+	+	+

Tablo 1: Deney gruplarına uygulanacak olan prosedürler

### 3.3.1.1) Nano yağ greft enjeksiyonu yapılmayan grup

Bu gruptaki sıçanlar kontrol grubunu oluşturmaktadır. Bu sıçanlara genel anestezi altında sırt bölgesinde vertical uzanımlı 1 cm cilt ve cilt altı dokuyu içeren tam kat insizyon yapıldı. (Şekil 14) İnsizyon 5.0 nylon sütur ile primer onarıldı. Süturlar 1. haftada alındı. Takiplerinin 2. ve 4. ayında fizik muayene ile ortaya konan herhangi bir yağ grefti enjeksiyonu yapılmayan skar dokusundan insizyonel biyopsi alınıp ve histopatolojik incelemeye gönderildi. (Şekil 19)



Şekil 14: Sıçanların sırt bölgesinde vertical uzanımlı 1 cm insizyonun planlanması

### 3.3.1.2) Taze nano yağ greft enjeksiyonu yapılan grup

Bu gruptaki sıçanların genel anestezi altında sırt bölgesinde vertical uzanımlı 1 cm cilt ve cilt altı dokuyu içeren tam kat insizyon yapıldı. İnsizyon 5.0 nylon suture ile primer onarıldı. Genel anestezi altında 1. haftada suturelar alınıp ve eş zamanlı olarak inguinal bölgeden yağ grefti alındı. (Şekil 15 ve 16) Alınan taze yağlar Tonnard tekniğine uygun olarak nano yağ grefti haline getirildikten (Şekil 17) sonra skar dokusuna uzak bir noktadan yapılan 1-2 mm'lik insizyondan 25 gauge künt uçlu kanül yardımı (şekil 18) ile 0.3-0.5 ml taze nano yağ grefti skar dokusunda intradermal ve subdermal plana enjekte edildi. Takiplerinin 2. ve 4. ayında fizik muayene ile ortaya konan skar dokusundan insizyonel biyopsi alındı ve histopatolojik incelemeye gönderildi.



Şekil 15: Inguinal bölgeden yağ greftinin alınması



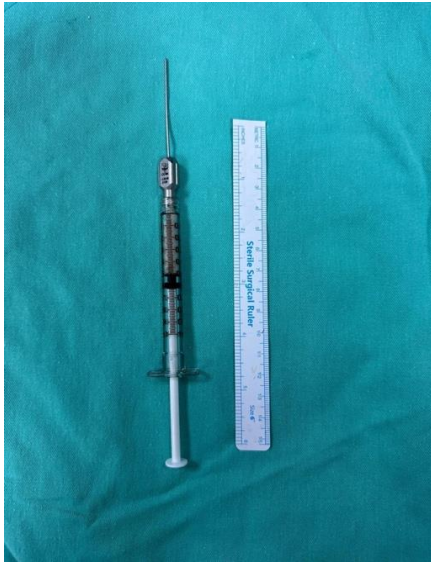
Şekil 16: Alınan yağ greftinin ortaya konulması



Şekil 17: Alman yağ greftlerinin kilitli enjektör ve 1.2 tulip kullanılarak nano yağ grefti haline getirilmesi

### 3.3.1.3) Kriyoprezerve nano yağ greft enjeksiyonu yapılan grup

Bu gruptaki sıçanlardan öncelikle genel anestezi altında inguinal bölgeden yağ grefti alındı. Yağlar Tonnard tekniğine uygun olarak nano yağ grefti haline getirildi. Ev tipi buzdolabında  $-18^{\circ}\text{C}$  2 hafta saklandı. 1 hafta sonrasında genel anestezi altında sırt bölgesinde vertikal uzanımlı 1 cm cilt ve cilt altı dokuyu içeren tam kat insizyon yapıldı. İnsizyon 5.0 nylon suture ile primer onarıldı. İnsizyonun 1. haftasında genel anestezi altında suturelar alındıktan sonra kriyoprezerve nano yağ greftleri oda sıcaklığında çözülmeye bırakıldı. Çözüldükten sonra skar dokusuna uzak bir noktadan yapılan 1-2 mm'lik insizyondan 25 gauge küt uçlu kanül yardımı (şekil 18) ile 0.3-0.5 ml kriyoprezerve nano yağ grefti skar dokusunda intradermal ve subdermal plana enjekte edildi. Takiplerinin 2. ve 4. ayında fizik muayene ile ortaya konan skar dokusundan insizyonel biyopsi alındı ve histopatolojik incelemeye gönderildi.



Şekil 18: Nano yağ grefti buzdolabından çıkarılıp çözülmeye bırakılmış ve 25 gauge küt uçlu kanülle enjeksiyona hazır



Şekil 19: Nano yağ grefti enjeksiyonu yapılan grupta 2.ayda alınan biyopsi planlanması

### 3.3.2) Histolojik değerlendirme

Işık mikroskobu incelemeleri için gruptan alınan doku örnekleri tespit amacıyla 72 saat tamponlanmış %10'luk formalin içerisinde bekletildi. Fikse olan dokular rutin histolojik takip aşamalarına alındı. Hematoksilen-Eozin ve Masson'un Trikrom boyamaları yapıldı.

Skar rejenerasyonu belirlemek için Sultana ve ark. maksillofasiyal yaralarda kullandıkları histolojik skorlama sistemi ve buna ek olarak uzman patoloğumuzun belirlediği 2(iki) adet skor kullanıldı. Tarafımızca belirlenen skorlar kollajen demet kalınlığı ve kollajen demetlerinin organizasyonu idi. Cerrahi spesmenler bu skorlar baz alınarak değerlendirildi. Skorlama sistemi; granülasyon doku miktarı (belirgin-1, orta-2, az-3, yok-4), inflamatuvar infiltrat (çok-1, orta-2, az-3), kollajen lif oryantasyonu (dikey-1, karma-2, yatay-3), kollajen paterni (retiküler-1, karışık-2, fasiküler-3), immatür kollajen miktarı (belirgin-1, orta-2, minimal-3, yok-4) ve matür kollajen miktarı (belirgin-1, orta-2, minimal-3), kollajen demet kalınlığı (ince-1, normale yakın-2) ve kollajen demetlerinin organizasyonundan (zayıf-1, orta-2, iyi-3) oluşuyordu. (38)

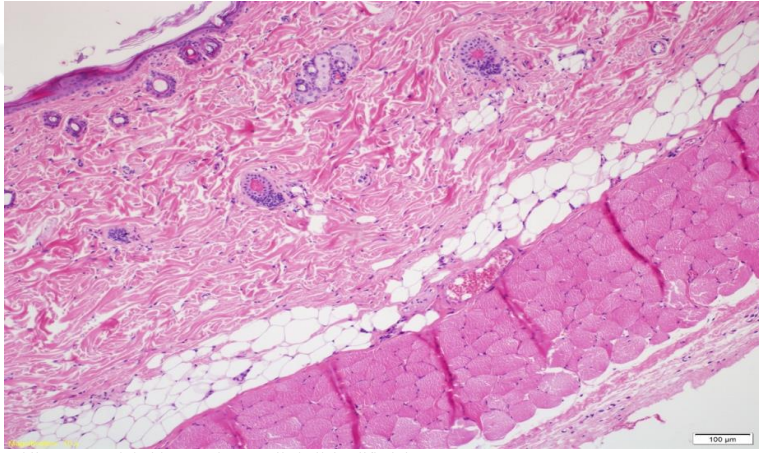
## 4)BULGULAR

### 4.1) Genel Bulgular

Taze nano yağ grefti enjeksiyonu yapılacak sıçanlardan 1(bir) tanesi anestezi madde verildikten sonra ex oldu. Kriyoprezerve nano yağ grefti enjeksiyonu yapılan grupta 1(bir) sıçanın inguinal donör alanında dehissans gerçekleşti. Debritleme ve primer sütürasyon yapıldı. Takiplerinde yeniden dehissans gerçekleşmedi.

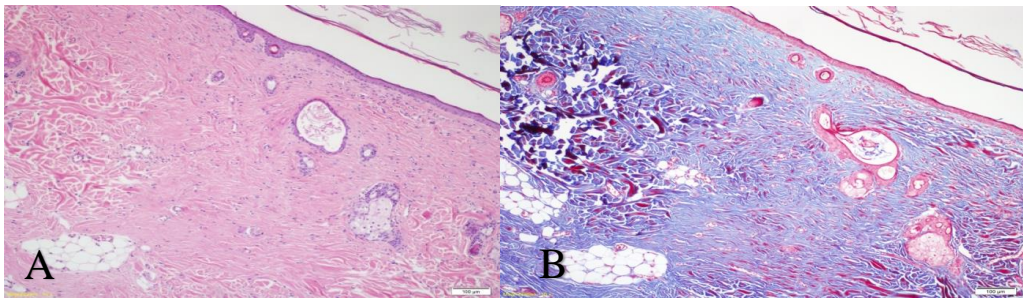
### 4.2) Histopatolojik Bulgular

Deney tamamlandıktan sonra alınan biyopsiler H&E ve masson trikrom ile boyanarak mikroskop altında uzman patalog tarafından incelendi.



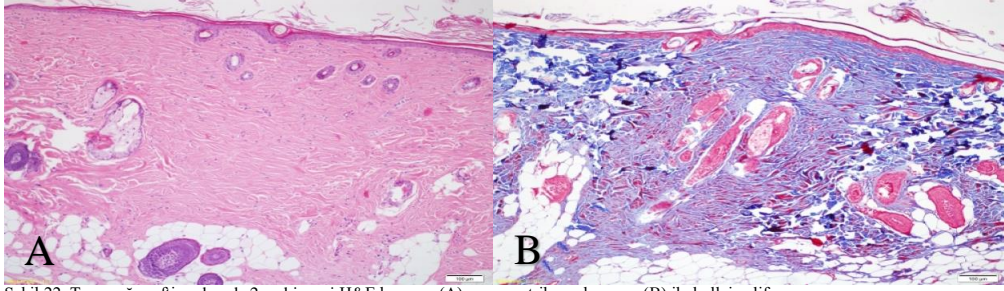
Şekil 20: Normal deride H&E boyama ile kollajen liflerinin görünümü

Yapılan histopatolojik incelemede kontrol grubu 4.ayında 2 spesimende, kriyoprezerve grubu 4.ayında 1 spesimende skar alanı disoryante görüldü. Bu durumun alınan biyopsi materyallerinin %10'luk formalin solüsyonunda uygun bir şekilde tespit edilememesi nedeniyle oluştuğu düşünüldü.



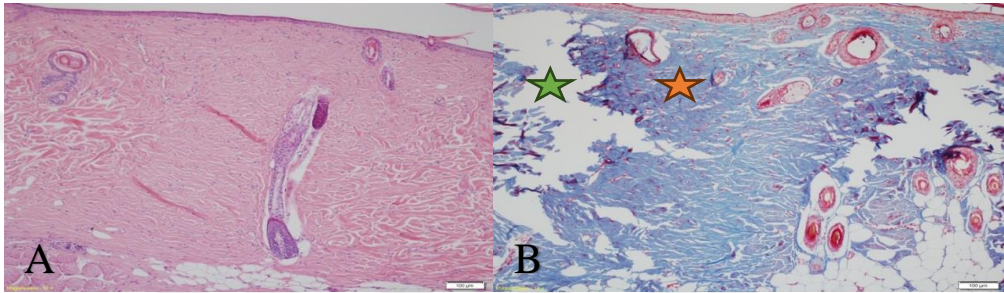
Şekil 21: Kontrol grubunda 2.ay biyopsi H&E boyama (A), masson trikrom boyama (B) ile skar dokusundaki kollajen lif yapısı

Işık mikroskopu ile yapılan değerlendirme sonucunda masson trikrom boyası ile boyanan spesmenlerde skar dokusunun görülebildiği ancak, sıçanın sağlıklı (skarsız alanda) cildinde hasar oluştuğu görüldü. (Şekil 23)



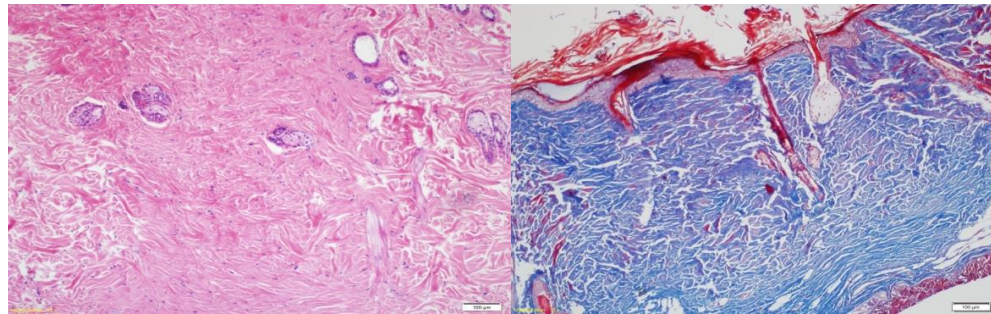
Şekil 22: Taze yağ grefti grubunda 2.ay biyopsi H&E boyama (A), masson trikrom boyama (B) ile kollajen lif yapısı

Granülasyon dokusu 2. ve 4. ayda hiçbir grupta görülmedi. İflamatuar infiltrat miktarının tüm gruplarda orta ve az miktarda olduğu görüldü.



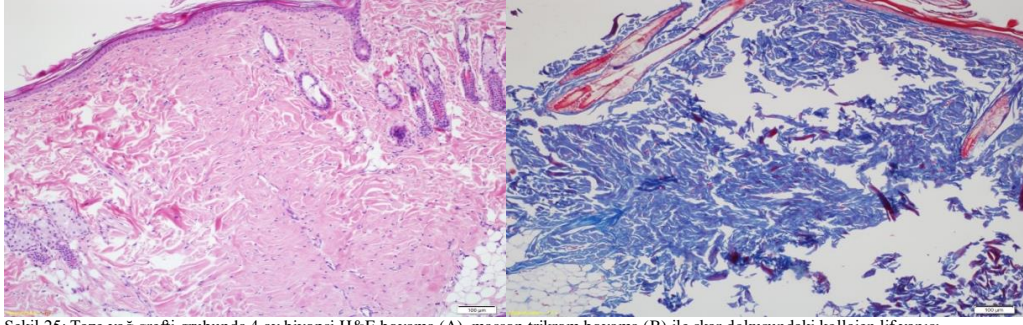
Şekil 23: Kriyoprezerve yağ grefti grubunda 2.ay biyopsi H&E boyama (A), masson trikrom boyama (B) ile kollajen lif yapısı, yeşil yıldız ile işaretli alanda masson trikrom boyanın skarsız normal ciltte oluşturduğu hasar görülmekte, turuncu yıldız ile işaretli alan ise skarlı alanı göstermekte

Kollajen demet yönelimlerinin tüm gruplarda sıklıkla yatay/ horizontal olduğu, kollajen paterninin sıklıkla fasiküler olduğu görüldü. Ancak kontrol grubunda karma/ mikst yapıda da demet yönelimleri ve karışık/mikst demet paternlerinin de olduğu görüldü.



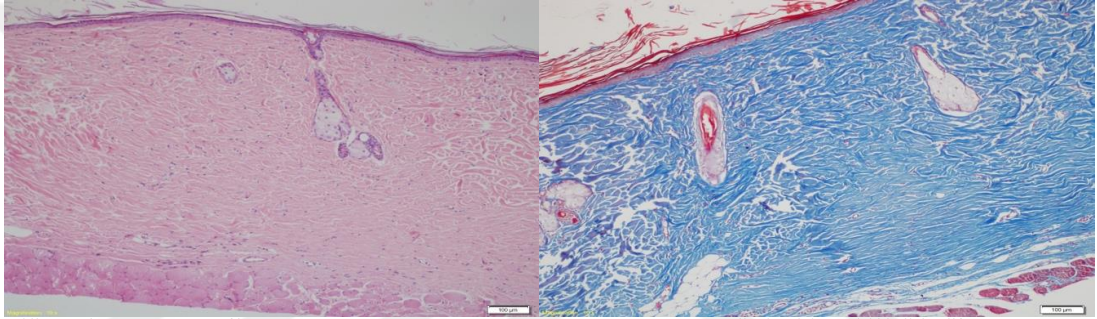
Şekil 24: Kontrol grubunda 4.ay biyopsi H&E boyama (A), masson trikrom boyama (B) ile skar dokusundaki kollajen lif yapısı

Tüm gruplara bakılacak olursa alınan 2. ve 4.ay biyopsilerin büyük bir kısmında immatür kollajenlerin olmadığı, sıklıkla matür kollajenlerin olduğu görüldü.



Şekil 25: Taze yağ grefti grubunda 4.ay biyopsi H&E boyama (A), masson trikrom boyama (B) ile skar dokusundaki kollajen lif yapısı

Kollajen demet kalınlıkları tüm gruplarda zamanla artmasına rağmen bu kalınlık artışın taze veya kriyoprezerve nano yağ grefti uygulanan gruplarda daha fazla olduğu görüldü. Hatta kriyoprezerve grupta 2. ve 4.ay arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.



Şekil 26: Kriyoprezerve yağ grefti grubunda 4.ay biyopsi H&E boyama (A), masson trikrom boyama (B) ile skar dokusundaki kollajen lif yapısı

Kollajen demet organizasyonunun tüm gruplarda sıklıkla orta ve iyi olarak değerlendirilmesine rağmen taze ve kriyoprezerve nano yağ grefti uygulanan grupta 2. ve 4.aylar arasında belirgin bir iyileşme olduğu görülmüş ve grup içi istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.

Kontrol grubu 2. ay		K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
<b>Puanlama Ölçütleri</b>	<b>Puanlama</b>							
Granülasyon dokusu miktarı	(Belirgin-1, Orta-2, Az-3, Yok-4)	4	4	4	4	4	4	4
İnflamatuar infiltrat	(Çok-1, Orta-2, Az-3)	2	3	3	3	3	3	3
Kollajen demet yönelimi	(Dikey/Vertikal- 1, Karma/Mikst- 2, Yatay/Horizontal-3)	2	2	2	3	3	3	2
Kollajen paterni	(Retiküler- 1, Karışık/mikst- 2, Fasiküler- 3)	3	3	3	3	3	2	2
İmmatür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3, Yok- 4)	3	3	3	4	4	3	3
Matür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3)	1	1	1	1	1	2	1
Kollajen demet kalınlığı	(İnce- 1, Normale yakın- 2)	1	1	1	1	1	1	1
Kollajen demetlerin organizasyonu	(Zayıf-1, Orta-2, İyi-3)	2	1	2	2	2	2	2

Tablo 2: Kontrol grubu 2.ay histopatolojik skorlama sonuçları

<b>Kontrol grubu 4. ay</b>		<b>K1</b>	<b>K2</b>	<b>K3</b>	<b>K4</b>	<b>K5</b>	<b>K6</b>	<b>K7</b>
<b>Puanlama Ölçütleri</b>	<b>Puanlama</b>							
Granülasyon dokusu miktarı	(Belirgin-1, Orta-2, Az-3, Yok-4)	4	4	4	SKAR ALANI DİSORYANTE	4	SKAR ALANI DİSORYANTE	4
İnflamatuar infiltrat	(Çok-1, Orta-2, Az-3)	3	3	3		3		3
Kollajen demet yönelimi	(Dikey/Vertikal- 1, Karma/Mikst- 2, Yatay/Horizontal-3)	2	2	3		3		3
Kollajen paterni	(Retiküler- 1, Karışık/mikst- 2, Fasiküler- 3)	3	3	3		2		3
İmmatür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3, Yok- 4)	4	4	3		4		4
Matür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3)	1	1	1		1		1
Kollajen demet kalınlığı	(İnce- 1, Normale yakın- 2)	2	2	2		1		1
Kollajen demetlerin organizasyonu	(Zayıf-1, Orta-2, İyi-3)	2	3	2		2		2

Tablo 3: Kontrol grubu 4.ay histopatolojik skorlama sonuçları

<b>Taze yağ grefti grubu 2. ay</b>		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>
<b>Puanlama Ölçütleri</b>	<b>Puanlama</b>							
Granülasyon dokusu miktarı	(Belirgin-1, Orta-2, Az-3, Yok-4)	4	4	4	4	4	4	EX
İnflamatuar infiltrat	(Çok-1, Orta-2, Az-3)	3	3	3	3	3	2	
Kollajen demet yönelimi	(Dikey/Vertikal- 1, Karma/Mikst- 2, Yatay/Horizontal-3)	3	3	3	3	3	3	
Kollajen paterni	(Retiküler- 1, Karışık/mikst- 2, Fasiküler- 3)	3	3	3	3	3	3	
İmmatür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3, Yok- 4)	3	4	4	4	3	4	
Matür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3)	1	1	1	1	1	1	
Kollajen demet kalınlığı	(İnce- 1, Normale yakın- 2)	1	1	1	2	1	1	
Kollajen demetlerin organizasyonu	(Zayıf-1, Orta-2, İyi-3)	2	2	2	1	2	2	

Tablo 4: Taze nano yağ grefti grubu 2.ay histopatolojik skorlama sonuçları

<b>Taze yağ grefti grubu 4. ay</b>		<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>
<b>Puanlama Ölçütleri</b>	<b>Puanlama</b>							
Granülasyon dokusu miktarı	(Belirgin-1, Orta-2, Az-3, Yok-4)	4	4	4	4	4	4	Ex
İnflamatuar infiltrat	(Çok-1, Orta-2, Az-3)	3	2	3	3	3	3	
Kollajen demet yönelimi	(Dikey/Vertikal- 1, Karma/Mikst- 2, Yatay/Horizontal-3)	3	3	3	3	3	3	
Kollajen paterni	(Retiküler- 1, Karışık/mikst- 2, Fasiküler- 3)	3	3	3	3	3	3	
İmmatür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3, Yok- 4)	4	4	4	4	4	4	
Matür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3)	1	1	1	1	1	1	
Kollajen demet kalınlığı	(İnce- 1, Normale yakın- 2)	2	1	2	2	2	1	
Kollajen demetlerin organizasyonu	(Zayıf-1, Orta-2, İyi-3)	3	3	3	2	2	3	

Tablo 5: Taze nano yağ grefti grubu 4.ay histopatolojik skorlama sonuçları

<b>Dondurulmuş yağ grefti grubu 2. ay</b>		<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D5</b>	<b>D6</b>	<b>D7</b>
<b>Puanlama Ölçütleri</b>	<b>Puanlama</b>							
Granülasyon dokusu miktarı	(Belirgin-1, Orta-2, Az-3, Yok-4)	4	4	4	4	4	4	4
İnflamatuar infiltrat	(Çok-1, Orta-2, Az-3)	3	3	3	2	3	3	3
Kollajen demet yönelimi	(Dikey/Vertikal- 1, Karma/Mikst- 2, Yatay/Horizontal-3)	3	3	3	3	3	3	3
Kollajen paterni	(Retiküler- 1, Karışık/mikst- 2, Fasiküler- 3)	3	3	3	3	3	3	3
İmmatür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3, Yok- 4)	4	4	4	3	4	4	4
Matür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3)	1	1	1	1	1	1	1
Kollajen demet kalınlığı	(İnce- 1, Normale yakın- 2)	1	1	1	1	1	1	2
Kollajen demetlerin organizasyonu	(Zayıf-1, Orta-2, İyi-3)	2	1	2	2	2	3	2

Tablo 6: Kriyoprezerve nano yağ grefti grubu 2.ay histopatolojik skorlama sonuçları

Dondurulmuş yağ grefti grubu 4. ay		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
<b>Puanlama Ölçütleri</b>	<b>Puanlama</b>							
Granülasyon dokusu miktarı	(Belirgin-1, Orta-2, Az-3, Yok-4)	4	4	4	4	4	4	SKAR ALANI DİSORYANTE
İnflamatuvar infiltrat	(Çok-1, Orta-2, Az-3)	3	3	3	3	3	3	
Kollajen demet yönelimi	(Dikey/Vertikal- 1, Karma/Mikst- 2, Yatay/Horizontal-3)	3	3	3	3	3	3	
Kollajen paterni	(Retiküler- 1, Karışık/mikst- 2, Fasiküler- 3)	3	3	3	3	3	3	
İmmatür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3, Yok- 4)	4	4	4	4	4	4	
Matür kollajen miktarı	(Belirgin- 1, Orta- 2, Minimal- 3)	1	1	1	1	1	1	
Kollajen demet kalınlığı	(İnce- 1, Normale yakın- 2)	2	2	2	2	2	2	
Kollajen demetlerin organizasyonu	(Zayıf-1, Orta-2, İyi-3)	2	2	3	3	3	3	

Tablo 7: Kriyoprezerve nano yağ grefti grubu 4.ay histopatolojik skorlama sonuçları

### 4.3) İstatistiksel Bulgular

Grupların 2. ay kollajen demet yönelimi skorları arasında istatistiksel olarak fark bulunmaktadır. 2.ayda kontrol grubunun kollajen demet yönelimi skorları taze ve dondurulmuş grupların skorlarından istatistiksel olarak düşüktür. 2.ayda taze ve dondurulmuş grupların kollajen demet yönelimi skorları istatistiksel olarak farklı değildir. 2 ve 4. aylarda diğer değişken skorlarında gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır.

Grup içi karşılaştırmalara göre dondurulmuş grupta 4. ay kollajen demet kalınlığı skorları 2. ay skorlara göre istatistiksel olarak yüksektir. Taze grupta 4. ay kollajen demetlerin organizasyonu skorları 2. aya göre istatistiksel olarak yüksektir. Dondurulmuş grupta 4. ay kollajen demetlerin organizasyonu skorları 2. aya göre istatistiksel olarak yüksektir. (tablo 8) Diğer değişkenler için grup içi karşılaştırmalarda istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamaktadır.

	Gruplar			$p^{\dagger}$
	Kontrol	Taze	Dondurulmuş	
<b>Granülasyon dokusu miktarı</b>				
2. Ay	4 (4-4)	4 (4-4)	4 (4-4)	-
4. Ay	4 (4-4)	4 (4-4)	4 (4-4)	-
	$p^{\dagger}$	-	-	-
<b>İnflamatuvar infiltrat</b>				
2. Ay	3 (2-3)	3 (2-3)	3 (2-3)	0,991
4. Ay	3 (3-3)	3 (2-3)	3 (3-3)	0,400
	$p^{\dagger}$	0,317	-	0,317

<b>Kollajen lif yönelimi</b>					
2. Ay		2 (2-3) <sup>a</sup>	3 (3-3) <sup>b</sup>	3 (2-3) <sup>b</sup>	<b>0,012</b>
4. Ay		3 (3-3)	3 (2-3)	3 (2-3)	0,077
	<i>p</i> <sup>‡</sup>	0,157	>0,999	>0,999	
<b>Kollajen paterni</b>					
2. Ay		3 (2-3)	3 (3-3)	3 (3-3)	0,141
4. Ay		3 (2-3)	3 (3-3)	3 (3-3)	0,301
	<i>p</i> <sup>‡</sup>	0,317	-	-	
<b>İmmatür kollajen miktarı</b>					
2. Ay		3 (3-4)	4 (3-4)	4 (3-4)	0,097
4. Ay		4 (3-4)	4 (4-4)	4 (4-4)	0,301
	<i>p</i> <sup>‡</sup>	0,083	0,157	0,317	
<b>Matür kollajen miktarı</b>					
2. Ay		1 (1-2)	1 (1-1)	1 (1-1)	0,395
4. Ay		1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	-
	<i>p</i> <sup>‡</sup>	>0,999	-	-	
<b>Kollajen demet kalınlığı</b>					
2. Ay		1 (1-1)	1 (1-2)	1 (1-2)	0,561
4. Ay		2 (1-2)	1 (1-2)	2 (2-2)	0,253
	<i>p</i> <sup>‡</sup>	0,083	0,083	<b>0,014</b>	
<b>Kollajen demetlerin organizasyonu</b>					
2. Ay		2 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-3)	0,789
4. Ay		2 (2-3)	3 (2-3)	3 (2-3)	0,234
	<i>p</i> <sup>‡</sup>	0,317	<b>0,025</b>	<b>0,046</b>	

Veriler medyan (minimum-maximum) değerleri olarak özetlenmiştir. †: Kruskal-Wallis testi, ‡: Wilcoxon testi, a ve b üst simgeleri aynı satırda gruplar arası farklılığı göstermektedir. Aynı üst simgeleri barındıran gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur.

Tablo 8: İstatistik sonuçları

## 5)TARTIŞMA

Skar dokusu tedavisi plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahlar için zorlayıcı olmakla birlikte önlenmesi veya oluşması durumunda tedavi edilmeleri için birçok seçenek mevcuttur ancak altın standart bir yöntem mevcut değildir. Skar revizyon operasyonları için skar dokusunun halen olgunlaştığı 12.-18. aylara kadar beklenilmesi önerilmektedir. (11) Bu durum bu döneme kadar erken veya geç dönemde skar dokusuna önleyici veya azaltıcı bir müdahaleyi akla getirmektedir. Çalışmamızda kriyoprezerve nano yağ greftlerinin skar dokusu üzerindeki histolojik etkilerinin araştırılmasının nedeni estetik veya rekonstrüktif amaçlı opere edilecek hastalardan intraoperatif yağ grefti alınıp işlenip hem intraoperatif hem de postoperatif dönemde tekrarlayan dozlarda enjeksiyon yapılarak skar dokusundaki kollajen demetlerinin yapısı, yönelimi, miktarı ve organizasyonunu değiştirdiğini göstermektedir.

Nano yağ greftleme, skarın iyileştirilmesi için son yıllarda ilgi gören yeni bir yöntemdir. Klinik ve deneysel etkinliklerini gösteren çalışmalar mevcuttur. (21,24,32,34)

Skar tedavisinin önlenmesi için erken dönemde nano yağ greftlerinin insizyon alanlarına uygulanmasının skarı azalttığı çalışmalarda gösterilmiştir. Kemaloğlu ve ark. yaptıkları çalışmada wise pattern meme küçültme yapılan hastalara insizyonların onarımını takiben hastadan alınan nano yağ greftleri insizyon alanlarına uygulanmıştır. Hasta takiplerinde nano yağ grefti uygulanan hastalarda skar dokusunun daha iyi olduğu sonucuna varılmış ve istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Ancak bu çalışmada skar dokusu histolojik olarak incelenmemiş ve taze nano yağ greftleri kullanılmıştır. (24)

Tonnard ve ark. yaptıkları klinik çalışma, nano yağ greftlerinin işlenmesi ve enjeksiyonu açısından literatüre yol gösteren bir çalışmadır. Bu çalışmada 67 vakadaki skar, kırışıklık ve göz altı morluklarına yazarın kendi tanımladığı teknikle hazırlanan nano yağ greftleri uygulanmıştır. Sonuç nano yağ greftlerinin cilt yenilenmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu sonucuna varılmıştır. (21)

Vinaykumar ve ark. guinea pigleri üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada hayvanlardan yağ grefti alındıktan sonra nano yağ grefti haline getirilmiş ve alınan nano yağ greftleri daha öncesinde hayvanların bacak bölgesinde oluşturulan 1. haftalık skar dokusuna süturlar alındıktan sonra uygulanmıştır. Bu skar dokularından 2.- 4.- 6. aylarda biyopsi alınmış ve histolojik olarak değişiklikler ortaya konmuştur. İstatistiksel olarak nano yağ grefti uygulanan grupta matür kollajenin 4. ve 6. aylarda anlamlı olarak arttığı sonucuna varmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda nano yağ greftlerindeki ADSC'lerin kollajen dağılımı, dizilimi ve matür kollajen miktarını arttırarak skar iyileşmesini sağlayabileceği hipotezi ortaya atılmıştır. (32)

Literatüre bakıldığında fare ve sıçanlar yağ grefti uygulamalarında en sık kullanılan hayvanlar olmalarına rağmen, gine piglerinin cilt dokularının, skar dokularının ve yağ dokularındaki kök hücrelerinin insandaki bu hücrelere ve dokulara daha çok benzediği gösterilmiştir. (40, 41, 42, 43)

Lujan-hernandez ve ark yaptıkları çalışmada literatür taranmış. Yağ greftlerinin otogreft veya kseno greft olarak tercihi ayrıca hangi tür deney hayvanı kullanıldığı incelenmiştir. Bu çalışmaya göre %52 oranla otogreftler kullanılmış, %41 oranla ksenogreftler kullanılmıştır. Ksenogreftler genellikle insandan alınmış olup greft rejeksiyonu olmaması için sıklıkla atimik fareler kullanılmıştır. (43)

Çalışmamızda sıçanların kullanılmasının sebebi atimik farelerin özel labarotuar koşulları gerektirmesi ve gine piglerinin temin edilememedir.

Yağ greftleri ile ilgili en büyük dezavantaj tekrar hasat prosedürleridir. Tahmin edilemeyen rezorpsiyon oranları nedeniyle mikro ve makro yağ greftlerinin uygulanması için tekrar hasat edilmesi gerekir. Bilimsel gelişmeler ışığında yağ greftlerinin saklanması için kriyoprezervasyon yöntemi araştırılmaya başlanmıştır. Biz de bundan yola çıkarak nano yağ greftlerinin tekrar hasat işlemi yapılmadan tekrarlayan dozlarda skar dokusuna uygulanmasının mümkün olabileceğini düşündük. Literatüre bakıldığında kriyoprezervasyon yöntemi sıklıkla volüm amaçlı kullanılan makro ve mikro yağ greftleri için araştırılmıştır. (28,40)

Yang ve ark. yüz bölgesine taze ve kriyoprezerve yağ greftlerinin enjeksiyonunun karşılaştırılması ile ilgili klinik çalışma yapmışlardır. Ancak bu çalışmada kullanılan yağ greftleri nano yağ greftleri olmamakla birlikte, kriyoprezervasyon yöntemi hakkında ve sonrasında yağ greftlerinin etkileri hakkında histolojik bir inceleme yapılmamıştır. (39)

Ohashi ve ark. 219 hasta üzerindeki yaptıkları klinik çalışmada çeşitli endikasyonlarla mikro ve nano yağ greftlerini volüm augmentasyonu ve revitalizasyon amacı ile kullanmışlardır. Yağ greftleri -196 °C de CPA kullanarak kontrollü soğutma yaparak saklamışlardır. Çözme işlemini takiben CPA uzaklaştırılmış vücudun çeşitli yerlerine uygulanmıştır. Ve hasta takiplerinde hem volüm augmentasyonunu sağladığı hem de revitalizasyonun olduğu görülmüştür. (33)

Kriyoprezervasyon işleminde soğuk hücrelerin ve dokuların buz kristali oluşumuna bağlı hücre membran hasarına uğraması nedeniyle kontrollü soğutma önerilmektedir. (26, 27, 28) Kontrollü soğutma sistemleri sıklıkla IVF merkezlerinde bulunmakta olup bu sistemlere ulaşmak hayli güçtür.

Shoshani ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada kadın hastadan aldıkları yağ greftlerini ev tip buzdolabında -18 °C'de 2 hafta saklamışlardır. Ve ksenogreft rejeksiyonu olmaması için yağlarını atimik nude farelere enjekte etmişlerdir. 15 haftalık takip süresi sonrasında kontrol ve deney gruplarındaki yağ dokusu ağırlık ve hacim olarak karşılaştırılmış. İki grup arasında ağırlık ve hacim olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (29)

Kontrollü soğutma sistemlerine ulaşamadığımızdan ve literatüre bakıldığında ev tipi buzdolabında kriyoprezervasyon yapılabildiğini gösteren çalışmalar olduğundan dolayı nano yağ greftlerimiz CPA ekmeden ve ev tip buzdolabında -18 °C'de 2 hafta saklandı.

Vinaykumar ve ark. kullandığı skorlama sistemi de Sultana ve ark. maksillofasyal yaralarda kullandıkları skorlama sistemidir. Ancak iki çalışma arasındaki fark Sultana ve ark. bu çalışmalarında 1 haftalık skar dokusundan biyopsi alırken, Vinaykumar ve ark. 2. ve 4. aylık skar dokusundan biyopsi almışlardır. Bizim çalışmamızda da biyopsi örnekleri 2. ve 4. ayda yani yara iyileşmesinin remodelling fazında alınmıştır. Granülasyon dokusu ve inflamatuvar infiltrat miktarı inflamasyon ve proliferasyon fazında fazladır. Yara iyileşmesi devam ettikçe yani yara matüre oldukça bu parametreler azalmaya başlarlar. (32, 38)

Vinaykumar ve ark. yaptığı çalışmanın aksine bizim çalışmamızda matür kollajen miktarları gruplar arasında farklılık olmayıp tüm gruplarda matür kollajenin immatür kollajene göre baskın olduğu görüldü. Matür kollajen ve immatür kollajen ayrımı Vinaykumar ve ark. tarafından picrosirius red boyası ile yapılmış olup biz bu ayrım için masson trichrom boyası kullandık. Ancak bu boya ile boyanan preparatların hepsinde skar dokusu dışında kalan normal sağlıklı dokuda parçalanma olduğunu gördük. (Şekil 23) Bunun teknik bir problem olduğunu düşündük çünkü literatüre bakıldığında masson trichrom boyasının sıçanlarda picrosirius red boyası ile birlikte kollajenin ayrımı için kullanıldığı görülmekte ve böyle bir problemden bahsedilmemektedir. (44, 45)

Literatüre bakılacak olursa kollajen demet kalınlığının normal doku kollajeninden daha kalın olmasının ve demet organizasyonun düzensiz olmasının patolojik skar ile ilişkili olduğu olduğu görülmektedir. Normal dokudaki kollajen demet kalınlığı patolojik olmayan skardaki kollajen demet kalınlığından daha fazladır. Ancak patolojik skar kollajen demet kalınlığından ise daha incedir. Ayrıca patolojik olmayan skarda demetler transvers uzanırken, normal dokuda basket ağı şeklinde daha düzenli, patolojik skarda ise bu demetlerin ileri derecede düzensiz olduğu görülmektedir. (6,7,9)

Kollajen demet kalınlığı ve organizasyonun normal doku, patolojik skar ve patolojik olmayan skar dokusundaki farklılıklarına bakılacak olursa skar tedavisinde amacımız kollajen demet kalınlığını arttırmak ve daha organize bir hale gelmelerini sağlamaktır. Bu yüzden çalışmamızda uzman patoloğumuz ile belirlediğimiz iki(2) adet ekstra skor eklenmiş ve patoloğumuz tarafından spesmenler buna uygun olarak da incelenmiştir.

Çalışmamızda kriyoprezerve nano yağ grefti uygulanan grupta kollajen demet kalınlığının 4.ayda alınan biyopside 2.ayda alınan biyopsiye göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ayrıca kollajen demet organizasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde iyileşme görülmüştür. (Şekil 23 ve 26)

Yağ greftleri hastadan genel anestezi altında alınabileceği gibi lokal anestezi altında muayehane şartlarında yapılan operasyonlarda da alınabileceği bilinmektedir. Ve bu çalışma herhangi bir nedenle opere olan hastadan alınan bu yağ greftlerinin nano yağ grefti haline getirildikten sonra hastane veya muayehanede bulunabilen ev tipi buzdolabında saklanabileceğini göstermiştir. Kriyoprezerve nano yağ greftlerinin skar dokusunun tedavisinde kullanılan cerrahi veya cerrahi olmayan diğer seçeneklere ek

olarak kullanılabileceđi gibi bu seçeneklere olan ihtiyacı azaltabileceđi dűşünülműştür.



## 6)SONUÇ

Kriyoprezerve edilen nano yağ greftlerinin, skar dokusunda kollajenin demetlerinin kalınlığını arttırarak normale daha yakın kollajen demet kalınlığı sağlayabileceği ve kollajen demet organizasyonunu iyileştirebileceği ve bu sayede nihai skarda iyileşme sağlayabileceği düşünülmüştür. Hayvan sayısının arttırılmasının, uzman patoloğ sayısının arttırılmasının, kriyoprezervasyon yöntemlerinin geliştirilmesinin sonucunda daha anlamlı sonuçların çıkacağını düşünmekteyiz.



## DONDURULARAK SAKLANAN NANO YAĞ GREFTLERİNİN SKAR DOKUSU ÜZERİNE HİSTOLOJİK ETKİSİ

### ÖZET

**Amaç:** Estetik ve rekonstrüktif cerrahi işlemler sonrasında oluşan skarların tedavisinde nano yağ greftleri kullanılmaktadır. Nano yağ greftlerinin erken intraoperatif dönemde insizyon alanlarına uygulanması ile ilgili klinik ve deneysel çalışmalar mevcuttur. Ancak literatürde nano yağ greftlerinin dondurularak saklanıp (kriyoprezerve edilerek) skar dokusunun matürasyon döneminde uygulanması ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur. Bu çalışmada hasat prosedürlerinin tekrarlanmaması için nano yağ greftlerinin dondurularak saklanması ve bu greftlerin skar dokusu üzerine histolojik etkilerinin gösterilmesi planlandı.

**Yöntem:** Bu çalışmada 21 tane sıçan kullanıldı. Yedi sıçandan oluşan 3 grup şeklinde gruplar oluşturuldu. 1. grupta oluşturulan skar dokusuna herhangi bir nano yağ grefti enjeksiyonu yapılmadı. 2. grupta oluşturulan skar dokusuna taze nano yağ grefti enjeksiyonu yapıldı. 3. grupta oluşturulan skar dokusuna kriyoprezerve nano yağ grefti enjeksiyonu yapıldı. 2. ve 4. ayda tüm sıçanlardan insizyonel biyopsi alındı ve patolojik incelemeye gönderildi.

Alınan biyopsi örnekleri H&E ve masson trikrom boyaları ile boyandı ve elde edilen kesitlerde granülasyon dokusu miktarı, inflamatuvar infiltrat, kollajen demet yönelimi, kollajen paterni, immatür kollajen miktarı, matür kollajen miktarı, kollajen demet kalınlığı, kollajen demetlerinin organizasyonu uzman patoloj tarafından değerlendirilip skorlandı.

**Bulgular:** 2. ve 4. ay alınan biyopsi örnekleri incelendiğinde kriyoprezerve nano yağ grefti uygulanan grupta kollajen demet kalınlığının grup içinde anlamlı olarak arttığı görüldü. Ayrıca kollajen demetlerinin organizasyonunun, taze nano yağ grefti ve kriyoprezerve nano yağ grefti uygulanan gruplarda 2. ve 4. aylar arasında grup içinde istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme gösterdiği saptandı.

**Sonuç:** Yapılan bu çalışmada kriyoprezerve nano yağ greftlerinin kollajen demet kalınlığını arttırdığı ve demet organizasyonunu iyileştirdiği görüldü. Böylece hasta ve cerrah için zorlayıcı olan tekrarlayan yağ greft hasat prosedürlerinden kaçınılarak, skar dokusunun iyileştirilmesi için intraoperatif alınan nano yağ greftlerinin kriyoprezervasyon işlemi ile korunup skar dokusunun olgunlaşma döneminde, özellikle patolojik skara yatkınlığı olan hastalarda tekrarlayan prosedürler halinde uygulanabileceği düşünüldü. Bu prosedürlerin skar dokusunda iyileşme sağlayabileceği düşünüldü.

**Anahtar Sözcükler:** nano yağ grefti, kriyoprezervasyon, skar

## HISTOLOGIC EFFECT OF CRYOPRESERVED NANO FAT GRAFTS ON SCAR TISSUE

### SUMMARY

**Aim:** Nano fat grafts are used in the treatment of scars after aesthetic and reconstructive surgical procedures. There are clinical and experimental studies on the application of nano fat grafts to incision areas in the early intraoperative period. However, there is no study in the literature on the cryopreserved application of nano fat grafts during the maturation period of scar tissue. In this study, it was planned to cryopreserve nano fat grafts to avoid repetition of harvest procedures and to show the histologic effects of these grafts on scar tissue.

**Methods:** In this study, 21 rats were used. Groups were formed as 3 groups consisting of seven rats. In the 1st group, no nano fat graft injection was made into the scar tissue. In the 2nd group, fresh nano fat graft was injected into the scar tissue. In the 3rd group, cryopreserved nano fat graft was injected into the scar tissue. At 2 and 4 months, incisional biopsies were taken from all rats and sent for pathologic examination.

The biopsy specimens were stained with H&E and masson trichrome stains and the amount of granulation tissue, inflammatory infiltrate, collagen bundle orientation, collagen pattern, amount of early collagen, amount of mature collagen, collagen bundle thickness, organization of collagen bundles were evaluated and scored by an expert pathologist.

**Results:** When the 2nd and 4th month biopsy samples were analyzed, it was observed that the collagen bundle thickness increased significantly in the cryopreserved nano fat graft group. In addition, the organization of collagen bundles showed a statistically significant improvement between the 2nd and 4th months in the fresh nano fat graft and cryopreserved nano fat graft groups.

**Conclusion:** In this study, cryopreserved nano fat grafts increased collagen bundle thickness and improved bundle organization. Thus, avoiding repetitive fat graft harvesting procedures, which are challenging for the patient and surgeon, it was thought that intraoperatively harvested nano fat grafts could be preserved with cryopreservation and applied in repetitive procedures during the maturation period of the scar tissue, especially in patients with a predisposition to pathological scarring. It was thought that these procedures may provide improvement in scar tissue.

**Keywords:** nano fat graft, cryopreservation, scar

## **Kaynakça:**

- 1) Rodrigues, Melanie, et al. "Wound healing: a cellular perspective." *Physiological reviews* 99.1 (2019): 665-706.
- 2) Robson, Martin C., et al. "Wound healing trajectories as predictors of effectiveness of therapeutic agents." *Archives of Surgery* 135.7 (2000): 773-777.
- 3) Alonso, Jorge E., et al. "The management of complex orthopedic injuries." *Surgical Clinics of North America* 76.4 (1996): 879-903.
- 4) Raziyeva, Kamila, et al. "Immunology of acute and chronic wound healing." *Biomolecules* 11.5 (2021): 700.
- 5) Wilkinson, Holly N., and Matthew J. Hardman. "Wound healing: Cellular mechanisms and pathological outcomes." *Open biology* 10.9 (2020): 200223.
- 6) Velnar, Tomaz, Tracey Bailey, and Vladimir Smrkolj. "The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms." *Journal of international medical research* 37.5 (2009): 1528-1542.
- 7) Yang, Shao-wei, et al. "Comparison of the histological morphology between normal skin and scar tissue." *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]* 36.2 (2016): 265-269.
- 8) Marshall, Clement D., et al. "Cutaneous scarring: basic science, current treatments, and future directions." *Advances in wound care* 7.2 (2018): 29-45.
- 9) Carswell, Lindsey, and Judith Borger. "Hypertrophic scarring keloids." (2019).
- 10) Dastagir, Khaled, et al. "Non-invasive and surgical modalities for scar management: a clinical algorithm." *Journal of Personalized Medicine* 11.12 (2021): 1259.
- 11) Garg, Shilpa, Naveen Dahiya, and Somesh Gupta. "Surgical scar revision: an overview." *Journal of cutaneous and aesthetic surgery* 7.1 (2014): 3.
- 12) Shockley, William W. "Scar revision techniques: z-plasty, w-plasty, and geometric broken line closure." *Facial Plastic Surgery Clinics* 19.3 (2011): 455-463.
- 13) Bassetto, F., C. Scarpa, and V. Vindigni. "Invasive techniques in scar management: Fat injections." *Textbook on Scar Management: State of the Art Management and Emerging Technologies* (2020): 333-342.
- 14) Shih, Linden, Matthew J. Davis, and Sebastian J. Winocour. "The science of fat grafting." *Seminars in plastic surgery*. Vol. 34. No. 01. Thieme Medical Publishers, 2020.
- 15) Shauly, Orr, Daniel J. Gould, and Ashkan Ghavami. "Fat grafting: basic science, techniques, and patient management." *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open* 10.3 (2022).
- 16) Pu, L. L., Kotaro Yoshimura, and Sydney R. Coleman. "Fat grafting: current concept, clinical application, and regenerative potential, part 1." *Clin Plast Surg* 42.2 (2015): ix-x.
- 17) Kakagia, Despoina, and Norbert Pallua. "Autologous fat grafting: in search of the optimal technique." *Surgical innovation* 21.3 (2014): 327-336.

- 18) Khouri, Roger K. "Current clinical applications of fat grafting." *Plastic and reconstructive surgery* 140.3 (2017): 466e-486e.
- 19) Fontes, Tomás, et al. "Autologous fat grafting: harvesting techniques." *Annals of medicine and surgery* 36 (2018): 212-218.
- 20) Shauly, Orr, Daniel J. Gould, and Ashkan Ghavami. "Fat grafting: basic science, techniques, and patient management." *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open* 10.3 (2022).
- 21) Tonnard, Patrick, et al. "Nanofat grafting: basic research and clinical applications." *Plastic and reconstructive surgery* 132.4 (2013): 1017-1026.
- 22) Ghareeb, Fouad, et al. "Improving esthetic outcome of facial scars by fat grafting." *Menoufia Medical Journal* 30.2 (2017): 412.
- 23) Riyat, Harjoat, et al. "Autologous fat grafting for scars, healing and pain: a review." *Scars, burns & healing* 3 (2017): 2059513117728200.
- 24) Kemaloğlu, Cemal Alper, İrfan Özyazgan, and Zeynep Burçin Gönen. "Immediate fat and nanofat-enriched fat grafting in breast reduction for scar management." *Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery* 55.3 (2021): 173-180.
- 25) Rinker, Brian D., and Krishna S. Vyas. "Do stem cells have an effect when we fat graft?." *Annals of Plastic Surgery* 76 (2016): S359-S363.
- 26) Jang, Tae Hoon, et al. "Cryopreservation and its clinical applications." *Integrative medicine research* 6.1 (2017): 12-18.
- 27) Pu, Lee LQ. "Cryopreservation of adipose tissue." *Organogenesis* 5.3 (2009): 138-142.
- 28) Li, Bo-Wen, et al. "Cryopreservation of fat tissue and application in autologous fat graft: in vitro and in vivo study." *Aesthetic plastic surgery* 36 (2012): 714-722.
- 29) Shoshani, Oren, et al. "The role of frozen storage in preserving adipose tissue obtained by suction-assisted lipectomy for repeated fat injection procedures." *Dermatologic surgery* 27.7 (2001): 645-647.
- 30) Arno, Anna I., et al. "Up-to-date approach to manage keloids and hypertrophic scars: a useful guide." *Burns* 40.7 (2014): 1255-1266.
- 31) Klinger, Marco, et al. "Autologous fat graft in scar treatment." *Journal of Craniofacial Surgery* 24.5 (2013): 1610-1615.
- 32) VinayKumar, Dasari Madhu, et al. "Histological analysis of the effect of nanofat grafting in scar rejuvenation." *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery* 15.2 (2022): 147.
- 33) Ohashi, Masanori, et al. "Serial injections of cryopreserved fat at -196° C for tissue rejuvenation, scar treatment, and volume augmentation." *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open* 6.5 (2018).
- 34) Uyulmaz, Semra, et al. "Nanofat grafting for scar treatment and skin quality improvement." *Aesthetic surgery journal* 38.4 (2018): 421-428.
- 35) Lin, Cen-Hung, et al. "Autologous adipose-derived stem cells reduce burn-induced neuropathic pain in a rat model." *International Journal of Molecular Sciences* 19.1 (2017): 34.
- 36) Sangkum, Premsant, et al. "Effect of adipose tissue-derived stem cell injection in a rat model of urethral fibrosis." *Canadian Urological Association Journal* 10.5-6 (2016): E175.

- 37) Zografou, Aggeliki, et al. "Autologous transplantation of adipose-derived stem cells enhances skin graft survival and wound healing in diabetic rats." *Annals of plastic surgery* 71.2 (2013): 225-232.
- 38) Sultana, Jachmen, et al. "Histological differences in wound healing in maxillofacial region in patients with or without risk factors." *Bangladesh Journal of Pathology* 24.1 (2009): 3-8.
- 39) Yang, Hyeon Jae, and Sang Yoon Kang. "Comparisons between fresh and cryopreserved fat injections in facial lipofilling." *Archives of Craniofacial Surgery* 21.1 (2020): 15.
- 40) Mojallal, Ali, et al. "Improvement of skin quality after fat grafting: clinical observation and an animal study." *Plastic and reconstructive surgery* 124.3 (2009): 765-774.
- 41) Aksoy, Mete H., et al. "A new experimental hypertrophic scar model in guinea pigs." *Aesthetic plastic surgery* 26 (2002): 388-396.
- 42) Li, Jialun, et al. "Experimental models for cutaneous hypertrophic scar research." *Wound Repair and Regeneration* 28.1 (2020): 126-144.
- 43) Lujan-Hernandez, Jorge, et al. "Experimental in-vivo models used in fat grafting research for volume augmentation in soft tissue reconstruction." *Archives of Plastic Surgery* 44.05 (2017): 361-369
- 44) Michalczyk, Elizabeth R., et al. "Pigment epithelium-derived factor (PEDF) as a regulator of wound angiogenesis." *Scientific reports* 8.1 (2018): 11142.
- 45) Mao, Meng, et al. "Tissue composition and biomechanical property changes in the vaginal wall of ovariectomized young rats." *BioMed Research International* 2019 (2019).