

MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

**SIÇANLARDA REKOMBİNANT İNSAN EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ İLE
ÖN KOŞULLANDIRMANIN YAĞ GREFTİ YAŞAYABİLİRLİĞİNE OLAN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aydın ÖNEN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Yavuz KEÇECİ

MANİSA 2023

ÖNSÖZ

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi ihtisas sürecim boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Levent Yoleri olmak üzere, tez danışmanı hocam Prof. Dr. Yavuz Keçeci, Doç. Dr. Mustafa Kürşat Evrenos, Doç. Dr. Zülfükar Ulaş Bali'ye sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tezimde bilgi ve tecrübesini esirgmeden bana yardımcı olan Prof. Dr. Peyker Temiz ve asistanlarına, deney süresince çalışmalarımnda yardımcı olan MCBÜ-DEHAM personelleri Taylan Tepeli'ye ve veteriner hekim Burcu Orman Dağdeviren'e, ilk başasistanım olan ve öz ablam gibi sevdiğim Uzm. Dr. Merve Özkaya Ünsal'a, her koşulda benden desteğini esirgemeyen ve her zaman ailemden bir parçam gibi hissettiğim değerli kıdemlilerim Uzm. Dr. Yavuz Tuluy'a, Uzm. Dr. Aziz Parspancı'ya çok teşekkür ederim. Zorlu ihtisas sürecim boyunca işimizi severek yapmamıza çok büyük destekleri olan birlikte çalışma şansı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma, servis hemşirelerimize ve ameliyathane hemşirelerimize, sekreter ve personel arkadaşlarımıza teşekkür ederim. Tez sürecimdeki tüm destekleri için Uzm. Dr. Aygöl Aliyeva'ya teşekkür ederim.

Projemdeki destekleri için Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nde çalışan tüm personele teşekkür ederim.

Kuşkusuz ki bugünlere gelmemde en büyük emekleri olan biricik sevgili anneme, babama ve ağabeyime sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Aydın ÖNEN

Ekim, 2023

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iii
TABLolar DİZİNİ.....	v
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Yağ Dokusunun İşlevi ve Yapısı.....	3
2.2.Yağ Dokusunun Embriyolojisi ve Histolojisi.....	3
2.3.Yağ Dokusunun Anatomisi ve Fizyolojisi.....	5
2.4.Yağ Dokusunun Endokrinolojik Yapısı.....	7
2.5.Kök Hücre olarak Yağ Dokusu.....	9
2.6.Yağ Dokusunun Kanlanması.....	10
2.7.Yağ Grefti.....	11
2.7.1.Yağ Greftinin Tarihçesi.....	12
2.7.2.Yağ Greftinin Sağkalım Mekanizması.....	14
2.7.3.Yağ Greftinin Kullanım Alanları.....	19
2.7.4.Yağ Greftinin Elde Edilmesi, Hazırlanması ve Uygulanması.....	20
2.7.5.Yağ Grefti Uygulamasının Komplikasyonları.....	22

2.8.Epidermal Büyüme Faktörü.....	23
2.8.1.Epidermal Büyüme Faktörünün Özellikleri.....	23
2.8.2.Epidermal Büyüme Faktörünün Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahide Kullanımı.....	24
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1.Deney Grupları.....	26
3.2.Cerrahi Yöntem.....	27
3.3.Sonuçların Değerlendirilmesi.....	34
3.3.1.Makroskobik Değerlendirme.....	35
3.3.2.Histopatolojik Değerlendirme.....	35
3.3.3.İstatistiksel Değerlendirme.....	36
4.BULGULAR.....	37
4.1.Makroskobik Bulgular.....	37
4.2.Histopatolojik Bulgular.....	39
5.TARTIŞMA.....	57
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
7.KAYNAKLAR.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

rhEGF: Rekombinant İnsan Epidermal Büyüme Faktörü

gr: Gram

µg: mikrogram

MJ: Mega joule

kcal: kilokalori

µm: mikrometre

LPL: Lipoprotein Lipaz

ACTH: Adrenokortikotropin hormon

TSH: Tiroid stimülan hormon

GH: Growth hormon

PPAR γ : Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör- γ

TNF- α : Tümör nekrozis faktör- α

IL-6: İnterlökin-6

PAI 1: Plazminojen aktivatör inhibitör 1

TGF- β : Transforming growth factor β

ASP: Asilation-stimulating protein

IGF-I: İnsülin büyüme faktörü

PGI-2: Prostoglandin I-2

PGF2 α : Prostoglandin-F2 α

SFV: Stromal vasküler fraksiyon

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ADSC: Adiposit kökenli kök hücre

mm: milimetre

cm: santimetre

ml: mililitre

G: gauge

NAC: N-Asetil Sistein

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Yağ hücrelerine etki eden hormonlar ve yağ hücrelerinden salgılanan ürünler

Tablo 2: Grup 1, 2 ve 3'te kullanılan yağ greftlerinin 0. ve 56. gündeki ağırlıkları

Tablo 3: Kruskal-Wallis testi ile 3 grup arasında greft ağırlıklarının analizi

Tablo 4: Histopatolojik olarak normal yağ yüzdesi, kist-vakuol skoru, inflamasyon, nekrozis, fibrozis ve vasküler yoğunluğun verileri

Tablo 5: Histopatolojik verilerin analizi sonucunda 3 grup arasında nekrozis, vasküler yoğunluk ve fibrozis değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$).

Tablo 6: İnflamasyon skorlarının 3 gruptaki dağılımı

Tablo 7: Kist-vakuol oluşumunun 3 gruptaki dağılımı

Tablo 8: Fibrozis oluşumunun 3 gruptaki dağılımı

Tablo 9: Fibrozis yoğunluğunun 3 grup arasındaki sayısal verilerinin dağılımı

Tablo 10: Mann-Whitney U Testi ile kontrol ve sham grubundaki fibrozisin kıyaslanması

Tablo 11: Mann-Whitney U Testi ile kontrol ve deney grubundaki fibrozisin kıyaslanması

Tablo 12: Mann-Whitney U Testi ile sham ve deney grubundaki fibrozisin kıyaslanması

Tablo 13: Normal yağ dokusunun minimum, maksimum, median değerlerinin 3 gruptaki dağılımı

Tablo 14: 3 grup arasında nekrozisin minimum, maksimum, median değerlerinin dağılımı

Tablo 15: Nekrozis yüzdesinin 3 grup arasındaki dağılımı

Tablo 16: Nekrozis yüzdesinin kontrol ve sham grubu arasında analizi

Tablo 17: Nekrozis yüzdesinin kontrol ve deney grubu arasında analizi

Tablo 18: Nekrozis yüzdesinin sham ve deney grubu arasında analizi

Tablo 19: Vasküler yoğunluğun 3 grup arasındaki minimum, maksimum ve median değerlerinin dağılımı

Tablo 20: Vasküler yoğunluğun 3 grup arasındaki dağılımı

Tablo 21: Kontrol grubu ve sham grubu arasında vasküler yoğunluğun değerlendirilmesi

Tablo 22: Kontrol grubu ve deney grubu arasında vasküler yoğunluğun değerlendirilmesi

Tablo 23: Sham ve deney grubu arasında vasküler yoğunluğun değerlendirilmesi

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Sarı ve kahverengi yağ dokusunun karşılaştırılması (Junqueira L. C, Carneiro J., Kelley R. O. Temel histoloji. İç:Aytekin Y,editör. Yağ dokusu. İstanbul:Barış Kitabevi/Appleton&Lange;1998)

Resim 2: Greft sağkalımı teorisindeki 3 zon

Resim 3: Optimal yağ grefti sağkalımı için greft ile alıcı kapiller arasındaki ilişkinin şematik gösterimi

Resim 4: a)Sıçanın sağ inguinal bölgesinin traşlanıp supin pozisyonda ekstremitelerin sabitlenmesi b) Sağ inguinal bölgeden yapılan insizyon ile yağ yastıkçığının diseke edilmesi

Resim 5: a) Yağ greftinin bütün parça olarak hazırlanması b) Yağ greftinin hassas tartı ile tartılması

Resim 6: a) Dorsal interskapüler bölgenin alıcı saha olarak traşlanıp hazırlanması b) Dorsal interskapüler bölgeye yapılan vertikal insizyon ile cilt altı poşun hazırlanması

Resim 7: a) Postop 8.haftada greft alıcı sahada yer alan skar b) Postop 8.haftada greft alıcı sahasından yağ greftinin diseke edilerek tek parça halinde çıkartılması

Resim 8: a) Postop 8. haftada eksize edilen greftlerin hassas tartı ile tartılması b) Postop 8. haftada eksize edilen greftlerin su taşıyıcı yöntemi ile hacimlerinin ölçülmesi

Resim 9: Hafif derecede fibrozisin ışık mikroskopundaki görüntüsü

Resim 10: Şiddetli derecede fibrozisin ışık mikroskopundaki görüntüsü

Resim 11: Hafif derecede inflamasyonun ışık mikroskopundaki görüntüsü

Resim 12: Şiddetli derecede inflamasyonun ışık mikroskopundaki görüntüsü

Resim 13: Hafif şiddette kist-vakuol oluşumunun ışık mikroskopundaki görüntüsü

Resim 14: Şiddetli kist-vakuol oluşumunun ışık mikroskopundaki görüntüsü

ÖZET

Giriş ve Amaç: Plastik estetik ve rekonstrüktif cerrahi pratiğinde doku hacminin artırılmasında, skar düzeltilmesinde, vücut konturlarının şekillendirilmesinde ve vücut gençleştirme gibi alanlarda yağ greftleri sıkça kullanılmaktadır. Otolog yağ grefti uygulamalarının avantajları, kolay elde edilebilir olması, kolay uygulanması, tekrarlanabilir olmasıdır. Otolog doku olması nedeniyle doku yabancı cisim reaksiyonları ile karşılaşmamaktadır (1,2). Her zaman hedeflenen hacmin elde edilememesi, öngörülemeyen yağ grefti kayıplarının olması ise en büyük dezavantajlarıdır. Yapılan araştırmalara göre otolog yağ grefti uygulamaları sonrasında değişen oranlarda rezorbsiyonların olduğu izlenmiştir (3,4). Otolog yağ greftindeki adiposit yaşayabilirliğini artırmak için çok sayıda çalışmalar yapılmıştır (5). Fakat plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahi uygulamalarında kabul edilmiş standart bir uygulama henüz yoktur (3). Yağ grefti sağkalımını artırmak için alıcı sahada neovaskülarizasyonu artırmak gerektiği düşünülmektedir (6). Epidermal büyüme faktörünün (EGF) neovaskülarizasyonu artırarak otolog yağ grefti sağkalımını artırdığı bilinmektedir fakat literatürde rekombinant insan epidermal büyüme faktörü (rhEGF) ile yapılacak olan ön koşullandırmanın otolog yağ greft yaşayabilirliğine olan etkisi üzerine çalışma yapılmadığı görülmüştür (6). Bu çalışmada literatürdeki sıçan modellerine uygun olarak yağ grefti uygulamasından 1 hafta önce interskapuler bölge dorsaline rhEGF uygulanarak yapılacak ön koşullandırmanın yağ greftinin yaşayabilirliğine olan etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: 24 adet Wistar Albino cinsi olan ve ağırlıkları 300 ± 50 gram olan erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak $n=8$ olacak şekilde 3

gruba ayrıldı. 1. gruptaki sıçanların sağ inguinal bölgesinden alınarak hazırlanan tek parça halindeki 0.5 gr yağ grefti interskapuler bölge dorsalinde cilt altında hazırlanan poşa yerleştirildi. 2. gruptaki sıçanların interskapüler bölge dorsalinde cilt altına 0.5 cc rhEGF subkutan olarak uygulandıktan 1 hafta sonra sağ inguinal bölgeden hazırlanan 0.5 gr yağ grefti interskapuler bölgede cilt altında oluşturulan poşa yerleştirildi. 3. gruptaki sıçanların interskapuler bölge dorsalinde cilt altına 0.5 cc %0.9 serum fizyolojik subkutan olarak uygulandıktan 1 hafta sonra sağ inguinal bölgeden hazırlanan 0.5 gr yağ grefti interskapuler bölge dorsalinde oluşturulan poşa yerleştirildi. 3 grupta yer alan sıçanların yağ greftleri yerleştirildikten 8 hafta sonra cilt altı poşlardan çıkartılıp ağırlık ve hacimleri ölçüldü. Tüm gruplardaki deneklerin yağ greftlerinde normal adiposit varlığı, fibrozis, inflamasyon, vasküler yoğunluk, nekrozis, kist-vakuol oluşumu histopatolojik olarak incelendi. Hacim ve ağırlık karşılaştırması, histopatolojik verilerin değerlendirilmesi istatistiksel olarak yapıldı.

Bulgular: 3 grup arasında deneklerden elde edilen yağ greftlerinin ağırlıkları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,579$). Histopatolojik verilerin istatistiksel analizinde kist-vakuol oluşumu, inflamasyon, normal yağ dokusu oran arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Nekrozis, fibrozis ve vasküler yoğunluk açısından 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$).

Sonuç: Çalışmamızın sonucunda rhEGF ile yapılan ön koşullandırma ile yağ greftlerinin yaşayabilirliği değerlendirildiğinde 8. hafta sonunda greft ağırlıkları, normal yağ dokusunun oranı, kist-vakuol şiddeti ve inflamasyon şiddeti açısından anlamlı sonuç bulunmazken, nekrozis, fibrozis ve vasküler yoğunluk oranları açısından anlamlı sonuçlar bulunmuştur. Çalışmamızda rhEGF ile yapılan ön koşullandırma sonucunda yağ greftinin vasküler yoğunluk şiddetinin azaldığı,

nekrozis ve fibrozis şiddetinin arttığı görülmüştür. Bu nedenle rhEGF ile yapılacak ön koşullandırmanın yağ grefti yaşayabilirliğini arttırmadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: yağ grefti, yağ grefti sağkalımı, rekombinant insan epidermal büyüme faktörü



SUMMARY

Project Title: Investigation of The Effect of Preconditioning With Recombinant Human Epidermal Growth Factor on Fat Graft Viability in Rats

Introduction and Aim: In plastic aesthetic and reconstructive surgery practice, fat grafts are frequently used for tissue augmentation, scar regeneration, shaping of body contours and body rejuvenation. The advantages of autologous fat graft applications are easy availability, easy application and reproducibility. Since it is autologous tissue, tissue foreign body reactions are not encountered (1,2). The biggest disadvantages are that the targeted volume cannot always be obtained and unpredictable fat graft losses. According to studies, it has been observed that resorption occurs at varying rates after autologous fat graft applications (3,4). Numerous studies have been conducted to increase adipocyte viability in autologous fat grafts (5). However, there is not yet an accepted standard practice in plastic, aesthetic and reconstructive surgery applications (3). It is thought that neovascularization in the recipient site should be increased to increase fat graft survival (6). Epidermal growth factor is known to increase autologous fat graft survival by increasing neovascularization, but no study on the effect of preconditioning with recombinant human epidermal growth factor on autologous fat graft viability was observed in the literature. In this study, we investigated the effect of preconditioning with recombinant human epidermal growth factor on fat graft viability by applying recombinant human epidermal growth factor dorsal to the interscapular region 1 week before fat graft application in accordance with rat models in the literature.

Materials and Methods: 24 male Wistar albino rats weighing 300 ± 50 gr were used. The rats were randomly divided into 3 groups with $n=8$. In the 1st group, a single piece of 0.5 gr fat graft prepared from the right inguinal region of the rats was placed in a pouch prepared under the skin dorsal to the interscapular region. In the 2nd group, 0.5 cc of recombinant human epidermal growth factor was applied subcutaneously under the skin dorsal to the interscapular region of the rats. 1 week later, 0.5 gr of fat graft prepared from the right inguinal region was placed into the pouch formed under the skin in the interscapular region. In the 3rd group, 0.5 gr fat graft prepared from the right inguinal region was placed into the pouch formed under the skin in the dorsal part of the interscapular region 1 week after 0.5 cc 0.9% saline was applied subcutaneously under the skin in the dorsal part of the interscapular region. The fat grafts of rats in 3 groups were removed from the subcutaneous pouches 8 weeks after implantation and their weights and volumes were measured. The presence of adipocytes, fibrosis, inflammation, vascular density, necrosis, cyst-vacuole formation in the fat grafts of the rats in all groups were examined histopathologically. Weight comparisons and evaluation of histopathologic data were performed statistically.

Results: When the weights of the fat grafts obtained from the subjects between the 3 groups were compared statistically, no significant difference was found ($p=0.579$). In the statistical analysis of histopathologic data, no statistically significant difference was found between cyst-vacuole formation, inflammation, normal adipose tissue ratio ($p>0.05$). Statistically significant difference was found between the 3 groups in terms of necrosis, fibrosis and vascular density ($p<0.05$).

Conclusion: As a result of our study, when the viability of fat grafts was evaluated by preconditioning with recombinant human epidermal growth factor

(rhEGF), no significant results were found in terms of graft weights, normal adipose tissue ratio, cyst-vacuole severity and inflammation severity at the end of the 8th week, while significant results were found in terms of necrosis, fibrosis and vascular density severities. In our study, as a result of preconditioning with rhEGF, it was observed that the severity of vascular density of the fat graft decreased and the severity of necrosis and fibrosis increased. Therefore, preconditioning with rhEGF did not increase fat graft viability.

Key Words: fat graft, fat graft viability, recombinant human epidermal growth factor

1. GİRİŞ

Plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahide yağ grefti uygulamaları yüz şekillendirme, meme büyütme, meme kapsül kontraksiyonu, radyasyon hasarı, yumuşak dokuların hacminin artırılması, skar düzeltilmesi, vücut konturlarının şekillendirilmesi ve vücut gençleştirme, posttravmatik değişiklikler, konjenital anomaliler, yanığa bağlı yaralanmalar gibi pek çok alanda kendisine geniş bir yer bulmaktadır. Otolog yağ grefti pratik olarak elde edilebilmekte, kolay uygulanabilmekte ve yenilenebilmektedir. Bu nedenlerle sık tercih edilen bir yöntemdir. Plastik cerrahların yaklaşık %80'i yağ greftlerini pratik uygulamalarında tercih etmektedir (7). Fakat öngörülemeyen doku kaybının olması nedeniyle istenilen sonuca her zaman ulaşamaması bu yöntemin kullanımını kısıtlamaktadır. Yapılan çalışmalarda yağ greftinde kayıp oranları %10-80 olarak bildirilmiştir (5).

Yağ grefti sağkalımını arttırmak için alıcı sahada neovaskülarizasyonu arttırmak gerektiği düşünülmektedir. rhEGF'nin neovaskülarizasyonu arttırarak otolog yağ grefti sağkalımını arttırdığı bilinmektedir fakat literatürde rhEGF ile yapılacak olan ön koşullandırmanın otolog yağ greftinin sağkalımına olan etkisine yönelik çalışma yapılmadığı görülmüştür (6). Bu projede, literatürde yer alan sıçan modelleri baz alınarak yapılacak olan yağ grefti uygulamasından 1 hafta önce interskapüler bölge dorsaline rhEGF uygulanarak yapılacak ön koşullandırmanın yağ greftinin yaşayabilirliğine olan etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Elde edilen veriler ışığında yağ grefti yaşayabilirliğinin artırılması hedeflenmiştir. Böylece yağ grefti uygulamalarında istenilen sonuca ulaşabilmek için yapılacak olan girişim sayısı düşürülebilir. Bu sayede hem işlem maliyeti hem de hastalara yapılacak işlem sayısı azaltılabilir. Yağ grefti uygulamalarına bağlı olarak yapılacak olan revizyon operasyonlarının sayısı azaltılarak istenilen hedefe daha

kolay ulaşılabilmesi ve çalışma sonuçlarının pratikte uygulanabilmesi hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yağ Dokusunun İşlevi ve Yapısı

Yağ dokusu vücutta bulunan en büyük enerji deposu olmasının yanı sıra vücut ısısının dengelenmesi, travmalara karşı organları koruması ve endokrin salgılar üretmesi gibi farklı fonksiyonlara sahip bir dokudur. Yağ hücresinin birincil görevi fazla kalori alımında triaçilgliserollerin depolanması ve kalori açığı oluştuğunda bu rezervin kullanılmasıdır. Örnek olarak 15 kilogram yağ dokusu bulunan bir yetişkin 460 MJ (110.000 kcal)'den fazla enerji sağlayabilecek yağ deposuna sahiptir ve bu depo ile yaklaşık 2 ay boyunca günlük 8.37 MJ (2000 kcal) enerji sağlanabilir. Yağ dokusu ihtiyaç halinde ağırlığının 2 katından fazlasına kadar çıkabilir ve eski haline tekrar dönebilir (8). Yağ hücresi hacminin yaklaşık %90'lık kısmı lipit damlacıkları tarafından oluşturulurken kalan hacmi diğer hücre organelleri doldurur (9). Yağ dokusu metabolik olarak oldukça aktiftir ve ihtiyaç halinde sistemik dolaşıma gereken substratların sağlanabilmesi için geniş bir vasküler ağa sahiptir. Yağ dokusunun vaskülaritesi ve vasküler duvar geçirgenliği iskelet kası dokusundan daha fazladır (10).

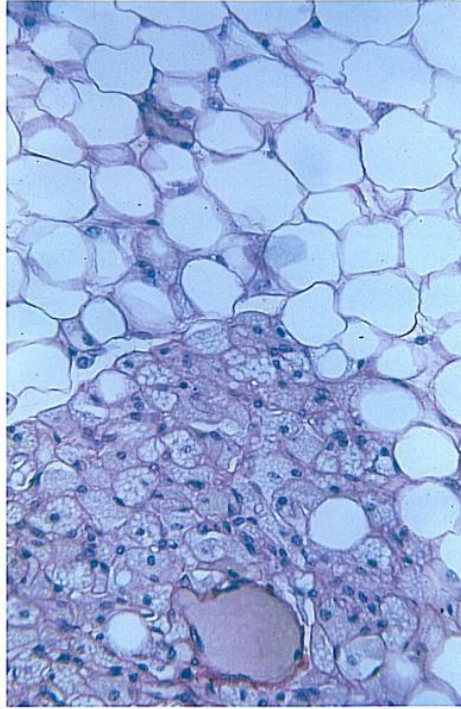
2.2. Yağ Dokusunun Embriyolojisi ve Histolojisi

Adipogenezis tüm yaşam boyu devam eden bir süreçtir. Esas olarak mezodermden gelişen adipoz doku gebeliğin 2. trimesterinde gelişmeye başlar ve doğumla birlikte hem visseral hem de subkutan dokudaki depolarda yerini alır. Gebeliğin 15. haftasından sonra multipotent lipoblastlardan preadipositlere

dönüşen öncü hücreler yaşamın ilk iki yılında yağ hücrelerini oluşturur. Yağ dokusunda büyüklük ve sayı olarak en çok değişiklik bu yıllarda meydana gelir (11). Yağ hücrelerinin sayısı puberteye kadar artmaya devam eder. Puberteden itibaren yağ hücrelerinde mitoz görülmez, yağ hücre sayısı artmaz sadece hücre büyüklüğü değişir. Yağ hücrelerinin büyüklüğü 10-200 µm kadar olabilmektedir. Hücrelerin çapı 20 kata kadar, hacmi ise bin kata kadar artabilmektedir (9).

Yağ dokusu sarı yağ dokusu ve kahverengi yağ dokusu olarak iki çeşittir. Sarı yağ dokusu unilokülerdir ve yetişkinlerde bulunan yağ dokusunun çok büyük bir kısmını oluşturur. Sitoplazmalarının ortasında büyük sarı bir yağ damlası içeren hücrelerden oluşur. Sarı yağ dokusunun rengi hücrelerin yağ damlacıklarında çözünen karotenoidlerin varlığına bağlı olarak beyazdan koyu sarıya kadar değişebilir. Uniloküler yağ hücreleri tek başlarına iken küre şeklindedir ancak yağ dokusu içerisinde sıkı sıkıya bir araya gelerek çok yüzlü halde görülürler. Her yağ hücresi ağ yapmış ince retiküler lifler tarafından desteklenmiştir ve birbirine bağlanmıştır. Sarı yağ dokusu hücrelerinin çekirdekleri yassı ve merkez dışındadır. İçinde tek damla şeklinde yağ bulundurur ve mikroskopta "taşlı yüzük" manzarası meydana gelir. Sitoplazmanın en kalın kısmı çekirdeği sarar ayrıca golgi kompleksi, mitokondriler, az gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum sisternaları ve serbest poliribozomlar yer alır. Lipit damlacığını saran sitoplazmasında düz endoplazma retikulum sisternaları ve çok sayıda pinositotik vezikül vardır. Her yağ hücresinde ışık mikroskobu ile görülen bir büyük lipit damlacığına ilave olarak çok küçük lipit damlacıklarının varlığı elektron mikroskobu çalışmaları ile ortaya konmuştur (12). Küçük lipit damlacıklarının etrafında zar yoktur fakat bolca vimentin ara filamanları ile çevrelenmişlerdir. Her yağ hücresinin etrafında bazal lamina vardır. Kahverengi yağ dokusu ise çok sayıda mitokondri içermesi, erişkinde çok az sayıda bulunması ve termoregülasyonda görev almasıyla sarı yağ dokusundan farklıdır. Multiloküler

yapıdadır. Sarı yağ dokusu hücrelerine oranla, kahverengi yağ dokusunun hücreleri çok kenarlı ve küçüktür. Sitoplazmalarında çok miktarda ve çeşitli boyutlarda lipit damlacığı, merkezde yerleşmiş yuvarlak çekirdek ve bolca uzun kristal mitokondri vardır. Hem sarı hem kahverengi yağ dokusu zengin kan dolaşımına sahiptir.



Resim 1: Sarı ve kahverengi yağ dokusunun karşılaştırılması (Junqueira L. C, Carneiro J., Kelley R. O. Temel histoloji. İç:Aytekin Y,editör. Yağ dokusu. İstanbul:Barış Kitabevi/Appleton&Lange;1998)

2.3. Yağ Dokusunun Anatomisi ve Fizyolojisi

Yağ dokusu vücuttaki en büyük organlardan birisi olarak kabul edilebilir. Normal ağırlıktaki bir erkekte toplam vücut ağırlığının %15-20'si, kadında ise %20-25'i yağ dokusudur. Sarı yağ dokusu, visseral yağ ve cilt altı yağ olmak üzere

iki kısımda incelenir. Visseral yağ karın boşluğunda iç organlar etrafında yerleşerek organlar arası boşluğu doldurur. Visseral yağ, total vücut yağının %10 kadarını oluşturur ve yaşlanmayla bu oran %20'lere kadar artabilir (11). Cilt altı yağ doku ve visseral yağ doku hücre boyutu, membran reseptörleri, yağ depolama ve dolaşıma salınan yağ asidi bakımından birbirinden farklılık gösterir. Visseral yağ dokusunun venöz direnaji portal sistemdir ve salgılanan yağ asitleri doğrudan karaciğere gider. Karaciğerde glukoneogenezle diğer enerji kaynaklarına dönüştürüldüğü gibi lipoproteinlere dönüştürülerek tekrar kana verilir. Yağ dokusu ve yağ hücreleri kan damarları ile yakın ilişkilidir ve iyi gelişmiş bir kapiller ağa sahiptir. Yağ dokusu kapillerleri iskelet kası kapillerlerine göre daha geçirgen ve lipoprotein lipaz (LPL) bakımından zengindir. Yağ doku hücreleri kendi aralarında, kapiller endotel ve damar düz kas hücreleri ile sürekli iletişim halindedir. Deri altı yağ dokusu vücut yüzeylerinin şekillenmesine yardım eder. Özellikle avuç içi ve ayak tabanı olmak üzere sarsıntı emici, yumuşak koruyucu bir tabaka olarak yerleşmiştir.

Yağ hücresi pasif bir hücre değildir aksine günlük enerji alımına bağlı olarak sürekli hacim değişkenliği gösteren, ekstrasellüler sıvıya sitokin ve hormon salgılayan bir hücredir. Bu salgı ürünleri ile endokrin, parakrin ve otokrin yolla diğer hücrelerle haberleşir. Hormonlar ve sitokinlere membran reseptörleri aracılığı ile yağ asidi salgılayarak veya yağ asitlerini hücre içine alarak, sitokin salgılayarak cevap verir.

Sarı yağ dokusunun ana görevi enerji depolamak ve ihtiyaç halinde bu depodan enerji sağlamaktır. Sarı yağ dokusu enerji depolamaya ve salgılamaya adapte olmuştur, yağ lipit damlacıkları trigliserit olarak depolanır ve bu damlacıklar hücrenin yaklaşık %90 kadarını oluştururken geri kalanını diğer hücre organelleri oluşturur (9). Yeni doğan bebeklerde vücuttaki sarı yağ dokusu aynı kalınlıktadır. Bebek geliştikçe, bu yağ dokusu vücudun bazı bölgelerinde kaybolmaya ve diğer

bölgelerinde de artma eğilimi göstermeye başlar. Cinsiyet hormonları ve adrenokortikal hormonlar vücuttaki yağ dağılımını kısmen ayarlayarak erkek ve dişi vücut hatlarının oluşmasından büyük ölçüde sorumludurlar. Camper fasyası subkutan yağ dokusundaki lobülleri ayıran düzenli ve kalın bir fasyadır. Derin dokudaki lobülleri ise scarpa fasyası olarak adlandırılan gevşek fasya sarar. Vücutta yağların depolanması lipogenez, depolanan yağlardan enerji elde edilmesi ise lipoliz olarak adlandırılır. Bu iki işlem yağ metabolizmasını oluşturur. İnsülin ve glukokortikoidler lipogenezi uyarırken katekolaminler, glukagon, adrenokortikotropik hormon (ACTH), tiroid stimulan hormon (TSH), büyüme hormonu (GH) ve vazopressin lipolizi uyarır. Kahverengi yağ dokusu ise termoregülasyonda görev alır. İnsanlarda çoğunlukla doğum sonrasındaki ilk aylarda ısı oluşturarak yeni doğan bebeği soğuğa karşı korur. Yetişkin çağa doğru büyük bölümü giderek azalır. Kahverengi yağ dokusu, kan kapillerlerinin eşlik ettiği, hücrelerinin büyük ölçüde epiteli andıracak tarzda sıkıca bir araya gelerek kitleler oluşturduğu bir endokrin bez gibidir. Bu yağ dokusu sarı yağ dokusuna göre bağ dokusu ile daha belirgin bölmelere ayrılmıştır. Sempatik sinir sistemi bu dokunun hücrelerini sarmıştır.

2.4. Yağ Dokusunun Endokrinolojik Yapısı

Yağ dokusu metabolik bir endokrin organ olarak görev yapar. Adipositler adipokin olarak adlandırılan peptid hormonları ve çeşitli sitokinler üretirler. Yağ hücresine hormonlar ve sitokinler aracılığı ile endokrin, parakrin ve otokrin sinyaller gelir. Yağ hücresi membranında ve sitoplazmasında çeşitli hormon ve sitokinlere ait reseptörler bulunur. Bu reseptörlerin uyarılması ile oluşan sinyaller hücre fonksiyonları stimüle veya inhibe ederek düzenlerler. Bu sinyaller ile arteryel

kan basıncı, glukoz metabolizması, anjiyogenezis ve iştah dengesi dñzenlenir (13). Esas olarak adipositler tarafından ekspresyonu yapılan PPAR γ (peroksizom proliferatör aktive edici reseptör) adiposit farklılaşmasında rol alır ve yağ depolanmasında önemli bir anabolik rolü vardır (14). PPAR γ , tip 2 diyabetes mellitusta önemlidir ve bu reseptör üzerine etkili olan ilaçlar diyabetes mellitus tedavisinde kullanılmaktadır.

Yağ hücrelerinden yağ asitlerinin ve salgıladığı hormon ve sitokinlerin dolaşıma geçişi hormonal sinyallerle kontrol edilir. Yağ hücrelerine insülin, adrenalin, noradrenalin ve kortizol gibi maddeler etki ederek onun fonksiyonunu dñzenlerler. Yağ hücrelerinin ürettiği leptin aracılığı ile merkezi sinir sistemini etkilediği de görölmüştür (15). En çok hipotalamusta bulunan leptin reseptörleri, iştahın ve beslenmenin dñzenlenmesinde görevlidir (16). Yağ hücrelerinden leptin dışında, resistin, tümör nekrosis faktör- α (TNF- α), adiponektin, adipsin, interlökin-6 (IL-6), plazminojen aktivatör inhibitör-1(PAI1), transforming büyüme faktörü- β (TGF β), anjiotensinojen, asilation-stimülating protein (ASP), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), prostoglandin-I2 (PGI 2), prostoglandin-F2 α (PGF2 α), gibi çok sayıda protein salgılandığı saptanmıştır (11) (Tablo-1).

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

Leptin	Enerji homeostazisini düzenler ve vücut yağ dokusu hakkında hipotalamusa bilgi verir.
Resistin	İnsülin direnci ve periferik doku insülin hassasiyeti ile ilgili olabilir.
TNFβ	İnsülin reseptör sinyaline karşı ve obezlerde insülin direnci gelişimine neden olur.
Adiponektin	Ailevi hiperlipidemi patogenezinde yer alır ve insülin direnci ile ilişkilidir
Adipsin	Yağ dokusu metabolizmasından sorumludur
IL-6	Vücut savunmasında ve glukoz ve yağ metabolizmasında yer alır
PAI-1	Fibrinolitik sistemin en önemli inhibitörüdür
TGFβ	Proliferasyon, diferansiasyon ve apoptosis gibi biyolojik cevapları düzenler.
Anjiotensinojen	Kan basıncı ve elektrolit homeostasisinde düzenleyici rol alan anjiotensin-II nin öncü maddesidir
ASP	Trigliserit sentez hızını artırır
IGF-I	Hücrelerde proliferasyonu stimüle eder ve büyüme hormonunun etkisine aracılık eder.
PGI₂ ve PGF_{2α}	İnflamasyon, pıhtılaşma, ovulasyon, menstruasyon ve asit sekresyonu gibi düzenleyici fonksiyonlarda yer alır.
MIF	İnflamasyon öncesi süreçlerde ve immünitenin düzenlenmesinde yer alır

TNFα ; tümör nekrosis faktör-α **IL-6** ; interlökin-6 **PAI-1** ; plazminojen aktivatör inhibitör-1 **TGFβ** ; transforming büyüme faktörü-β, **ASP**; asilation-stimüle protein, **IGF-I**; İnsülin benzeri büyüme faktörü **PGI₂**; Prostaglandin-I₂, **PGF_{2α}**; Prostaglandin-F_{2α}, **MIF** ; makrofaj inhibitör faktör

2.5. Kök Hücre Olarak Yağ Dokusu

Kök hücreler hem kendisini yenileme kapasitesine sahip olan hem de farklı fonksiyonlardaki hücrelere dönüşebilme kapasitesine sahip olan hücreler olarak tanımlanabilir. Adipoz kökenli kök hücre olarak adlandırılan ve yağ dokusunun öncüsü olan hücreler vücudun en önemli kök hücre rezervlerindedir. 1 gram yağ dokusunda 5000 kadar kök hücre bulunurken 1 mililitre kemik iliğinde 100 ile 1000 kadar kök hücre bulunmaktadır (17). Vücutta en yüksek oranda kök hücre içeren doku yağ dokusudur. 1 gram yağ dokusundan 350 000 kadar preadiposit elde edilebileceği gösterilmiştir (18). Adipoz kökenli kök hücreler yağ dokusu dışında

kemik, kıkırdak, iskelet kası, kalp kası, sinir hücresi gibi farklı hücrelere de dönüşebilmektedir (19,20). Üstelik yapılan çalışmalar olgunlaşmış olan yağ hücrelerinin tekrar adipoz kökenli kök hücreye dönüşüp sonrasında kemik gibi farklı dokulara farklılaşabildiğini göstermiştir (21). Adiposit kökenli kök hücreler olgun adipositlere göre travmaya karşı daha dayanıklı hücrelerdir. Lipid içerikli olgunlaşmış adipositler liposuction işlemi sırasında oluşan travmalara karşı daha kırılğan yapıdadır. Bu nedenle yağ dokusu transferi sonrasında hayatta kalan yağ hücrelerinin asıl sebebinin stromal vasküler fraksiyonda (SVF) hayatta kalan adiposit kökenli kök hücreler olduğu düşünülmektedir (22).

2.6. Yağ Dokusunun Kanlanması

Yağ dokusu metabolik olarak oldukça aktiftir ve ihtiyaç halinde sistemik dolaşıma gereken substratların sağlanabilmesi için geniş bir vasküler ağa sahiptir. Yağ dokusunun vaskülaritesi ve vasküler duvar geçirgenliği iskelet kası dokusundan daha fazladır (23). Yağ dokusunun miktarı arttıkça kanlanması da buna bağlı olarak artmaktadır. Adipositler tarafından üretilen leptinin anjiyogenik özelliği vardır (24). Adipositlerin vasküler yapılanmayla ilişkili metaloproteinazlar salgıladığı bilinmektedir. Adipositler ayrıca VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü), TNF- α , monobütirin gibi proanjiyogenik faktörler de salgılar (25). Adipositlerden kaynaklanan bu faktörler, yağ dokusu içinde yeni kan damarlarının oluşumuna katkıda bulunur. Dahası, bu salgılar adiposit farklılaşması sırasında arttığından dolayı adiposit farklılaşması ile anjiyojenik sürecin uyarılması arasında parakrin bir döngünün olduğu düşünülmektedir. Yağ dokusunu saran kapiller ağın geçirgenliği fazladır ve lipoprotein lipazın etkinliği fazladır.

Yağ grefti uygulamaları açısından yağ dokusunun kanlanması bakacak olursak yağ grefti aktarıldığı bölgede 4.-5. günlerde neovaskülarizasyon oluşana kadar çevre dokulardan difüzyon yoluyla beslenmektedir (26). Neovaskülarizasyon, vaskülogenezis ve anjiyogenezis sonucu oluşur. Vaskülogenezis mezoderm kökenli öncü hücrelerin endotelial hücrelere farklılaşması olarak tanımlanırken anjiyogenezis ise mevcut damarlanmadaki olgun endotelial hücrelerin çoğalmasındır. Yağ greftinin sağkalımında neovaskülarizasyon oldukça önemli bir adımdır. Bu adım 3 temel etkiyle oluşmaktadır. İlk etki alıcı sahada oluşan doku travması sonucu tetiklenen inflamasyon ile başlar. İkinci etki olarak lipoaspirat materyalinin hipoksiye olan yanıtı bulunur. Üçüncü etki ise yağ grefti ile inflamasyonun sinerjik etkisi ile meydana gelir. Yağ greftinin sağkalımı için neovaskülarizasyon oldukça önemlidir ve neovaskülarizasyonu arttırmaya yönelik olan çalışmalar devam etmektedir (27).

2.7. Yağ Grefti

Greft bir dokunun kendisine ait damarları olmadan serbest olarak başka bir yere aktarılması olarak tanımlanmaktadır. Yağ dokusu da greft olarak kullanılan önemli bir dokudur. Plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahide yağ grefti uygulamaları yüz şekillendirme, meme büyütme, meme kapsül kontraksiyonu, radyasyon hasarı, yumuşak dokuların hacminin artırılması, skar düzeltilmesi, vücut konturlarının şekillendirilmesinde ve vücut gençleştirme, posttravmatik değişiklikler, konjenital anomaliler, yanığa bağlı yaralanmalar gibi pek çok alanda kendisine geniş bir yer bulmaktadır. Otolog yağ grefti pratik olarak elde edilebilmekte, kolay uygulanabilmekte ve yenilenebilmektedir. Bu nedenlerle sık

tercih edilen bir yöntemdir. Plastik cerrahların yaklaşık %80'i yağ greftlerini pratik uygulamalarında tercih etmektedir (7).

Adipoz dokunun büyük kısmı olgunlaşmış adipositler, adipoz kökenli kök hücreler, bağ dokusu, endotelial hücreler ve öncü hücreleri, düz kas hücreleri ve perisitlerden oluşur. Adipositler adipoz doku hücrelerinin yaklaşık 3'te 2'sini oluştururken doku hacminin %90'dan fazlasını oluşturur (28). Yağ greftinin sağkalımında adipoz kökenli kök hücrelerin önemi bilinmektedir. Adipoz kökenli kök hücre yoğunluğu artırılarak yapılan yağ grefti uygulamaları ile greft sağkalımının artırılacağı düşünülmektedir (29). Bu sayede öngörülemeyen yağ grefti kayıplarının azaltılması ve yağ grefti sağkalımının artırılması hedeflenmektedir.

2.7.1. Yağ Greftinin Tarihçesi

1893 yılında Dr. Neuber tarafından orbital bölgedeki skara uygulanan yağ grefti literatürde tanımlanan ilk yağ grefti uygulamasıdır (30). İlk uygulamasında yağ greftlerini büyük parçalar halinde koyan Dr. Neuber daha sonrasında yağ greftlerinin küçük parçalar halinde konulması gerektiğini bildirmiştir (31). Bundan sadece 2 yıl sonra 1895 yılında Dr. Vincent Czerny otolog yağ dokusu ile meme cerrahisinde yağ grefti kullanımına öncülük etmiştir. Hastanın lipomundan elde edilen yağ dokusu ile postmastektomi sonrası meme rekonstrüksiyonunda yağ grefti uygulamıştır. 1909 yılında Dr. Hollander kanül aracılığı ile yağ enjeksiyonunu ilk kez deneyen isim olmuştur (32). 1914 yılı itibari ile yağ greftleri kraniyofasiyal rekonstrüksiyon, meme rekonstrüksiyonu, ankiloz cerrahisi sonrası eklem mobilitesinin artırılması gibi çeşitli endikasyonlarda uygulanmaktaydı (30). Yağ greftlerinin pratikte kullanım alanı arttıkça bu işlemin mevcut kısıtlılıkları da

fark edilmekteydi. Özellikle yağ greftinin son hacminin öngörülemezliği kullanımı kısıtlamaktaydı. Dr. Miller 1926'da atrofik cilt bölgelerine yağ grefti uygulayıp kitap yazarak modern kozmetik cerrahinin temelini inşa etmiştir ancak o zamanlarda gereken ilgiyi çekememiştir.

1950'lerde Dr. Peer yaptığı deneysel çalışmalar sonucunda yağ greftlerinin 1 yıl sonunda ağırlığının ve hacminin yaklaşık %45'ini kaybettiğini saptamıştır (3). Yağ greftindeki hücrelerden erken ve yeterli kan dolaşımını sağlayabilenlerin hayatta kalıp kalan hücrelerin dejenere olduğunu düşünmüştür. Yağ greftinin hayatta kalma mekanizmasını temel olarak erken sağlanan kan dolaşımına bağlamıştır. 1953'te Bames ve 1957'de Schorcher meme büyütme işlemi için yağ grefti uyguladıkları birkaç vaka bildirmiştir (33). Lyndon Peer 1956 yılında serbest yağ greftlerindeki adiposit sağkalımının yaklaşık %50 olduğunu ve artan travma ile sağkalımın azaldığını bildirmiştir (30).

1975 yılında Arpad ve Giorgio Fischer modern liposakşın tekniğini geliştirdiler. İlk kez çoklu insizyon noktalarından künt uçlu içi boş kanül yardımı ile emici cihaza bağlı liposakşın tekniğini tanımladılar (34). 1977 yılında ise Illouz bu tekniği modifiye edip daha az travmatik ve daha az hemorajik hale getirerek popüler hale getirmiştir. Illouz liposakşın yöntemi ile elde ettiği yağ dokusunu dolgu materyali olarak kullanarak vücut şekillendirmenin öncüsü olmuştur (33). 1986'da Ellenbogen 4-6mm boyutundaki yağ greftleri ile başarılı olarak yapılan akne skarı onarımı, çökük göz kapağı onarımı, fasiyal atrofi onarımı, yüzde kırışıklık onarımı, atrofik skar onarımı, çene büyütme ve nazolabial oluk onarımı vakaları bildirmiştir (35). Bircoll 1987 tarihinde liposakşın tekniği ile otolog yağ greftini meme büyütme amacıyla kullanan ilk isim olmuştur (36). Bircoll farklı seanlarda küçük miktarlarda seri yağ enjeksiyonları yapılmasını önermiştir. 1988'de Luiz Toledo yağ doku aspirasyonu için farklı ölçü ve boyutlarda tek kullanımlık şırıngalar denemiştir. Şırınga ile yapılan liposakşının esas avantajı olarak daha hassas ve

doğru ölçüm yapılmasını ve yağ dokusunun daha az travmatik bir şekilde enjekte edilmesini öne sürmüştür (37). Bundan 1 yıl sonra Fournier lipofilling adını verdiği yeni yağ infiltrasyonu tekniği tanımlamıştır (38). Bu teknik ile, yağ grefti enjektör ile düşük basınçla atravmatik olarak elde edilip, greft santrifüj işlemi ile saflaştırıldıktan sonra, minimal yağ dokusu enjekte edilerek yağ hücrelerinin etraf dokular ile temas yüzeyi arttırılmakta ve bu sayede revaskülarizasyonlarının kolaylaştırılması hedeflenmektedir.

Yağ grefti tarihindeki radikal değişiklikler 20. yüzyılda Coleman'ın yayınladığı çalışmalardan sonra meydana gelmiştir. Coleman, yağ greftindeki başarının teknikte gizli olduğunu savunmuştur. Yağın uygun şekilde elde edilmesi, saflaştırılması ve alıcı sahaya uygun şekilde transfer edilmesinin başarı için şart olduğunu belirtmiştir (39). Yağ greftinin 10 mililitrelik enjektörle düşük basınç altında 3 milimetrelik künt kanül ile alınmasını ve santrifüj edildikten sonra 18 gauge iğne kanül ile tüneller oluşturularak yağ greftinin verilmesini önermiştir. 21. yüzyılda ise yağ dokusunun kök hücre kaynağı rezervi açısından zengin olduğunun bulunması, SVF ve adipoz kökenli kök hücrelerin tanımlanmasıyla yağ grefti uygulamalarının kullanımı giderek yaygınlaşmıştır (20,40). Yağ greftleri uygulama tekniklerinin tanımlanmasından bu yana yapılan çalışmalar çoğunlukla yağ greftlerinin sağkalımını arttırmaya yönelik çalışmalar olmuştur ve günümüzde çalışmalar tüm hızıyla devam etmektedir.

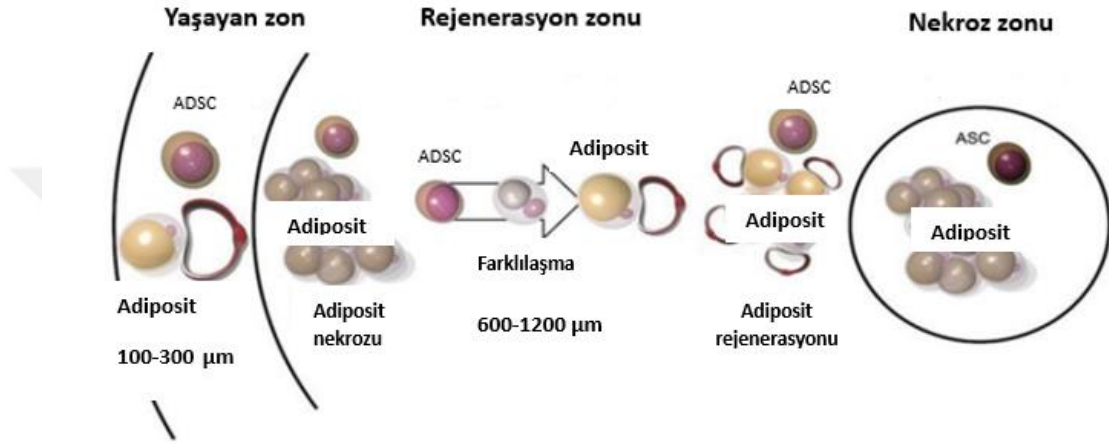
2.7.2. Yağ Greftinin Sağkalım Mekanizması

Yağ grefti uygulamalarının plastik cerrahi pratiğinde kendisine geniş bir yer bulmasından sonra en önemli sorun greftin kalıcılığını sürdürmek ve resorbsiyon miktarını azaltmak olmuştur. Yağ greftinin elde edilme yöntemi ve uygulama

teknikleri farklılık gösterdiği için greft sağkalım oranları da değişkenlik göstermektedir. Greftin sağkalımı aktarılan canlı yağ hücresi miktarı, aktarılan bölgenin kanlanması, mikrovasküler yoğunluk, oluşan inflamasyonun tipi ve derecesi, sistemik büyüme faktörleri gibi pek çok etkene bağlıdır (41).

Eto ve arkadaşları yaptıkları fare çalışmasında yağ grefti uygulamasının 1. gününde adipositlerin öldüğünü fakat 3. günde bile adipoz kökenli kök hücrelerin yaşadığını saptamıştır (42). Yağ greftinde hipoksiye en duyarlı hücreler adipositler iken 2. en duyarlı hücreler endotel hücreleridir. Adipoz kökenli kök hücreler (ADSC) ise iskemik koşullara daha dayanıklıdır. Adipositlerin çoğunun ilk 24 saatte öldüğünü, sadece alıcı dokunun sınırına 300 mikron mesafedeki adipositlerin bazılarının sağ kaldığını, kalan adipositlerin çoğunun ilk 24 saatte öldüğünü göstermişlerdir (42). 300 mikronluk alandaki mesafenin plazmik imbibisyonun gerçekleştiği bölge olduğu düşünülmektedir. 3. günde öncül hücre sayısında anlamlı artış saptanırken 7. günde canlı adiposit sayısındaki belirgin artışa dikkat çekmişlerdir. Bu sonuçlar greft sonrası 3. ve 7. günler arasında onarım ve rejenerasyon olduğunu düşündürmektedir.

Yapılan araştırmalar neticesinde yağ greftinin üç zona ayrıldığı görülmüştür. Bu zonlar periferden santrale doğru olacak şekilde yaşayan zon, rejenerasyon zonu ve nekroz zonu olarak adlandırılırlar. Yaşayan zonda adipositler bulunurken rejenerasyon zonunda ADSC'ler görülmektedir. Nekrotik zonda ise canlı hücre bulunmaz ve bu santral bölge skar dokusu veya kist formasyonu ile iyileşir. Bu zonlar arasındaki fark yaklaşık 4. haftada netleşmektedir. Yaşayan zon ile rejenerasyon zonu arasındaki geçiş hattı 1. haftada kendini belli eder iken, rejenerasyon zonu ile nekroz zonu arasındaki geçiş hattı ise 2-4. haftalarda belirginleşmektedir (43). Yağ greftlerinin periferinde kalan hücreler hipoksiye dayanıklıdır. Bu hücrelerin santralinde yer alan bölgede yeterli revaskülarizasyon olması halinde ADSC'lerden yeni adipositler geliştiği bilinmektedir (43).

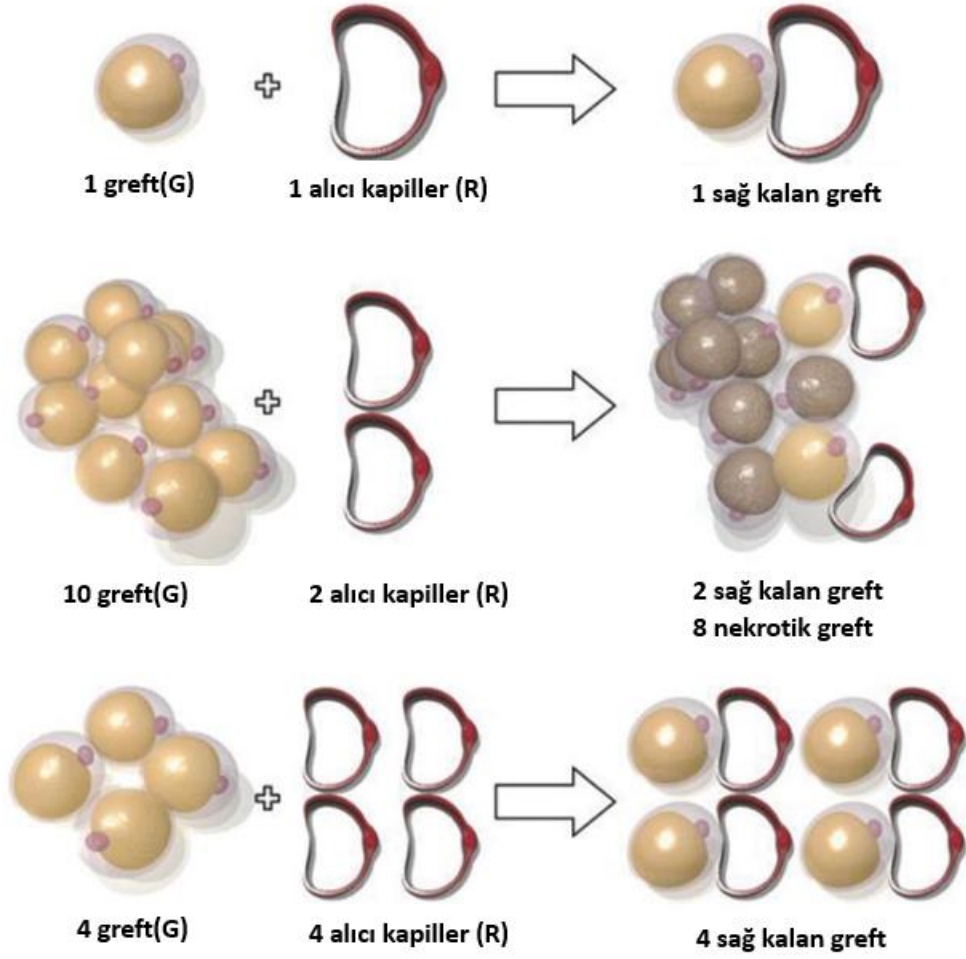


Resim 2: Greft sağkalımı teorisindeki 3 zon

Yaşayan zon yağ greftinin kenarlarına 100-300 µm uzaklıkta yer alan adipositlerden meydana gelir. Bu uzaklığın dışarısında kalan adipositlerin çok büyük kısmı greftleme sonrasındaki ilk 24 saatte ölür. Yaşayan tabakadaki adipositlerin hayatta kalmaları çevredeki sağlıklı dokudan plazmatik imbibisyon yolu ile beslenmelerine bağlıdır (42,43). Rejenerasyon zonu yaşayan zon ile nekroz zonu arasında yer alan 600-1200 µm kalınlığa sahip alandır. Bu tabakada ölü adipositler ve yaşayan adipoz kökenli kök hücreler yer alır. Revaskülarizasyon sürecinde yaşayan ADSC'ler, ölü adipositler tarafından salgılanan mediatörler ile aktive olurlar. Aktive olan ADSC'ler, anjiyogenezis sürecini ve adipogenezis sürecini başlatırlar (44). Yenilenen zonda 7.günden itibaren ölmüş olan adipositlerin etrafında ADSC'lerin diferansiyasyonuyla meydana gelen preadipositler görülmeye başlar fakat adipogenezis belirgin değildir. Preadipositlerin miktarı 2 ve 4. haftalarda artar ve 4. haftada en üst düzeye ulaşır. 8. haftada preadipositlerin çoğu olgun adipositlere dönüşmüş olur ve adipogenez

tamamlanır. 12. haftada ise olgunlaşmış olan yeni adipositler, ölü adipositlerin yerine geçer (43). Yağ greftinin santralinde bulunan nekroz zonunda bulunan tüm hücreler ölür. Nekroz zonuna giren makrofajlar ölü hücreleri, ölen adipositlerden kaynaklanan yağ damlacıklarını fagosite eder ve buna bağlı olarak fibröz bir doku oluşur (45). 8 mm'den daha büyük olan yağ damlacıkları kist duvarı oluşturur ve bu duvar makrofajların absorpsiyonuna izin vermez. Buna bağlı oluşan kist formasyonuna kronik inflamasyon ve kalsifikasyon da eklenir ve bu sonuç yağ grefti uygulamasının en kötü neticesi olarak değerlendirilir (43,45,46).

Khouri ve arkadaşları yağ grefti uygulamasında greftin ne kadarının yaşayabileceğini, bir kimyasal reaksiyonun stokiyometrik prensibi ile açıklamıştır. (47) Yağ grefti-alıcı kompleks (G-R) oluşması için greft parçacıkları (G) ve kapiller alıcı saha (R) uygun şekilde bağlanmalıdır. Ancak alıcı sahanın bu bağlanma için belirli bir doygunluk kapasitesi vardır. Bu kapasitenin üzerindeki miktarlarda aktarılan yağ greftlerinde greft yaşayabilirliği olumsuz etkilenecektir.



Resim 3: Optimal yağ grefti sağkalımı için greft ile alıcı kapiller arasındaki ilişkinin şematik gösterimi

Yağ greftinin nihai hacminin belirlenmesinde canlı ADSC'leri içeren yaşayan zon ve rejenerasyon zonunun nekroz zonuna olan oranı önemlidir. Greft revaskülarizasyonuna kadar geçen zamanda alıcı sahanın vaskülaritesi ve sağladığı çevre, yağ greftinin hayatta kalması için oldukça önemlidir. Bu nedenle alıcı saha özellikleri, yağ greftinin sağkalımı üzerinde önemli ölçüde belirleyicidir. Yağ grefti sağkalımını artırma amacı ile alıcı sahadaki vaskülariteyi artırmak ve inflamasyonu azaltmak için pek çok ajan (insulin, matriks metalloproteinaz 2 inhibitörleri, E vitamini, fibroblast büyüme faktörü, trombosit zengin plazma, eritropoetin, EGF, VEGF, interlökin-8, vb.) ile çeşitli araştırmalar yapılmıştır (26). Bu ajanlardan yağ grefti sağkalımını arttırmada olumlu etkileri olanlar saptansa da rutin pratik uygulamaya yansımamıştır.

2.7.3. Yağ Greftinin Kullanım Alanları

Yağ greftlerinin oldukça geniş kullanım alanları vardır. Yüzde nazolabial bölge ve infraorbital bölgedeki olukların düzeltilmesi, malar bölgenin hacminin artırılması, dudak hacminin artırılması, atrofik skarların düzeltilmesi, yüzdeki asimetrielerin giderilmesi, cilt rejenerasyonunun uyarılması gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Ellerde ciltte zamanla belirginleşen tendonların görünümünün düzeltilmesi, vücut konturlarının şekillendirilmesi, meme dokusunun şekillendirilmesi diğer kullanım alanlarındandır.

Yağ greftleri sadece estetik amaçlı değil rekonstrüksiyon amaçlı da kullanılmaktadır. Mastektomi sonrasında meme rekonstrüksiyonunda kullanılması bunun bir örneğidir (48). Fakat yağ nekrozuna bağlı oluşabilen mikrokalsifikasyonlar malignite nüksünün radyolojik tanısında karışıklık çıkartabilmektedir. Meme kapsül kontraktürü, vokal kord hasarı, kronik ülserasyonlar ve radyasyon hasarı gibi durumlarda da yağ grefti kullanımları

bildirilmiştir (1). Tüberoz meme onarımı, Poland sendromu veya diğer nedenlere bağlı göğüs duvarı deformiteleri ve buna bağlı meme asimetrilerinin onarımı, nipple rekonstrüksiyonu gibi işlemlerde de yağ greftleri uygulanmaktadır (49–52).

Gluteal büyütme ve şekillendirme, skar kontraktürlerinin giderilmesi, elde dupuytren kontraktürü veya diğer nedenlere bağlı kontraktürlerin giderilmesi, skleroderma ve sistemik sklerozisin cilt ve ağız tutulumuna bağlı etkilerin düzeltilmesi yağ grefti uygulamalarına başvuru alanlarıdır (47).

2.7.4. Yağ Greftinin Elde Edilmesi, Hazırlanması ve Uygulanması

Yağ grefti elde edilirken alıcı saha olarak genellikle kolay ulaşılabilen ve bol yağ içeren bölgeler tercih edilmektedir. Abdominal bölge, uyluk, flanklar, kalça ve diz mediali sık tercih edilen bölgelerdir. Tercin edilen donör sahanın greftteki hücre sağkalımında farklılık yaratıp yaratmadığını anlamak için pek çok çalışma yapılmıştır. Hudson ve ark.'ları farklı bölgelerden alınan yağ greftlerini karşılaştırdıkları araştırmalarında, femoral bölgeden alınan yağ greftindeki adipositlerin daha büyük olduğunu ve daha fazla lipojenik etkiye sahip olduğunu bildirmiştir (53). Kraniyofasyal mikrozomiye bağlı asimetrisi olan hastaların onarımında abdominal bölge ve diğer bölgelerden alınan yağ greftlerinin sonuçları kıyaslandığında fark saptanmamıştır (54). Yağ greftiyle yapılan meme büyütmede karından ve uyluktan alınan yağ greftlerinin sonuçları kıyaslanadığında fark bulunmamıştır (55). Coleman, yağ grefti uygulamalarında donör saha seçiminin sonucu değiştirmedini; bu nedenle kolay ulaşılabilir ve estetik görünüm sağlayacak yerlerin donör saha olarak seçilmesi gerektiğini düşünmüştür (56).

Yağ grefti enjektör veya liposakşın yöntemiyle aspire edilerek veya yağ dokusunun enblok olarak eksize edilmesiyle alınabilir. Kullanılan kanülün çapı, içerdiği delik sayısı, kanülün ucunun künt olup olmaması, uygulanan vakumun gücü alınan yağ greftinin sağkalımını etkilemektedir. Zhao ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 6 milimetrelik kanül ile alınan yağ greftinin yaşayabilirliğinin, daha küçük çaplı kanüllerle alınan yağ greftine göre daha fazla olduğu görülmüştür (57). Enjektör ile aspirasyon yoluyla elde edilen yağ grefti ile, liposakşın yöntemiyle elde edilen yağ grefti karşılaştırıldığında enjektörle elde edilen yağ greftinde daha fazla sayıda canlı hücrelerin olduğu saptanmıştır (58–60). Fakat tümesant anestezi tekniği ile yağ grefti alındığında bu farkın ortadan kalktığı görülmüştür (61).

Donör sahanın hazırlanmasında genellikle tümesant tekniği kullanılmaktadır. Tümesant solüsyonu yağ alınmasını kolaylaştırırken aynı zamanda ağrıyı ve kanamayı da azaltır (62). Agostini ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tümesant teknikle alınan yağ greftinin canlılığının, kuru teknikle alınan yağ greftine kıyasla daha fazla olduğu bulunmuştur (63).

Yağ greftinin alınmasında yaygın olarak kullanılan teknik Coleman tekniğidir. Tanımlanan bu yöntemle 3 mm'lik 15 cm veya 23 cm uzunluğunda künt uçlu Coleman kanülü, 10 ml'lik Luer Lock enjektörüne takılır. Kanülün ucu, donör bölgeye yerleştirildikten sonra enjektörün pistonu manuel olarak geri çekilerek negatif basınç meydana getirilir ve bu sayede yağ dokuları aspire edilir. Bu teknikle geleneksel liposakşın yerine enjektör ile daha az negatif basınç uygulanmakta ve bu sayede adiposit bütünlüğü korunarak adiposit fonksiyonlarının olumsuz etkilenmesi önlenmektedir (59).

Yağ greftlerinin uygulama öncesinde hazırlanmasında gazlı bez yardımıyla süzme, yıkama, santrifüj yapma gibi farklı yöntemler kullanılmıştır ve bu yöntemleri kendi arasında kıyaslayan çalışmalar yapılmıştır. Yöntemlerin birbirine üstünlüğüyle ilgili olarak ortak bir sonuca varılamamıştır. Sedimentasyon yöntemiyle hazırlanan yağ greftlerinde yaşayan yağ hücre sayısının santrifüj ve yıkama ile hazırlanan yağ greftlerine göre daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar varken santrifüj ile hazırlanan yağ greftlerinin sonuçlarının daha iyi olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (64,65). Botti ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir araştırmada ise yıkama, filtreleme ve santrifüj ile greft hazırlama karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark olmadığı görülmüş ancak yıkama/filtreleme yoluyla hazırlanan greftlerde nodül formasyonu saptanmıştır (66).

Yağ greftinin alıcı sahaya verilme şekli işlemin başarısı için oldukça önemlidir. Coleman yağ grefti enjekte edilirken kullanılan iğne veya kanülün geri çekilmesini ve oldukça az miktarda ve farklı planlarda enjeksiyon yapılmasını önermiştir (1,39). Enjeksiyon hızlı yapıldığı takdirde hücresel hasar artmakta ve grefte olan immun sistem hücre infiltrasyonu da artarak greftin rezorbsiyonuna sebep olmaktadır (56). Greft dokusunun yaşayabilmesi için greftin uygulandığı bölgede yeterli neovaskülarizasyon meydana gelmelidir, bu sebeple greft dokusunun çevre dokusuyla olan teması artırılırsa greftin yaşayabilme ihtimali de artmaktadır.

2.7.5. Yağ Grefti Uygulamasının Komplikasyonları

Yağ grefti uygulamasına bağlı olarak greftin uygulandığı alanda greftin nodül olarak palpe edilmesi, greft nekrozu, kalsifikasyonların oluşması, asimetri

görülmesi, abse, enfeksiyon, hematoma, seroma, emboli, pnömotoraks, yağ migrasyonu, cilt nekrozu gibi komplikasyonlar ile karşılaşılabilmektedir (67).

2.8. Epidermal Büyüme Faktörü

2.8.1. Epidermal Büyüme Faktörünün Özellikleri

Epidermal büyüme faktörü, moleküler ağırlığı 6021 dalton olan, 53 aminoasit rezidüsü içeren tek zincirli asidik küçük bir polipeptid molekülüdür. 1962 yılında Stanley Cohen tarafından keşfedilmiştir ve bu keşfi kendisine 1986 yılında Nobel Tıp ödülü kazandırmıştır (68). EGF, hücre membranında yer alan EGF reseptörüne tutunarak etkilerini gerçekleştirir. EGF reseptörü transmembran proteinler ailesinden olan tirozin kinaz türü reseptördür. EGF reseptöre tutunduğunda kinaz aktivasyonu ile reseptör otofosforilasyonu olur. Bu otofosforilasyon reseptör etkileşiminde kritiktir. EGF tarafından indüklenen sinyal transdüksiyon yolları, protein kinaz C aktivasyonu aracılığı ile hücre içi kalsiyum⁺² konsantrasyonunda artışa ve mitojen aktivasyonlu protein kinaz aktivasyonuna neden olur (69). EGF, neovaskülarizasyonu uyaran büyüme faktörleri arasında en önemli faktörlerden birisidir ve ayrıca inflamasyonu azalttığı da bilinmektedir. EGF platelet, makrofaj ve fibroblastları aktive eder, mitozu uyarır, neovaskülarizasyonu tetikleyerek yara iyileşmesini hızlandırır (6). Bu etkileri ile EGF diyabetik ayak yaralarında ve kronik yaralarda yara iyileşmesini hızlandırmak için de kullanılmaktadır fakat yağ grefti sağkalımı ile ilişkili yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Park ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yağ grefti ile birlikte

EGF uygulanmasının yağ greftinin kanlanması ve yaşayabilirliğini arttırdığı saptanmıştır (6).

2.8.2. Epidermal Büyüme Faktörünün Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahide Kullanımı

Diyabetik ayak ülserlerinde kullanımı onaylanmış olan rhEGF son zamanlarda plastik cerrahi uygulamalarında kendisine yer bulmuştur (70). 'Heberprot-P' isminde hazır ticari preparatı bulunan bu rhEGF (Heberprot-P, 75 mikrogram/ flakon, Centro de Ingenieria Genetica y Biotecnologica (CIGB), Havana/ Küba-Praxis Havana/ Küba. Pharmaceutical SA Vitoria/İspanya, 2014) Havana Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji Merkezi'nde dönüştürülmüş bir *Saccharomyces cerevisiae* suşundan elde edilmiştir ve EGF1-51 ile EGF1-52 formlarının bir karışımını bulundurmaktadır (71). Araştırmalar tek veya tekrarlanan dozlarda rhEGF uygulanmasının, hücre koruyucu ve proliferatif etkiler sağladığını ve bu rhEGF'nin suprafizyolojik konsantrasyonlarda doku onarımı için gereken patofizyolojik süreçleri indüklemeye kritik bir önemi olduğunu göstermiştir (70,72,73). rhEGF, hücre büyümesi, hücre proliferasyonu ve hücre farklılaşmasının düzenlenmesinde önemli rol oynayarak epitelizasyonu ve yara iyileşmesini hızlandırmaktadır (74). Viswanathan ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir klinik araştırmada diyabetik ayak ülserlerinde rhEGF'nin erken ve düzenli kullanılması ile bacak amputasyonlarının önlenmesine yardımcı olduğu ve kronik yaraların tedavisinde yardımcı bir tedavi olacağı saptanmıştır (74).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 22.11.2022 tarih ve 242 numaralı kararı ile etik kurul onayı alınarak çalışmaya başlanmıştır. Çalışmada kullanılan sıçanlar Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Deney hayvanları ile ilgili yapılan uygulamalar bu merkezde yer alan ameliyathanede yapılmıştır. Hayvanlar ayrı kafeslerde tek başlarına barındırılmıştır. Tüm çalışma süresince deney hayvanları için standart fiziki şartlar oluşturulmuştur. %30-70 nem, 22 derece ortam sıcaklığı, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngü oluşması sağlanmıştır. Hayvanlar çalışma boyunca standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile ad libitum olarak beslenmiştir. Çalışma süresince tüm cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından yapılmıştır.

Çalışmada ortalama ağırlıkları 300 ± 50 gr olan 24 adet Wistar Albino cinsi 1 yaşında erkek sıçanlar kullanılmıştır. Randomize olarak her grupta 8 adet olacak şekilde üç grup oluşturulmuştur. Çalışma sırasında hayvanların genel anestezisi için 75 mg/kg Ketamin (ketalar® flakon Pfizer, Brooklyn, New York, USA), 10 mg/kg xylazin (Rompun® flakon, Bayer, Leverkusen, Germany) sol intraperitoneal bölgeye enjekte edilmiştir. Anestezisi derinliği kontrol edilerek işlemler gerçekleştirilmiştir. Profilaktik antibiyoterapi için 15/mg/kg intramusküler sefazolin sodyum enjeksiyonu uygulanmıştır. Kontrol grubunda yer alan sıçanlarda ilk önce supin pozisyonda çalışılarak sağ inguinal bölgedeki yağ yastıkçıklarından 0.5 gr tek parça halinde yağ grefti elde edilmiştir. Elde edilen yağ grefti prone pozisyonda interskapüler bölgede cilt altında oluşturulan poşa tek parça halinde yerleştirilmiştir. Sham grubunda yer alan sıçanlarda ilk aşamada interskapüler bölge dorsalinde cilt altında oluşturulacak olan poşa 26 G enjektör ile 0.5 cc %0.9 sodyum klorür serum fizyolojik subkutan olarak uygulanmıştır. Bu uygulamadan 1

hafta sonra ise diğer gruptaki hayvanlar ile aynı koşullarda uygun genel anestezi sağlandıktan sonra önce supin pozisyonda sağ inguinal bölgeden 0.5 gr tek parça halinde yağ grefti elde edilerek prone pozisyonda interskapüler bölge dorsaline cilt altı poşa yağ grefti yerleştirilmiştir. Deney grubunda yer alan sıçanlarda ise ilk aşamada interskapüler bölge dorsalinde cilt altında oluşturulacak olan poşa 26 G enjektör ile 7.5 µg'a doza eş 0.5 cc rhEGF faktörü (Heberprot-P® 75 µg Enjeksiyon için liyofilize toz içeren 1 Flakon, Hasbiotech İlaç San. Ve Tic. A.ř.) subkutan olarak uygulanmıştır. Bu uygulamadan 1 hafta sonra ise diğer gruptaki hayvanlar ile aynı koşullarda uygun genel anestezi sağlandıktan sonra önce supin pozisyonda sağ inguinal bölgeden tek parça halinde 0.5 gr yağ grefti elde edilerek prone pozisyonda interskapüler bölge dorsaline cilt altı poşa yağ grefti tek parça olarak yerleştirilmiştir. Yağ greftleri yerleştirildikten 8 hafta sonra ketamin 75 mg/kg, xylazin 10 mg/kg ile intraperitoneal enjeksiyon sonrası genel anestezi sağlanarak daha önce poşlara yerleştirilmiş olan yağ greftleri künt diseksiyonla tek parça olarak eksize edilmiştir. Hayvanlar yüksek doz genel anestezi verilerek sakrifiye edilmişlerdir.

3.1. Deney Grupları

Araştırma randomize prospektif kontrollü deneysel ęalıřma olarak planlandı. 1 yaşında, ortalama 300±50 gram ağırlığında Wistar Albino cinsi 24 adet erkek sıçan kullanıldı. Randomize seğilen hayvanlar ile n= 8 olacak şekilde 3 grup oluşturuldu.

Grup 1(n=8): Sağ inguinal bölgeden hazırlanan yağ grefti interskapüler bölge dorsalindeki cilt altı poşa yerleştirildikten 8 hafta sonra yağ grefti incelenen kontrol grubu

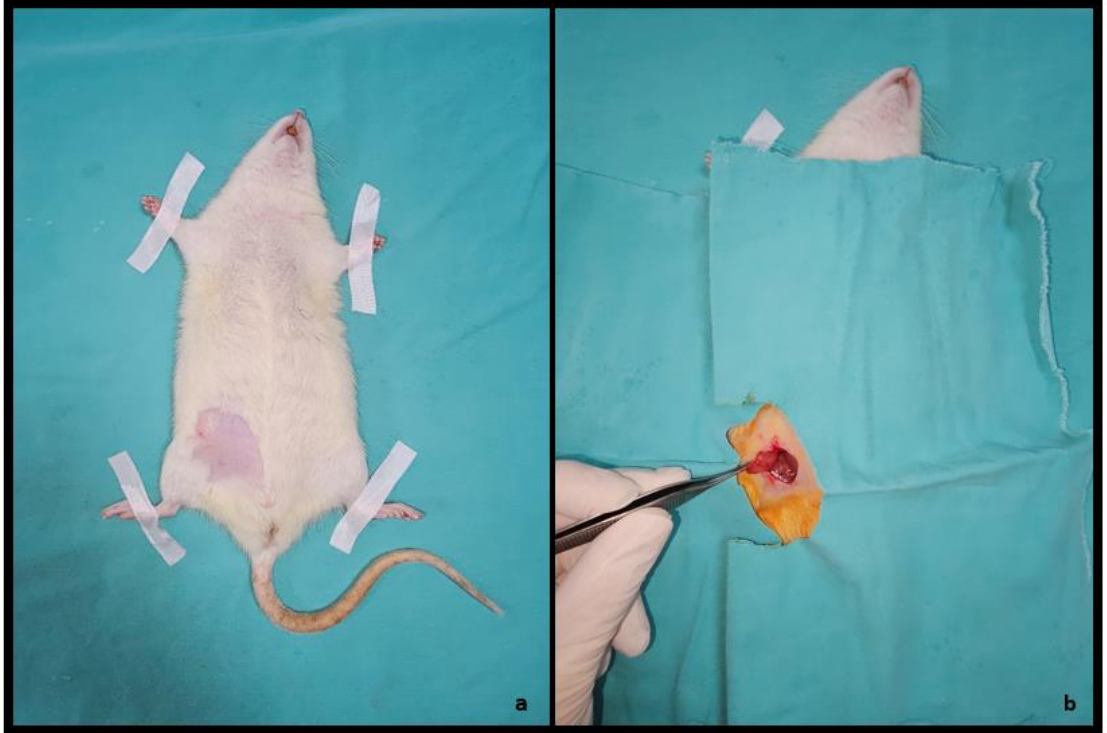
Grup 2 (n=8): İnterskapüler bölge dorsaline subkutan 0.5 cc %0.9 sodyum klorür serum fizyolojik uygulandıktan 1 hafta sonra sağ inguinal bölgeden hazırlanan yağ grefti interskapüler bölgedeki cilt altı poşa yerleştirilen ve 8 hafta sonra yağ grefti incelenen sham grubu

Grup 3(n=8): İnterskapüler bölge dorsaline subkutan 7.5 µg olacak şekilde 0.5 cc rhEGF uygulandıktan 1 hafta sonra sağ inguinal bölgeden hazırlanan yağ grefti interskapüler bölgedeki cilt altı poşa yerleştirilen ve 8 hafta sonra yağ grefti incelenen deney grubu

3.2. Cerrahi Yöntem

Sıçanlara supin pozisyonda kollar ve bacaklar tespitlenerek pozisyon verildi. Yağ greftinin alınacağı sağ inguinal bölgenin tüyleri traş edildi (Resim 4a). Povidon iyodin ile uygun sterilite sağlandı. İntraperitoneal olarak uygulanan 15/mg/kg sefazolin sodyum ile profilaktik antibiyoterapi yapıldı. Sağ inguinal bölgede inguinal ligamanın seyrine paralel olacak şekilde 3 cm cilt insizyonu yapıldıktan sonra makas ile diseksiyon yapılarak inguinal yağ yastıkçıklarına ulaşıldı (Resim 4b). Femoral arter ven ve sinir paketi korunarak inguinal yağ yastıkçığına ulaşan epigastrik damarlar bağlandı. Yağ grefti çevre dokulardan dikkatlice diseke edilerek bütün olarak hazırlandı (Resim 5a). Kanama kontrolü sağlandıktan sonra cilt 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. Donör alana povidon iyodin ile pansuman yapıldı. Eksize edilen yağ dokusu steril serum

fizyolojik ile yıkandıktan sonra hassas tartı ile tartılarak tek parça halinde 0.5 gram olacak şekilde küçültüldü (Resim 5b). Hazırlanan yağ grefti serum fizyolojik sıvı içerisinde bekletilerek kuruması engellendi. Sıçanların interskapüler bölge dorsalinde vertikal 2 cmlik insizyon yapılarak cilt altında poş oluşturuldu. Hazırlanan yağ grefti enblok olarak bu poşa yerleştirildikten sonra cilt 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. İnsizyon hattına povidon iyodin ile pansuman yapıldı.



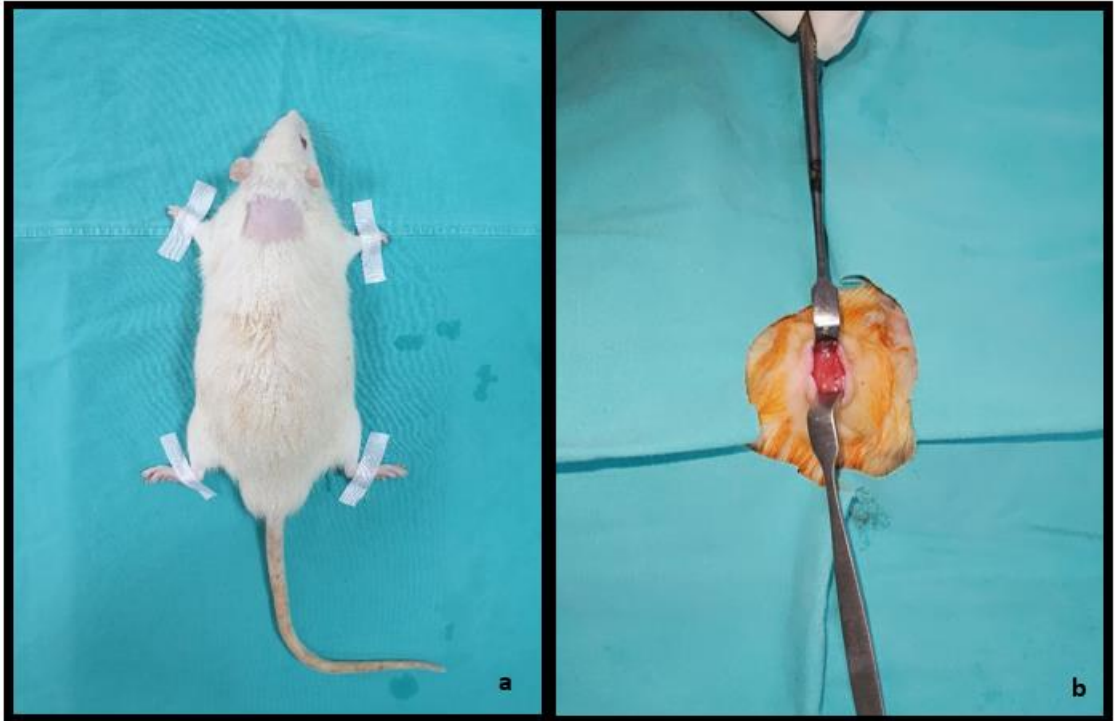
Resim 4: a) Sıçanın sağ inguinal bölgesinin traşlanıp supin pozisyonda ekstremitelelerin sabitlenmesi b) Sağ inguinal bölgeden yapılan insizyon ile yağ yastıkçığının diseke edilmesi



Resim 5: a) Yağ greftinin bütün parça olarak hazırlanması b) Yağ greftinin hassas tartı ile tartılması

Grup 1 (n=8): Sıçanlara supin pozisyonda kollar ve bacaklar tespitlenerek pozisyon verildi. Yağ greftinin alınacağı sağ inguinal bölgenin tüyleri traş edildi. Povidon iyodin ile uygun sterilite sağlandı. İntraperitoneal olarak uygulanan 15/mg/kg sefazolin sodyum ile proflaktik antibiyoterapi yapıldı Steril örtünme sonrası sağ inguinal bölgede inguinal ligamanın seyrine paralel olacak şekilde 3 cm cilt insizyonu yapıldıktan sonra makas ile diseksiyon yapılarak inguinal yağ yastıkçıklarına ulaşıldı. Femoral arter ven ve sinir paketi korunarak inguinal yağ yastıkçığına ulaşan epigastrik damarlar bağlandı. Yağ grefti çevre dokulardan dikkatlice diseke edilerek tek parça halinde elde edildi. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra cilt 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. Donör alana povidon iyodin ile pansuman yapıldı.

Eksize edilen yağ dokusu steril serum fizyolik ile yıkandıktan sonra hassas tartı ile tartılarak tek parça halinde 0.5 gram olacak şekilde küçültüldü. Hazırlanan yağ grefti serum fizyolojik sıvı içerisinde bekletilerek kurumayı engellendi. Sıçanlar prone pozisyona getirilip kollar ve bacaklar tespitlendikten sonra interskapüler bölge dorsalindeki tüyler traş edilerek vertikal 2 cm'lik insizyon yapıldı ve cilt altında poş oluşturuldu (Resim 6). Hazırlanan yağ grefti tek parça halinde bu poşa yerleştirildikten sonra cilt 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. İnsizyon hattına povidon iyodin ile pansuman yapıldı. Sonrasında sıçanlar tekli kafeslerine yerleştirilerek uygun çevresel koşullarda bakımları ve beslenmeleri kontrol edildi. İnsizyon yapılan bölgeler epitelize olana kadar povidon iyodin ile pansumanları günlük olarak yapıldı.



Resim 6: a) Dorsal interskapüler bölgenin alıcı saha olarak traşlanıp hazırlanması
b) Dorsal interskapüler bölgeye yapılan vertikal insizyon ile cilt altı poşun hazırlanması

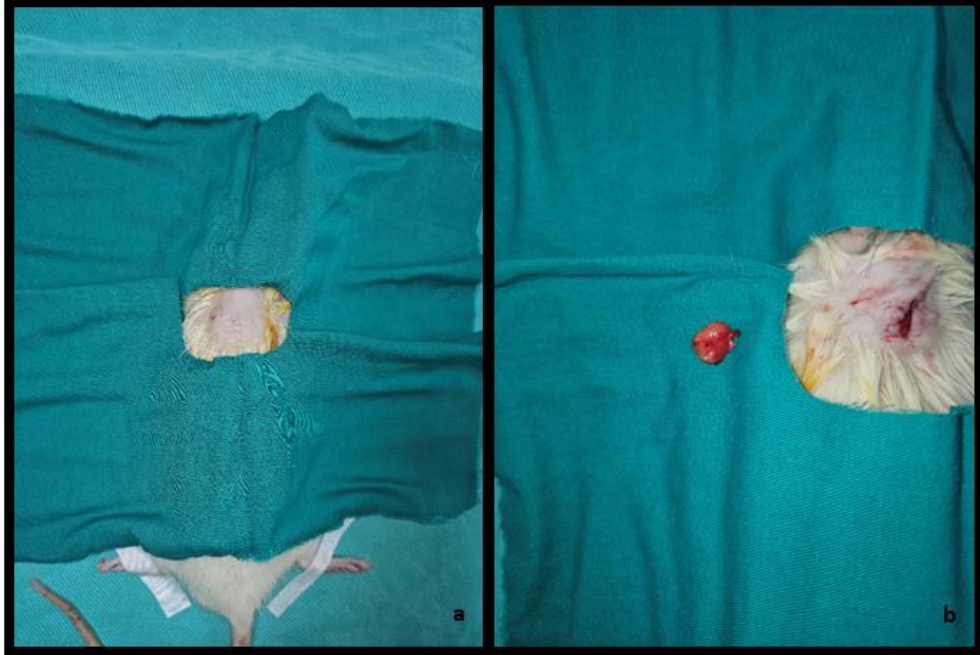
Grup 2(n=8): Bu gruptaki tüm sıçanların interskapüler bölgesinde cilt altında yağ greftinin koyulmasının planlandığı bölgeye 26 G enjektör ile subkutan 0.5 cc %0.9 sodyum klorür serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Bu işlem yapıldıktan 7 gün sonra sıçanlar yağ grefti operasyonu için hazırlandı. Sıçanlara supin pozisyonda kollar ve bacaklar tespitlenerek pozisyon verildi. Yağ greftinin alınacağı sağ inguinal bölgenin tüyleri traş edildi. Povidon iyodin ile uygun sterilite sağlandı. İntraperitoneal olarak uygulanan 15/mg/kg sefazolin sodyum ile proflaktik antibiyoterapi yapıldı. Steril örtünme sonrası sağ inguinal bölgede inguinal ligamanın seyrine paralel olacak şekilde 3 cm cilt insizyonu yapıldıktan sonra makas ile diseksiyon yapılarak inguinal yağ yastıkçıklarına ulaşıldı. Femoral arter ven ve sinir paketi korunarak inguinal yağ yastıkçığına ulaşan epigastrik damarlar bağlandı. Yağ grefti çevre dokulardan dikkatlice diseke edilerek tek parça halinde elde edildi. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra cilt 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. Donör alana povidon iyodin ile pansuman yapıldı.

Eksize edilen yağ dokusu steril serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra hassas tartı ile tartılarak tek parça halinde 0.5 gram olacak şekilde küçültüldü. Hazırlanan yağ grefti serum fizyolojik sıvı içerisinde bekletilerek kuruması engellendi. Sıçanlar prone pozisyona getirilip kollar ve bacaklar tespitlendikten sonra interskapüler bölge dorsalindeki tüyler traş edilerek vertikal 2 cm'lik insizyon yapıldı ve cilt altında poş oluşturuldu. Hazırlanan yağ grefti tek parça halinde bu poşa yerleştirildikten sonra cilt 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. İnsizyon hattına povidon iyodin ile pansuman yapıldı. Sonrasında sıçanlar tekli kafeslerine yerleştirilerek uygun çevresel koşullarda bakımları ve beslenmeleri kontrol edildi. İnsizyon yapılan bölgeler epitelize olana kadar povidon iyodin ile pansumanları günlük olarak yapıldı.

Grup 3(n=8): Bu gruptaki tüm sıçanların interskapüler bölgesinde cilt altında yağ greftinin koyulmasının planlandığı bölgeye 26 G enjektörü ile subkutan 7.5 µg'a eş değer olarak 0.5 cc rhEGF (Heberprot-P® 75 µg Enjeksiyon için liyofilize toz içeren 1 Flakon, Hasbiotech İlaç San. Ve Tic. A.Ş.) enjeksiyonu yapıldı. Bu işlem yapıldıktan 7 gün sonra sıçanlar yağ grefti operasyonu için hazırlandı. Sıçanlara supin pozisyonda kollar ve bacaklar tespitlenerek pozisyon verildi. Yağ greftinin alınacağı sağ inguinal bölgenin tüyleri traş edildi. Povidon iyodin ile uygun sterilite sağlandı. İntraperitoneal olarak uygulanan 15/mg/kg sefazolin sodyum ile profilaktik antibiyoterapi yapıldı. Steril örtünme sonrası sağ inguinal bölgede inguinal ligamanın seyrine paralel olacak şekilde 3 cm cilt insizyonu yapıldıktan sonra makas ile diseksiyon yapılarak inguinal yağ yastıkçıklarına ulaşıldı. Femoral arter ven ve sinir paketi korunarak inguinal yağ yastıkçığına ulaşan epigastrik damarlar bağlandı. Yağ grefti çevre dokulardan dikkatlice diseke edilerek tek parça halinde elde edildi. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra cilt 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. Donör alana povidon iyodin ile pansuman yapıldı.

Eksize edilen yağ dokusu steril serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra hassas tartı ile tartılarak tek parça halinde 0.5 gram olacak şekilde küçültüldü. Hazırlanan yağ grefti serum fizyolojik sıvı içerisinde bekletilerek kuruması engellendi. Sıçanlar prone pozisyona getirilip kollar ve bacaklar tespitlendikten sonra interskapüler bölge dorsalindeki tüyler traş edilerek vertikal 2 cm'lik insizyon yapıldı ve cilt altında poş oluşturuldu. Hazırlanan yağ grefti tek parça halinde bu poşa yerleştirildikten sonra cilt 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. İnsizyon hattına povidon iyodin ile pansuman yapıldı. Sonrasında sıçanlar tekli kafeslerine yerleştirilerek uygun çevresel koşullarda bakımları ve beslenmeleri kontrol edildi. İnsizyon yapılan bölgelere epitelize olana kadar povidon iyodin ile pansumanları günlük olarak yapıldı.

8 hafta sonrasında tüm sıçanlar operasyon için uygun şekilde hazırlanıp sterilite sağlandıktan sonra interskapüler bölgede yağ greftinin konulduğu eski skar hattından yapılan insizyon ile poşa ulaşıldı. Yağ greftleri çevre dokulardan dikkatlice diseke edilerek eksize edildi (Resim 7). Greftlerin ağırlıkları hassas tartı ile tartıldı (Resim 8a). Hacimleri su taşıma yöntemiyle ölçülerek tüm veriler kaydedildi (Resim 8b). Alınan yağ greftleri gruplara uygun şekilde numaralandırılarak incelenmek üzere %10 formalin içerisinde ayrı ayrı kaplara konuldu. Hazırlanan materyaller Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji bölümünde histopatolojik olarak değerlendirildi.



Resim 7: a) Postop 8. haftada greft alıcı sahada yer alan skar b) Postop 8. haftada greft alıcı sahasından yağ greftinin diseke edilerek tek parça halinde çıkartılması



Resim 8: a) Postop 8. haftada eksize edilen greftlerin hassas tartı ile tartılması b) Postop 8. haftada eksize edilen greftlerin su taşıma yöntemi ile hacimlerinin ölçülmesi

3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi:

Sıçanların sağ inguinal bölgesinde grup 1'de 2 adet, grup 2'de 1 adet ve grup 3'te 2 adet hayvanda insizyon hattında postop 1. günde dehissens izlendi. Dehissens gözlenen sıçanların insizyonları uygun steril şartlar altında debride edildikten sonra tekrar 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) ile primer suture edildi. Alıcı sahada insizyon hattında enfeksiyon, dikişlerde ayrılma gibi durum gözlenmedi.

3.3.1. Makroskopik Değerlendirme:

Postop 8. haftada tüm sıçanların alıcı sahasındaki insizyon skarından yapılan insizyon ile poşa ulaşılarak yağ greftleri çevre dokudan diseksiyon yapılarak eksize edildi. Yağ greftlerinin ağırlıkları hassas tartı ile tartıldı. 2 ml steril enjektör yardımı ile hacimleri su taşıma yöntemi kullanılarak ölçüldü ve tüm veriler kayıt altına alındı.

3.3.2. Histopatolojik Değerlendirme:

Araştırma sonunda eksize edilen yağ greftleri makroskopik ve mikroskopik olarak tek bir patolog tarafından değerlendirildi. Ayrı kaplara konulup %10'luk formaldehit ile fiksasyon sağlanan patoloji örneklerinin boyut ve genel görünümüleri kaydedildi. Rutin doku takibi ve parafine gömme işleminin ardından 5 mikronluk kesitler alındı ve hematoksilin eozin ile boyama yapıldı. Kesitler incelenen örneğin hangi gruba ait olduğu bilinmeksizin BX53F ışık mikroskopunda değerlendirildi. Semikantitatif yöntemle bu örneklerdeki kist-vakuol oluşumu, inflamasyon, fibrozis için 0: yok, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli olacak şekilde değerlendirme yapılarak skora sağlandı. Tüm örnekteki normal yağ dokusu ve nekroz izlenen alan yüzdesi belirlendi. Damar yoğunluğunun en fazla olduğu ardışık 10 büyük büyütme alanında (x400) eritrosit ve/veya endotel içeren lümenli yapılar sayılarak vasküler yoğunluk değerlendirildi ve en yüksek damar sayısı kaydedildi. Dijital kamera aracılığı ile kesitlerin fotoğrafı çekildi.

3.3.3. İstatistiksel Değerlendirme:

Değerlendirmeye alınan parametreler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL version 29.0.1.0) programı ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Histopatolojik verilerin minimum, maksimum değerleri, ortanca değerleri bulundu. Verilerin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı. $P < 0.05$ ise sonuçlar anlamlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Makroskobik Bulgular:

Grup 1, 2 ve 3 'te toplam 24 sıçan değerlendirildi. Grup 1' de 2 adet, grup 2' de 1 adet, grup 3'te 2 adet sıçanın greft donör sahasında postop 1. günde insizyon hattında dehissens izlendi. Dehissens izlenen tüm sıçanlar postop 1. günde genel anestezi altında uygun sterilite sağlandıktan sonra yara yeri debride edilerek 4/0 poliprolen (Propilen®,Doğsan) polen ile primer onarıldı. Toplam 24 adet sıçan uygun fiziksel koşullarda takipleri yapıldıktan sonra 8. hafta sonunda sakrifiye edildi. Graft alıcı sahalarda enfeksiyon, dehissens, seroma gibi herhangi bir komplikasyon görülmedi.

Postop 8. hafta sonunda sıçanların interskapüler bölgede yer alan greft alıcı sahasındaki skar hattından yapılan insizyon ile yağ greftleri eksize edildikten sonra hassas tartı ile ağırlık ölçümleri yapıldı. Su taşıma yöntemi ile hacim ölçümleri yapıldı. Aynı örnek için yapılan ölçümlerin doğru olduğu tekrarlayan ölçümler ile doğrulandı. Ölçümler sonucunda hacim ve ağırlık değerlerinin aynı olması üzerine istatistiksel değerlendirmeye sadece ağırlık ölçümleri dahil edildi.

Tablo 2: Grup 1, 2 ve 3'te kullanılan yağ greftlerinin 0. ve 56. gündeki ağırlıkları

Yağ grefti	Grup 1 (kontrol)		Grup 2 (sham)		Grup 3 (deney)	
	0.Gün gram	56.Gün gram	0.Gün gram	56.Gün gram	0.Gün gram	56.Gün gram
1	0.5	0.4	0.5	0.4	0.5	0.4
2	0.5	0.5	0.5	0.3	0.5	0.4
3	0.5	0.4	0.5	0.5	0.5	0.4
4	0.5	0.3	0.5	0.5	0.5	0.3
5	0.5	0.4	0.5	0.3	0.5	0.5
6	0.5	0.5	0.5	0.4	0.5	0.4
7	0.5	0.4	0.5	0.3	0.5	0.5
8	0.5	0.4	0.5	0.3	0.5	0.3

Grupların hepsinde 0.5 gram olarak hazırlanan yağ greftleri işlem uygulandıktan 8 hafta sonra incelendiğinde grup 1' de ortalama 0.41 gram, grup 2'de ortalama 0.37 gram, grup 3 'te ortalama 0.4 gram saptanmıştır. 3 grubun yağ greftlerinin ağırlık sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sonuçlar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,579$) (tablo 3).

Tablo 3: Kruskal-Wallis testi ile 3 grup arasında greft ağırlıklarının analizi

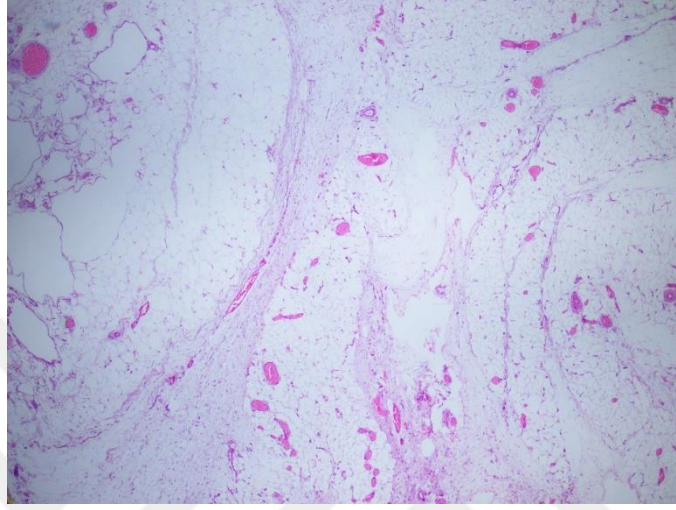
Ranks				Test Statistics ^{a,b}	
	Grup	N	Mean Rank		ağırlık
ağırlık	kontrol	8	14,00	Kruskal-Wallis H	1,093
	sham	8	10,63	df	2
	deney	8	12,88	Asymp. Sig.	,579
	Total	24			

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Grup

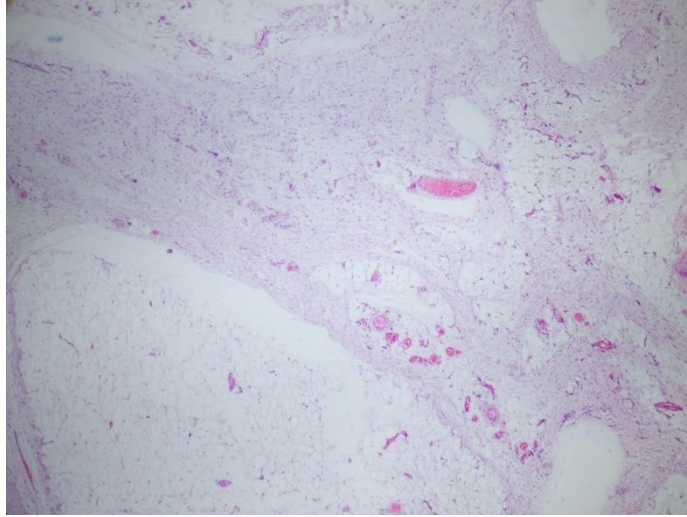
4.2. Histopatolojik Bulgular

Eksize edilen yağ greftleri histopatolojik olarak incelenmek üzere hazırlandıktan sonra tek bir patolog tarafından ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirildi. Yağ greftlerinde yer alan inflamasyon, fibrozis, kist-vakuol formasyonu, normal yağ dokusunun oranı, nekrozis oranları ve vasküler yoğunluk oranları incelendi. Kist-vakuol oluşumu, inflamasyon ve fibrozis değerlendirmesi için 0: yok, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli olacak şekilde skorlama yapıldı (Resim 9, Resim 10, Resim 11, Resim 12, Resim 13, Resim 14).

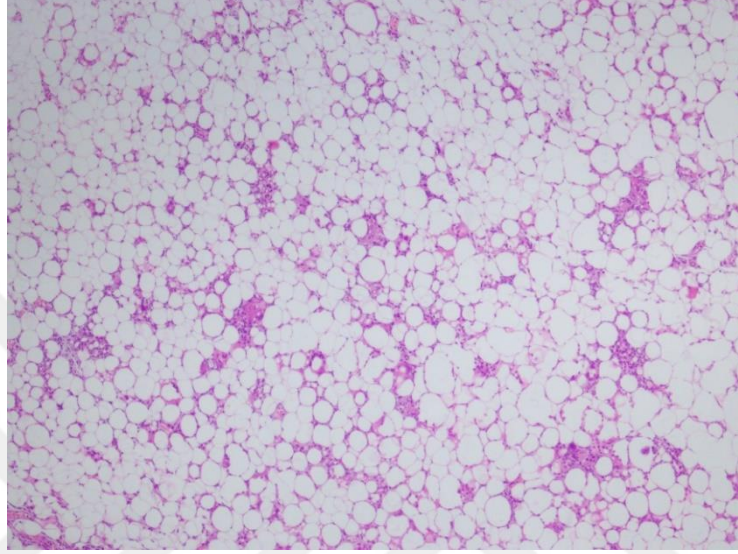
Yağ greftinde yer alan normal yağ dokusu ve nekrotik doku için kesitte bulunan alanda doku içindeki kapladığı alanın yüzdelik karşılığı belirlendi. Vasküler yoğunluk değerlendirilirken ise damar yoğunluğunun en fazla olduğu yer seçilerek burada 400 büyütme bir alanda yer alan eritrosit veya endotel içeren lümenli yapılar sayılarak incelendi (Tablo 4).



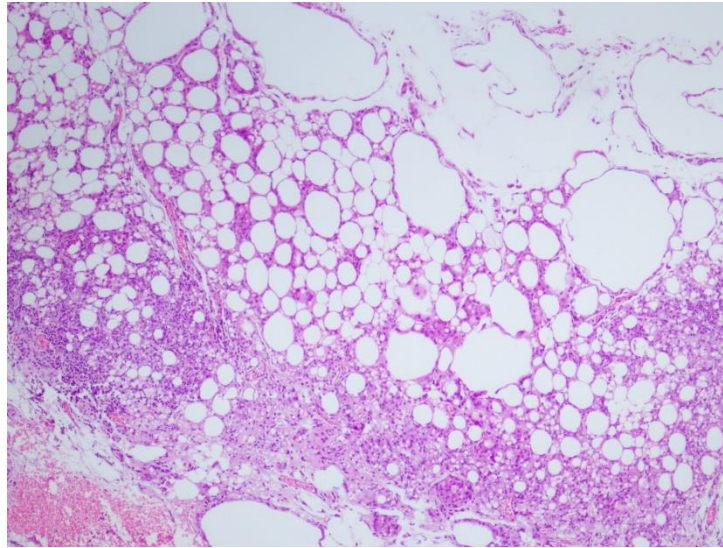
Resim 9: Hafif derecede fibrozisin ışık mikroskopundaki görüntüsü



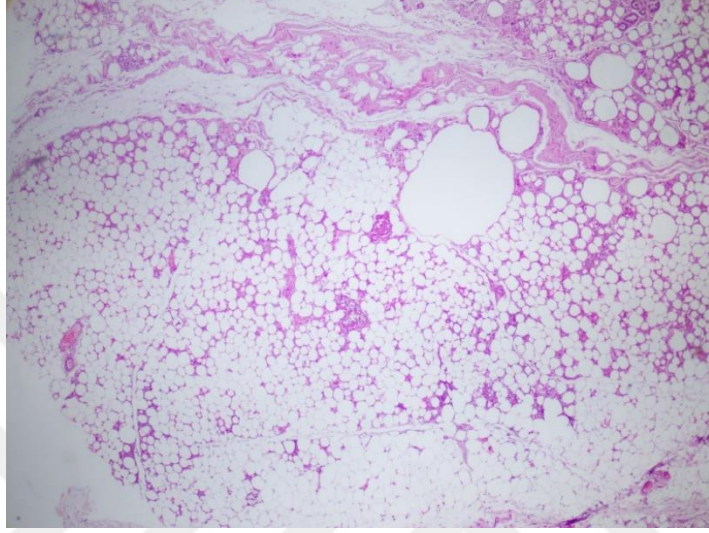
Resim 10: Şiddetli derecede fibrozisin ışık mikroskopundaki görüntüsü



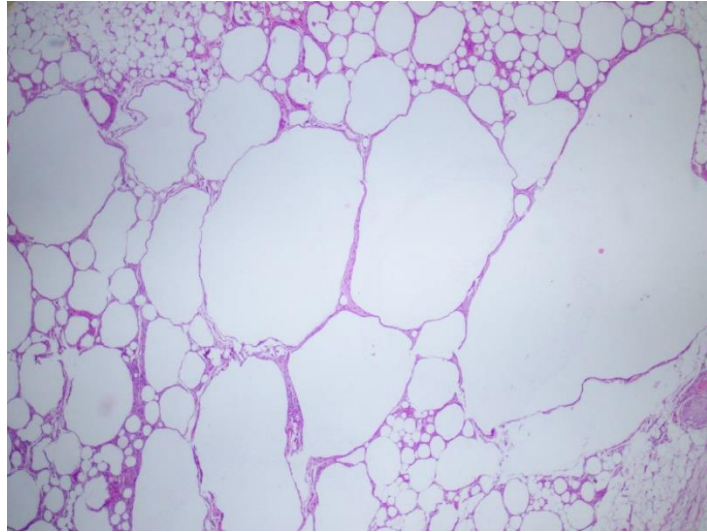
Resim 11: Hafif derecede inflamasyonun ışık mikroskopundaki görüntüsü



Resim 12: Şiddetli derecede inflamasyonun ışık mikroskopundaki görüntüsü



Resim 13: Hafif şiddette kist-vakuol oluşumunun ışık mikroskopundaki görüntüsü



Resim 14: Şiddetli kist-vakuol oluşumunun ışık mikroskopundaki görüntüsü

Tablo 4: Histopatolojik olarak normal yağ yüzdesi, kist-vakuol skoru, inflamasyon, nekrozis, fibrozis ve vasküler yoğunluğun verileri

Grup		Normal yağ yüzdesi	Kist-Vakuol skoru	İnflamasyon	Nekrozis	Fibrozis	Vasküler Yoğunluk
1	1	90	2	1	10	1	60
	2	70	3	1	30	2	18
	3	90	0	1	10	1	92
	4	90	3	2	10	1	43
	5	95	0	2	5	1	33
	6	70	1	1	30	1	58
	7	60	3	1	40	2	25
	8	95	2	2	5	2	34
2	1	100	0	0	0	0	30
	2	80	2	1	20	1	24
	3	60	3	1	40	1	27
	4	70	3	1	30	0	15
	5	80	1	2	20	0	20
	6	90	1	1	10	1	22
	7	80	1	3	20	1	24
	8	10	3	3	90	2	25
3	1	90	1	1	10	2	28
	2	60	3	2	40	3	16
	3	60	1	2	40	2	14
	4	60	2	2	40	2	32
	5	60	1	2	40	3	17
	6	70	2	2	30	2	20
	7	50	3	3	50	2	21
	8	80	2	2	20	1	10

Histopatolojik incelemeyle ulaşılan sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi (Tablo 5). İnflamasyon grup 1’de 5 adet sıçanda hafif, 3 adet sıçanda orta şiddette saptandı. İnflamasyon grup 2’de 4 sıçanda hafif, 1 sıçanda orta, 2 sıçanda şiddetli iken 1 sıçanda ise inflamasyon saptanmadı. Grup 3’te 1 sıçanda hafif, 6 sıçanda orta, 1 sıçanda şiddetli inflamasyon olduğu görüldü (Tablo 6). İstatistiksel olarak inflamasyon açısından 3 grup arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,162$).

Tablo 5: Histopatolojik verilerin analizi sonucunda 3 grup arasında nekrozis, vasküler yoğunluk ve fibrozis değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$).

	Test Statistics ^{a,b}					
	Normal Yağ	Kist-Vakuol	İnflamasyon	Nekrozis	Fibrozis	Vasküler Yoğunluk
Kruskal-Wallis H	4,779	,028	3,646	8,997	11,004	9,711
df	2	2	2	2	2	2
Asymp. Sig.	,092	,986	,162	,011	,004	,008

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Grup

Tablo 6: İnflamasyon skorlarının 3 gruptaki dağılımı

Değişken		Grup 1		Grup 2		Grup 3	
		Sayı	Yüzde(%)	Sayı	Yüzde(%)	Sayı	Yüzde(%)
İnflamasyon	Yok-0	0	0	1	12,5	0	0
	Hafif-1	5	62,5	4	50	1	12,5
	Orta-2	3	37,5	1	12,5	6	75
	Şiddetli-3	0	0	2	25	1	12,5

Kist-vakuol oluşumu grup 1’de 2 sıçanda saptanmadı, 1 sıçanda hafif, 2 sıçanda orta, 3 sıçanda şiddetli olarak bulundu. Grup 2’de kist-vakuol oluşumu 1 sıçanda saptanmadı, 3 sıçanda hafif, 1 sıçanda orta, 3 sıçanda şiddetli olarak bulundu. Grup 3’te kist-vakuol oluşumu 3 sıçanda hafif, 3 sıçanda orta, 2 sıçanda şiddetli olarak bulundu (Tablo 7). İstatistiksel olarak 3 grup arasında kist-vakuol oluşumu açısından anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,986$).

Tablo 7: Kist-vakuol oluşumunun 3 gruptaki dağılımı

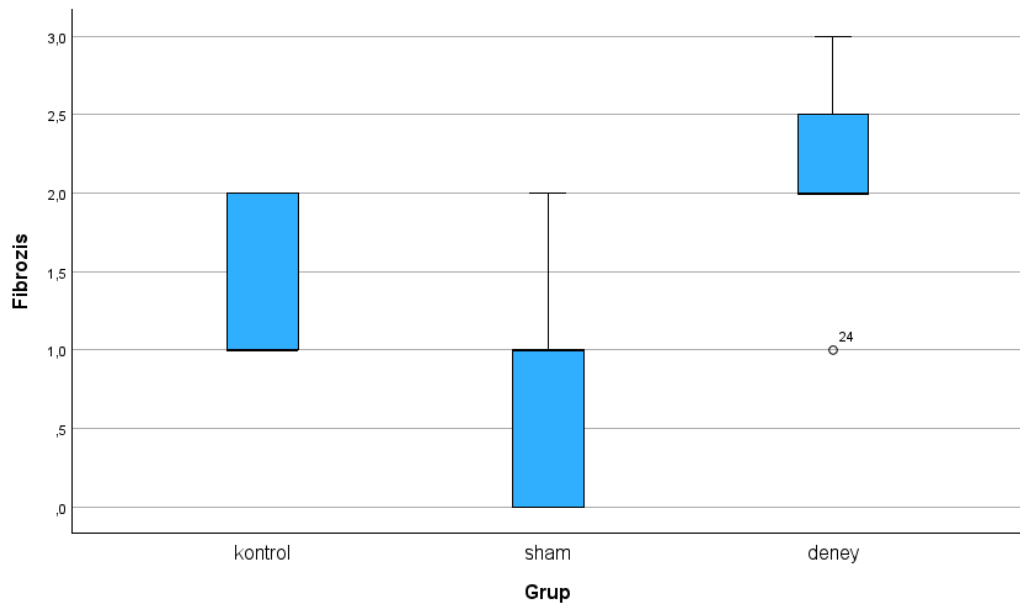
Değişken		Grup 1		Grup 2		Grup 3	
		Sayı	Yüzde(%)	Sayı	Yüzde(%)	Sayı	Yüzde(%)
Kist- Vakuol	Yok-0	2	25	1	12,5	0	0
	Hafif-1	1	12,5	3	37,5	3	37,5
	Orta-2	2	25	1	12,5	3	37,5
	Şiddetli- 3	3	37,5	3	62,5	2	25

Fibrozis oluşumu grup 1’de 5 sıçanda hafif, 3 sıçanda orta olarak saptandı. Grup 2’de fibrozis oluşumu 3 sıçanda saptanmaz iken 4 sıçanda hafif, 1 sıçanda orta şiddette görüldü. Grup 3’te 1 sıçanda hafif, 5 sıçanda orta, 2 sıçanda şiddetli fibrozis görüldü (tablo 8). 3 grup arasında fibrozis skorunun dağılımı değerlendirildi (tablo 9). Fibrozis açısından 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulundu ($p=0,004$). Mann-Whitney U testi ile kontrol ve deney grubu kendi arasında fibrozis için kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,028$). Deney grubu ile sham grubu fibrozis açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,004$). Sham grubu ile kontrol grubu fibrozis açısından kendi aralarında kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$) (tablo 10,11,12).

Tablo 8: Fibrozis oluşumunun 3 gruptaki dağılımı

Değişken		Grup 1		Grup 2		Grup 3	
		Sayı	Yüzde(%)	Sayı	Yüzde(%)	Sayı	Yüzde(%)
Fibrozis	Yok-0	0	0	3	37,5	0	0
	Hafif-1	5	62,5	4	50	1	12,5
	Orta-2	3	37,5	1	12,5	5	62,5
	Şiddetli-3	0	0	0	0	2	25

Tablo 9: Fibrozis yoğunluğunun 3 grup arasındaki sayısal verilerinin dağılımı



Tablo 10: Mann-Whitney U Testi ile kontrol ve sham grubundaki fibrozisin kıyaslanması

Ranks				
	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrozis	kontrol	8	10,44	83,50
	sham	8	6,56	52,50
	Total	16		

Test Statistics^a	
	Fibrozis
Mann-Whitney U	16,500
Wilcoxon W	52,500
Z	-1,817
Asymp. Sig. (2-tailed)	,069
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,105 ^b

a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

Tablo 11: Mann-Whitney U Testi ile kontrol ve deney grubundaki fibrozisin kıyaslanması

Ranks				
	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrozis	kontrol	8	6,13	49,00
	deney	8	10,88	87,00
	Total	16		

Test Statistics^a	
	Fibrozis
Mann-Whitney U	13,000
Wilcoxon W	49,000
Z	-2,199
Asymp. Sig. (2-tailed)	,028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,050 ^b

a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

Tablo 12: Mann-Whitney U Testi ile sham ve deney grubundaki fibrozisin kıyaslanması

Ranks				
	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibrozis	sham	8	5,19	41,50
	deney	8	11,81	94,50
Total		16		

Test Statistics^a	
	Fibrozis
Mann-Whitney U	5,500
Wilcoxon W	41,500
Z	-2,915
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,003 ^b

a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

Normal yağ dokusu yüzdesi grup 1'de minimum %60, maksimum %95, median değeri %90 bulundu. Grup 2'de normal yağ doku yüzdesi minimum %10, maksimum %100, median değeri %80 olarak değerlendirildi. Grup 3'te normal yağ dokusu yüzdesi minimum %50, maksimum %90, median değeri %60 olarak saptandı (Tablo 13). İstatistiksel olarak üç grup arasında anlamlı sonuç elde edilemedi ($p>0,05$).

Tablo 13: Normal yağ dokusunun minimum, maksimum, median değerlerinin 3 gruptaki dağılımı

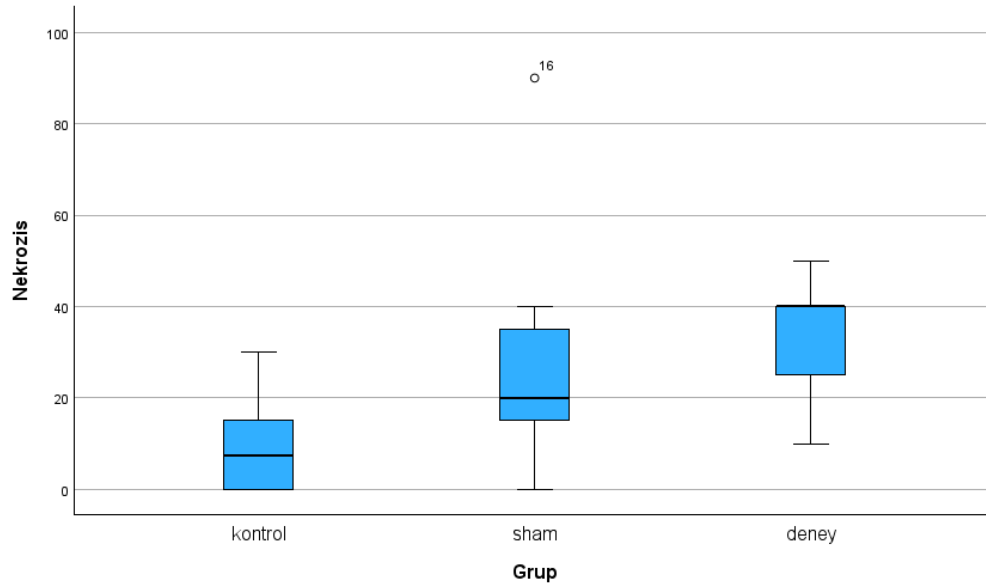
Normal yağ dokusu (%)	Minimum	Maksimum	Median
Grup 1	60	95	90
Grup 2	10	100	80
Grup 3	50	90	60

Nekrozis yüzdeleri grup 1’de minimum %5, maksimum %40, median değeri %10 olarak bulundu. Grup 2’de nekrozis yüzdeleri minimum değer %0, maksimum değer %90, median değer %20 bulundu. Grup 3’te ise nekrozis yüzdeleri minimum %10, maksimum %50, median değer %40 olarak saptandı (Tablo 14). Nekrozis yüzdelerinin dağılımı tablo 15’te sunulmuştur. 3 grup arasındaki nekrozis yüzdeleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,011$). Mann-Whitney U testi ile kontrol grubu ile sham grubundaki nekrozis oranları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=0,061$). Kontrol grubu ile deney grubu arasında nekrozis açısından anlamlı fark bulundu ($p=0,04$). Sham grubu ile deney grubu arasında nekrozis açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,216$) (Tablo 16-17-18).

Tablo 14: 3 grup arasında nekrozisin minimum, maksimum, median değerlerinin dağılımı

Nekrozis (%)	Minimum	Maksimum	Median
Grup 1	5	40	10
Grup 2	0	90	20
Grup 3	10	50	40

Tablo 15: Nekrozis yüzdesinin 3 grup arasındaki dağılımı



Tablo 16: Nekrozis yüzdesinin kontrol ve sham grubu arasında analizi

Ranks				
	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrozis	kontrol	8	6,31	50,50
	sham	8	10,69	85,50
	Total	16		

Test Statistics^a	
	Nekrozis
Mann-Whitney U	14,500
Wilcoxon W	50,500
Z	-1,873
Asymp. Sig. (2-tailed)	,061
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,065 ^b

a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

Tablo 17: Nekrozis yüzdesinin kontrol ve deney grubu arasında analizi

Ranks				
	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrozis	kontrol	8	5,13	41,00
	deney	8	11,88	95,00
	Total	16		

Test Statistics^a	
	Nekrozis
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	41,000
Z	-2,878
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,003 ^b

a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

Tablo 18: Nekrozis yüzdesinin sham ve deney grubu arasında analizi

Ranks			
Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrozis sham	8	7,06	56,50
deney	8	9,94	79,50
Total	16		

Test Statistics ^a	
	Nekrozis
Mann-Whitney U	20,500
Wilcoxon W	56,500
Z	-1,237
Asymp. Sig. (2-tailed)	,216
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,234 ^b

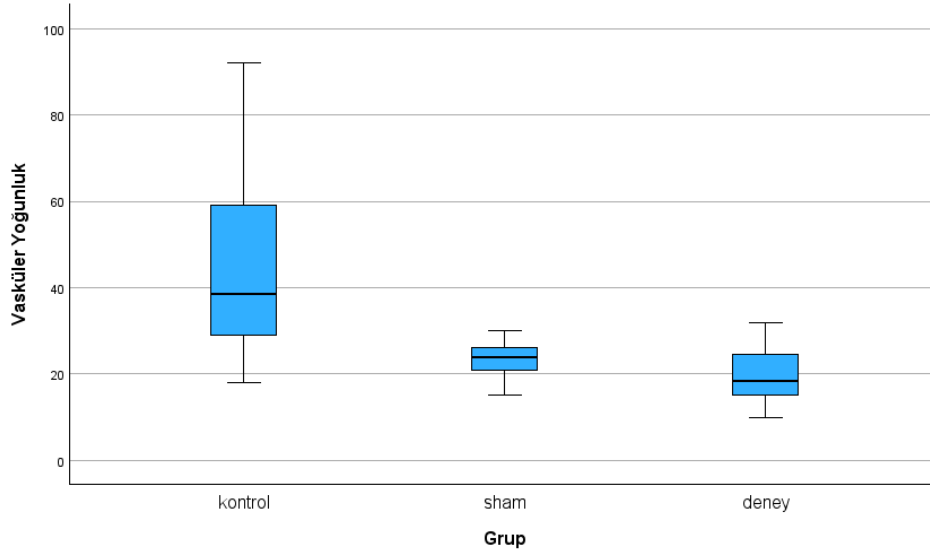
a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

Vasküler yoğunluk değeri grup 1’de minimum %18, maksimum %92, median değer %38,5 bulundu. Grup 2’de minimum %15, maksimum %30, median değer %24 olarak değerlendirildi. Grup 3’te minimum %10, maksimum %32, median değer %18,5 olarak değerlendirildi (tablo 19). Vasküler yoğunluğun 3 grup arasındaki dağılımı yapıldı (tablo 20). Veriler değerlendirildiğinde 3 grup arasındaki vasküler yoğunluk değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,008$). Mann-Whitney U testi ile 3 grup kendi arasında vasküler yoğunluk açısından kıyaslandı. Kontrol grubu ile sham grubu vasküler yoğunluk açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,018$) (tablo 21). Kontrol grubu ile deney grubu arasında vasküler yoğunluk açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,006$) (tablo 22). Sham grubu ile deney grubu arasında vasküler yoğunluk açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,226$) (tablo 23).

Tablo 19: Vasküler yoğunluğun 3 grup arasındaki minimum, maksimum ve median değerlerinin dağılımı

Vasküler yoğunluk(%)	Minimum	Maksimum	Median
Grup 1	18	92	38,5
Grup 2	15	30	24
Grup 3	10	32	18,5

Tablo 20: Vasküler yoğunluğun 3 grup arasındaki dağılımı



Tablo 21: Kontrol grubu ve sham grubu arasında vasküler yoğunluğun değerlendirilmesi

Ranks				
	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Vasküler Yoğunluk	kontrol	8	11,31	90,50
	sham	8	5,69	45,50
	Total	16		

Test Statistics ^a	
	Vasküler Yoğunluk
Mann-Whitney U	9,500
Wilcoxon W	45,500
Z	-2,366
Asymp. Sig. (2-tailed)	,018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,015 ^b

a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

Tablo 22: Kontrol grubu ve deney grubu arasında vasküler yoğunluğun değerlendirilmesi

Ranks				
	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Vasküler Yoğunluk	kontrol	8	11,75	94,00
	deney	8	5,25	42,00
	Total	16		

Test Statistics ^a	
	Vasküler Yoğunluk
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	42,000
Z	-2,731
Asymp. Sig. (2-tailed)	,006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,005 ^b

a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

Tablo 23: Sham ve deney grubu arasında vasküler yoğunluğun değerlendirilmesi

Ranks				
	Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Vasküler Yoğunluk	sham	8	9,94	79,50
	deney	8	7,06	56,50
	Total	16		

Test Statistics^a	
	Vasküler Yoğunluk
Mann-Whitney U	20,500
Wilcoxon W	56,500
Z	-1,210
Asymp. Sig. (2-tailed)	,226
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,234 ^b

a. Grouping Variable: Grup
b. Not corrected for ties.

5. TARTIŞMA:

Yağ greftleri dokuların hacminin artırılması, skarların düzeltilmesi, vücut konturlarının şekillendirilmesi gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yağ dokusunda, yüksek rejenerasyon ve farklılaşma kapasitesine sahip ADSC ve SVF hücrelerinin keşfedilmesiyle yağ grefti kullanımı üzerine birçok çalışma yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmasıyla yağ greftleri oldukça farklı alanlarda kullanılmıştır (20,40,47,75). Kolay elde edilebilmesi, uygulanmasının kolay olması ve tekrarlanabilir bir yöntem olması yağ grefti uygulamasının önemli avantajlarından. Otolog doku olduğu için yabancı cisim reaksiyonu görülmemektedir (1,2). Sayılan avantajların yanında ön görülemeyen greft kayıplarının olması ve buna bağlı olarak istenilen hacmin her zaman elde edilememesi ise yağ grefti uygulamalarının en büyük dezavantajlarıdır.

Plastik estetik ve rekonstrüktif cerrahi pratiğinde dokuların hacminin artırılmasında, skar düzeltilmesinde, vücut konturlarının şekillendirilmesinde ve vücut gençleştirme gibi alanlarda yağ greftleri sıkça kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda %10 ile %90 arasında değişen yağ grefti sağkalım oranları bildirilmiştir (76). Otolog yağ greftindeki adiposit yaşayabilirliğini artırmak için çok sayıda çalışma yapılmıştır (5). Fakat plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahi uygulamalarında kabul edilmiş standart bir uygulama henüz yoktur (3).

Avasküler durumda alıcı bölgeye aktarılan yağ greftinin neovaskülarizasyonu 2. ve 4. günlerde başlayıp periferik alanından santral alana doğru devam etmektedir. İlk 48 saat boyunca plazmatik imbibisyon ile beslenen greftin sadece en periferindeki hücreler beslenebilmektedir. Yeterince beslenemeyen adipositler ilk 24 saatte ölmektedir. Adiposit kökenli kök hücreler yağ dokusunda yer alan iskemiye en dayanıklı hücreler olmasına karşılık hipoksik şartlara en fazla 3 gün

dayanabilmektedir (42). Bu sebeplerle yağ greftinin sağkalımında greft alıcı sahasının kanlanması ve greft revaskülarizasyonu greft sağkalımında oldukça önemli etkenlerdir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarla yağ grefti uygulamasında alıcı sahasının seçimi, greftin alınma şekli, greftin işlenmesi ve alıcı sahaya uygulanma tekniği ile greftin sağkalımı arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. Greft uygulaması sonrasında alıcı sahada erken dönemde meydana gelen inflamasyon ve oksidatif stres greft sağkalımını olumsuz etkilemektedir. Yağ greftinin koyulmasıyla ilk aşamada oluşan hipoksi ve iskemi, dokuda reaktif oksijen radikallerini artırır. Oluşan reaktif oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu ile hücre membranında hasara neden olur. Bu hasara bağlı salınan kemotaktik mediatörler ile çekilen lökositler inflamatuvar süreci başlatır. İnflamasyona bağlı olarak greftin kanlanması azalır ve greft sağkalımı azalır. Bu nedenlerle yağ greftinin vaskülarizasyonunu artırmak için ve greftin neden olduğu lokal ve sistemik inflamasyonu azaltmak için pek çok farklı farmakolojik ajan ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Platelet-derived growth factor (PDGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), VEGF, EGF, platelet-rich plasma (PRP), aktive edilmiş M2 makrofajlar, matrix metalloproteinase-2, insülin, E vitamini, eritropoetin, deferoxamin, curcumin yağ grefti sağkalımını arttırmak için araştırılan ajanlara örneklerdir (4). Gillis ve arkadaşları antioksidan özelliği olduğu bilinen N-Asetil Sistein (NAC) ile yağ grefti sağkalımını arttırmak için araştırma yapmışlardır. NAC ile serbest oksijen radikalleri azalmakta ve ortamdaki oksidatif stres azalmaktadır. Bunun sonucunda olgunlaşan adipositlerin ve adiposit kökenli kök hücrelerin sağkalımında ve kök hücre çoğalmasında artış görülmüştür. Yağ greftinde hacim ve ağırlık kaybının azaldığı, fibrozis şiddetinin azaldığı saptanmıştır (77). Yang ve ark. tarafından yürütülen çalışmada anti-TNF- α uygulamasının, yağ greftindeki apoptozu azaltarak greft yaşayabilirliğini arttırdığı bulunmuştur (78).

Yağ grefti alıcı bölgeye taşındıktan sonra meydana gelen neovaskülarizasyonun kaynağının alıcı bölge olduğunu savunan görüşe karşılık neovaskülarizasyonun yağ greftinin kendisinden kaynaklandığını savunan çalışmalar da vardır. C57BL/6 ve C57BL/6-gfp fareleri üzerinde planlanan bir çalışmada inguinal bölgeden elde edilen yağ grefti makas ile kesilerek küçük parçalara bölünerek cilt altı dokuya verilmiştir. Postop 3. gün, 7. gün, 14. gün, 28. gün, 60. gün, 90. gün ve 120. günde örnekler alınıp immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Bu inceleme sonucunda greftteki vaskülarizasyonun alıcı sahadan köken aldığı bulunmuştur (57). Yapılan başka bir araştırmada insanlardan alınan 2 mililitrelik lipoaspirasyon materyali nude tie2/lacZ farelerin dorsumuna cilt altı planda Coleman'ın önerdiği teknikte enjekte edilmiştir. Postop 8. haftada alınan numuneler immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiş ve yağ greftlerindeki neovaskülarizasyonun yağ greftinden köken aldığı saptanmıştır (79). Ancak bu çalışmanın sonucu değerlendirilirken kullanılan yağ greftinin heterolog yağ grefti olduğu akılda tutulmalıdır. Greft alıcı sahasında kanlanmayı arttırmak için yapılan diğer bir araştırmada sıçanlarda yağ grefti uygulanacak alana 7 gün öncesinden mikroigneleme ile ön koşullandırma yapılmıştır. Yağ grefti uygulamasından 15 hafta sonra greftler incelendiğinde neovaskülarizasyonun mikroigneleme yapılmayan greftlere göre daha fazla olduğu görülmüştür (26). Ayrıca deney grubunda kontrol grubuna göre kist-vakuol oluşumu, inflamasyon, fibrozis daha düşük saptanırken greft sağkalımı daha yüksek bulunmuştur.

Literatürde yer alan çalışmalar göz önüne alındığında yağ greftlerinin yaşayabilirliğini arttırmak için yapılan araştırmaların çoğunda greftin yerleştirildiği bölgenin kanlanmasının arttırılmaya çalışıldığı görülmektedir (6). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda greft alıcı sahasına rhEGF uygulanarak yapılacak olan ön koşullandırma ile ilgili bölgedeki kanlanmanın arttırılarak greft sağkalımının

arttırılması hedeflenmiştir. Yağ grefti sağkalımını arttırmak için rhEGF ile ön koşullandırmanın bugüne kadar araştırılmadığı görülmüştür.

Nishimura ve arkadaşları araştırmalarında yağ greftlerindeki neovaskülarizasyonun 2. günde oluştuğunu ve yağ grefti ile birlikte VEGF verilerek bu sürenin daha da kısaltılabileceğini saptamışlardır (80). VEGF endotel hücre çoğalmasını ve diferansiyasyonunu indükleyerek anjiyogenezisi tetiklemektedir. Başka bir çalışmada Topçu ve arkadaşları greft alıcı sahasına 21 gün süreyle VEGF uygulayarak yapılan ön koşullandırmanın ardından yağ grefti uygulanan grup ve yağ grefti ile eş zamanlı VEGF uygulanan iki gruptaki yağ greftlerini incelemişlerdir. Deney sonucunda her iki grupta da yağ greftlerinin vaskülarizasyonunda ve sağkalım oranlarında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğunu saptamışlardır (81). Yi ve arkadaşları ise VEGF gen terapisi uygulanan yağ greftlerinde vaskülarizasyonda ve greft sağkalımında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış saptarken, kist-vakuol oluşumu ve fibrozis yoğunluğunda anlamlı derecede düşüş olduğunu saptamışlardır (82). Park ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 12 adet Yeni Zelanda beyaz tavşanından oluşturulan iki grupta her tavşanın sağ kulağında oluşturulan iki eş bölgeye yağ grefti ile aynı anda 0.5 ml normal salin uygulanırken sol kulakta oluşturulan iki eş bölgeye ise yağ grefti ile aynı anda 0.5 ml EGF uygulanmıştır. Postop birinci, ikinci, yedinci ve on dördüncü günlerde aynı bölgelere 0.5 ml normal salin ve EGF tekrar uygulandıktan sonra postop 3. ayda yağ greftleri eksize edilerek incelenmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda EGF uygulanan yağ greftlerinde sağkalım oranı %70 iken kontrol grubunda bu oran %56 bulunmuştur. Yağ grefti ile birlikte EGF uygulanmasının yağ grefti sağkalımını arttırdığı ve sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. EGF uygulanan yağ greftinde greft hacmi ve vasküler yoğunluk da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (6).

Literatürdeki in vivo yağ grefti çalışmaları göz önüne alındığında araştırmamızda sıçan kullanılmasına karar verilmiştir. Sıçanların yağ grefti sağkalımına ilişkin yapılan deneylerde sık tercih edilmesi ve maliyetinin diğer hayvanlara göre daha uygun olması sebebiyle bu karar alınmıştır. Daha önce sıçanlar ile yapılmış olan yağ grefti sağkalımına yönelik olan çalışmalardaki deney modellerinde greft donör sahası olarak inguinal bölgede yer alan yağ dokusu, alıcı saha olarak ise dorsal interskapüler bölge tercih edilmiştir (81). Biz de çalışmamızda inguinal bölgeden elde edilen yağ dokusunun çalışma için yeterli olması nedeniyle yağ dokusunu bu bölgeden elde ettik. Ayrıca dorsal interskapüler bölgede panniculus carnosus altındaki planın avasküler olmasına bağlı olarak çalışma kolaylığı sağlaması ve bu bölgede greft dışında başka yağ dokusunun bulunmaması diğer bir avantajlardır. Bu sayede yağ greftiyle yapılan değerlendirmelerin güvenilirliğinin artırılması planlanmıştır. 8. haftada preadipositlerin çoğunun olgun adipositlere dönüşmesi ve adipogenezin tamamlanması nedeniyle çalışmamızda postop 8. haftada yağ greftlerinin değerlendirilmesi yapılmıştır.

Bizim çalışmamızın sonucunda yapılan histopatolojik değerlendirmelerde 3 deney grubu arasında nekrozis, fibrozis ve vasküler yoğunluk oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken, kist-vakuol oluşumu, inflamasyon şiddeti ve normal yağ yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Nekrozis şiddeti kontrol grubundaki sıçanlarda en düşük düzeyde saptanırken deney grubunda en yüksek düzeyde saptanmıştır. Deney grubu ile kontrol grubu arasındaki nekrozis şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre rhEGF ile yapılan ön koşullandırmanın yağ greftinde nekrozis şiddetini artırarak greft yaşayabilirliğini azalttığı görülmektedir. Fakat bu etkinin ilacın kendisinden mi kaynaklandığını yoksa enjeksiyon ile

meydana gelen mekanik travmaya mı bağılı olduğunu anlayabilmek için ileri incelemelerin yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Fibrozis skoru deney grubunda en yüksek saptanırken sham grubunda en düşük saptanmıştır. Deney grubu ve kontrol grubu arasında fibrozis skorunda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Ayrıca sham grubu ve deney grubu arasında da fibrozis skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur. Bu sonuca göre rhEGF ile yapılan ön koşullandırmanın yağ greftinde fibrozisi arttırdığı görülmektedir.

Vasküler yoğunluk oranı kontrol grubunda en yüksek saptanırken deney grubunda en düşük saptanmıştır. Kontrol grubu ile hem sham grubu hem de deney grubu arasında vasküler yoğunluk oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur. Sham grubu ile deney grubu arasındaki vasküler yoğunluk şiddetinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuçlara göre rhEGF ile ön koşullandırmanın greft alıcı sahasında vasküler yoğunluğu arttırmadığı saptanmıştır. rhEGF'nin neovaskülarizasyonu uyardığı ve daha önce yapılan çalışmalarda yağ grefti ile birlikte rhEGF uygulanmasının greft vaskülarizasyonunu ve greft yaşayabilirliğini arttırdığı göz önüne alındığında çalışmamızdaki sonuçlar rhEGF'nin beklenen etkiyi yapmadığını göstermektedir. Çalışmamızda tek doz 0.5 ml (7.5 µg) subkutan rhEGF uygulanmış olmasının beklenen etkinin gerçekleşmesi için yetersiz olabileceğini ve daha yüksek dozda veya tekrarlayan dozlarda yapılan uygulamalarla daha ileri araştırmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Kist-vakuol oluşumları kıyaslandığında 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olmadığı görülmüştür.

İnflamasyon skoru sham grubunda en yüksek saptanırken kontrol grubunda en düşük saptanmıştır. Kontrol grubunda diğer gruplara göre inflamasyon

skorunun daha düşük saptanması, greft alıcı sahasına yapılan enjeksiyon ile oluşan mekanik travma sonucunda yağ greftindeki inflamasyonun artabileceğini ve bu etkiyle greft sağkalımının olumsuz etkilenebileceğini düşündürse de 3 grup arasında inflamasyon skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Normal yağ oranı kontrol grubunda en yüksek saptanırken deney grubunda en düşük saptanmıştır. Kontrol grubu, deney grubu ve sham grubu arasında normal yağ oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Yağ greftlerinin işlem sonrasındaki ağırlıkları kıyaslandığında 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Ağırlık ölçümlerinin 0.1 gramdan daha hassas ölçüm yapılabilen bir tartı ile yapılması halinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçların elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi pratiğinde yağ grefti uygulamalarında elde edilen greftler enjektör veya kanül ile küçük parçalar halinde uygulanırken çalışmamızda sıçanlara yağ greftleri büyük tek parça halinde uygulanmıştır. Bu farklılık çalışmanın kısıtlılığı olarak görülmektedir. rhEGF' nin yağ greftine olan etkilerinin klinik uygulamalara uyarlanabilmesi için ek çalışmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir. Çalışmamızın bir diğer kısıtlılığı ise yağ greftlerinin ağırlıkları değerlendirilirken kullanılan hassas tartının 0.1 grama duyarlı olmasıdır. Daha hassas ağırlık ölçümü yapabilen tartı kullanılması halinde greftlerin işlem sonrasındaki ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi uygulamalarında yağ greftlerinin oldukça geniş ve önemli kullanım alanları mevcuttur. Yağ grefti uygulamalarının en önemli dezavantajlarından birisi greft yaşayabilirliğinin ön görülememesidir. Yağ grefti ile ilişkili olan çalışmaların büyük kısmı greft yaşayabilirliğini arttırmaya yönelik olarak yapılmıştır. Çalışmamızda greft alıcı sahasında kanlanmayı arttırarak greft yaşayabilirliğinin artırılması hedeflenmiştir. Çalışma sonucunda ulaşılan bulgulara göre 3 grup arasında greft ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. rhEGF ile alıcı sahada yapılan ön koşullandırmanın greft kanlanmasını azalttığı ve nekrozis ile fibrozisi arttırdığı bulunmuştur. Bu nedenle rhEGF ile yapılan ön koşullandırmanın greft yaşayabilirliğini arttırmadığı düşünülmektedir. Literatürde daha önce yapılan araştırmalarda VEGF ile yapılan ön koşullandırmanın greft yaşayabilirliğini arttırdığı ve greft ile eş zamanlı uygulanan EGF ile greft yaşayabilirliğini arttırdığı bilinmektedir. Buna göre rhEGF ile ön koşullandırma yapılırken tek doz uygulamanın yetersiz olduğu fakat daha yüksek dozlarda veya tekrarlayan dozlarda rhEGF uygulanmasının yağ grefti yaşayabilirliğini arttırabileceği düşünülmektedir. Bu konuda ileri araştırmaların yapılması gerektiği görülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Coleman SR. Structural fat grafting: more than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Sep;118(3 Suppl):108S-120S. doi: 10.1097/01.prs.0000234610.81672.e7. PMID: 16936550.
2. Alghoul M, Mendiola A, Seth R, Rubin BP, Zins JE, Calabro A, Siemionow M, Kusuma S. The effect of hyaluronan hydrogel on fat graft survival. *Aesthet Surg J.* 2012 Jul;32(5):622-33. doi: 10.1177/1090820X12448794. PMID: 22745452.
3. Pu LL. Mechanisms of Fat Graft Survival. *Ann Plast Surg.* 2016 Feb;77 Suppl 1:S84-6. doi: 10.1097/SAP.0000000000000730. PMID: 26808753.
4. Temiz G, Sirinoglu H, Yesiloglu N, Filinte D, Kaçmaz C. Effects of Deferoxamine on Fat Graft Survival. *Facial Plast Surg.* 2016 Aug;32(4):438-43. doi: 10.1055/s-0036-1584236. Epub 2016 Aug 5. PMID: 27494589.
5. Kim J, Park M, Jeong W, Lee HW, Lee G, Suk Lee K, Park SW, Choi J. Recipient-Site Preconditioning with Deferoxamine Increases Fat Graft Survival by Inducing VEGF and Neovascularization in a Rat Model. *Plast Reconstr Surg.* 2019 Oct;144(4):619e-629e. doi: 10.1097/PRS.00000000000006036. PMID: 31568298.
6. Park B, Kong JS, Kang S, Kim YW. The effect of epidermal growth factor on autogenous fat graft. *Aesthetic Plast Surg.* 2011 Oct;35(5):738-44. doi: 10.1007/s00266-011-9679-y. Epub 2011 Apr 1. PMID: 21461630.
7. Kling RE, Mehrara BJ, Pusic AL, Young VL, Hume KM, Crotty CA, Rubin JP. Trends in autologous fat grafting to the breast: a national survey of the american society of plastic surgeons. *Plast Reconstr Surg.* 2013 Jul;132(1):35-46. doi: 10.1097/PRS.0b013e318290fad1. PMID: 23806907.

8. Cypess AM. Reassessing Human Adipose Tissue. *N Engl J Med*. 2022 Feb 24;386(8):768-779. doi: 10.1056/NEJMra2032804. PMID: 35196429.
9. Frühbeck G, Gómez-Ambrosi J, Muruzábal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001 Jun;280(6):E827-47. doi: 10.1152/ajpendo.2001.280.6.E827. PMID: 11350765.
10. Xiong BJ, Tan QW, Chen YJ, Zhang Y, Zhang D, Tang SL, Zhang S, Lv Q. The Effects of Platelet-Rich Plasma and Adipose-Derived Stem Cells on Neovascularization and Fat Graft Survival. *Aesthetic Plast Surg*. 2018 Feb;42(1):1-8. doi: 10.1007/s00266-017-1062-1. Epub 2018 Jan 4. PMID: 29302732.
11. Ergün A. Yağ hücresi ve salgı ürünlerinin fonksiyonları. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2003; 56(3): 179-88.
12. Junqueira L. C, Carneiro J. , Kelley R. O. Temel histoloji. İç: AYTEKİN Y, editör. Yağ dokusu. İstanbul:Barış Kitabevi/Appleton&Lange;1998. s. 129
13. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci*. 2013 Apr 20;9(2):191-200. doi: 10.5114/aoms.2013.33181. Epub 2013 Feb 10. PMID: 23671428; PMCID: PMC3648822
14. Corrales P, Vidal-Puig A, Medina-Gómez G. PPARs and Metabolic Disorders Associated with Challenged Adipose Tissue Plasticity. *Int J Mol Sci*. 2018 Jul 21;19(7):2124. doi: 10.3390/ijms19072124. PMID: 30037087; PMCID: PMC6073677.

15. Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: The tale of an obesity gene, *Diabetes* 1996 45 : 1455-1462. doi: 10.2337/diab.45.11.1455. PMID: 8866547
16. Tran TT, Kahn CR. Transplantation of adipose tissue and stem cells: role in metabolism and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2010 Apr;6(4):195-213. doi: 10.1038/nrendo.2010.20. PMID: 20195269; PMCID: PMC4362513.
17. Strem BM, Hicok KC, Zhu M, Wulur I, Alfonso Z, Schreiber RE, Fraser JK, Hedrick MH. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med.* 2005 Sep;54(3):132-41. doi: 10.2302/kjm.54.132. PMID: 16237275
18. Heimburg DV, Hemmrich K, Haydarlioglu S, Staiger H, Pallua N. Comparison of viable cell yield from excised versus aspirated adipose tissue. *Cells Tissues Organs* 178: 87, 2004. PMID: 15604532
19. Guilak F, Lott KE, Awad HA, Cao Q, Hicok KC, Fermor B. Clonal analysis of the differentiation potential of human adipose-derived adult stem cells. *J. Cell. Physiol.* 206: 229, 2006. doi: 10.1002/jcp.20463. PMID: 16021633
20. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP, Hedrick MH. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 7: 211, 2001. doi: 10.1089/107632701300062859. PMID: 11304456
21. Justesen J, Pedersen SB, Stenderup K, Kassem M. Subcutaneous adipocytes can differentiate into bone-forming cells in vitro and in vivo. *Tissue Eng.* 10: 381, 2004. doi: 10.1089/107632704323061744. PMID: 15165455

22. Rigotti G, Marchi A, Galie M, Baroni G, Benati D, Krampera M, Pasini A, Sbarbati A. Clinical treatment of radiotherapy tissue damages by lipoaspirates transplant: A healing process mediated by adipose derived stem cells (ascs). *Plast. Reconstr. Surg.* 2007 Apr 15;119(5):1409-1422 doi: 10.1097/01.prs.0000256047.47909.71. PMID: 17415234
23. Crandall DL, Hausman GJ, and Kral JG. A review of the microcirculation of adipose tissue: anatomic, metabolic, and angiogenic perspectives. *Microcirculation* 4: 211232, 1997 doi: 10.3109/10739689709146786. PMID: 9219215
24. Bouloumie´ A, Drexler HC, Lafontan M, Busse R. Leptin, the product of Ob gene, promotes angiogenesis. *Circ Res* 1998; 83: 1059–1066 doi: 10.1161/01.res.83.10.1059. PMID: 9815153
25. Bouloumie´ A, Sengene`s C, Portolan G, Galitzky J, Lafontan M. Adipocyte produces matrix metalloproteinases 2 and 9: involvement in adipose differentiation. *Diabetes* 2001; 50: 2080–2086. doi: 10.2337/diabetes.50.9.2080 PMID: 11522674
26. Sezgin B, Ozmen S, Bulam H, Omeroglu S, Yuksel S, Cayci B, Peker T. Improving fat graft survival through preconditioning of the recipient site with microneedling. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014 May;67(5):712-20. doi: 10.1016/j.bjps.2014.01.019. Epub 2014 Jan 23. PMID: 24529693.
27. Evans BGA, Gronet EM, Saint-Cyr MH. How Fat Grafting Works. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2020 Jul 14;8(7):e2705. doi: 10.1097/GOX.0000000000002705. PMID: 32802628; PMCID: PMC7413772

28. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D, Sato T, Takaki Y, Aiba-Kojima E, Sato K, Inoue K, Nagase T, Koshima I, Gonda K. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol* 2006 Jul;208(1):64-76. doi: 10.1002/jcp.20636. PMID: 16557516
29. Yoshimura, K. Cell-Assisted Lipotransfer for Breast Augmentation: Grafting of Progenitor-Enriched Fat Tissue. In: Shiffman, M. (eds) *Autologous Fat Transfer*. Springer, Berlin, Heidelberg 2010. https://doi.org/10.1007/978-3-642-00473-5_34
30. Zielins ER, Brett EA, Longaker MT, Wan DC. Autologous Fat Grafting: The Science Behind the Surgery. *Aesthet Surg J*. 2016 Apr;36(4):488-96. doi: 10.1093/asj/sjw004. PMID: 26961989; PMCID: PMC5006291
31. Billings E Jr, May JW Jr. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg*. 1989 Feb;83(2):368-81. doi: 10.1097/00006534-198902000-00033. PMID: 2643129
32. Jia H, Zhang J, Kong L, Lu B, Niu Q, Jin D, et al. Application of Platelet-Rich Fibrin (PRF) in Oral and Maxillofacial Autologous Fat Transplantation. *World J Surg Surgical Res*. 2021; 4: 1352. doi: 10.25107/2637-4625
33. Bellini E, Grieco MP, Rapisio E, The science behind autologous fat grafting, *Annals of Medicine and Surgery* 2017 Dec; 24: 65–73. doi: 10.1016/j.amsu.2017.11.001. PMID: 29188051
34. Bellini E, Grieco MP, Rapisio E. A journey through liposuction and liposculture: Review. *Annals of Medicine & Surgery* 24():p 53-60, December 2017. doi: 10.1016/j.amsu.2017.10.024. PMID: 29158895

35. Ellenbogen R. Free autogenous pearl fat grafts in the face--a preliminary report of a rediscovered technique. *Ann Plast Surg.* 1986 Mar;16(3):179-94. doi: 10.1097/00000637-198603000-00001. PMID: 3273033.
36. Bircoll M. Cosmetic breast augmentation utilizing autologous fat and liposuction techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1987 Feb;79(2):267-71. doi: 10.1097/00006534-198702000-00022. PMID: 3809274.
37. Toledo LS. Syringe liposculpture. *Clin Plast Surg.* 1996; 23: 683-693 doi: [https://doi.org/10.1016/S0094-1298\(20\)32564-5](https://doi.org/10.1016/S0094-1298(20)32564-5)
38. Fournier PF. Facial recontouring with fat grafting. *Dermatol Clin.* 1990 Jul;8(3):523-37. PMID: 2379336.
39. Coleman SR, Facial Recontouring with Lipostructure, *Clinics in Plastic Surgery*, Volume 24, Issue 2,,1997,Pages 347-367. doi: [https://doi.org/10.1016/S0094-1298\(20\)31069-5](https://doi.org/10.1016/S0094-1298(20)31069-5). PMID: 9142473
40. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell.* 2002 Dec;13(12):4279-95. doi: 10.1091/mbc.e02-02-0105. PMID: 12475952; PMCID: PMC138633.
41. Piasecki JH, Gutowski KA, Lahvis GP, Moreno KI. An experimental model for improving fat graft viability and purity. *Plast Reconstr Surg.* 2007 Apr 15;119(5):1571-1583. doi: 10.1097/01.prs.0000256062.74324.1c. PMID: 17415252.
42. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, Yoshimura K. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg.* 2012 May;129(5):1081-1092. doi: 10.1097/PRS.0b013e31824a2b19. PMID: 22261562.

43. Kato H, Mineda K, Eto H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, Kanayama K, Yoshimura K. Degeneration, Regeneration, and Cicatrization after Fat Grafting: Dynamic Total Tissue Remodeling during the First 3 Months. *Plastic and Reconstructive Surgery* 133(3):p303e-313e, March 2014. doi: 10.1097/PRS.0000000000000066 PMID: 24572875
44. Shih L, Davis MJ, Winocour SJ. The Science of Fat Grafting. *Semin Plast Surg.* 2020 Feb;34(1):5-10. doi: 10.1055/s-0039-3402073. Epub 2020 Feb 15. PMID: 32071573; PMCID: PMC7023968.
45. Mashiko T, Yoshimura K. How does fat survive and remodel after grafting? *Clin Plast Surg.* 2015 Apr;42(2):181-90. doi: 10.1016/j.cps.2014.12.008. Epub 2015 Jan 29. PMID: 25827562.
46. Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Aoi N. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. *Regen Med.* 2011 Nov;6(6 Suppl):33-41. doi: 10.2217/rme.11.62. PMID: 21999260.
47. Khouri RK Jr, Khouri RK. Current Clinical Applications of Fat Grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2017 Sep;140(3):466e-486e. doi: 10.1097/PRS.0000000000003648. PMID: 28582333.
48. Pearl RA, Leedham SJ, Pacifico MD. The safety of autologous fat transfer in breast cancer: lessons from stem cell biology. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2012 Mar;65(3):283-8. doi: 10.1016/j.bjps.2011.07.017. Epub 2011 Aug 4. PMID: 21820375; PMCID: PMC6485453.
49. Emmanuel Delay, Raphaël Sinna, Christophe Ho Quoc, Tuberos Breast Correction by Fat Grafting, *Aesthetic Surgery Journal*, Volume 33, Issue 4, May 2013, Pages 522–528, <https://doi.org/10.1177/1090820X13480641> PMID: 23636625

50. Delay E, Sinna R, Chekaroua K, Delaporte T, Garson S, Toussoun G. Lipomodeling of Poland's syndrome: a new treatment of the thoracic deformity. *Aesthetic Plast Surg*. 2010 Apr;34(2):218-25. doi: 10.1007/s00266-009-9428-7. Epub 2009 Nov 10. PMID: 19902135.
51. Quoc CH, Delaporte T, Meruta A, La Marca S, Toussoun G, Delay E. Breast asymmetry and pectus excavatum improvement with fat grafting. *Aesthet Surg J*. 2013 Aug 1;33(6):822-9. doi: 10.1177/1090820X13493907. PMID: 23908301.
52. Simonacci F, Grieco MP, Bertozzi N, Raposio E. Autologous fat transplantation for secondary breast reconstruction: our experience. *G Chir*. 2017 May-Jun;38(3):117-123. doi: 10.11138/gchir/2017.38.3.117. PMID: 29205140; PMCID: PMC5726497.
53. Hudson DA, Lambert EV, Bloch CE. Site selection for fat autotransplantation: some observations. *Aesthetic Plast Surg*. 1990 Summer;14(3):195-7. doi: 10.1007/BF01578349. PMID: 2399850.
54. Lim AA, Fan K, Allam KA, Wan D, Tabit C, Liao E, Kawamoto HK, Bradley JP. Autologous fat transplantation in the craniofacial patient: the UCLA experience. *J Craniofac Surg*. 2012 Jul;23(4):1061-6. doi: 10.1097/SCS.0b013e31824e695b. PMID: 22777454.
55. Small K, Choi M, Petruolo O, Lee C, Karp N. Is there an ideal donor site of fat for secondary breast reconstruction? *Aesthet Surg J*. 2014 May 1;34(4):545-50. doi: 10.1177/1090820X14526751. Epub 2014 Mar 6. PMID: 24604787.
56. Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B. The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques. *Plast Reconstr Surg*. 2015 Oct;136(4):897-912. doi: 10.1097/PRS.0000000000001590. PMID: 26086386; PMCID: PMC4833505.

57. Zhao J, Yi C, Li L, Zheng Y, Wu K, Liang L, Xia W, Guo S. Observations on the survival and neovascularization of fat grafts interchanged between C57BL/6-gfp and C57BL/6 mice. *Plast Reconstr Surg.* 2012 Sep;130(3):398e-406e. doi: 10.1097/PRS.0b013e31825dbfd3. PMID: 22575853.
58. Crawford JL, Hubbard BA, Colbert SH, Puckett CL. Fine tuning lipoaspirate viability for fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Oct;126(4):1342-1348. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181ea44a9. PMID: 20885257.
59. Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson REH Jr, Vasconez HC. Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study. *Plast Reconstr Surg.* 2008 Sep;122(3):932-937. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181811ff0. PMID: 18766062.
60. Smith P, Adams WP Jr, Lipschitz AH, Chau B, Sorokin E, Rohrich RJ, Brown SA. Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival. *Plast Reconstr Surg.* 2006 May;117(6):1836-44. doi: 10.1097/01.prs.0000218825.77014.78. PMID: 16651956.
61. Keck M, Kober J, Riedl O, Kitzinger HB, Wolf S, Stulnig TM, Zeyda M, Gugerell A. Power assisted liposuction to obtain adipose-derived stem cells: impact on viability and differentiation to adipocytes in comparison to manual aspiration. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014 Jan;67(1):e1-8. doi: 10.1016/j.bjps.2013.08.019. Epub 2013 Sep 3. PMID: 24094617.
62. Klein JA. The Tumescent Technique for Lipo-Suction Surgery. *The American Journal of Cosmetic Surgery.* 1987;4(4):263-267. doi:10.1177/074880688700400403

63. Agostini T, Lazzeri D, Pini A, Marino G, Li Quattrini A, Bani D, Dini M. Wet and dry techniques for structural fat graft harvesting: histomorphometric and cell viability assessments of lipoaspirated samples. *Plast Reconstr Surg*. 2012 Aug;130(2):331e-339e. doi: 10.1097/PRS.0b013e3182589f76. PMID: 22495217.
64. Rose JG Jr, Lucarelli MJ, Lemke BN, Dortzbach RK, Boxrud CA, Obagi S, Patel S. Histologic comparison of autologous fat processing methods. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*. 2006 May-Jun;22(3):195-200. doi: 10.1097/01.iop.0000217710.09941.10. PMID: 16714929.
65. Butterwick KJ. Lipoaugmentation for aging hands: a comparison of the longevity and aesthetic results of centrifuged versus noncentrifuged fat. *Dermatol Surg*. 2002 Nov;28(11):987-91. doi: 10.1046/j.1524-4725.2002.02096.x. PMID: 12460290.
66. Botti G, Pascali M, Botti C, Bodog F, Cervelli V. A clinical trial in facial fat grafting: filtered and washed versus centrifuged fat. *Plast Reconstr Surg*. 2011 Jun;127(6):2464-2473. doi: 10.1097/PRS.0b013e3182131d5d. PMID: 21617480.
67. Maione L, Vinci V, Klinger M, Klinger FM, Caviggioli F. Autologous fat graft by needle: analysis of complications after 1000 patients. *Ann Plast Surg*. 2015 Mar;74(3):277-80. doi: 10.1097/SAP.0000000000000050. PMID: 25003414.
68. Wong WR, Lam E, Huang RC, Wong RS, Morris C, Hackett J. Applications, and efficient large-scale production, of recombinant human epidermal growth factor. *Biotechnol Genet Eng Rev*. 2001;18:51-71. doi: 10.1080/02648725.2001.10648008. PMID: 11530698.
69. Boonstra J. The epidermal growth factor. *Cell Biol Int*. 1995;19(5):413-430. doi:10.1006/cbir.1995.1086 PMID: 7640657

70. Berlanga J, Fernández JI, López E, López PA, del Río A, Valenzuela C, Baldomero J, Muzio V, Raíces M, Silva R, Acevedo BE, Herrera L. Heberprot-P: a novel product for treating advanced diabetic foot ulcer. *MEDICC Rev.* 2013 Jan;15(1):11-5. doi: 10.37757/MR2013V15.N1.4. PMID: 23396236.
71. Fernández-Montequín JI, Betancourt BY, Leyva-Gonzalez G, Mola EL, Galán-Naranjo K, Ramírez-Navas M, Bermúdez-Rojas S, Rosales F, García-Iglesias E, Berlanga-Acosta J, Silva-Rodriguez R, Garcia-Siverio M, Martinez LH. Intralesional administration of epidermal growth factor-based formulation (Heberprot-P) in chronic diabetic foot ulcer: treatment up to complete wound closure. *Int Wound J.* 2009 Feb;6(1):67-72. doi: 10.1111/j.1742-481X.2008.00561.x. PMID: 19291119; PMCID: PMC7951202.
72. Buckley A, Davidson JM, Kamerath CD, Woodward SC. Epidermal growth factor increases granulation tissue formation dose dependently. *J Surg Res.* 1987 Oct;43(4):322-8. doi: 10.1016/0022-4804(87)90088-6. PMID: 3498859.
73. Hong JP, Park SW. The combined effect of recombinant human epidermal growth factor and erythropoietin on full-thickness wound healing in diabetic rat model. *Int Wound J.* 2014 Aug;11(4):373-8. doi: 10.1111/j.1742-481X.2012.01100.x. Epub 2012 Oct 19. PMID: 23078553; PMCID: PMC7950853.
74. Viswanathan V, Juttada U, Babu M. Efficacy of Recombinant Human Epidermal Growth Factor (Regen-D 150) in Healing Diabetic Foot Ulcers: A Hospital-Based Randomized Controlled Trial. *Int J Low Extrem Wounds.* 2020 Jun;19(2):158-164. doi: 10.1177/1534734619892791. Epub 2019 Dec 26. PMID: 31878810.
75. Gir P, Oni G, Brown SA, Mojallal A, Rohrich RJ. Human adipose stem cells: current clinical applications. *Plast Reconstr Surg.* 2012 Jun;129(6):1277-1290. doi: 10.1097/PRS.0b013e31824ecae6. PMID: 22634645.

76. Modarressi A. Platelet Rich Plasma (PRP) Improves Fat Grafting Outcomes. *World J Plast Surg*. 2013 Jan;2(1):6-13. PMID: 25489498; PMCID: PMC4238337.
77. Gillis J, Gebremeskel S, Phipps KD, MacNeil LA, Sinal CJ, Johnston B, Hong P, Bezuhly M. Effect of N-Acetylcysteine on Adipose-Derived Stem Cell and Autologous Fat Graft Survival in a Mouse Model. *Plast Reconstr Surg*. 2015 Aug;136(2):179e-188e. doi: 10.1097/PRS.0000000000001443. PMID: 26218392.
78. Yang M, Zhang F, Sailes FC, Zhang EW, Lin S, Das SK. Role of anti-TNF- α therapy in fat graft preservation. *Ann Plast Surg*. 2012 May;68(5):531-5. doi: 10.1097/SAP.0b013e31821deb1b. PMID: 21629060.
79. Thanik VD, Chang CC, Lerman OZ, Allen RJ Jr, Nguyen PD, Saadeh PB, Warren SM, Levine JP, Coleman SR, Hazen A. A murine model for studying diffusely injected human fat. *Plast Reconstr Surg*. 2009 Jul;124(1):74-81. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181a80509. PMID: 19568047.
80. Nishimura T, Hashimoto H, Nakanishi I, Furukawa M. Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts. *Laryngoscope*. 2000 Aug;110(8):1333-8. doi: 10.1097/00005537-200008000-00021. PMID: 10942136.
81. Topcu A, Aydin OE, Ünlü M, Barutcu A, Atabey A. Increasing the viability of fat grafts by vascular endothelial growth factor. *Arch Facial Plast Surg*. 2012 Jul-Aug;14(4):270-6. doi: 10.1001/archfacial.2011.1633. PMID: 22351845.
82. Yi CG, Xia W, Zhang LX, Zhen Y, Shu MG, Han Y, Guo SZ. VEGF gene therapy for the survival of transplanted fat tissue in nude mice. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2007;60(3):272-8. doi: 10.1016/j.bjps.2006.01.052. Epub 2006 Jun 15. PMID: 17293285.