

T C

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ

ANABİLİM DALI

**RADYOTERAPİYE BAĞLI HASARLI ALANDA ERKEN DÖNEMDE
UYGULANAN YAĞ GREFTİNİN CİLT KALİTESİNE ETKİSİ**

Dr. İbrahim Utku ÖZCAN

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Aycan Uğur KAYIKÇIOĞLU

ANKARA

2014

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimimin başından itibaren her zaman sevgi, bilgi ve deneyimleriyle yanımda olan, tez hazırlama süresince desteğini hep hissettiğim, birlikte çalışmaktan onur duyduğum hocam ve tez yöneticim değerli **AYCAN KAYIKÇIOĞLU**'na

Birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım, güler yüzünü ve bilgi birikimini benden esirgemeyen sevgili **GÖZDE YAZICI**'ya

Tezimin histopatolojik çalışmasını yürüten, hoş görü ve sabrından dolayı değerli hocam **PERGİN ATILLA**'ya; çalışmanın başından sonuna kadar sonsuz emeği bulunan, anlayış ve sabrından dolayı sevgili **EMİNE RÜMEYSA HEKİMOĞLU**'na,

Her zaman bilgisinden yararlandığım, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, önerileriyle yaptığı katkılarından dolayı **ÖMER EKİN** abime, deneyler sırasında beni yalnız bırakmayan **DİCLE AKSÖYLER**'e

Eğitimimz için hiçbir fedakarlığı esirgemeyen başta anabilim dalı başkanımız değerli **FİGEN ÖZGÜR**'e, tecrübeleri ile bana ve tüm çalışma arkadaşlarıma her zaman yol gösterici olan, yetişmemizde büyük katkı ve emeği bulunan tüm değerli hocalarıma

Değerli fikirleriyle bu çalışmaya ışık tutan tez savunma jürisi değerli **TUNÇ ŞAFAK** ve **OSMAN LATİFOĞLU**'na

İstatistiksel analizleri yapan **EDA KARAIŞMAİLOĞLU**'na

Hayvan deneyleri süresince ve fotoğraf çekimlerinde bana büyük yardımı olan **EMİNE ÖZARICI**'ya, bana hayatımın her alanında her dakikasında destek olan, deney aşamasında da beni yalnız bırakmayan eşim **NEŞE ÖZCAN**'a

Deneyleri gerçekleştirmem sırasında emeği geçen radyasyon onkolojisi teknisyenlerine, hayvan deneyleri laboratuvar ve bakım ekibine, histoloji ve embriyoloji bölümü teknisyenlerine değerli yardımları için

Kendilerinden çok şeyler vererek tüm zor şartlar altında beni yetiştiren ve hekimlik mesleğini seçmeme vesile olan ilk öğretmenim annem **ŞERİFE ÖZCAN**'a, bana her zaman bilimin öncülüğünden vazgeçmemeyi öğreten babam **ARİF ÖZCAN**'a, diğer yarım kardeşim **ÖZGE ÖZCAN**'a

Başta **MURAT KARA, GÖKHAN SERT, MUHAMMED GAFAROV** olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma

5 yıl boyunca onların sayesinde hergün severek geldiğim plastik cerrahi ailesinin her bir üyesi servis, poliklinik ve ameliyathane çalışanlarına

Destek sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne

SONSUZ teşekkür ederim.

ÖZET

Özcan U, Radyoterapiye Bağlı Hasarlı Alanda Erken Dönemde Uygulanan Yağ Greftinin Cilt Kalitesine Etkisi, Hacettepe Üniversitesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara, 2014

Radyoterapi kanser hastalarının tedavisinde çok önemli yere sahiptir. Hastalığın lokal kontrolü ve uzun dönem sağ kalım üzerinde etkilidir. Radyoterapi; tedavi süresi boyunca sağlıklı hücrelere de zarar vererek doku kalitesini bozmaktadır. Son yıllarda radyoterapi almış meme kanseri hastalarında yağ grefti uygulamaları ile doku kalitesi arttırılmakta ve sonraki rekonstrüksiyon aşamasında kolaylık sağlanmaktadır. Projenin amacı radyoterapi ile kontrollü olarak oluşturulan hasarlı dokuda; yağ grefti uygulamasının cilt kalitesini arttırıp arttırmadığını objektif veriler ile değerlendirmektir. Yağ greftlemesi ile dokularda oluşan makroskopik ve histolojik değişiklikleri göstermek, yağ greftlemesi için radyoterapi sonrası geçen sürenin radyoterapinin geç yan etkilerinden olan fibrozis üzerine olan etkilerini anlayabilmektir. 16 adet Wistar Albino dişi sıçan 2 gruba (n=8) ayrıldı. Her iki memeyi ve pektoral kası içine alacak şekilde toraks ön duvarında 4x6 cm²'lik alana radyoterapi protokolü (20 Gy; 4 MeV enerji, 1000cGy/dakika hızında, 10 cm uzaklık ve 2 mm derinlik) uygulandı. Bir gruba radyoterapi sonrası 0. gün; diğer gruba radyoterapi sonrası 21. günde, inguinal alandan hazırlanan yağ grefti uygulandı. Yağ grefti toraks ön duvarı sağ tarafa; cilt altı-pektoral kas üstü plana olacak şekilde kanül yardımıyla enjekte edildi. Toraks ön duvarı sol taraf kontrol tarafı olarak planlandı ve aynı miktarda serum fizyolojik enjekte edilerek standardizasyon sağlandı. Radyoterapi sonrası 11. haftada topografik ve anjiyografik ölçümler yapıldı. Histopatolojik olarak cilt kalınlığı, yağ grefti yaşamsallığı, inflamasyon göstergesi olarak lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu, kapiller sayısı, fibrozis, kollajen miktarı ve dizilimi açısından sayısal veriler ile objektif olarak değerlendirildi. Erken ve geç yağ grefti uygulanan grupların her ikisinde yağ grefti uygulanan taraflar yağ grefti uygulanmayan taraflara göre cilt kalitesi açısından daha iyi durumdaydı. Cilt esnekliği daha fazlaydı. Erken ve geç gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında yağ grefti uygulanan taraflar arasında morfolojik olarak gözle görülebilen anlamlı fark yoktu. Radyoterapiye bağlı nekroze giden kısımların yüzdesel oranı; erken ve geç yağ grefti uygulanan gruplarda kontrol taraflarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşüktü (p=0.012,p=0.025). Erken ve geç yağ grefti uygulanan taraflar arasında nekroze giden alanların oranı açısından istatistiksel olarak fark saptanmadı (p=0.574). Histopatolojik incelemede erken ve geç yağ grefti uygulanan taraflarda epitel kalınlığı, kapiller sayısı, dermiste fibrozis, inflamatuvar hücre açısından anlamlı fark saptanmadı. Erken yağ grefti uygulanan grupta dermiste fibrozis açısından deneklerin %87.5'i hafif "grade" fibrozis olarak bulunurken geç yağ grefti uygulanan gruptaki deneklerin %62.5'i hafif "grade" fibrozis olarak bulunmuştur. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yağ grefti elde edilişi ve uygulanış açısından kolay bir yöntemdir. Radyoterapiye bağlı geniş doku hasarı oluşması beklenen hastalarda erken dönemde uygulanarak yara iyileşmesini hızlandıracak ve oluşacak fibrozis etkilerini azaltarak doku kalitesini arttırmaya yardımcı olacak bir tedavidir.

Anahtar Kelimeler: radyoterapi, yağ grefti, fibrozis

ABSTRACT

Ozcan U, The Effect Of Early Fat Grafting On The Tissue Damaged By Radiotherapy, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery Department, Ankara, 2014

Radiotherapy, as adjuvant therapy, decreases loco-regional disease recurrence in cancer patients and improves their overall survival. Along the treatment it also gives damage to the normal cells so that affects the tissue quality. In recent years autologous fat grafting have been performed with increasing frequency, to improve quality of skin and provide convenience during the prosthetic breast reconstruction surgery. The purpose of this study is to study the effects of fat grafting on controllly induced injury by irradiation objectively and to show improvements in morphological and histological tissue quality. The other purpose of this study is to understand the the effect of timing of fat grafting after radiotherapy on fibrosis. 16 Wistar Albino rats in 2 groups (n=8) were anesthetized and an area on the pectoral region about 4X6 cm² in size including bilateral pectoral muscles and breasts were irradiated. (20 Gy; 4 MeV energy dose, with a dose rate of 1000cGy/min, along with 100 cm distance). The early group rats underwent fat grafting procedure under subcutaneous tissue of the irradiated area in the same day after radiotherapy. The late group the fat grafting protocol were performed 21 days after radiotherapy. The harvested fat graft was injected to the subcutaneous plane on right part of the pectoral region and equal amount of saline to the same plane on the left part of the pectoral region. 11 weeks after radiotherapy rats were euthanized. The skin assesment was done macroscopically and samples were processed for histologic analysis. At the end of 11 weeks, the areas exposed to radiation, has been viewed as topographically. Early and late fat grafting applied sides in both groups were better quality than the skin sides fat grafting not applied. Early and late fat grafting groups were compared to each other, between the groups there was no significant difference that could be seen morphologically. Radiotherapy induced necrosis was statistically significantly lower when compared to the control sides (p=0.012, p=0.025). This difference was not significant between the early and late groups treated with fat grafting (p=0.574). The histopathological examination of the early and late fat grafted groups in epithelial thickness, number of capillaries, number of inflammatory cells and fibrosis at the dermis revealed no significant difference. 87.5% of subjects in the early group treated with fat grafting of was detected to have low grade fibrosis. Besides this 62.5% of the late group treated with fat graft was found low grade. These rates were 62.5% and 25.0% in the control groups, the difference was not statistically significant. Fat grafting is a simple method terms derivation and application. Patients who were expected to have tissue damage due to radiotherapy may benefit from early fat grafting. Early fat grafting may accelerate wound healing and help to improve the quality of skin by reducing the fibrosis.

Key Words: radiotherapy, fat grafting, fibrosis

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

Teşekkür.....	iii
Türkçe Özet.....	iv
İngilizce Özet.....	v
İçindekiler	vi
Simgeler ve Kısaltmalar.....	viii
Şekiller Dizini	x
Resimler Dizini	xi
Tablolar Dizini.....	xiv
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler.....	9
2.1. Yara İyileşmesi	9
2.1.1. Yara İyileşmesi Tanımı	9
2.1.2. Yara İyileşmesi Tipleri.....	9
2.1.3. Yara İyileşmesi Evreleri.....	11
2.2. Radyoterapi	20
2.2.1. Radyoterapi Tanım ve Tarihçe.....	20
2.2.2. Radyoterapi Etki Mekanizması	21
2.2.3. Radyasyonun Fiziksel, Kimyasal Etkisi ve Radyoterapiye Bağlı Biyolojik Yanıt.....	24
2.2.4. Radyoterapinin Sistemik Yan Etkileri.....	27
2.2.5. Radyoterapinin Cilt Üzerindeki Etkileri ve Fibrozis	29
2.2.6. Radyoterapinin Yara İyileşmesine Etkisi.....	37
2.3. Yağ Grefti Uygulaması	39
2.3.1. Yağ Dokusunun Yapısı Ve Fizyolojisi	39
2.3.2. Yağ Grefti Uygulaması Tanım	40
2.3.3. Yağ Greftleme Tarihçe	40
2.3.4. Yağ Grefti Özellikleri.....	42
2.3.5. Yağ Grefti Elde Edilme, Hazırlama Ve Uygulama Yöntemleri.....	43
2.3.6. Yağ Greftlerinde Meydana Gelen Fizyolojik Süreçler	48
2.3.7. Yağ Doku ve Kök Hücre.....	49
2.3.8. Meme Büyütme ve Meme Rekonstrüksiyonunda Yağ Grefti Uygulamalarının Yeri.....	52

2.3.9. Meme Ameliyatlarında Yağ Greftlemesi Sonrası Meme Kanseri Rekürrens Riski	54
3. Gereç ve Yöntem	57
3.1. Radyoterapi Dozunun Belirlenmesi: Pilot Çalışma.....	57
3.2. Grupların oluşturulması ve Radyoterapi Dozunun Uygulanması.....	64
3.3. Hayvanların Uyutulması ve Sakrifiye Edilmesi.....	64
3.4. Yağ Greftinin Alınması, Hazırlanması Ve Uygulanması	65
3.5. Cilt Yaşamsallığının Topografik Değerlendirilmesi	69
3.6. Mikroanjiyografik Değerlendirme	70
3.7. Histopatolojik Değerlendirme.....	70
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	71
4. Bulgular.....	72
4.1. Cilt Yaşamsallığı ve Cilt Kalitesi.....	72
4.2. Mikroanjiyografi Görüntüleri	75
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	76
4.3.1. Radyoterapi Almamış Normal Cildinin Histopatolojisi.....	76
4.3.2. Radyoterapi Sonrası Erken Dönemde Yağ Grefti Uygulanan Grup Histopatolojisi	76
4.3.3. Erken Grup Kontrol Histopatolojisi	78
4.3.4. Radyoterapi Sonrası Geç Dönemde Yağ Grefti Uygulanan Grup Histopatolojisi	80
4.3.5. Geç Grup Kontrol Histopatolojisi:	82
4.4. İstatistiksel Bulgular	84
5. Tartışma	90
6. Sonuç.....	96
7. Kaynaklar	97

SİMGELER VE KISALTMALAR

ark.	:Arkadaşları
bFGF	:Temel fibroblast büyüme faktörü
BMP2	:Kemik morfojenik protein 2
BRCA	:Meme kanseri duyarlılık geni
Ca⁺⁺	:Kalsiyum iyonu
DNA	:Deoksiribonükleik asit
EGF	:Epidermal büyüme faktörü
eH₂O	:Negatif yüklü su molekülü
G2	:Hücre döngüsü büyüme fazı (Gap2)
GAG	:Glikozaminoglikan
Gy	:Gray
H&E	:Hemotoksilen eozin
H₂O	:Su molekülü
IGF	:İnsulin benzeri büyüme faktörü
IL-1	:İnterlökin 1
IL-5	:İnterlökin 5
IL-6	:İnterlökin 6
LENT-SOMA	:Late effects normal tissue - subjective objective management analytic
LTC4	:Lökotrien C4
LTD4	:Lökotrien D4
M	:Hücre döngüsü mitoz fazı

mm²	:Milimetre kare
MR	:Manyetik rezonans
nm	:Nanometre
NO	:Nitrik Oksit
NOS	:Nitrik oksit sentataz
O²	:Oksijen molekülü
OH⁻	:Hidroksil iyonu
pH	:Asitlik veya bazlık derecesi (Power of hydrogen)
PCR	:Çoklu zincir reaksiyonu
PDGF	:Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PGE₂	:Prostaglandin E ₂
PGF₂	:Prostaglandin F ₂
PGI₂	:Prostaglandin I ₂
PMNL	:Polimorfonükleer lökosit
PRP	:Trombosit zengin plazma
rad	:Radyasyon absorbe edilen doz
RTOG	:Radiation Therapy Oncology Group
SSEA-3	:Evreye özel embriyonik antijen 3
TGFβ1	:Transforme edici büyüme faktörü beta 1
TNF	:Tümör nekroz faktörü
TXA₂	:Tromboksan A ₂
VEGF	:Vasküler endotel büyüme faktörü
VKİ	:Vücut kitle indeksi

ŞEKİLLER DİZİNİ**Sayfa No**

Şekil 2.1: Primer yara iyileşmesi	9
Şekil 2.2: Sekonder yara iyileşmesi	10
Şekil 2.3: Tersiyer yara iyileşmesi.....	10
Şekil 2.4: Fibrin tıkaçı oluşması	11
Şekil 2.5: Yara iyileşme evreleri ve yara iyileşmesi sırasında hücrelerin yer alış sırası	13
Şekil 2.6: Yara iyileşmesinde epitelizasyon	18
Şekil 2.7: İyonize radyasyonun dokudaki etkileri.....	25
Şekil 2.8: Radyoterapi sonrası cilt değişiklikleri döngüsü.....	31
Şekil 2.9: Radyoterapiye bağlı cilt reaksiyonları zarar görmüş bazal hücrelerin cilt yüzeyine doğru göç etmesiyle ortaya çıkması.....	31
Şekil 3.1: İmage J programı ile sağlam ve nekrotik alan hesaplaması	69

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Resim 1.1: Radyoterapinin geç etkisi ciltte fibrosiz	2
Resim 1.1: Yağ grefti uygulaması ile yeni kalın ve kaliteli cilt dokusunun elde edilmesi.....	2
Resim 1.3: Yağ grefti uygulaması cilt esnekliğini artırır	4
Resim 2.1: RTOG toksisite skalasına göre radyasyon yaralanması derecelerine örnekler.....	36
Resim 2.2: LENT-SOMA toksisite skalasına göre radyasyon yaralanması dereceleri	36
Resim 3.1: Sıçan toraks ön duvarında radyoterapi uygulanan alan	58
Resim 3.2: Sıçanın radyoterapi cihazı içindeki pozisyonu	58
Resim 3.3: Sıçanın toraks içi organları korumak üzere kullanılan bolus ve hayati organları korumak üzere kurşun plakaların kullanımı.....	58
Resim 3.4: Pilot Çalışma; 20 Gy radyoterapi sonrası 6. hafta makroskopik görünüme ait örnek 1	59
Resim 3.5: Pilot Çalışma; 20 Gy radyoterapi sonrası 6. hafta makroskopik görünüme ait örnek 2.....	59
Resim 3.6: Pilot Çalışma; 35 Gy radyoterapi sonrası 6. hafta makroskopik görünüme ait örnek 1	60
Resim 3.7: Pilot Çalışma; 35 Gy radyoterapi sonrası 6. hafta makroskopik görünüme ait örnek 2	60
Resim 3.8 , 3.9: Pilot Çalışma; 20 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada nekroze olmayan alanlardan alınan doku örneklerinin histopatolojik görünümü	61
Resim 3.10 , 3.11: Pilot Çalışma; 20 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada nekroze giden alanlardan alınan doku örneklerinin histopatolojik görünümü	62
Resim 3.12: Pilot Çalışma; 35 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada H&E ve Trikrom-Masson boyama ile ışık mikroskobu altında alınan doku örneklerinin histopatolojik görünümü.....	63

Resim 3.13: Pilot Çalışma; 20 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada H&E ve Trikrom-Masson boyama ile ışık mikroskobu altında alınan doku örneklerinde kasların histopatolojik görünümü	63
Resim 3.14: Sıçanın inguinal bölgesinde yağ yastıkçığına ulaşmak için tasarlanan insizyon ve yapılan kesi.....	65
Resim 3.15: Yağ yastıkçığının atravmatik teknik ile eksizyonu	65
Resim 3.16: Eksizyon ile elde edilen yağ greftinin bistüri ve cerrahi makas yardımıyla daha küçük parçalara ayrılması	66
Resim 3.17: Yağ greftinin serum fizyolojik ile yıkanması	66
Resim 3.18: Enjektör içindeki yağ grefti	66
Resim 3.19: Enjeksiyon kanülü	67
Resim 3.20: Radyoterapi sonrası 0. gün ve 21. günde yağ grefti uygulanacak alanın planlanması.....	67
Resim 3.21: Standardizasyonu sağlamak üzere aynı miktarda enjekte edilen serum..	68
Resim 3.22: Cilt altı plana yağ grefti ve serum fizyolojik uygulanması	68
Resim 4.1: 11. hafta sonunda erken yağ grefti uygulanan deneklere örnekler	74
Resim 4.2: 11. hafta sonunda geç yağ grefti uygulanan deneklere örnekler	74
Resim 4.3: Erken grup mikroanjyografi görüntüsü	75
Resim 4.4: Geç grup mikroanjyografi görüntüsü	75
Resim 4.5: Radyoterapi almamış normal cildin H&E görüntüleri	76
Resim 4.6: Radyoterapi sonrası erken dönem yağ grefti uygulanmış cildin H&E görüntüleri	76
Resim 4.7: Radyoterapi sonrası erken dönem yağ grefti uygulanmış grupta greft çevresinde ve içinde fibrozis	77

Resim 4.8: Radyoterapi sonrası erken dönem yağ grefti uygulanmış grupta yağ grefti içinde damarlar	77
Resim 4.9: Radyoterapi sonrası erken dönem yağ grefti uygulanmış cildin Trikróm-Masson görüntüleri.....	77
Resim 4.10: Radyoterapi uygulanmış erken grup kontrol epidermis ve dermis derinlerinde fibrozis.....	79
Resim 4.11: Radyoterapi uygulanmış erken grup kontrol cildin H&E görüntüleri.....	79
Resim 4.12: Radyoterapi uygulanmış erken grup kontrol cildinde kollajen fibriller ve infiltratif hücreler.....	79
Resim 4.13: Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış grup H&E görüntüleri	81
Resim 4.14: Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış grup cildinde epitel ve ödemli dermiste infiltratif hücreler	81
Resim 4.15: Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış grup cildinde fibrozis.....	81
Resim 4.16: Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış grup grade 3 fibrozis ve greft içinde stazlı damarlar	82
Resim 4.17: Radyoterapi uygulanmış geç grup kontrol cildinde ince epidermis ve dermis derinlerinde ödemli alanlar	82
Resim 4.18: Radyoterapi uygulanmış geç grup kontrol cildinde dermis derinlerinde yoğun ödemli alanlar ve stazlı damarlar.....	83
Resim 4.19: Radyoterapi uygulanmış geç dönem kontrol grubu dermis altı kas dokusunda ödemli alanlar ve ödeme bağlı açılmalar	83
Resim 4.20: Radyoterapi uygulanmış geç grup kontrol dermiste ödem ve fibrozis....	83

TABLolar DİZİNİ**Sayfa No**

Tablo 2.1: RTOG cilt toksisite skalası.....	35
Tablo 3.1: Histopatolojik derecelendirme	71
Tablo 4.1: Ciltte nekroze giden alanların yüzdesel oranı	72
Tablo 4.2: Ciltte nekroze giden alan yüzdelерinin dağılımı	73
Tablo 4.3: Ciltte nekroze giden alan yüzdelерinin dağılım grafiği.....	73
Tablo 4.4: Dermis kalınlığı.....	84
Tablo 4.5: Dermis kalınlığı dağılımı	84
Tablo 4.6: Dermis kalınlığı dağılımı grafiği.....	85
Tablo 4.7: Epidermis kalınlığı	85
Tablo 4.8: Epidermis kalınlığı dağılımı.....	86
Tablo 4.9: Epidermis kalınlığı dağılımı grafiği	86
Tablo 4.10: Dermiste fibrozis	87
Tablo 4.11: Dermiste fibrozis dağılımı.....	87
Tablo 4.12: Dermiste fibrozis dağılımı grafiği	88
Tablo 4.13: Damar sayısı dağılımı	88
Tablo 4.14: İnflamatuar hücre sayısı	89
Tablo 4.15: İnflamatuar hücre sayısı dağılımı.....	89
Tablo 4.16: İnflamatuar hücre dağılımı grafiği	89

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen malign tümördür. İnsidansı 15.9/100.000'dir ve kadınlarda görülen tüm kanserlerin %30'unu oluşturmaktadır (1). Radyoterapi meme kanserinin tedavisinde çok önemli bir yere sahiptir. Lokal rekürrensi azaltan ve yaşam beklentisini arttıran yardımcı bir tedavidir.

Farklı merkezlerde yapılan randomize kontrollü çalışmalarda T3 ve T4 tümörde, meme koruyucu cerrahi yapılan hastalarda, 4 ve daha fazla pozitif aksiller lenf nodu yayılımı olan hastalarda mutlaka radyoterapi önerilmektedir (2).

Radyoterapi; tedavi süresi boyunca kanser hücrelerine olduğu gibi sağlıklı hücrelere de zarar vererek doku kalitesini bozmaktadır. Hastaların hayat kalitesini azaltmaktadır. Açık yaralara ve ağrıya sebep olmaktadır.

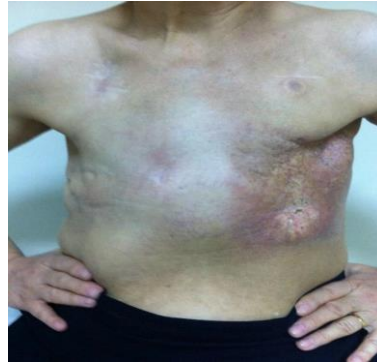
Plastik cerrahi açısından bakacak olursak meme kanseri cerrahisinin ve radyoterapinin getirdiği olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için plastik cerrahlara çok iş düşmektedir. Bir kadın imgesi olarak meme; yokluğu kabul edilemez bir organdır. Sürekli göz önünde olan ve yokluğunun saklanması güçtür. Mastektomi sonrası memesini kaybeden hastaları yarım ve sakat bir insan olduğunu duygusuna kapılarak psikolojik stresler yaşamaktadırlar. Memenin yeniden yapılması kadının normal benliğine ve günlük hayatına dönmesinde önemli bir noktadır. Yerine tekrar konulması çok zor bir organ olan memenin rekonstrüksiyonu ile hastalar tekrar eski benliklerine kavuşacaklar ve bu durum hastaların tedaviye devamında ve hastalıkla savaşmasında olumlu katkılar sağlayacaktır.

Karında ve sırtta yeterli dokusu olmayan, daha önce karın ve sırtan ameliyatı geçiren, uzun anestezi süresini tolere edemeyecek ek morbiditeleri olan hastalarda ve vücudunun başka bir yerinde iz kalsın istemeyen hastalarda implant ile meme rekonstrüksiyonu ilk seçenek haline gelmektedir.

İmplant ile rekonstrüksiyonun bazı dezavantajları mevcuttur. Dehissans, cilt nekrozu, hematoma, seroma, enfeksiyon, kapsül kontraktürü, kayma ve asimetri, estetik olarak kötü sonuç verme gibi yüksek oranda komplikasyonlara sahiptir. Radyoterapi alan hastalarda fibrozis nedeniyle cilt kalitesi bozulduğu için bu risk daha fazla

artmaktadır (Resim 1.1). Bazı kaynaklarda radyoterapi alan hastalarda implant ile rekonstrüksiyon ekzosizyon riski nedeniyle kontrendike sayılmaktadır.

Radyoterapi alan meme kanseri hastalarında doku genişleticisi ve sonrasında kalıcı implant ile bu olumsuz durumlar ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır. Fakat yine de her zaman istenilen sonuçlar elde edilememektedir. Cildin genişletilmesi sırasında cilt altı doku oldukça incelmekte ve cilt gergin hale gelmektedir. Bu durum konulan implantların etrafının kapsül ile çevrilmesine, istenmeyen ve estetik olmayan sonuçlara sebep olmaktadır (3,4).



Resim 1.1: Radyoterapinin geç etkisi ciltte fibrosiz

Son yıllarda radyoterapi almış meme kanseri hastalarında yağ grefti uygulamaları sıkça kullanılmaktadır. Bu uygulama ile doku kalitesi arttırılmakta, daha güçlü ve esnek yeni bir cilt altı doku oluşturulmaktadır (Resim 1.2). Böylece daha sonra ekspander veya implant ile rekonstrüksiyon aşamasında yüz güldürücü sonuçlar almak mümkün hale gelmiştir (3,5-9).



Resim 1.2: Yağ grefti uygulaması ile yeni kalın ve kaliteli cilt dokusunun elde edilmesi-Salgarallo ve ark. (5)'dan alınmıştır

Marzia Salgarello radyoterapi almış 16 mastektomize hastayı retrospektif olarak değerlendirmiştir. Bu hastalarda implantın etrafını çevreleyecek doku kalitesiz, kaslar fibrotik ve cilt kolay yaralanabilir durumdadır. Bu hastalarda implant yerleştirmeden önce yapılan 3-4 seans yağ greftlemesi ile %93 oranında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Hastaların radyasyon toksisitesini objektif ve semptomatik olarak değerlendiren LENT-SOMA skorlarında düşme ve hastaların memnuniyetini değerlendiren BREAST-Q skorlarında anlamlı şekilde artış bulunmuştur. Ortalama takip süreleri 15 ay olan bu hastalarda majör komplikasyonlara rastlanmamış ve kapsül kontraktür seviyeleri Baker “grade” 1 olarak saptanmıştır (5).

J.M. Serra tarafından yapılan çalışmada 1 yıl önce 50 Gy dozunda radyoterapi almış 65 mastektomize hasta değerlendirilmiş. Radyodermatit ve ciltte nekroz bulgusu olmayan hastalara eş seanslı olarak kas altı plana doku genişleticisi konulmasını takiben yaklaşık 150 cc yağ grefti intramusküler ve cilt altı plana uygulanmıştır. Yaklaşık 3 ay sonra ikinci ameliyat sırasında ekspander çıkarılmış ve kalıcı implant ile değiştirilmiştir. Aynı seansta 150 cc yağ grefti kapsül ile cilt arasına yeni bir cilt altı doku oluşturmak üzere ucu künt kanüllerle belli aralıklarla enjekte edilmiştir. 6 ay sonunda post operatif sonuçlar değerlendirildiğinde yüksek memnuniyet oranı ve düşük kapsül kontraktürü oranları saptanmıştır. Yazarlar çalışmanın tartışma bölümünde yağ grefti uygulamasının estetik sonuçları geliştirdiği, memeye hacim eklediği, cilt kalitesini arttırdığını ve kapsül kontraktürünü engellediğini bildirmişler. Bunu yağ doku içindeki preadipositler ve kök hücrelerin anjiyogenik özellikleri sayesinde yaptığını belirtmişlerdir. Yeni damar oluşumu ile dokudaki hipoksi etkileri azalmıştır. Yağ greftlemesi, kolay hazırlanır ve ek morbidite yaratmadan üst düzey bir tedavi imkanı sunmuştur (3).

D. Riboffo tarafından yapılan diğer bir çalışmada mastektomi ile eş seanslı olarak ekspander konulan 16 hasta; takibi sırasında radyoterapi almak zorunda kalmıştır. Bu hastalarda ekspander çıkarılmadan radyoterapi uygulanmış. Radyoterapiyi takiben 6 ay sonra yağ greftlemesi ile birlikte ekspander çıkarılarak kalıcı implant ile değiştirilmiştir. Yağ greftlemesi ile güvenli bir şekilde yeni kaliteli cilt altı doku elde edilmiştir. Düşük kapsül kontraktürü ve komplikasyon oranları sağlanabilmiştir (7).

B. Phulpin ve arkadaşları tarafından baş boyun bölgesine radyoterapi alan 11 hastaya; oluşan fibroze bağlı estetik ve fonksiyonel defektleri tedavi etmek üzere yağ greftlemesi yapılmıştır. Ortalama 3 yıl boyunca takip edilen hastaların skarlarında gerileme sağlanmış. Histopatolojik incelemede nekrotik alanların azaldığı ve cilt altı dokuda vasküler ağın arttığı bulunmuştur. Hastalar estetik ve fonksiyonel olarak rehabilite edilirken hastaların hayat kaliteleri artmıştır (10).

Sydney R. Coleman'a göre yağ greftlemesi dolgu maddesinden çok daha fazlasıdır. Yüze veya gövdeye verildiğinde uygulandığı alandaki orantısızlıkları çözmekle kalmaz aynı zamanda bir takım dinamik olaylara neden olur. Cilt esnekliğini ve kalitesini artırır. Cildi parlaklaştırır ve pigmentasyonu azaltır (Resim 1.3) (11).



Resim 1.3: Radyoterapi almış alanlarda yağ greftlemesi dokuya hacim sağlaması yanında bir takım dinamik olaylara neden olur, cilt sıkılaşır, esnekliği artar-Coleman ve ark. (11)'dan alınmıştır

Yağ dokusu içerisinde zengin mezenkimal kökenli kök hücre rezervine sahip bağ dokudur. Sadece radyoterapiye bağlı değil daha birçok nedene bağlı oluşan skarda fibrozisin dokuda bıraktığı olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için yağ grefti uygulaması sıklıkla yapılmaktadır.

M. Klinger; günlük aktiviteyi bozan, ağırlı eklemlere neden olan, düşük kalitede skarlara sahip 694 hastayı değerlendirmiştir. Yanık, travma ve cerrahiye bağlı skarlara sahip olan hastalara yağ grefti uygulamıştır. İşlem öncesinde yüzde mikrostomiye, dudaklarda eversiyona, ektropiona, nazal valv kollapsına, eklemlerde kontraktür ve ağrıya neden olan durumlar not edilmiştir. Yağ uygulaması sonrası 6 yıl boyunca takip edilmiş hastaların cilt esnekliğinde artış, eklem hareket aralığında

genişleme elde edilmiştir. Skar skorlamaları sonunda hasta memnuniyetleri yüksek bulunmuş, skar hatlarının daha dolgun, daha ağrısız, daha doğal ağız ve göz kapağı hareketleri saptanmıştır. Histopatolojik olarak incelendiğinde epidermis kalınlığı artmış, dermal papilla ve kan damarı yoğunluğu normal cilde yakın bulunmuştur (12).

Steven M. Sultan ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışmada termal yaralanmayı takiben yağ greftlemesinin; revaskülarizasyonu hızlandırdığı ve fibrozisi azalttığı gösterilmiştir. Termal yaralanma ile hasarlanmış dokularda vasküler endotelial büyüme faktörü, stromal hücre kaynaklı faktör 1 alfa düzeylerinin daha yüksek olduğu immunositometrik olarak ve PCR yardımıyla gösterilmiştir. Bu vaskülogenik faktörlerin artmasıyla birlikte kollajen alfa tip 1 ekspresyonunun da azaldığı gösterilmiştir. Böylece fibrozisin indükatörleri olarak bilinen matriks metalloproteinaz 9, TGF β ve doku metalloproteinaz inhibitörü seviyelerinin de düştüğü gösterilmiştir. 4 ve 8 hafta sonunda yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda CD 31 ile yapılan işaretlemelemler ile vasküler yapıların sayısı yağ greftlemesi yapılanlarda serum fizyolojik verilere göre daha fazla bulunmuştur. 8 hafta sonunda kollajen dizilimlerinin daha organize olduğu ve fibrotik yolakların down regülasyonu ile fibrozisin daha az olduğu görülmüştür (13).

Yağ grefti uygulamaları bugün sadece skarlı dokuların iyileştirilmesi amacıyla değil aynı zamanda içeriğindeki zengin kök hücre kaynağı nedeniyle yaşlanan dokuların kalitesini arttırmak ve atrofik ciltlerin dolgunluğunu sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır.

A. Mojallal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yağ greftlemesinin doku kalitesini arttırdığı klinik ve hayvan çalışmalarıyla gösterilmiştir. Yağ dokusu ile son yıllarda hacim ve kontür defektlerinin giderilmesinin yanında doku rejenerasyonunun sağlandığı güvenilir bir fenomen haline gelmiştir. Yüz gençleştirme hastalarında cilt esnekliğini ve parlaklığını artırdığı yüzeydeki çukurlukları ve gözenekleri azalttığı klinik olarak gözlenmiştir (14).

Sydney R. Coleman 22 hastada yaşlanan el dorsumu için cilt altı plana ince bir tabaka yağ grefti uygulamıştır. Atrofik subkütan dokuda dolgunluğu sağlayıp ince cilt altındaki tendon ve venleri daha az görünür hale getirerek yaşlanan dokuyu desteklemiş ve yüz güldürücü sonuçlar elde etmiştir. Dokudaki iyileşmenin sadece

hacim artışına bağlı olmayıp yağ doku kaynaklı rejeneratif faktörlerin de bu olayda önemli olduğu vurgulanmıştır (15).

Mezenkimal kök hücrelerin iskemik dokuların revaskülarizasyonunu ve yeniden yapılandırılmasını destekleyen; güçlü kanıt değeri olan çalışma sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Kemik iliği kaynaklı hematopoetik kök hücreler ile invitro ortamda ve hayvan çalışmalarında iskemik ekstremitte, kalp kası ve retina onarımında faydalı sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir (16).

G. Rigotti ve arkadaşları tam da bu yüzden yağ dokunun zengin kök hücre kaynağı olması nedeniyle radyoterapi almış meme kanseri hastalarında yağ doku kaynaklı erişkin kök hücreleri kullanmayı düşünmüşlerdir. Yağ greftlemesi yapılan 20 mastektomize hastada 31 ay sonunda LENT-SOMA skorlarında belirgin bir düzelme kaydedilmiştir. Radyoterapiye bağlı hasarlı dokuda cilt altı fibrozisten sorumlu mekanizma altta yatan kapiller miktarının azalması, hasara uğramış yağ hücreleri, kapiller bazal membranların duplikasyona bağlı azalmış perfüzyon sonucunda oluşan doku onarım yetersizliğine bağlı kısır döngüdür. Kök hücre tedavileriyle vaskülarizasyon ve faktör aracılı hücre artışıyla kronik hasarın etkileri geriye döndürülmeye çalışılmaktadır (17).

Son yıllardaki çalışmalar yağ dokunun stromal vasküler hücrelerinin de kemik iliği kaynaklı kök hücreler kadar preanjyogenik kapasiteler yönünden zengin birikime sahip bir kaynak olduğunu göstermiştir.

J.Rehman ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile farelerde yağ hücrelerinin endotelyal hücrelere değişimini tetikleyen yani damar oluşumunu sağlayan anjyogenik ve antiapoptotik faktörler salgıladığı ispat edilmiştir (16).

Zengin kök hücre kaynağı olarak yağ greftinin; radyasyonun cilt üzerinde oluşturduğu hasarı azalttığı S.M. Sultan, V.D. Thanic ve S.R. Coleman tarafından ispatlanmaya çalışılmıştır (13). 45 Gy radyasyon dozu ile farelerin sırtlarında radyasyon hasarı oluşturulmuş ve radyasyon sonrası 4. haftada yağ grefti uygulaması ile radyasyon etkileri azaltılmaya çalışılmıştır. 4. ve 8. haftada morfolojik ve histolojik incelemeleri yapılan dokularda radyasyon hasarının azaldığı tespit edilmiştir. Yağ greftlemesi yapılan farelerde yapılmayanlara göre cilt kalınlığı daha az bulunmuştur. Yağ grefti yapılmayan dokularda CD 31 ile yapılan boyamalarda vasküler yoğunluk

fazla bulunurken patolojik anjiyogenez yağ grefti uygulanan grupta daha düşük bulunmuştur.

Son zamanlarda yağ grefti skarlı dokularda, iskemik dokularda ve radyoterapiye bağlı hasarlı alanlarda fazlaca kullanılmaya başlandı. Yağ greftlemesi uygulayan cerrahlarca doku kalitesinin artırılmasında etkili olduğu görüldü. R.M. Garza ve arkadaşları bu klinik gözlemin doku kalitesine olan etkilerini histopatolojik olarak desteklemek ve tasarlanan flep yaşamsallığını artırıp arttırmadığını kontrollü olarak göstermek istediler. Yağ grefti uygulamasının hasarlı dokuların kurtarılmasındaki hücresel mekanizmalar ve aracılık eden hücreler arası mediatörler tam olarak gün ışığına çıkarılamamıştır (18).

R.M. Garza ve arkadaşları radyoterapi almış dokunun yağ grefti yaşamsallığına ve sağ kalım miktarına etkisini ayrıca yağ dokunun radyoterapi almış dokuya etkilerini anlamaya çalışmışlardır. Radyasyona bağlı fibroziste mikro-dolaşım kaybı ve buna bağlı hipoksi ön plandadır. Radyasyona bağlı açığa çıkan fazla enerjiyle beraber lökosit infiltrasyonu, damarların fibrin tıkaçları ile staza uğradığı sıçanlarda gösterilmiştir. Aynı şekilde endotelial şişkinlik, hiperplazi ve fibrin tıkaçlarının damarları tıkadığı; radyoterapinin almış erken dönem meme kanserli insana ait dokularda da gösterilmiştir. Bununla birlikte perivasküler fibrozis de hipoperfüzyona neden olur. Kan akımı azaldıkça doku oksijen basıncı azalarak tekrar kollajen yapımını artmasında neden olan kısır bir döngü başlar ve bu döngü fibrozis ile sonuçlanır (18).

Radyoterapi almış dokular yağ greftlemesi sonrası 8. haftada cilt kalınlığı anlamlı şekilde azalmış, kollajen miktarı ve fibrozis azalmış. 2 ve 8 haftalarda CD 31 ile yapılan boyamalarda vaskülarite yağ greftlemesi yapılmış olan dokularda daha yüksek bulunmuştur. Mikrotomografi ile radyoterapi almış dokularda normal dokulara göre yağ grefti sağ kalımını azalttığı gösterilmiştir.

Yağ greftlemesinin kollajen depolanmasını ve cilt kalınlığını azalttığına, vasküler yoğunluğu arttırdığına dair kuvvetli kanıtlar vardır. Fakat bu durumun hangi mekanizmalar tarafından yönetildiği bilinmemektedir. En önde gelen mekanizma yağ doku içerisindeki zengin kök hücre kaynağı olmasıdır. Kök hücreler doku

rejenerasyonunu arttırır. Yeni damar oluşumuyla doku hipoksisi azalır. Büyüme faktörü aracılı hücre artışıyla fibrozis etkileri geriye döner (18).

Hipotezimiz bu çalışma ile yağ greftlemesini erken dönemde yaparak yağ dokunun rejeneratif etkisinin daha erken dönemde ortaya çıkararak yaraların daha erken iyileşip iyileşmediğini gösterebilmektir. Hipoksiye bağlı geri dönüşsüz fibrozisi daha ortaya çıkmadan engelleyebilmektir.

Çalışmamızın amacı yağ grefti uygulamasını radyoterapiyi takiben daha erken dönemde yaparak yağ dokuda bulunan zengin kök hücre kaynaklı anti-fibrotik özellikleri daha erken dönemde ortaya çıkarmaya çalışmaktır. Böylece yağ doku içindeki büyüme faktörleri ile anjiyogenezi arttırıp geri dönüşsüz fibrozisin erken dönemde engellenmesi ile radyoterapiye bağlı skar ve kontraktürlerin önlenip önlenmeyeceği tartışabilmektir.

Yağ grefti minimal morbidite ile çabuk elde edilebilen kolay bir yöntemdir. Açık doku defekti olan derin radyoterapi hasarlı ciltlerde profilaktik olarak yapılacak yağ greftlemesi ile doku kalitesinin arttırılmasına katkıda bulunup bulunmayacağı tartışabilmektir.

Radyoterapiye bağlı geç dönem komplikasyonlardan olan fibrozisi oluşturan kısır döngü daha oluşmaya başlamadan engellenip engellenemeyeceği gösterilecektir. Radyoterapi ile oluşan göğüs ön duvarı yaralanmalarına bağlı oluşan fibrotik alanda yağ grefti uygulamasıyla yara iyileşmesini hızlandırma ve implant ile meme rekonstrüksiyonu aşamasında olumlu sonuçlar alınıp alınmayacağını ön görmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

2.1.1. Tanım

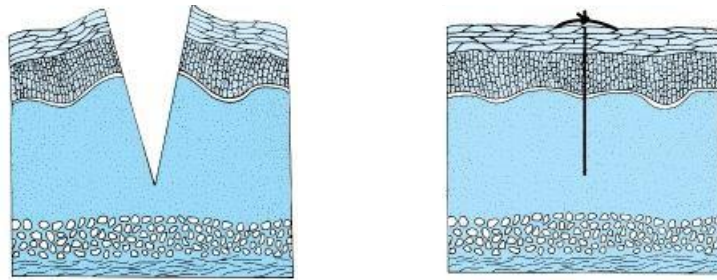
Organizma çevresiyle devamlı ve karşılıklı bir etkileşim içindedir. Yaralanma ile dokuya ait yapıların anatomik ve fonksiyonel devamlılığı bozular. Yaralanma meydana geldiğinde vücut kompleks ama sistematik bir yapılanma sürecine girer. İyileşme temel hemostatik süreçlerin yaşandığı doku yıkımına karşı iyileşme cevabı verebilme yeteneğidir. Ölmüş veya hasar görmüş hücrelerin yerine konulması ve rejenerasyonudur. Etyolojiye bakacak olursak cerrahi insizyon, fiziksel travma, yanık, donma, kimyasal ajanlar, iskemi, kemoterapötik ajanlar, radyoterapi başta gelen nedenlerdir (19).

2.1.2. Yara İyileşmesi Tipleri

- A) Primer İyileşme
- B) Sekonder İyileşme
- C) Tersiyer iyileşme

A. Primer İyileşme:

Belirgin bakteriyel kontaminasyon ve doku kaybının olmadığı durumlarda yara kenarlarının direk yaklaştırılarak kapanması sonucu meydana gelen iyileşmedir (Şekil 2.1). Yara kapaması sutureasyon, stapler gibi materyaller ile yapılır. Bu iyileşme tipinin geç primer kapanan formu da vardır. Burada hasara uğramış doku; yabancı cisim veya bakteriyel kontaminasyona bağlı enfeksiyonlardan korunmak için bir süre sonra kapatılır (20).



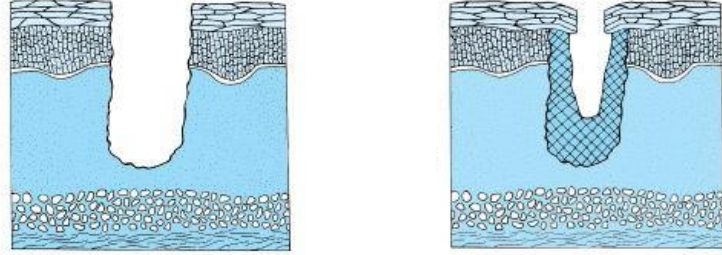
Şekil 2.1: Primer yara iyileşmesi

B. Sekonder İyileşme:

Yara alanında granülasyon dokusunun gelişmesi, yara alanını doldurması beklenerek spontan rejenerasyon ve reepitelizasyonunu ile meydana gelen iyileşmedir (Şekil 2.2) (20).

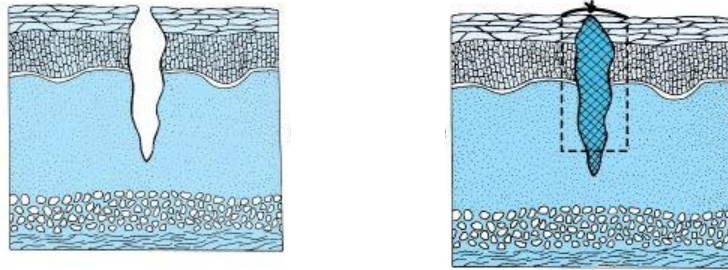
Sekonder iyileşme ile primer iyileşme arasındaki farklar:

- Sekonder iyileşmede çok fazla debris, eksuda, granülasyon dokusu ve fibrin doku vardır. Sonuçta iltihabi reaksiyon daha yoğundur. Bunların ortadan kaldırılması daha uzun sürer, dolayısıyla inflamatuvar evre süresi uzamıştır.
- Sekonder iyileşmede daha fazla kontraksiyon ve fibrozis olur. Bu primeri sekonder iyileşmeden açıkça farklandıran en iyi niteliklerdir.



Şekil 2.2: Sekonder yara iyileşmesi

C) Tersiyer iyileşme (Gecikmiş primer iyileşme): Sekonder iyileşmeye bırakılan yaranın şartlar uygun hale geldiğinde suture edilerek kapatılmasıdır. (Şekil 2.3)



Şekil 2.3: Tersiyer yara iyileşmesi

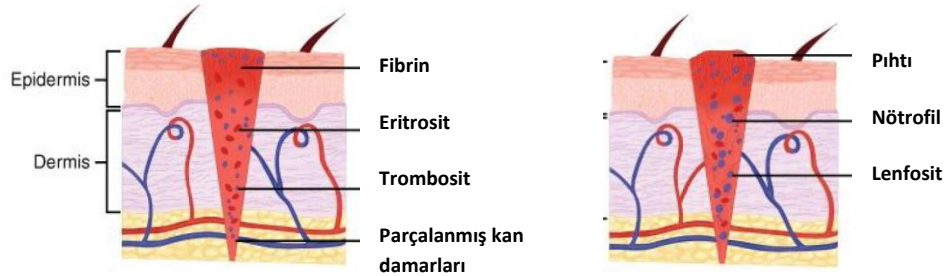
2.1.3. Yara İyileşmesi Evreleri

Yara iyileşmesinin üç evresi bulunmaktadır (20).

- İnflamatuvar Evre
- Proliferatif Evre (Fibroblastik Evre)
- Maturasyon Evresi (Remodeling Evresi)

İnflamatuvar Evre (Hemostaz ve İnflamasyon)

Yaralanma anında başlayıp 24-48 saat içinde sonlanır. Yara iyileşmesinin başlangıç basamağı olan akut inflamasyon, hemostazın sağlanması, bağışıklık sistemi bileşenlerinin göçü, mekanik, bakteriyel ve kimyasal etkilere karşı cevabın oluşmasını sağlar. Bu dönemin en önemli elemanı, kan damarlarıdır. Damar hasarı sonucu kanama oluşur ve Hageman faktörünün aktivasyonu ile pıhtılaşma mekanizması harekete geçer. Pıhtılaşma mekanizması, trombositlerce yönlendirilir. Bu evrede, trombositler fibrin tıkaçını oluşturup, mediatörler ve büyüme faktörleri salgırlar (Şekil 2.4). Bu mediatörler nötrofil ve makrofajlar için kemoatraktan görevi görürler. Yara alanına gelen nötrofil ve makrofajlar nekrotik doku, debris ve bakterilerin ortamdan uzaklaştırılmasını sağlarlar.



Şekil 2.4: Fibrin tıkaçı oluşması

İnflamatuvar evrede, yara oluşumu ile başlayan uyarıya karşı vasküler ve hücrel yanıt oluşur. Vasküler yanıt, 5-10 dakika süren, tromboksan A₂ gibi araşidonik asit metabolitlerine bağlı geçici vazokonstriksiyondur. Bu süre içinde hemostaz sağlanır. Yaralanma ile koagülasyon mekanizması aktive olur, trombosit adezyonu ve agregasyonu sonucu pıhtı meydana gelir. Agrege olan trombositlerin, granüllerindeki içerik boşalarak, kemotaktik, vazoaktif mediatörler ortama salınır.

Trombositlerin alfa granüllerinden salınan mediatörler:

- Fibrinojen
- Fibronektin
- Platelet faktör 4
- TGF β
- PDGF
- TxA₂
- Biyojenik aminler
- Prostaglandinler

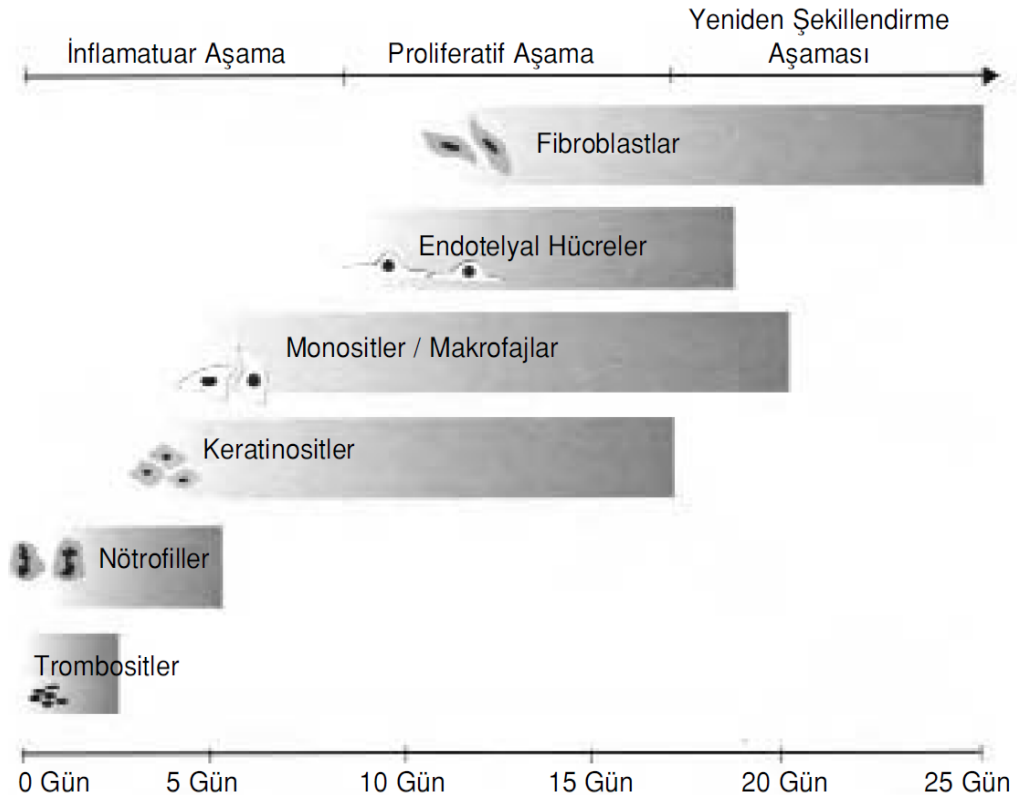
Geçici vazokonstriksiyonu takiben aktif vazodilatasyon fazı görülür; böylece kapiller geçirgenlik artar. Mast hücrelerinden salınan histamin, serotonin, bradikinin ve prostaglandinler, kapiller geçirgenliği arttırırlar ve venlerin dilate olmasını sağlarlar. Erken geçirgenlik değişiklikleri ve vazodilatasyonda asıl etken maddenin histamin olduğu düşünülmektedir.

Vazodilatasyon 72 saat boyunca sürmektedir. Geçirgenlik artışı ile inflamasyon bulguları görülür. Plazma ve hücre göçünden dolayı bölgede ödem ve bunun sonucunda oluşan doku basıncı artışından dolayı da ağrı olur. Aktif trombositler, kinin ve kompleman sistemi bileşenleri, prostoglandinlerden salgılanan hemostatik faktörler, hücrel kontrol sinyallerini oluştururlar. Bu hücreler tarafından salgılanan mediatörlerin etkisiyle inflamatuvar hücre göçü başlar (21).

Hücrel yanıt ise vasküler değişikliklerin görülmesinden sonra kısa bir süre içinde başlar. Yaralanmadan birkaç saat sonra, nötrofiller damar duvarlarından migrasyonu ile ilerleyerek yara alanına doğru göç ederler. Nötrofiller, kemotaktik uyarıların etkisi ile yaralanma bölgesine gelen ilk hücrelerdir ve yaralanmayı takiben 6 saat sonra yara görürlürler (Şekil 2.5). Maksimum sayıya 1-2 günde ulaşır ve enfeksiyon yoksa 2-3 günden sonra sayıları azalır. Nötrofil ve mononükleer hücrelerin yara yerine göçü dolaşımdaki sayıları ile doğru orantılı olarak gerçekleşir. Nötrofil sadece birkaç saat inflamasyon sahasında kalır. Nötrofillerin rolü fagositoz, enfeksiyonun önlenmesi ve proteaz salınımı ile ölü dokuların eritilmesidir. Yeterli oksijen desteği ile lizis fonksiyonlarını yerine getirirler. Bu işlemlerin sonucunda inflamasyon sahasında oksijen radikalleri meydana gelir (21).

Yara bölgesinde yabancı cisim ve enfeksiyon olmadığı takdirde, nötrofil sayısı hızla azalır, hidrolitik enzimleri hücre dışına yayılır. Eğer ortamda bakteri ve yabancı cisimler varsa inflamatuvar olaylar devam edecektir. Bakteri ve nekrotik dokuların sindirimi sonucu parçalanan nötrofilden, hidrolitik enzimler açığa salınır, yara yerinde eksuda meydana gelir (Şekil 2.5).

Nötrofilden sonra yara yerine lenfositlerin göçü olur ve yaralanmadan sonraki 6. günde maksimum sayıya ulaşır. Lenfositlerden salgılanan lenfokinlerin, fibroblast migrasyonunu uyardığı gösterilmiştir. Lenfokinlerin yara yerindeki endotel hücreleri ve hücrelerin kemotaksisi üzerinde etkileri vardır. Yaralanmayı takiben nötrofil ve lenfositlerden sonra bölgeye gelen hücreler makrofajlardır. Makrofajların yara iyileşmesinde görevi, fibroblastik proliferasyon ve transformasyonun yanında anjiyogenez ve kollajen sentezini uyaran mitojen maddeleri serbestleştirmeleridir. Makrofajların önceden sadece fagositik fonksiyonları olduğu düşünülürken bugün yara iyileşmesinde merkezi bir hücre rolü oynadıkları gösterilmiştir. Bu role sahip olmasının en önemli nedeni salgıladığı büyüme faktörleridir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Yara iyileşmesi evreleri ve yara iyileşmesi sırasında hücrelerin yer alış sırası-Thorne C.H. (19)'dan alınmıştır

Aktif makrofajlarda salınan büyüme faktörleri:

- TGF β – Transforme edici büyüme faktörü beta
- PDGF - Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
- IL-1 - İnterlökin 1
- TGF α – Transforme edici büyüme faktörü alfa
- TNF - Tümör nekroz faktörü
- FGF - Fibroblast büyüme faktörü
- EGF - Epidermal büyüme faktörü

Makrofaj; fibroblast ve diğer mezenkimal hücreler için büyüme faktörü kaynağıdır. Neovaskülarizasyon için anjiyogenik faktörlerin kaynağıdır. Bağ doku matriks proteinlerinin üretimine yardımcı olur (19).

Yaralanmanın 7-14 günleri eozinofillerin sayısının arttığı ve kollajen üretimi ve remodelizasyonun en fazla olduğu evre olduğundan eozinofillerin, kollajen yapımını ve yeniden şekillenmesinde rolü olduğu düşünülmektedir.

Makrofajlar sistemik dolaşımdaki monositlerden veya mevcut dokudaki makrofajlardan kaynaklanan mononükleer fagositik hücrelerdir. Makrofajlar yaralanmanın erken döneminde aktive olarak nitrik oksit sentezler. Nitrik oksit sentezi, hipoksik koşullarda artar. Endotelyal hücreler, fibroblastlar, monosit ve lenfositlerde nitrik oksit sentezini hızlandırır. Deneysel çalışmalarda nitrik oksit sentezinin yara iyileşmesini geciktirdiği gösterilmiştir. İnflamasyon fazının engellenmesi yara iyileşmesini geciktirir. İnflamatuar hücrelerin azalması ile kemotaksis yavaşlayarak antimikrobial etki ortadan kalkar. Steroid kullanımı, anjiyogenez, proliferasyon ve göçü engelleyerek, inflamatuvar fazı ve buna bağlı olarak yara iyileşmesini geciktirir (20).

Proliferatif Evre (Fibroblast Proliferasyonu, Anjiyogenez)

Yaralanmadan sonraki 2-3 gün arasında başlayarak ortalama olarak 3 haftada sonlanır. Bu dönemdeki ana hücreler fibroblast ve endotel hücreleridir. 72. saatte makrofajlardan salgılanan TGF β , fibroblastları yaraya doğru harekete geçirir ve proliferatif evrenin başlangıç sinyalini oluşturur. Makrofajlardan salgılanan diğer büyüme faktörleri ve sitokinler bu evrede anjiyogenezi uyarır (19).

Fibroblast Proliferasyonu:

Fibroblastlar, makrofajlar tarafından salgılanan bir kemoatraktan olan TGF β etkisi ile yara alanına göç etmeye başlarlar (Şekil 2.5). Fibroblast, yara yakınındaki konnektif doku hücrelerinden köken alır. 1. haftanın sonunda, yara yerindeki predominant hücre olur. Fibroblastların yara yerine göç etmesi ve fonksiyonlarını yerine getirmesi yeterli oksijen seviyeleri ile ilişkilidir. Fibroblast, yara iyileşmesi için gerekli maddeleri üretir, bunlar: glikozaminoglikanlar (GAG) ve kollojen lifleridir.

Glikozaminoglikanlar tekrarlayan disakkarit ünitelerinden oluşan protein çekirdektir. İlk sentezlenen GAG ve hyalüronik asittir; bunu kondroidin-4-sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat izler. Fibroblastlar ve diğer mezenkimal hücrelerden salgılanan GAG, proteoglikan ve mukoproteinler tarafından jel karakterli alt yapı maddesi oluşur. Yara yerinde oluşan bu madde kollajen liflerinin birleşmesinde görevlidir. Yeni kollajen lifleri ve hücrelerin organizasyonunun sağlanmasında destek görevi görür; kollajen liflerinin oryantasyonu ve boyutlarının kontrolü ile ilişkilidir.

Kollajen Sentezi:

Kollajen yaklaşık 300 nm boyutunda, 15 nm eninde ve yaklaşık 300000 molekül ağırlığına sahip bir makromoleküldür. 18 adet gen ürününün düzenlemesi sonucunda 3 halkalı polipeptit yapısından oluşan yaklaşık 13 çeşit kollajen tanımlanmıştır. Bağ dokusunun ana yapısı kollajendir. Kollajen molekülü pek çok hücreden sentez edilebilir, fakat en önemli kaynak fibroblasttır. Fibroblastlar, nedbe oluşumunda ana elemanlardır ve yumuşak doku zedelenmesinin iyileşmesinde temel ürün olan kollajeni oluşturarak, yara direncini sağlarlar. Aktif kollajen üretimi fibroblastların endoplazmik retikulumunda başlar, hücre içinde işlem gördükten sonra prolin ve lizin ile hidrosile olmuş prokollajen halinde salınır. Hidroksilasyon, oksijen, C vitamini, demir ve α -ketoglutarat gerektiren kollajen sentezindeki önemli bir basamaktır. Prokollajen polimerizasyona uğrayarak, tropokollajen formunu oluşturur. Tropokollajen birimlerinin amino ve karboksi terminallerine peptit dizeleri eklenerek kollajen lifleri meydana gelir (21).

Kollajen üretim hızı, birçok faktöre bağlıdır. Bunlardan en önemlileri, dolaşım yeterliliği ve doku oksijen basıncıdır. İntertisyel matriks, fibroblastlar ve diğer mezenkimal hücrelerce yapılır ve kollajen liflere sahiptir. İntertisyel matriksin ana

elemanı proteoglikanlar olup, yeni oluşan skar dokusunun %50'sini oluşturur. Diğer %50 miktarı kollajen oluşturur. Kollajenle yapılan bu maddeler, yaralanmayı takiben 2. haftada en fazla üretilir. Kollajen sentezi 2. haftada hızlanır, birikimi 2. ve 3. haftalarda en yüksek seviyededir. 3. hafta sonunda sentez ve yıkımı dengededir, 4. haftadan sonra sentezi azalır. Normal deri %80 tip I kollajen, %20 tip III kollajen içerir. Yara iyileşme sürecinde biriken kollajen tipleri farklılıklar göstermektedir.

Yaralanmadan sonraki; ilk saatlerde tip IV-V kollajen dominant kollajen birikimi olur. 24. saat sonunda tip III kollajen, daha sonraki 60. saatte tip I kollajen dominant olmak üzere, Tip III-IV kollajen birikimi olur.

Anjiyogenez:

Yara yüzeyi rölatif olarak iskemiktir, oksijen ve besin transferi olmadan iyileşme gerçekleşemez. Anjiyogenez yaralanmadan sonraki 4. günde başlar. Makrofajlar tarafından salınan, endotel ve mezotel hücreleri için kemoatraktan moleküller olan, anjiyogenik faktörlerin uyarılması ile tetiklenir.

Endotel hücrelerinin proliferasyonu ile yara yüzeyinde kapiller tomurcuklar oluşur. Bu tomurcuklar ilerleyip, diğerleriyle aralarında yeni bağlantılar oluşturarak, yeni kapiller ağları ve kapiller yatakları inşa ederler. Yaranın metabolik ihtiyaçlarına bağlı olarak, yeni kapillerlerde remodeling ve regresyon olur, bu oluşum skar dokusunun eriteminin azalması şeklinde gözlenir.

Matürasyon Evresi (Remodeling, Olgunlaşma):

Yara iyileşmesinin en uzun bölümüdür. İnflamatuar hücreler yavaş yavaş azalır, anjiogenez sonlanır ve fibroplazi biter. Yaralanmadan sonraki iki ile üçüncü hafta arasında başlar, ortalama bir yıl kadar devam eder. Yaralanmanın ilk haftasında sentezlenen kollajen, remodelizasyon fazında yerini daha çok stabil örgü halindeki kollajene bırakır. Lifler arasındaki kovalent bağlar artarak stabilizasyon sağlanır. Başlangıçta rastgele dizilmiş olan kollajen lifleri, kademeli olarak mekanik güçlerin etkisiyle organize olurlar. Maturasyon evresinde kollajen sentezi devam etmekle birlikte, yıkımı da başladığı için net kollajen miktarında artış olmaz. Kollajen lifleri, mekanik kuvvetlerin yarattığı stres hattı boyunca dizilime uğrar ve yarada daha fazla gerilim kuvveti meydana gelir. Yaranın direnç kuvveti kollajen miktarından öte, dizilimine bağlı olarak artar.

Matürasyon evresinde depolanan yeni kollajen lifleri stabil çapraz bağlar kurarak kalıcı hale gelirler. Kollajen çapraz bağları yaraya direnç ve bütünlük kazandırır. Komşu kollajen lifleri arasında da çapraz bağlar oluşur ve 3 boyutlu üçlü heliks yapısını kazanır. Matürasyon evresinde diğer değişiklikler, interselüler matriks moleküllerinde olur. Hyalüronik asit, kondroidin-4-sülfat gibi glikozaminoglikanların ve proteoglikanların miktarı dermiste bulunan normal düzeylerine iner, dokuların su içeriği kademeli olarak azalır normale döner.

Epitelizasyon:

Epitelin major fonksiyonu vücut yüzeyi ve çevre arasında bir bariyer oluşturmaktır. Ayrıca epitel tabakası, dış ortam ve vücut arasındaki sıvı-elektrolit ve diğer maddelerin geçişini, dengesini sağlar. Epitel tüm madde ve tepkilere karşı mutlak bir bariyer değildir. Patojen mikroorganizmalar, toksik solüsyonlar ve iyonize radyasyon bu bariyeri geçerek, vücut iç ortamına ulaşabilir.

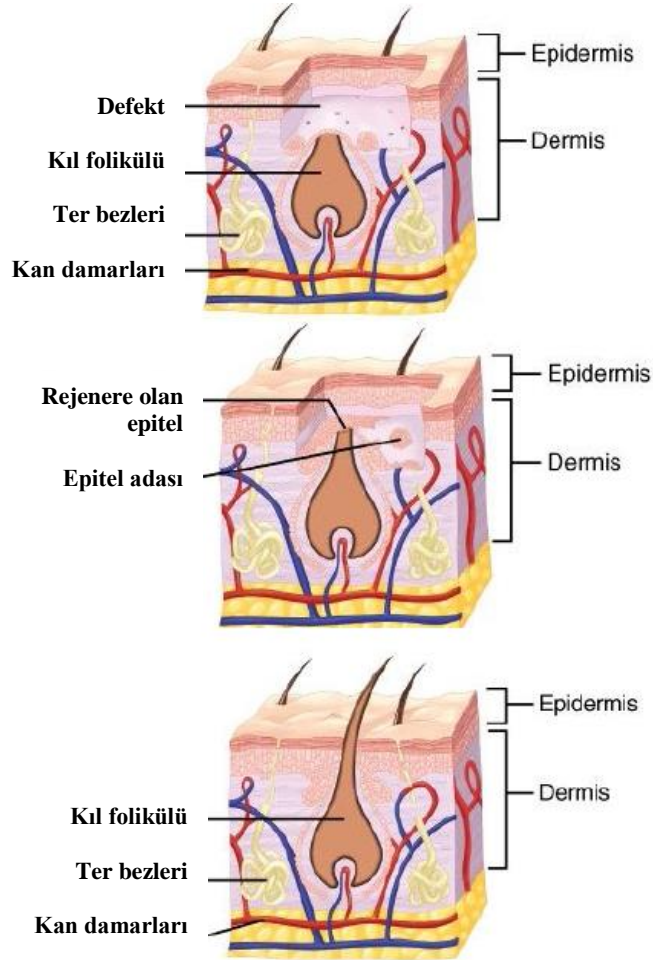
Epitelizasyon yaralanmadan sonraki birkaç saat içinde başlar. Epitel hücreleri trombositler ve makrofajlardan salgılanan büyüme faktörleri etkisiyle yara alanında doğru harekete geçerler. İyi yakınlştırılmış cerrahi insizyonlarda 24-48 saat içinde epitelizasyon olur, sıvı bariyerini meydana getirir.

Epitelizasyon 4 basamakta gerçekleşir:

- Mobilizasyon
- Migrasyon
- Mitozis
- Hücresel farklılaşma

Yara iyileşmesinin epitel bölümü hücrelerin mobilizasyonu ve yara kenarlarını geçerek migrasyonu ile başlar. Mitoz ile hücre sayısı artar, proliferasyon meydana gelir, farklılaşma ile normal epitel görünümü kazanılır. Yara kenarına bitişik olan epitel hücreleri, genişleyip düzleşerek, komşu hücre ile bazal membrandan ayrılır, böylelikle mobilizasyon süreci başlar. Bu hücreler yassılaştıkça bitişikteki epitel hücrelerinden uzaklaşma eğilimine girerler. Epitel hücreleri yara kenarında apiko-bazal polaritelerini kaybetmişlerdir, yara üzerinden serbest bazolateral kenarlarından psödopotlar uzatarak ilerlerler. Hücrelerin migrasyonu kontak inhibisyonun kaybı ile başlar. Kontak

inhibisyonu ortadan kalkan hücre, yaraya doğru ilerler. Epitel hücreleri ilerlemesi, hücreler karşılıklı gelinceye kadar devam eder, kontak inhibisyonun yeniden oluşmasıyla migrasyon tamamlanır. Göç eden hücrelerde mitoz başlar. Sabit bazal hücreler tüm yara yüzeyine doğru proliferer olur. Hücre sayısının artışı yeni epitel tabakasını kalınlaştırır. Tekrar epitelizasyon sağlandıktan sonra, bazal tabakadan yüzeye doğru, stratum corneum'un tekrar oluşması için farklılaşma başlar ve keratinosit hücreleri meydana gelir (şekil 2.6).



Şekil 2.6: Yara iyileşmesinde epitelizasyon

Yara Kontraksiyonu:

Kontraksiyon, yumuşak dokularda yara alanlarının kapatılması için gerekli, iyileşme sürecinin doğal bir parçasıdır. Kontraksiyon ile yara merkezine doğru çevre dokuların hareketi ve yarayı kademeli olarak örtmesi görülür.

Yara kontraksiyonunun anlaşılmasındaki en önemli adım myofibroblast adı verilen hücrelerin tanımlanmasıyla atılmıştır. Myofibroblast, fibroblastik hücrelerden

köken alan, stoplazmasında düz kas benzeri mikroflamanlar içeren bir hücredir. Myofibroblastlar, yara gerilim hattı boyunca kollajen liflerini beraberinde sürükleyerek yara alanını kapatmak üzere merkeze doğru hareket ederler. Yara iyileşme sürecinde kontraksiyon normal bir gelişimdir çünkü yara tabakalarının birleşmesini sağlar. Ancak bu süreç uzar ve kalıcı hale gelirse kontraktür meydana gelir. Yara iyileşmesi çalışmalarında klinik amaç yara kontraksiyonunu kontrol altına alabilmektir. Granülasyon dokusunda histamin, prostoglandinler ve serotonin ile stimüle edilen yara kontraksiyonu, deneysel olarak düz kas inhibitörlerinin topikal kullanımı ile azaldığı gösterilmiştir. Fakat topikal ve farmakolojik ajanlar ile kontrolün klinik etkisi kesin olarak belirlenememiştir (21).

Yara Direnci:

Yaraya direnç kazandıran ana madde kollajendir. Yaranın erken evrelerinde direnç kazanma özelliği fibrin pıhtı sayesinde oluşur. İlk 24 saatte yaranın ölçülebilir miktarda gerilim direnci kazandığı, sonuç olarak bu direnci epitelizasyon ve fibrin pıhtı sayesinde kazandığı gösterilmiştir. PMNL'in kollajen oluşumunda yeri olmadığından, inflamasyon evresinde kollajen depozisyonu çok azdır. Ancak makrofajlardan salınan büyüme faktörleri kollajen oluşumunu etkileyerek, indirek yoldan yara direncine katkıda buldukları gösterilmiştir. Çalışmalar sonucunda, yara yerindeki makrofajların sayısının azalması ile kollajen depolanmasının azaldığı belirlenmiştir. Prostaglandinlerin bu mekanizmada önemli rol oynadığı gösterilmiştir bu nedenle inflamasyonun kontrolünde prostoglandin inhibitörlerinin kullanılması önerilmiştir.

Yara iyileşmesi tamamlandıktan sonra, yara bölgesi hiçbir zaman sağlam deri gerilim direncinin tamamını kazanamaz. Aylar sonra ölçülen değerlere göre optimal şartlarda dahi gerilim direnci %70-80 düzeyine ulaşır. Ancak bireyler arası farklılıklara, yaranın olduğu dokunun özelliğine ve diğer etkenlere bağlı olarak kazanılan gerilim direnci düzeyi değişebilir. Kapatma için seçilen dikiş materyallerinin özellikleri de gerilim direncini etkileyen bir faktördür (22).

Gerim kuvveti 2. haftada %10, 3-4. haftada %25, 8. haftada %80 civarındadır.

2.2. Radyoterapi

2.2.1. Tanım ve Tarihçe

Kanser tedavisinde kullanılan radyoterapinin ana ilkesi kanserli hücrelerin tahrip edilmesi için iyonize radyasyonun kullanılmasıdır. Radyasyon DNA'ya kalıcı zararlar vererek ya da serbest oksijen radikalleri oluşturarak hücre içi hasar ile kanserli hücreleri öldürmeyi amaçlar. Cerrahi ve kemoterapinin yanında radyoterapi de kanser tedavisinin önemli bir parçasıdır. Genel olarak kanser hastalarının %50-60'ının hastalıklarının seyri sırasında, küratif veya palyatif amaçla, radyoterapiye ihtiyaç duydukları bilinmektedir (23).

1895 yılında Roentgen'in ilk olarak X ışınlarını keşfinden 2 yıl sonra X ışınları Freund tarafından kılıcı bir nevüsün tedavisinde kullanılmıştır. Bu gelişmelere paralel olarak 1898 yılında Becquerel Curie; ilk olarak radyoaktiviteyi tanımladığı raporunu yayımlandı. Bundan 3 yıl sonra ilk radyobiolojik deneysel çalışma Becquerel tarafından yapıldı. Becquerel gömlek cebinde taşıdığı 200 mg radyumunun kendi cildi üzerinde oluşturduğu eritem ve ülserasyon gibi yan etkileri dikkatini çekti, ayrıca bu yaranın iyileşmesinin geç iyileşmiş olmasını da şaşırtıcı buldu.

Bu ilk gözlemler radyasyon biyolojisi ile cilt ve ekleri arasında önemli bir ilişki olduğunu düşündürdü. Cildin radyasyona verdiği yanıt hastanın tedaviyi tolere etme kapasitesini gösteren tek yol göstericiydi. Radyasyon biyolojisinin gelişmesi ve radyasyonun cilt üzerindeki etkileri üzerinde yapılan çalışmalar radyoterapinin optimal kullanımı ile ilgili çok değerli bilgiler sağlamıştır. Strandqvist'in cilt kanserlerinin tedavisinde çeşitli doz ve süreler ile yaptığı ve ayrıca normal dokunun radyasyona verdiği cevabı inceleyen 1944 yılındaki önemli çalışması; radyoterapinin daha yıllar öncesinden optimum tedavi şekli üzerine önemli bir temel oluşturmuştur (24).

Her ne kadar günümüzde yüksek güvenilirlikle kullanılsa da tüm tedavi yöntemlerinde olduğu gibi radyoterapinin de yan etkileri vardır. Radyoterapinin yan etkileri doza bağımlı olmakla birlikte, ilk şikayetler yaklaşık birinci haftadan sonra başlar ve bazen bir ömür boyu devam eden hasarlara neden olabilir.

Radyoterapi uygulandığında hücrede hasar oluşur. Hasara bağlı hücre ölümü oluşabilir ya da hasar tamir edilir ve hücre yaşamına devam eder. Hızlı bölünen

hücreler, yavaş bölünen hücelere göre genellikle radyasyona daha fazla duyarlıdır. Bu nedenle radyasyonun yan etkilerinden akut olanlar hızlı bölünen hücelere bağlı, kronik olanlar ise yavaş bölünen hücelere bağlı olarak ortaya çıkar (25).

2.2.2. Radyoterapi Etki Mekanizması

Radyobiyojide genellikle hücre ölümü, hücrenin “çoğalabilme kabiliyetini yok olması”nın karşılığı olarak kullanılır. Işınlamayı izleyen saatlerde bir hücre sağlam görülebilir, protein ve DNA sentezini sürdürebilir ve hatta mitotik aktivasyon gösterebilir. Ancak, bu hücre bölünüp çoğalabilme yeteneğini kaybetmiş ise ölü kabul edilir. Bu kavram özellikle malign tümörlerin radyoterapisi sırasında kullanılabilir uygun bir terimdir. Çünkü bilindiği gibi malign tümörlerin başlıca niteliği kontrolsüz çoğalmadır. Tümör radyoterapisinin başlıca amacı ya malign hücreleri tümü ile tahrip etmek ya da bu hücrelerin kontrolsüz çoğalmalarına son vermektir. Böylece malign tümörün büyümesi ve yayılması kontrol edilebilecektir.

Işınlanan hücrelerin ölüm mekanizmaları tam olarak anlaşılmış değildir. Ancak elde ettiğimiz radyobiyojik analiz sonuçları göstermektedir ki radyasyon özellikle nükleus üzerinde yıkıcı bir etki yapmaktadır. Radyasyonun hücre içindeki hedefi DNA’dır. Radyasyon hedef hücre üzerine hem direkt etki ile hasar verir hem de hücre içi su ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkan, hücre için çok toksik olan serbest oksijen radikaller ile hücre hasarına neden olur (24).

Memeli hücrelerinde sitoplazma ve nükleusun ayrı ayrı ışınlanmasına olanak veren mikrodemet ışınlama ile yapılan araştırmalar, nükleusun ışına sitoplazmaya oranla 1000 kat daha duyarlı olduğunu ortaya koymuştur. Radyasyon etkisine uğramış hücrenin ölümünde özellikle kromozomlardaki DNA’nın uğradığı zararın büyük önem taşıdığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar radyasyon etkisi altında DNA zincirlerinden birinin ya da her ikisinin birden parçalandığını, bunun da kromozomal bozukluklara ve sonuçta da hücre ölümüne yol açtığı belirlenmiştir.

Hücre kültürlerinde yapılan invitro çalışmalar hücre ölümünün kullanılan radyasyon dozu ile orantılı olduğu, yani belirli bir radyasyon dozunun ışınlanan hücrelerde sabit bir oranda ölümlere neden olduğunu gösterilmiştir. Bu nedenle belli

sayıda tümör hücrelerini öldürmek için gerekli doz, başlangıçta mevcut tümör hücreleri sayısına ve tümörün büyüklüğüne bağlı olmaktadır.

"Radiation absorbed dose" (rad) dokularda iyonize radyasyon tarafından yaratılan biyolojik etkinin ölçümü için bir parametredir. Son zamanlarda rad yerine "Gray(Gy)" kullanılmaktadır (1 Gy=100 rad). Standart radyasyon dozu 100-200 cGy/dakika'dır (24).

Birçok memeli hücresi için tek bir ışınlanma ile elde edilen etkin doz 110-240 cGy arasındadır. Tek bir ışınlama şeklinde verilen dozlarla aralıklı olarak verilen dozların hücrelerin yaşam süreleri üzerinde yaptığı etkiler karşılaştırılmıştır. Aktif hücre bölünmesi ve radyasyon duyarlılığı arasında direkt ilişki vardır.

Schwartz 1914'te total radyasyon dozunu bir defada vermenin etkili olmayacağını çünkü bazı hücrelerin radyasyona dirençli safhada bulunacağı için bu hücrelerin yaşamaya devam edeceği görüşünü ileri sürdü. Total doz uzun vadede daha küçük dozlar halinde verilirse yaşayan hücrelerinde radyasyona duyarlı safhada yakalanarak daha etkili bir tedavi yapılabileceği daha sonraki klinik gözlemlerle ve deneysel çalışmalar ile de desteklenmiştir (24).

Bölünmüş dozlarla hem hücresel tamirin hızlandığı hem de hücrelerin yaşam sürelerinin uzadığı saptanmıştır. Tek bir dozla ortaya çıkan biyolojik etkinin elde edilebilmesi için bölünmüş dozlarda çok daha büyük miktarlarda radyasyon kullanmak gerekmektedir. Bölünmüş dozun benzer etki için tek dozun 2 ila 5 katına çıkması gerektiği saptanmıştır. Burada kullanılan tanımlardan biri de "terapötik oran"dır. Bu tümöre verilen zararın normal dokulara verilen zarara oranını ifade eder. Bölünmüş ışınlama yönteminin kullanılması ile birlikte terapötik oranın yükseltilebilmesi için çalışmalar sürdürülmektedir.

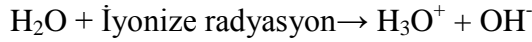
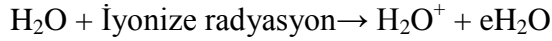
Radyasyon'un hücreye verdiği hasar 3 ayrı kategoride sınıflandırılabilir.

1. Lethal hasar: geriye dönüşümsüz, tamir edilemez hücre ölümü
2. Sublethal hasar: Eğer ikinci bir doz eklenmezse normal şartlar altında saatler içinde hücrenin tamir edebileceği hasar

3. Potansiyel olarak lethal hasar: Hızlı olarak bölünen dokular tarafından ve yüksek radyasyon uygulamasından sonra tamir edilemez bir hücre hasarı meydana gelir.

Radyasyonunun direkt ve indirekt etkilerinin toplamı bir hücreyi tam olarak öldürebilir veya fonksiyonunu bozar. Özellikle hücrenin tamir edici mekanizmaları radyasyona karşı hassastır. DNA içeriğinin kaybı veya değişmesi hücrenin geleceğinin değişmesi anlamına gelir. Kısmi hücre hasarı ayrılma olmaksızın bölünmeye neden olur, çok nükleuslu hücre gelişimi veya kontrol edilemeyen çoğalma ortaya çıkar.

X ışınlarının dokular tarafından emilimi elektronların iyon çiftleri oluşturmasını hızlandırır. Bu iyon çiftleri serbest radikalleri açığa çıkarır. Su molekülleri en önemli serbest radikal kaynağıdır.



Serbest radikal hidroksil (OH⁻) kimyasal bağları ayrıştırarak bir takım biyolojik ve kimyasal etkiler oluşturur. Bu hasarların çoğu tamir edilebilir, ama ortamda O₂ molekülleri bulunuyorsa, bu moleküller serbest radikaller ile reaksiyona girerek organik peroksitleri üretirler. Hücresel peptidler, lipidler ve DNA hücre sıvısı ile iyonize radyasyonun direkt veya indirekt yolla reaksiyona girmesi ile etkilenebilir (43). Böylece geri dönüşsüz yapıda bir kimyasal reaksiyon meydana gelir. Dokudaki oksijenlenme iyonize radyasyonun daha çok biyolojik hasar oluşturmasına neden olur. Oksijen mevcudiyetinde radyasyon alan hücreler anoksik ortamda radyasyon alan hücrelere göre 2-3 kat daha radyosensitiftir. Hipoksik ortamdaki canlı tümör hücreleri radyasyon tedavisine daha dirençlidir. Bu yüzden hipoksik ortamda radyokürabilite elde etmek daha zordur (24).

Memeli hücrelerinin radyosensitivitesi üzerine etkili bir diğer faktör de hücre siklusunun bulunduğu aşama, yani hücre yaşıdır. Değişik fazlardaki hücrelerin radyasyona cevabı değişik olmaktadır. Genel olarak hücreler, G2 aralığı ve mitoz dönemlerinde radyasyon hasarına açık, sentez döneminde ise dirençlidir. Hücre

siklusuna spesifik kemoteropatik ajanlar radyasyonun etkisini arttırabilir veya azaltabilir (24).

Hücre siklus ilişkisini klinik olarak ortaya koymak zordur. Çünkü ne tümör hücresi ne de normal hücrelerin siklusları kolayca senkronize olmazlar (24).

2.2.3. Radyasyonun Fiziksel, Kimyasal Etkisi ve Radyoterapiye Bağlı Biyolojik Yanıt

İyonizan radyasyon elektromanyetik ve partiküllü radyasyon olarak sınıflandırılabilir. Elektromanyetik radyasyon elektrik ve manyetik enerji dalgalarından oluşur. Bunlar X ve gama ışınları, radyo dalgaları ve mikrodalga ışınlarıdır. X ve gama ışınları kısa dalga boyuna sahip yüksek enerji fotonlarıdır (24).

İyonizan radyasyon biyolojik bir maddeden geçtiğinde o maddeyle etkileşir. Bu etkileşme sırasında birçok fiziksel, fiziko-kimyasal, kimyasal ve biyolojik olaylar zinciri sonucunda asıl olan biyolojik cevap oluşur. Radyasyon etkisine bağlı olaylar 4 evreden oluşmaktadır:

1. Fiziksel evre: Radyasyon uyarılmış iyonize moleküller oluşturur. Ortalama süresi 10-18 saniyedir.

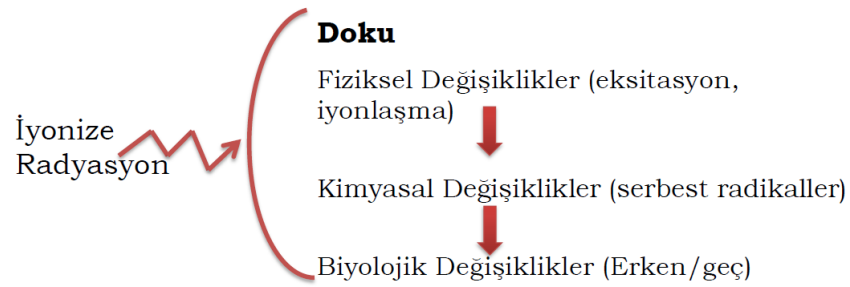
2. Fiziko-kimyasal evre: Primer maddeler, kimyasal olarak reaktif serbest atomlar ve serbest radikaller meydana getirmek için, stabil molekül oluşturmak üzere sekonder reaksiyona girerler. Ortalama süresi 10-13 saniyedir.

3. Kimyasal evre: Kimyasal olarak reaktif olan maddeler ortam içinde birbirleriyle reaksiyona girerler. Ortalama süresi 10-6 saniyedir.

4. Biyolojik evre: Organizmanın ışınlama sonucu meydana gelen kimyasal ürünlerine vermiş olduğu biyolojik cevaptır. Ortalama süresi 10-6 saniyeden başlayıp yıllarca sürebilir (Şekil 2.7).

İyonizan radyasyonlar içinden geçtiği maddede enerjilerini aktarırlar. İyonizan radyasyonun içinden geçtiği maddede takip ettiği yolun her bir birim uzunluğunda aktardığı enerji miktarına Lineer enerji transferi adı verilir. Bu enerji, hücre ve doku içerisinde absorbe edildiğinde uyarılmaya ve iyonizasyona neden olurlar. Elektronlar ve protonlar gibi yüklü parçacıklar direkt olarak iyonizasyona yol açarlar. Bunlar

yeterli kinetik enerjileri sayesinde kimyasal bağları koparabilirler. Elektromanyetik ışınlar (X ve gamma) ve nötronlar ise indirekt olarak iyonizasyon yaparlar. Yani kendileri kimyasal bağları kırmamakla birlikte bu işi yapan yüksek kinetik enerjili, yüklü parçacıklar oluşturarak iyonizasyon yaparlar. Nötronlar ise emildikleri maddedeki atomların çekirdekleriyle etkileşerek kinetik enerjilerini protonlara aktararak iyonizasyona neden olurlar.



Şekil 2.7: İyonize radyasyonun dokudaki etkileri

Radyasyon hücrenin kritik moleküllerine etki ederek hücre biyolojisinde önemli değişikliklere neden olur. Bu şekilde molekülde meydana gelen hasar, ya molekülün direkt olarak iyonizasyonu veya indirekt etkisi ile ortaya çıkar. Burada iyonizasyon ilk önce başka bir molekül içerisinde oluşmakta, enerji daha sonra hedef moleküle aktarılmaktadır (27).

Hücrelerin en azından %70'i su olduğuna göre etkileşmelerin çoğu su moleküllerinden türemiş reaktif maddeleri içermektedir. Radyasyon su ile etkileşerek diğer moleküllerle reaksiyona girer. Bu moleküllerin radikalleri ise stabil maddeleri oluşturur. Radyasyona maruz kalan hücrelerde en belirgin etki ve değişikliğin gözlendiği hedef makromolekül nükleik asitlerdir.

Nükleik Asitler; radyasyon etkisine en önemli hedef molekül DNA'dır. Radyasyon sonucu DNA'nın bazında değişiklik veya yok olma, DNA zincirleri arasındaki hidrojen bağlarında kopma, diğer DNA molekülleri ve kromozom proteinlerinde çift heliks halinde çapraz bağ oluşur. Bunlar moleküler yapı ve fonksiyonda değişikliklere neden olurlar. Sıklıkla kromozom bozukluğuna rastlanır. DNA'da oluşan etki, hücre ölümünde en önemli faktör olarak kabul edilir. Radyasyondan etkilenen DNA kendini tamire çalışır. DNA tamir olayı birçok değişik

şekilde olabilir. Bunlar S fazı veya replikasyon sonrası tamir, foto-reaktivasyon ve heliks kopma tamiri şeklinde olabilir.

Radyasyonun yaptığı molekül hasarını değiştiren faktörler mevcuttur. Radyasyonun neden olduğu molekül hasarı ısı, pH, oksijen konsantrasyonu ve hedef molekül konsantrasyonu gibi intrasellüler faktörler tarafından değiştirilebilir. Oksijen, serbest radikallerin oluşumunda sayısal ve tip olarak değişiklik yaptığından radyasyon hasarı gelişmesinde çok önemlidir.

Radyasyon etkisine bağlı hücrelölüme giden hücreler sıklıkla şişkin, boyanma kapasitesinde azalmayla birlikte vaküol ve fibrotik çekirdekli olup karyoliz gösterirler. Hücreler normal hacimlerinin birçok katı büyüyerek dev hücre şekline gelebilirler. Genellikle bunu hasarlı hücrelerin bozulması ve fagositozu takip eder (24).

Radyoterapi sonrası hücrelerde görülen iki önemli etki vardır:

1. Fonksiyon kaybı
2. Üreme yeteneği kaybı

Fonksiyon kaybı; bölünmeyen veya bölünme kabiliyeti kısıtlı hücreler sonuçta fonksiyon kaybına uğrayarak interfaz ölümüne giderler. Bölünmeyen hücrelerde (erişkin sinir ve kas hücreleri gibi) interfaz ölümü sadece yüksek doz (100 cGy'den yüksek) radyasyon maruziyetinden sonra görülür. Lenfositler ise küçük dozlarda interfaz ölümüne giderler. Üreme kabiliyetinin kaybı ile gerçekleşen ölüm, bölünen hücrelerde radyasyonun yaptığı en önemli etkidir.

Radyasyona dokunun bütün olarak cevabı ise hem parankimal hücreler hem de vasküler stroma hücrelerinin teşkil ettiği dokulardaki hücrel etkinin tamamıdır. Yenilenemeyen dokularda, sinir ve çizgili kas hücrelerinde olduğu gibi bölünmeyen parankimal hücrelerde konvansiyonel bölünmüş radyoterapinin kritik hasarı vasküler kompartmanda ortaya çıkar. Böyle dokulardaki parankimal hücreler radyasyona nispeten daha dirençlidirler. Çünkü kapiller permeabilededeki artış 1 Gy'den daha az dozlarda görülebilir.

Patolojik olarak akut hasar; vasküler dilatasyon, lokal ödem ve inflamasyon ile karakterizedir. Kronik hasar fibrozisle birlikte küçük damarların daralması ve

tıkanması şeklinde görülür. Sıklıkla parankimal hücrelerin miktarında azalma ile birlikte dir. Parankimal kök hücrelerinin çoğunu öldüren bir radyasyon dozu sonrasında, kök hücrelerinden gelişen matür hücreler doku fonksiyonunun yeniden kazanılmasında önemli bir rol oynar.

2.2.4. Radyoterapinin Sistemik Yan Etkileri

Radyasyondan enerjinin absorpsiyonu karsinöz bir hücre üzerine etki ederse tedavi edici, normal bir hücre üzerinde etkisini gösterirse zararlı etki olarak değerlendirilir. İyonize radyasyonun insan hastalıkları üzerinde başarılı bir şekilde kullanımı için anahtar faktör radyasyonun seçici olarak kanser hücrelerini öldürürken normal hücreleri koruyarak normal doku fonksiyonlarını bozmamasıdır.

Radyoterapi ile tümör tedavisinde kaçınılmaz olarak sağlam dokular da tedavi alanına girmekte ve radyasyondan olumsuz etkilenmektedir (26).

Doz sınırlayıcı organlar radyasyona olan toleranslarına göre 3 sınıfta toplanır. Sınıf I organlar radyasyon hasarının şiddetli morbidite veya mortalite oluşturduğu organlardır. Örneğin kemik iliği aplazisi sonucu pansitopeni, karaciğerde akut ve kronik hepatit, mide ve ince bağırsakta perforasyon ve kanamalar beyinde infarkt, kalpte perikardit, böbrekte nefroskleroz. Sınıf II organlar ise radyasyon hasarının hafiften ortaya kadar morbidite, nadiren mortalite oluşturduğu ve genellikle geç etkileri tedavi etkinliğini değiştirmeyenlerdir. Örnek olarak ağız içi ülserleri, cilt akut ve kronik dermatitler, özafagusta özafajit ve ülserasyon, mesane ve üreterlerde darlık, testis ve overlerde sterilizasyon, büyüyen kıkırdakta büyümenin durması, kemikte patolojik kırıklar. Sınıf III organlar da ise radyasyon hasarı geri dönebilir. Kaslarda atrofi ve güçsüzlük, lenf bezlerinde skleroz, vajina ve uterusu fistüller, meme dokusunda atrofi örnekler arasında sayılabilir

Tüm vücut radyasyona maruz kalırsa 200-500 rad arası mortaldir. Bununla birlikte izole portlardan tümörlere radyasyon verilirse 6000-7000 rad civarında doz verilebilmektedir. Radyasyon hasarlarının ortaya çıktığı bu nekrotik dokular çok ağrılıdır. Duyu sinirleri kalınlaşır, sinir kılıfları içinde aşırı fibrozis ve sensitif sinirlerin sıkışması sonucunda oluşan radyasyon nöriti ağrısı genellikle çok zor kontrol edilir.

Büyük damarlar erozyona uğrayarak öldürücü kanamalara yol açabilir. Beyin, toraks ve abdomene ait dokular nekroze olabilir. Kemik, kırık gibi dokular ekspozite olur, yaşamı tehdit eder. Bu itibarla plastik cerrahiye düşen görev ileri derecede ve geri dönüşümü olmayacak şekilde bozulmuş bu dokuları çıkarmak ve bölgeyi uygun doku içeren tercihen vasküler flepler ile tamir etmektedir (27).

Sistemik Yan Etkileri:

Erken yan etkiler genellikle tedavi sırasında ve hemen sonrasında, geç yan etkiler ise 3 ay sonrasında ya da yıllar sonra ortaya çıkabilir. Genelde radyoterapi gören hastalarda tedavinin ilk haftasında belirgin bir yan etkiye rastlanmaz. Doza bağımlı olmakla birlikte, ilk şikayetler yaklaşık birinci haftadan sonra başlar ve bazen bir ömür devam edebilir. Hızlı bölünen hücreler, yavaş bölünen hücrelere göre genellikle radyasyona daha fazla duyarlıdır. Bu nedenle radyasyonun akut etkisi hızlı bölünen hücrelere bağlı, kronik etkisi ise yavaş bölünen hücrelere bağlı olarak ortaya çıkar (26).

Sistemik Akut Yan Etkiler:

Radyoterapi uygulanması sırasında ya da radyoterapi bitiminden hemen sonra ortaya çıkan etkilerdir. Bu etkilere özellikle hızlı bölünüp çoğalan hücrelerin bulunduğu doku ve organlarda (gastrointestinal mukoza, kemik iliği, cilt) rastlanır. Etkinin şiddeti hücrelerin radyasyon duyarlılığının yanında tedavi tekniği, toplam radyasyon dozu ve tedavi sahası genişliği ile de ilişkilidir (26).

Radyoterapi sırasında ortaya çıkan genellikle ışınlanan organın veya dokunun hızlı yinelenen hücrelerinin kaybı, hiperemi ve ödemle karakterli değişikliklerdir. Akut yan etkiler genellikle ciddi olmayıp tedaviyi aksatmazlar. Destek tedavisi ile hafifletilirler. Ciddi oldukları durumlarda ışın tedavisine ara verilmesi ve ilgili tedavinin başlatılması gerekir (26).

Sistemik Subakut Yan Etkiler:

Radyoterapinin bitimini takip eden birkaç hafta ile 3 ay arasındaki bir sürede ortaya çıkarlar. Yavaş proliferasyon yeteneği yavaş olan dokuları içeren organların (akciğer, karaciğer, böbrek, kalp, omurilik, beyin) ışınlanmasından

sonra görülürler. Bu reaksiyonlar genellikle geçici olup, spontan olarak düzelirler ve nadiren ciddi bir durum arz ederler (26).

Geç Radyasyon Yan etkiler:

Radyoterapi bitimini takip eden 3. aydan sonra, bazen yıllar sonra ortaya çıkan komplikasyonlardır. Yeterli veya ilgili doku toleransının üzerinde ışın dozu alan tüm hastalarda ortaya çıkabilirler. Bu etkiler genellikle ciddi, kalıcı ve ilerleyici karakterdedirler. Geç radyasyon hasarları radyoterapi uygulamalarında en korkulan ve toplam radyasyon dozunu kısıtlayan yan etkilerdir. Bu nedenle tedavi alanlarındaki sağlam doku ve organlar mümkün olduğunca korunmalıdır. Meme ışınlamasında; akciğer, kalp, kostalar, tiroid, özafagus, kalp ve ana damarlar brakial pleksus, humerus kritik organlardır (26).

2.2.5. Radyoterapinin Cilt Üzerindeki Etkileri ve Fibrozis

X ışınları ile dokuda kalıcı, birikici, progressif, proliferatif değişiklikler zinciri oluşmakta ve bu zincir ömür boyu sürmektedir. Erken dönemde akut değişiklikler olarak eritem, ödem, yanıklar ve ülser görülebilmektedir. Bu akut değişiklikler zamanla iyileşmekte fakat deride ter, yağ bezi salgılarının azalması bu bezlerde atrofi, kılların dökülmesi deri katlarının atrofisi ve incelmeleri telenjiektazi, pigmentasyon bozuklukları, fibrozis, vasküler sistemde intima proliferasyonu, damar lümenlerinin daralması ve o bölgede kan akımının düşmesi gibi değişiklikler görülmektedir. X ışınlarına maruz kalıdıktan sonra erken veya geç bir süre sonunda ki bu süre aylar veya yıllar ile ölçülebilir, radyasyon kanserleri ve sarkomlar oluşabilmekte; bu habis tümörler radikal tedavi edilmediğinde hastanın ölümüne sebep olmaktadır. Kronik radyasyon belirtileri hastayı ömrü boyunca rahatsız edebilmektedir (Şekil 2.8) (27).

X ışınları iyonizan ışınlardır. Tolerans dozu aşıldığında hücre ölümüne neden olmaktadır. Hücre ölümüne neden olmayan dozdaki ufak radyasyonlar hücrede DNA değişikliği ve hatta mutasyonlara neden olup, çeşitli patolojik olaylar zinciri başlatmakta; sonunda tümörler, radyodermatit ve radyonekrozlara yol açmaktadır. Radyasyon almış dokular normal yaşamın travmalarına dayanıksızdırlar. Kolayca infeksiyon etkisiyle nekroza gidebilecek dokular içerirler.

Kanser cerrahisi uygulamalarında radyoterapi görmüş dokularda ameliyat yapmanın doğru olmadığı hakkında bir kanaat vardır. Bugün radyoterapi almış dokularda da minimum travma ile ameliyatlara yapılabilir. Yara iyileşme problemlerine yol açmayacak önlemler almak gerekir. Preoperatif radyoterapi almış hastalar akut radyasyon ödemi ve eritemi varken ameliyat yapmak doğru değildir. Minimum her 1000 rad doz için 1 hafta beklemek bir yöntemdir. Örneğin toplam 6000 rad radyoterapi almış bir dokuda ameliyat yapmak gerekirse (örneğin radikal boyun diseksiyonu gibi) radyoterapinin bitişinden itibaren yaklaşık 6 hafta beklemek gerekir. Bu süre sonunda yapılan ameliyatlarda yine dokular çok kanar, zor disseke edilir ve postoperatif komplikasyonlar, infeksiyon, kanama, dehissans ve fistül oranları yüksektir.

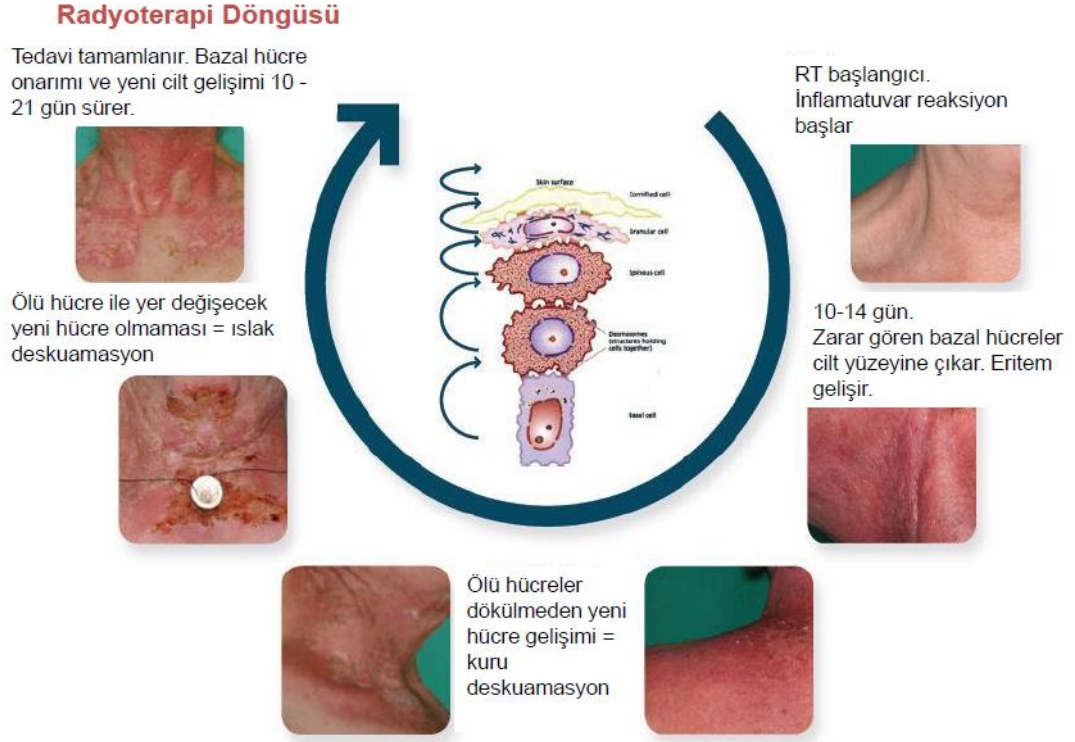
Radyasyon tedavisi ile pek çok doku etkilenebilir. İntraoperatif radyasyon tedavisi hariç diğer tüm radyasyon tedavi yöntemleri radyasyon ışınlarının cilt yoluyla verilmesi ile olur. Radyasyon tedavisi ile ortaya çıkan erken ve geç komplikasyonlar sıklıkla cilt ile ilgilidir. Cilt üzerindeki değişiklikler en sık görülen (%85-87) yan etkidir. Bunların %10-15'i ıslak deskuamasyondur (28).

Radyasyonun cilt üzerindeki akut etkileri:

- Eritem: en erken gözlenen yan etki, radyasyon alan sahanın sınırları içinde kalır.
- Kuru deskuamasyon: Kuruluk, kaşıntı ve soyulma. Orta düzeyde radyasyon dozlarında görülür.
- Islak deskuamasyon: Bül oluşumu, dermis kaybı, ülser ile ilişkilidir.
- Alopesi
- Hiperpigmentasyon ve telanjiektazi
- Travmaya karşı hassasiyet ve yavaş iyileşme

Radyasyonun cilt üzerinde geç dönemdeki etkileri:

- Hipo/hiperpigmentasyon
- Cilt ve cilt altı dokularda fibrozis ve kalınlaşma
- Atrofi, ter ve yağ bezlerinin disfonksiyonu
- Telanjiektazi
- Nekroz
- Tümör gelişimi



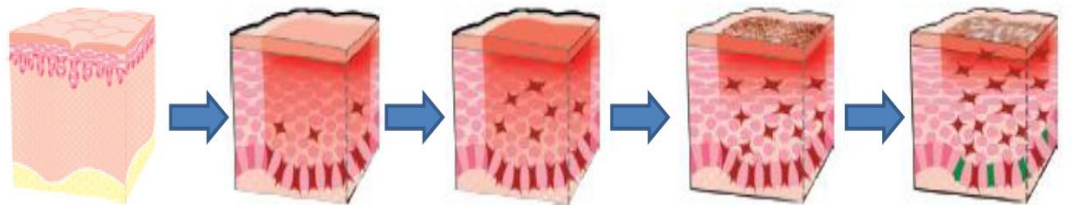
Şekil 2.8: Radyoterapi sonrası cilt değişiklikleri döngüsü

Radyoterapinin cilt üzerindeki etkilerini hücre düzeyinde incelersek;

Keratinositler:

Epiderminin ana elemanı olan keratinositler G2 ve M devrelerinde radyasyona maruz kaldıklarında ölürlür. Radyasyon uygulamasından 1-24 saat sonra değişiklikler görülür. Bu değişikliklerin proteolitik enzimlerin aktivasyonuna, kapiller geçirgenliğin bozulması ve lokal inflamatuvar cevaba bağlı olduğunu düşünülmektedir.

Radyoterapiye bağlı cilt reaksiyonları tedavi başladıktan 10-14 gün sonra, zarar görmüş bazal hücrelerin cilt yüzeyine doğru göç etmesiyle başlar. (Şekil 2.9)



Şekil 2.9: Radyoterapiye bağlı cilt reaksiyonları tedavi başladıktan 10-14 gün sonra, zarar görmüş bazal hücrelerin cilt yüzeyine doğru göç etmesiyle başlar

Erken eritematöz reaksiyon genellikle 2-3 gün sürer. Esas eritematöz reaksiyon 8 Gy tek doz radyasyon tedavisinden 8-14 gün sonra ortaya çıkar. Bunun epidermiste bazal tabakadaki hücrelerin hasarı sonucu ortaya çıktığı sanılmaktadır.

Orta dereceli radyasyon sonucu epidermal hücrelerin çoğu ölür. Eğer epidermisi yeniden oluşturacak kadar yeterli sayıda hücre sağ kalmışsa 1 ay içinde epidermis yeniden oluşur. Bu iyileşme kuru deskuamasyonla sonuçlanır. Cilt kanserini kontrol etmek için gerekli dozda radyasyon uygulandığında tedavi alanındaki bütün bazal hücreler ölür. Islak deskuamasyon bu tür bir hasarın sonucudur. Radyoterapide kullanılan radyasyon dozları genellikle hücrenin hemen ölümüne neden olmaz, hücrenin çoğalma gücünde bir ölüm söz konusudur. Bu yüzden radyasyona maruz kalmış hücreler çoğalamazlar fakat squamöz ve kornifiye epitele dönüşmeye devam ederler. Bunun sonucunda bir süre sonra deskuamasyon ile epitelin yavaş kaybı söz konusu olur.

Islak deskuamasyondan sonra bazal tabakanın tekrar oluşması radyasyon alanında kalan hücrelerin çoğalması ile olur, bu kalan hücreler genellikle kıl foliküllerinin kanallarındaki hücrelerdir. Eğer verilen radyasyon sonucu bu bölgedeki tüm epitelyal hücreler ölmüşse iyileşme yara kenarlarından epitel hücrelerinin ilerlemesi ile olur. Akut radyasyon hasarı ağırsa epidermis dermisten ayrılır ve bül oluşur.

Geç dönemde görülen radyasyon değişiklikleri bazı bölgelerde atrofi, bazı bölgelerde ise hipertrofi şeklinde görülür. Hiperkeratozis ve korneum stratum'un kalınlaşması da görülür. Malpighian tabakasındaki epidermal hücreler atipik nükleuslara sahiptir, organize olmayan dizilim gösterirler. Ödem ve bozulmaya işaret eden bir görünüm oluşur. Bu değişikliğe uğramış epitel kırılmandır ve travmalara karşı hassastır (26).

Melanositler:

Epidermin keratinositleri ile birlikte melanositler bir epidermal melanin ünitesi oluştururlar. 1 melanosite karşılık 36 keratinosit bulunur. Radyasyona maruz kalma melanositleri uyararak pigmentasyon artışına ve esmerleşmeye neden olur. Daha yüksek dozlarda radyasyon sonucu melanositler hasar görürse pigmentasyon

kaybı görülebilir. Kronik radyasyon hasarı olan bir ciltte koyu ve az pigmente alanlar, atrofi, telanjiektaziler sıklıkla birlikte görülür.

Dermal fibroblastlar ve kollajen:

Akut radyasyon hasarı dermiste kollajen demetlerinin ödemine neden olur. Dermal fibroblastların çoğalmasında azalma da meydana gelebilir. Bunun sonucunda dermisin iyileşme kapasitesinde azalma meydana gelir. Eğer dermisteki hasar ağırsa dermis nekrozu ve ülserasyon ortaya çıkar. Radyasyona maruz kaldıktan uzun bir süre sonra ortaya çıkan değişikliklerin çoğunun fibroblastların çoğalma kapasitesindeki azalmaya bağlı olduğu düşünülmektedir. Radyasyona maruz kaldıktan sonra tüm dermiste yeni kollajen oluşumu görülür, bu kliniğe fibrozis olarak yansır.

Cilt damarları:

Radyasyon tedavisi sonucu görülen eritematöz reaksiyon dermisteki yüzeysel cilt damarlarının dilatasyonu sonucudur. Kan damarlarının bazal membranında dejeneratif değişikliklere ve geçirgenliğin artmasına neden olur. Endotelial proliferasyon, bazal membranlarda kalınlaşma ve ayrılma görülür. Radyoterapinin geç döneminde ise damar duvarında ödem, tıkanma ve tromboz oluşabilir. Yüzeysel kan damarlarında subendotelial fibrozis ile birlikte telanjiektazi görülebilir. Ülserasyon alanında büyük damarlar tamamen tıkanabilir. Damar duvarlarında ödem görülür.

Cilt ekleri:

Özellikle mitotik olarak anojen fazdaki saç telleri radyasyona karşı duyarlıdır. İstirahat halindeki telojen saç telleri anojen saç tellerine göre 2 kat daha fazla radyasyona karşı dirençlidir. Saç bozukluğu, saç kaybı ve alopesi veya büyüyen saç foliküllerinde metabolizma bozulması radyasyon tedavisinden sonra ortaya çıkabilir. Saç renginden sorumlu olan melanositler de etkilenebilir ve doza bağlı olarak saç renginde değişiklikler görülebilir. Yüksek dozlarda radyasyondan sonra kalıcı saç dökülmesi ihtimali daha fazladır. Kıl foliküllerinin nedbe dokusu ile yer değiştirmesi sonucu kalıcı kıl kaybı kronik radyasyon dermatiti nedeniyle görülebilir. Kronik radyasyonun oluşturduğu dermatitte ciltte yağ bezleri de eksiktir. Epidermal eklerden

ter bezleri en çok radyasyona dirençli olmaktadır, radyasyon hasarı çok büyük olmadıkça hasara uğramazlar.

Cilt reaksiyonlarının şiddetini etkileyen faktörler:

1. Işınlanan vücut bölgesi
2. Bolus kullanımı
3. Toplam radyoterapi dozu
4. Bölünmüş dozu
5. Enerji dozu
6. Normal doku hacmi
7. Kemoterapi (öncesinde kemoterapi alan hastalar)
8. Genel sağlık durumu ve eşlik eden hastalıklar (İleri yaş, VKİ>25, beslenme durumu, diyabet, renal problemler)
9. Güneşe maruziyet
10. Sigara kullanımı

olan hastalarda daha çok cilt reaksiyonları görülmüştür (29-31).

Radyoterapi sonrası vasküler endotel hücrelerinin akut hasarı, radyasyon uygulamalarından aylar ve hatta yıllar sonra geciken organ disfonksiyonuna neden olabilir. Genel olarak bu geciken hasar parankim hücre atrofisi, vasküler hasara bağlı iskemi ve fibrozis bileşimine bağlıdır (26).

Ciltte görülen geç yan etkiler ise daha çok cilt altı dokuda fibroblastların uyarılması ve TGFβ'nin salınımı ile yapımı indüklenen düzensiz kollajen artışıdır. Dokuda olan değişikliklerin nedeni düzensiz kollajen artışına bağlı fibrozistir.

İskemiye bağlı fibrozisin merkezinde fibroblast aktivasyonu ve kollajen birikimini ilgilendiren sitokin ve iltihabi hücre ilişkisi vardır. Bunların yanında dokuda bulunan kök hücre sayısı da ciddi şekilde azalmaktadır. Makrofajlardan salınan faktörler, normal dokularla karşılaştırıldığında transforme edici büyüme faktörü beta seviyeleri yüksek bulunmuştur (32).

TGFβ kollajen depolanması yapar. Fibrozis gelişimine yardımcı olur. Radyoterapi sırasında seviyeleri düşer ama radyoterapiden 1-14 gün sonra seviyesi artar ve 4 hafta sonra TGFβ seviyesi anlamlı derecede yüksektir. Tümör nekroz faktör

alfa (TNF α), interlökin 1 alfa, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) radyoterapi sonrası artar.

Fibrozisin erken safhasında makrofajlar vardır. Fibroblastlar fibrositlere değişir. Vasküler bağ dokuda aşırı üretim ile birlikte kollajen depolanır.

Radyoterapiden sonra sitokin ekspresyonu ile hemen fibrozis başlar ve yıllarca devam eder. TNF α ve IL6, IL5, PDGF, TGF β , matriksmetalloproteinaz, fibroblastlar ve endotel hücrelerinden salınarak fibrozisi oluşturur. Vasküler sistemde endotel hücrelerde hasar oluşur. Fibrotik değişiklikler kapiller duvarda fibrotik değişiklikler olur (32).

Radyasyonun erken ve geç etkilerinin standart olarak skorlanması ve bildirim için çeşitli skollama sistemleri geliştirilmiştir. RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) ve LENT-SOMA skollama sistemleri en sık kullanılan sistemlerdir. Radyoterapi alan hastaların cilt lezyonları klinik ve objektif verilerle değerlendirilip hastaların tedavisi bu skollara göre planlanabilmektedir (Tablo 2.1) (Resim 2.1) (26).

Derece	1	2	3	4
CİLT	Suluk / mat eritem, epilasyon, kuru deskuamasyon, terlemede azalma	Ciltte hassasiyet, parlak eritem,yama tarzında yaş deskuamasyon, hafif ödem	Yaygın yaş deskuamasyon, ciltte soyulma, gode bırakan ödem	Ülserasyon, hemoraji nekroz

Tablo 2.1: RTOG cilt toksisite skollası

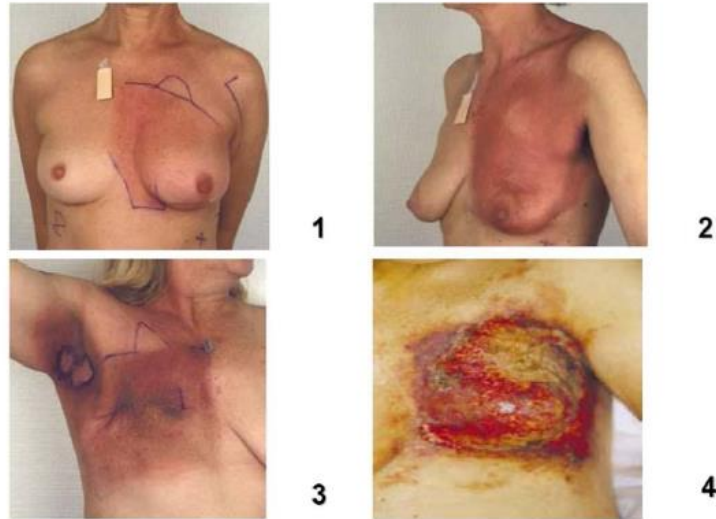
Cilt lezyonları skollanarak cildi travmalardan korumak, nemlendirmek, rahatsızlık hissini en aza indirmek, sıvı kaybını önlemek, enfeksiyondan korumak ve hastanın tedaviye devam edebilmesine olanak sağlamak, cilt reaksiyonlarını önlemek mümkündür. Radyoterapi başlamadan önce ve her gün tedaviye girmeden önce tedavi alanı cildi kontrol edilmelidir (33,34).



Resim 2.1: RTOG toksisite skalasına göre radyasyon yaralanması derecelerine örnekler

SOMA-LENT skorlaması Pavy tarafından tarif edilmiştir (35). Güncel ve klinik uygulaması daha fazla olan bir sınıflamadır. Subjektif; ağrı gibi semptomlar tanımlanabilir: nadir, arasıra, devamlı gibi. Objektif veriler elde edilir; ödem, kilo kaybı gibi. Semptomların radyoloji ve laboratuvar ile değerlendirilmesi yapılır. Management; hastaların tedavileri nasıl yönetilebilir bu belirlenir. Reversibilite; tedavi edilebilirlik öngörülür. Analitik; ek ileri tetkikler gerektiği durumlarda istenir ve değerlendirilir: MR, özel laboratuvar testleri gibi. Bu bulgularla 4 evrede incelenir (35).

- “Grade” 1: Tedavi gerektirmeyen minör semptomlar
- “Grade” 2: Konservatif tedavi, orta derecede semptomlar
- “Grade” 3: Daha ciddi tedavi gerektiren, günlük aktiviteyi bozan ciddi semptomlar
- “Grade” 4: Majör tedavi gerektiren, geri dönüşümsüz fonksiyonel hasar



Resim 2.2: LENT-SOMA toksisite derecelendirmesine göre radyasyon yaralanması örnekleri

3.2.6. Radyasyonun Yara iyileşmesi Üzerine Etkileri

Tedavi edici radyasyon, yara iyileşmesinde çeşitli basamakları değiştirerek etkisini gösterir. Derideki geç radyasyon etkilerinin, yara iyileşmesi üzerinde belirgin engelleyici etkisi bilinmektedir. Ancak latent devrenin uzunluğu nedeniyle hayvan modeli oluşturmada karşılaşılan güçlükler, araştırmacıların çoğunlukla radyasyonun yara iyileşmesine erken etkileri üzerinde yoğunlaşmalarına neden olmuştur.

Endotel hücrelerinin radyasyon nedeniyle çoğalma yeteneğini kaybetmesi, uzun sürede kan damarlarının ortadan kalkmasıyla sonuçlanmaktadır. Normal olarak yara iyileşmesi basamaklarından birini oluşturan anjiyogenez radyasyon etkisiyle bozulmuş durumdadır.

İskeminin doğal sonucu olarak doku hipoksisi ortaya çıkar. Yara iyileşmesinde oksijen perfüzyonunun gerekli olduğu basamaklar durur. Bunlar; nötrofillerin antibakteriyel aktivitesi, kollajen sentezi, epitel hücre replikasyon hızı ve anjiyogenezdir. Oksijen, lizil hidrosilasyonu ve çapraz bağlanma sırasında gereklidir. Hipoksik alanda anjiyogenezin artması için, periferde oksijen perfüzyonunun yüksek olması gerekmektedir. Ayrıca hipoksi, dokuyu infeksiyonlara açık hale getirir (36).

Hematopoezin azalması ile tüm vücut radyasyonundan sonra 2 gün içinde kemik iliğindeki radyosensitif hücreler ölür. Çeşitli kan elemanları yara iyileşmesi sırasında rol oynamaktadır. Lenfositler hariç dolaşımdaki hücreler, ömürleri ile orantılı olarak sayıca azalır. Sırasıyla etkilenen hücreler nötrofiller, monositler, trombositler ve eritrositler olarak sayılabilir. Özellikle makrofaj prekürsörlerinin azalması, yara iyileşmesindeki gecikmeden sorumlu olabilir.

Fibroblastlara toksik etki ile bağ dokusunun radyasyona duyarlılığı orta derecededir; ancak fibroblastlar onarılmaz şekilde zedelenir. Fibroblastlar, başta kollajen sentezi olmak üzere dermal onarım ve yeniden şekillenme evrelerinde en önemli hücrelerdir. Radyasyonun dermal fibroblastlar üzerinde geç dönemdeki etkileri klinikte cilt atrofisi ve fibrozis (kontraktür) olarak görülür (37).

Yara iyileşmesinde rol oynayan çok çeşitli büyüme faktörlerinin, salınımının radyasyon etkisiyle arttığı gösterilmiştir. Ancak biyolojik aktivitelerinin ne şekilde etkilendiği henüz bilinmemektedir. Bazı büyüme faktörlerinin (PDGF, TGF β) hipoksik etkileri geri çevirmede etkili olduğu bilinmektedir.

Radyoterapi, orta dozlarda ve cerrahiden 3-6 hafta önce uygulandığında komplikasyonları çok fazla arttırmaz. Ancak dozun 50 Gy'den fazla olması veya radyoterapinin 10 Gy gibi düşük dozda bile olsa cerrahiden 24 saat önce verilmesi, komplikasyonları arttırmaktadır. Radyoterapi cerrahiden sonra verilecekse 8-10 gün yara iyileşmesi için beklenmelidir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada 20 Gy dozda radyasyon uygulamasından sonra yara gücündeki azalmanın yaralanmadan 2 hafta sonra maksimum olduğu görülmüştür(38).

50 Gy altındaki radyoterapi dozunun cerrahi morbidite üzerinde önemli bir artışa neden olmadığı bulunmuş ancak daha yüksek dozlarla yapılan çalışmalarda ise ameliyat öncesi uygulanan radyoterapinin komplikasyonlarda artışa neden olduğu saptanmıştır.

Cerrahiden önce 4-6 haftalık bir periyotta uygulanan başka bir çalışmada ameliyattan 24 saat önce uygulanan 10 Gy radyasyon dozundan sonra komplikasyonlarda önemli derecede artış görülmüş. Genel bir kural olarak ameliyattan 3-6 hafta önce uygulanan uygun olarak bölünmüş orta dereceli bir radyoterapinin cerrahi morbiditeyi önemli derecede arttırmayacağı kabul edilmektedir. (38).

2.3. Yağ Grefti Uygulaması

2.3.1. Yağ Dokusunun Yapısı ve Fizyolojisi

Yıllar boyunca tek fonksiyonunun iç organları mekanik travmadan korumak ve trigliserit formunda fazla enerjiyi depolamak olduğu zannedilmesi, bilimsel platformda yağ dokusunun farklı işlevlere yarayan doğasının keşfedilmesini geciktirmiştir. Günümüzde adipositlerin çok yönlü fonksiyonlarının keşfedilmesi, obezitenin ciddi bir toplumsal sorun olarak kabul görmesi ve yağ dokusunun da yüksek aktiviteli metabolik ve endokrin fonksiyonlara sahip olduğunun anlaşılması, bilimsel yayınlarda yağ dokusunu popüler bir konuma getirmiştir.

Yağ dokusu mezenkimal bir dokudur. Multipotent olan mezenkimal kök hücre, gestasyonun ilerleyen aşamalarında moleküler yönlendiricilerin etkisi altında osteoblast, kondroblast ve adipoblast gibi mezenkimal dokuların öncül hücrelerine farklılaşırlar. Yağ dokusunun farklılaşan bu öncül hücreleri, yani adipoblastlar, moleküler ve çevresel uyarıların etkisi altında preadiposite dönüşür. Preadipositler ise farklılaşma kaskadının son basamağı olan adipositlere dönüşmektedir. (39).

Matür yağ dokusu gevşek tipte bir yağ dokusudur. Adipositlerden ve stromal vasküler komponentten oluşmaktadır. Yetişkinlerde adipositler yağ dokusunun %25-70'ini oluşturmaktadır. Geriye kalan kısım ise stromal vasküler kısmı oluşturan fibroblastlar, kan hücreleri, makrofajlar, mezenkimal kök hücreler, preadipositler ve endotel hücrelerinden oluşmaktadır. Histolojik olarak iki farklı tipte yağ dokusundan bahsetmek mümkündür; bunlar beyaz ve kahverengi yağ dokusudur. Kahverengi yağ dokusu özellikle yenidoğan döneminde etkin olup trigliseritlerden ısı formunda enerji üretiminden sorumlu iken beyaz yağ dokusu trigliserit depolanması, hayati organların ve yapıların korunması, metabolik ve immünolojik denge ve üreme gibi birçok fizyolojik süreçte rol almaktadır. (40).

Matür adipositlerin farklılaşma ve bölünme kabiliyeti yoktur ve fiziksel travmaya dirençli değildirler. Hacimlerinde artış olabilmektedir ancak sayıca artamazlar. Stoplazmalarında yüksek oranda lipid içermektedirler; bu oran sıklıkla %90'ı geçmektedir. Bir adipositin çapı 20-200µm arasında değişmektedir. Adipositin içerisinde çekirdek, yassı yarım ay şeklinde bir yapı olarak hücrenin çevresine itilmiş

konumda durmaktadır. Adipositin içeriğinin %90'ını lipid havuzu oluşturmaktadır. Lipid havuzunun %95'i trigliserittir, geriye kalan %5'lik içeriği kolesterol, fosfolipidler, yağ asitleri ve nötral yağlar oluşturmaktadır. Adipositler, çaplarının yirmi katına çıkabilme yeteneğine sahiptir ve fazla lipid depolanmasını sağlayabilmek adına hacimlerini birkaç bin kat arttırabilirler.

İskemiye maruz kalmış dokularda neovaskülarizasyonun gerçekleşip dokunun tekrar fonksiyonel yapısını geri kazanması için çeşitli alanlarda mezenkimal kök hücrelerin etkinliğini destekleyen klinik kanıtlar her geçen gün artmaktadır. Adipoz dokuda bulunan stromal-vasküler hücre komponenti kemik iliği kökenli kök hücreler kadar proanjyogenik yeteneklere sahiptir ve kök hücreler için zengin bir rezervuardır. Yapılan bilimsel çalışmalar, yağ dokusunun kök hücre sayısı açısından kemik iliğine göre 100 kat daha zengin olduğunu ortaya koymuştur (41,42). Yağ aspiratlarından elde edilen kök hücrelerin ayrıştırılabilmesi, pluripotent kök hücrelerin etkilerinden yararlanılacak yeni kullanım alanları doğurmuştur.

2.3.2. Yağ Grefti Uygulaması Tanım

Yağ grefti uygulaması cilt altı yağ dokunun dermofat greft şeklinde eksizyonu veya liposakşın kanülleri yardımıyla negatif basınç altında alındıktan sonra bir takım hazırlama işlemlerine tabi tutularak vücudun değişik alanlarına greft olarak verilmesidir.

Günümüzde yağ grefti uygulamaları gerek kozmetik gerek rekonstrüktif amaçla plastik cerrahi alanında sık başvurulan bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır. Kontür bozukluklarının giderilmesinde, radyoterapi gören cilt ve cilt altı dokusunun iyileştirilmesi ve estetik girişimler gibi çok geniş bir endikasyon yelpazesinde, otolog yağ doku greftine dolgu olarak çok sık başvurulmaktadır.

2.3.3. Yağ Greftleme Tarihi

Cerrahlar yağ greftini 1893 yılından beri kullanmaktadır (43). Gustav Neuber'in plastik cerrahi literatüründe yağ greftini ilk kez kullandığı bilinmektedir. Yağ greftlerini, konu alan bu ilk bildiride önkoldaki deplese skarda intakt yağ doku kullanımını anlatılmıştır.

Daha sonra 1912 yılında Eugene Hollander yağ enjeksiyonu raporunu yayınlamıştır. Yağ dokusunun subkutan plana yerleştirilmesi ve yumuşak doku dolgusu olarak kullanımını dile getirmiştir.

1926'de Charles Conrad Miller ilk kez yağ dokuların kanüllerle infiltrasyonu hakkında deneyimlerinden bahsetmiştir. Yağ dokusunu metal kanüllerle vermenin, açık insizyonlardan yağ greftlemeye oranla daha iyi uzun dönemde düzelme, daha doğal görünen yüz ve vücut kontürü sağladığı sonucuna varmıştır. Conrad Miller, yağ enjeksiyonu ile ilgili olumlu sonuçlar rapor etse de tarif ettiği teknik hiçbir zaman popüler olamamıştır (44).

Bundan ancak 30 yıl sonra Lyndon Peer yağ grefti uygulamalarına bilimsel olarak yaklaşmıştır (45). Yağ grefti sağ kalım biyolojisi üzerinde ilk bilimsel çalışmaları yürütmüştür. Açık insizyonla yağ grefti alınmasıyla ilgili çalışmalar yaparak yağ dokusunu küçük parçalar halinde kesilip transplantasyonu sonrasında yağ dokusunun yaklaşık %50'sinin geride kaldığını gözlemlemiştir. Peer'in bu raporu cerrahları diğer cerrahiler açısından kısıtlı alanlarda dermal yağ grefti kullanmaya teşvik etmiştir.

Yağ greftlemeye olan ilgi liposakşının kullanılmasıyla daha da artmıştır. Liposakşın, plastik cerrahların, liposakşının değerli bir yan ürünü olan yağı kolayca ince kanüller aracılığıyla greft olarak kullanabilmelerini sağlamıştır.

Yağ greftlerinin kullanımının yeniden yaygınlaşması 1978'de Yves-Gerard Illouz'un plastik cerrahiye vakum yardımcı yağ emme tekniğini tanıtmaları ile olmuştur (46). 1986'da yapılan çalışmalar ile günümüz vakum yardımcı yağ alma tekniğini ve yağ hücrelerinin enjeksiyonunu tariflemiştir (47). Vakum yardımcı yağ grefti alınmasının yaygınlaşması ile yağ greftlemesi plastik ve rekonstrüktif cerrahi alanında hızla popülerite kazanmıştır.

Klein 1987 yılında, günümüzde de elde ediliş aşamasının vazgeçilmez yöntemlerinden biri olan tümesan tekniği tariflemiştir. Bu teknik, sulandırılmış anesteziik solüsyon ile geniş hacimli alanlara direkt infiltrasyon mantığına dayanmaktadır. Bu yaklaşımın hedefleri ıslak tekniğe kıyasla, daha az kan kaybı, anesteziik maddelere daha az ihtiyaç duyulmasına bağlı olarak anestezi riskinde azalma

ve postoperatif analjezi ihtiyacının azaltılması olup Klein tekniği ile bu hedeflere ulaşılmıştır (48).

1987 yılında Sydney R. Coleman yüze yağ transplante etmeye başlamıştır. İlk çalışmalarında uzun dönemde değişikliklerin korunduğu ve kalıcı olduğunu gözlemlemiştir. Coleman olumlu deneyimleri ile birlikte kendine ait tekniği literatüre sunmuştur (49,50).

Fournier, mikro-lipoenjeksiyon olarak adlandırdığı tekniğinde mikrokannül kullanarak yağ transferi fikrini güçlendirerek yeniden popülerize etmiştir (51). Daha ince kanüllerin kullanılması, gerek hastanın işlemi daha rahat tolere etmesi, gerek daha iyi estetik sonuçlar vermesi açısından fayda sağlamıştır.

Gino Rigotti 1997 yılında radyodermatitin tedavisinde ilk defa yağ grefti enjeksiyonu uygulayarak başarılı sonuçlara ulaşmıştır (17).

Bu gelişmelerden sonra otolog yağ greftleri, plastik cerrahi alanında birçok farklı uygulama sahasında ideal yumuşak doku dolgu malzemesi olarak tercih edilmektedir. Plastik cerrahi dışında vokal kordlar ve faringoplasti ameliyatlarında hacim artışı, sinüs obliterasyonu, damak yarığı onarımları ve sfinkter inkontinansı tedavisi gibi farklı kullanım sahaları sayılabilmektedir (40).

2.3.4. Yağ Grefti Özellikleri

Otolog yağ grefti, "ideal" yumuşak doku dolgu maddesi olduğu birçok yazar tarafından bildirilmiştir (49). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalar ve uzun dönem incelemeler otolog yağ greftlerinin birçok avantajı ve dezavantajı olduğunu ortaya koymuştur.

Avantajları:

- Kolay uygulanabilirlik
- İstenilen miktarda elde edilebilme olanağı
- Güvenilir oluşu
- Allerjik olmaması
- Yabancı cisim reaksiyonuna yol açmaması
- Aşırı duyarlılık reaksiyonuna yol açmaması
- Hacim artışı yanında deri kalitesinde düzelme sağlayabilmesi
- Doğal görünüm ve doku yapısına yüksek uyum sağlayabilmesi

Dezavantajları:

Verici alan morbiditesi
Cerrahi bir işlem ile elde edilmesi
Postoperatif ödem
Bazı hastalarda yeterli verici alan olmaması
Olası yağ nekrozu gelişimi riski
Kalıcılığının ön görülememesi

Kişinin kendisinden alınan otolog yağ grefti çeşitli özellikleri nedeniyle ideal dolgu maddesi olarak kabul edilir (49). Biyo-uyumlu oluşu, hipersensitivite reaksiyonlarına yol açmaması, toksik olmayışı, çoğu hastada sonsuz denebilecek miktarda elde edilme olanağı, elde edilmesinin ucuz ve pratik oluşu popülaritesine katkı sağlayan özellikleri arasında sayılmaktadır.

Ancak bu avantajlarının yanında en sık görülen geç dönem komplikasyonu ve en önemli dezavantajı olan yağ greftinin sağ kalımının ön görülememesi, uygulamada kısıtlamalar getirmektedir.

2.3.5. Yağ Grefti Elde Etme, Hazırlama Ve Uygulama Yöntemleri

Yağ greftinin elde edilmesi için farklı yöntemler bildirilmiştir. Elde edilen yağ dokusunun herhangi bir ek işlem yapılmaksızın direkt alıcı alana yerleştirilmesi ilk uygulanan tekniktir. Ancak işlem yapılmaksızın transfer edilen yağ greftinde damarlanma sürecinin periferden başlaması ve bu nedenle merkezde vaskülarizasyonun yetersizliği nedeniyle yağ hücrelerinin nekroza gitmesi günümüzde tercih edilmemektedir. Eksizyon ile elde edilen yağ dokusunun makas gibi kesici bir alet yardımıyla kıyılması tekniği, yağ dokusunda yüzey alanını arttırarak damarlanma sürecinin daha hızlı gerçekleşmesini, bu sayede de yaşayabilirliği arttırıp yağ greftinin rezorpsiyonunu azaltmayı hedeflemektedir. Günümüzde en sık kullanılan yöntem ise vakum yardımı ile yağ dokusunun alınmasını takiben direkt veya santrifuj gibi farklı uygulamalarla muamele edilmesi sonrası alıcı alana enjeksiyonudur.

Yağ greftlemesi; yumuşak doku kontur deformitelerinin düzeltilmesinde plastik cerrahinin kozmetik ve rekonstrüktif alanlarında hızlı şekilde popüler hale

geldi. Fakat retansiyon miktarları çok güvenilir değil ve kalan yağ grefti miktarı geniş bir aralıkta değişkenlik göstermektedir (18).

Kalıcılığın ön görülememesi; yağ greftlerinin kullanımında esas endişe edilen hususlar arasındadır; güncel yayınlar %20-90 arasında rezorpsiyon oranları bildirmektedir (52,53). Kalıcılık süreleri ise 3 ay ile 8 yıl arasında geniş bir yelpazede değişmektedir (50,54). Bu emilimin tam sebebi bilinmemekle birlikte birçok teori öne sürülmüştür. Günümüzde en çok kabul gören teori Peer'in hücrelerin sağ kalımı teorisi'de açıkladığı, transfer sırasında canlı adiposit sayısının neticede elde edilen yağ greft sağ kalım hacmiyle ilişkili olduğudur (45,55). Bunun yanı sıra, adipositlerin hassas yapıları ve yüksek metabolik aktiviteye sahip oluşları da greft olarak aktarıldıklarında sağ kalımlarını sınırlandırıcı etkiye sahiptir. Dolayısıyla rezorpsiyonun önüne geçebilmek için adipositler deforme edilmeden alınmalı ve vasküler yatağı zengin bir alıcı sahaya nakledilmelidir. Nitekim, cerrahi olarak eksize edilen yağ dokusunun vakum ile elde edilen yağ dokusuna göre hacimsel sağ kalımının daha yüksek olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (55,56).

Coleman'ın tekniğinde yağı elde etmek için hastanın giriş için elverişli ve hastanın kontürünü bozmayacak ve düzeltecek alanları seçer. Yağı elde etmek için insizyonlar kıvrımlara ve önceki skarlara denk getirilir. Genellikle lokal anestezi uygulanır. Büyük hacimde veya birkaç farklı alandan yağ alınacaksa genel anestezi tercih edilir. Lokal anestezili vakalarda %0.5'lik lidokain ile 1/200.000'lik epinefrin istenen sahaya infiltre edilir. Genel ya da epidural anestezide hemostazı sağlamak için Ringer laktat ile 1/400.000'lik epinefrin solüsyonu infiltre edilir. Alınacak her 1 cc yağ için 1 cc solüsyon infiltre edilir. "Süperwet" ya da tümesent teknikleri ile yağ almak yağ dokusuna zarar verip yaşayabilirliğini azaltabilir (49,50).

15 ya da 23 cm'lik 2 delikli küt uçlu Coleman kanülü 10 ml'lik Luer Lock enjektörüne bağlanır. Kanülün distal ucu Luer Lock enjektöründen geçebilecek en büyük intakt yağ dokusunun alınmasına imkan verecek uygun boyut ve şekle sahiptir. Yağ dokusu parçacıkları enjektör lümeninden geçebiliyorsa daha küçük lümene sahip infiltrasyon kanülünden de genellikle geçer.

Kanülün ucu donör alana yerleştirildikten sonra enjektörün pistonu geri çekilerek negatif basınç oluşturulur. Negatif basınç ve kanülün hareketinin küret etkisi birleşimi ile yağ dokuları minimal hasarla enjektör haznesine dolar (49,50).

Yağ greftleri alıcı yatağa yerleştirildikten sonra zaman içinde bir rezorpsiyon sürecine girerler. Literatür incelendiğinde, bu sürecin önüne geçmek için birçok yazar tarafından çalışmalara rastlamak mümkündür. Eppley tarafından greftlerin modifiye edilmesi fikrinin ortaya atılması ile birlikte yağ greftinin sağ kalımını arttırmaya yönelik yağın hazırlanışı (örneğin; yağın kıyılması veya santrifüj uygulanması), yağın veriliş tekniği (örneğin, yağın verildiği enjektör tipi, veriliş paterni), alıcı sahanın özellikleri ve verilen yağ greftinde rezorpsiyon ve apopitozun önlenmesi gibi birçok farklı basamağa ilişkin çalışmalar mevcuttur (57).

Coleman tekniğinde yağın rafine edilmesi ve transferi sırasında yapılması gerekenleri tarif etmiştir. Kanül yardımıyla alınan subkütan dokuyu daha saf yağ dokusu haline getirmek için rafine etmek çok önemlidir. Alınan yağdaki yaşamayan bileşenlerin miktarı, cerrah tarafından verilen sıvının miktarına, elde edilen spesmendeki kan miktarına ve yağ dokusuna verilen hasara bağlıdır. Aynı sahadan elde edilen aspiratın içinde %10 gibi düşük oranda canlı yağ dokusu olabileceği gibi, %90 gibi yüksek bir oranda da olabilir. Ön görülebilir sonuçlar elde etmek için yağ, kan ve sıvı bileşenlerinin çoğunun uzaklaştırılması gerekir. Böylece cerrah elinde ne kadar canlı yağ dokusu olduğunu bilebilir (49,50).

Steril edilebilir santral pervanesi ve 10 ml'lik enjektörlerin konulabileceği kapları olan bir santrifüj cihazı kullanılmalıdır. Tavsiye edilen santrifüj hızı 3 dakika boyunca 3000 devir/dakika'dır. Bu işlem yoğun bileşenleri daha az yoğun bileşenlerden ayırarak multiple seviyeler oluşturur. Üstteki katman ya da en az yoğun olan kısım primer olarak yağdan oluşmuştur. Orta bölüm canlı yağ dokusundan, en alt katman daha yoğun olan kan, su ve lidokainden oluşmuştur. 10 ml'lik enjektörlerde biriktirilen saflaştırılmış yağ doku üç yollu musluklar yardımıyla verileceği alana göre 1 ya da 3 ml'lik enjektörlere aktarılır (49,50).

Bazı tekniklerde yağ santrifüj edilmeden bekletme ve yer çekiminin etkisi ile ayırmaya bırakır. Bazıları gazlı bezden geçirir ve bazıları da ticari lipodiyaliz kitlerinin kullanımını önerir (21).

Enjeksiyon öncesi yağ aspiratının serum fizyolojik veya ringer laktat ile yıkanması sonrasında künt ve keskin kanüllerle elde edilen yağın yaşamsallığının arttırıldığına dair deneysel çalışmalar mevcuttur (55).

Yağ greftlemenin en zor tarafı rafine edilen yağın alıcı alana yerleştirilmesidir. Bunu yaparken her noktada aynı sağ kalım, stabilite ve etraf yumuşak dokuyla olan bütünlüğün sağlanması gerekir. Yağ parçacıkları öyle yerleştirilmelidir ki alıcı doku tarafından yağ dokusu birbirinden mümkün olduğunca ayrılabilin. Bu, yerleştirilen yağ dokusu ile alıcı dokular arasında daha geniş bir yüzey alanı teması yaratır, böylelikle difüzyon ve solunum sağlanmış olur (19).

Lipoenjeksiyon hangi anestezi uygulanırsa uygulansın kanülün arter ve venleri zedeleme ihtimalini en aza indirmek için vazokonstriksiyonu sağlamak amacıyla epinefrin solüsyonu önerilmektedir (58). Yerleştirme işlemi yapılacak kanüllerin çapı daha küçük ve ucunda tek bir delik vardır. En kullanışlı kanül genişliği 17 “gauge”dur. Yüz bölgesinde 7 ve 9 cm’lik kanüller çok kullanışlıyken 15 cm’e kadar olan kanüller vücutta kullanılabilir. Künt kanüller yağ parçalarını daha stabil bir biçimde enjeksiyonuna olanak sağlar. Fakat daha keskin kanüller cerrahın subdermal plana, fibröz dokuya ve skarlara yerleştirme işlemini daha kontrollü yapabilmesini sağlar. Sivri uçlu ya da keskin kanüller yapışıklıkları serbestleştirmek için kullanılabilir fakat sinir ve diğer yumuşak dokulara zarar vermekten kaçınılmalıdır.

Yağ parçacıklarının kanül geriye çekilirken verilmesi daha doğrudur. Keskin uçlu kanülün aksine künt kanülün ucu alıcı alanda belirli bir kanal oluşturmaz. Künt kanülün ilerletilmesiyle doğal doku planları fizyolojik bir biçimde oluşur. Kanülün geri çekildiği yönde yağ parçacıkları doğal doku planları arasına girer ve etraf doku tarafından örtülür.

Yağ parçacıklarını birbirinden ayırmak, onların birbiriyle ve alıcı bölgede daha geniş yüzey alanında temasını sağlamak transplante edilen yağ dokusunun yaşayabilirlik şansını artırmakla beraber nakledilen dokuda yağların birbirlerine daha iyi tutunmasını ve stabiliteyi sağlar. Sonuç olarak yağı küçük miktarlarda vermek ve her yağ parçasını alıcı alandaki dokular ile ayırmak greftlenen yağ ile etraf dokunun bütünlüğünü sağlar. Yağ enjeksiyonunun çok ufak miktarlarda yapılması, temas yüzey alanını maksimumda tutmak ve potansiyel düzensizlik ve kümelenmeyi minimuma

indirmek için önemlidir. Örneğin bu miktar yüzde 0.1 ml olmalı, hatta göz kapağı gibi alanlarda 0.02 ml gibi olmalıdır (19).

Deneysel çalışmalar kanlanma açısından oldukça zengin kas dokusu içerisine verilen yağ greftinin büyük oranda rezorbe olmadan kaldığını ortaya koymuştur. Dolayısıyla alıcı sahanın özellikleri söz konusu olunca buradaki esas hedef bu alana transfer edilecek yağ grefti için yeterli bir vasküler yatak sağlamaktır. Bu amaçla çeşitli kimyasal mediatorler kullanılmıştır. Bunlara örnek olarak vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), insulin benzeri büyüme faktörü (IGF), interlökin 8, trombositen zengin plazma (PRP), eritropoetin gibi kimyasal mediyatörler ile alıcı sahanın vaskülaritesini arttıran çalışmalar verilebilir (40).

Alana eklenecek çeşitli mediatörler ile vaskülaritenin artışının yanı sıra alanda otojen olarak anjiyogenezi tetikleyecek uygulamalar da çeşitli çalışmalarda uygulanmıştır. Buna örnek olarak ön koşullandırma çalışmaları sayılabilmektedir. Zhong ve ark. tavşanda kasık yağ yastıkçığını bir flep olarak kaldırıp yerine iade etmiş ve takibinde 3 hafta sonra greft olarak kullanarak yağ grefti sağ kalımını iskemik ön koşullandırma ile arttırmıştır (59).

Bunun yanı sıra Baran ve ark. tarafından greftin alıcı sahasında damarlanmayı arttırmaya yönelik alıcı alana silikon blok yerleştirilmesi sonucu kapsül oluşumu ile bu alanda damarlanma artışı sağlanmıştır. Samdal 1991'de yaptığı çalışmada alıcı sahada 18 “gauge”luk iğne darbeleri kullanarak alıcı sahada travmatik ön koşullandırma ile anjiyogenezi arttırmış ve yağ grefti sağ kalımına olumlu katkı sağlamıştır (40).

Yağ greftlerinin entegrasyonu çok çeşitli değişkenlerden etkilenmektedir. Transfer edilen yağ greftinin sağ kalımı ve hacmi; donör sahadan alınıp greftleme sürecine kadar uygulanan işlemlerde, greftleme işlemi esnasında ve greftleme sonrasında yağ greftinde meydana gelen süreçler ve hastanın kişisel özelliklerine bağlı eksilebilmektedir (60,61). Bütün bu değişkenlere istinaden, günümüzde yağ greftlerinin elde edilişi, hazırlanışı ve uygulanışına dair kesin bir ortak görüş bulunmamaktadır. Bugün Coleman tekniği kullanılan en geçerli tekniktir (21).

2.3.6. Yağ Greftlerinde Meydana Gelen Fizyolojik Süreçler

Yağ grefti aktarılırken tüm greftlerde olduğu gibi damarlanması kesintiye uğramaktadır. Literatürde bazı çalışmalar özellikle yağ greftlerinin yeniden damarlanması üzerine incelemeler kaydetmiştir. Yağ grefti aktarımından bir gün sonra alıcı alana makrofaj, histiyosit ve multinükleer dev hücrelerin göçü ve takibinde nötrofil infiltrasyonu olur ve hücrel debris temizlenir. Tıpkı deri greftlerinde olduğu gibi, yağ greftinin de ilk dört gün “plazmatik imbibisyon” ile sağ kaldığı teorisi hakimdir. Yağ greftlerinde aktarımdan 2-4 gün sonra anjiyogenezin başladığı gözlenmiştir (62,63). Bazı çalışmalarda yağ greftinde neovaskülarizasyon sürecinin 7-21 gün aldığı gösterilmiştir.

Dolayısıyla yağ hücreleri bu ara dönem boyunca göreceli bir iskemiye maruz kalmaktadır. Bu iskemi sonucu oluşan inflamatuvar sürecin de yağ greftlerinin histolojik olarak sergilediği nekroz, fibrozis, yağ kistleri ve vaküoller gibi değişikliklerin sebebi olduğu düşünülmektedir. Ağırlıkla periferdeki hücreleri kapsayarak gelişen yeni damarsal ağ yeterli düzeye gelinceye kadar yağ hücrelerinin ölümü devam eder. İlerleyen dönemlerde fibrozis ile meydana gelen doku, kaybedilen hacmi genellikle tamamlayamamaktadır. Bu nedenle yağ greftlerinin daha küçük boyutlarda transfer edilmesi iskemi süresinin kısaltarak sonrasında iskeminin yol açabileceği inflamatuvar süreci de azaltabilmektedir (64). Dolayısıyla, otolog yağ greftlerindeki adipositlerin sağ kalımı, erken neovaskülarizasyonun oluşmasına bağlıdır. Nishimura ve ark. damarlanma tamamlandıktan sonra da yağ greftlerinde hacim kaybı olduğunu tespit etmişlerdir. Erken dönemdeki yağ doku kaybını iskemi sonucu gelişen nekroza bağlarken, geç dönemdeki hacimsel kayıpları apoptoza bağlı adiposit azalması ile açıklamışlardır (63).

Adipositler iskemik koşullarda çok çabuk ölmektedir. H. Suga ve K. Yashimura farelerin inguinal yağ yastıkçığını ile yaptıkları deneysel çalışmada iskemi altındaki yağ dokusunu değerlendirmişler. Değişik derecelerde etraf yağ dokudan ve femoral arterden ayrılarak tasarlanan inguinal yağ yastıkçığı flepleri histoimmünokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Parsiyel oksijen basıncı %20'ye kadar düşürülmüş. 28. günde iskemiye bağlı atrofi fibrozis görülmüştür. Suga ve Yashimura'nın çalışmasında hipoksi ile indüklenebilen faktör 1 α ve fibroblast

büyüme faktörü 2 iskeminin ilk gününden itibaren üretilmeye başlanmıştır. Buna bağlı apoptoz, nekroz, makrofaj infiltrasyonu ve fagositoz değişiklikleri görülmüştür. İskemiye bağlı ölen hücrelerin çoğunluğunu adipositler, vasküler endotel hücreler ve kan hücreleri oluşturmuştur. Bunun yanında iskemi altında yağ doku kökenli kök hücrelerin ise canlı kaldığı, doku onarımı için aktive olarak sayılarının arttırdığı bulunmuştur (65).

2.3.7. Yağ Doku ve Kök Hücre

Kök hücre, mitozla çoğalarak hem kendini yenileyebilen, hem de diğer özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneğine sahip hücre tipidir. Yağ dokusu içerisindeki varlıkları ise ilk kez Zuc P.A. tarafından 2001 yılında gösterilmiştir (66).

Adiposit kök hücresi yağ dokusundan elde edilen pluripotent kök hücrelerin, kemik iliğinden elde edilen kök hücreler kadar farklılaşma yeteneğine sahip olduğu bildirilmektedir. Lokal anestezi altında, büyük miktarlarda elde edilebilen yağ dokusundan fibroblast benzeri yağ kök hücreleri elde edilebilmektedir. Bu hücrelerin uygun buldukları doku ve organlarda küçük hasarların giderilmesinde rol oynadığı; invitro koşullarda adipojenik, kondrojenik, myojenik, ve osteojenik hücre tiplerine dönüşebileceği gösterilmiştir (67,68). Mezenkimal kök hücrelere alternatif olarak çeşitli rejeneratif tedavilerde kullanılabilirliğini sağlamak üzerinde çalışmalar devam etmektedir (69).

Yağ dokusunun 1 gramında yaklaşık 5000 koloni oluşturucu ünite mevcut iken, 1 ml kemik iliği kökenli materyalde 100-1000 koloni oluşturucu ünite mevcuttur (70). Yağ dokusunun kolay elde edilebilmesi, kemik iliğine göre bol miktarda kök hücre sağlanması, ayrıca yağ doku kökenli kök hücrelerin etkinliğinin invivo ve invitro çalışmalarda kanıtlanması nedeniyle plastik cerrahinin yanı sıra nöroloji, üroloji, ortopedi, ve fizik tedavi gibi diğer branşların da ilgisini çekmiştir (71).

Yağ dokusunu oluşturan hücrelerin %90'ı adiposit olmakla birlikte flow-sitometri ile yapılan incelemeler sonucunda yağ dokusu içerisinde; matür adiposit, preadiposit, mezenkimal kökenli kök hücre, makrofaj, fibroblast, retikülosit, vasküler endotel hücreleri, mast hücreleri ve sinir sistemi elemanlarının da bulunduğu tespit edilmiştir. Yoshimura ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada intakt yağ dokusunun

%16'sı adiposit, %30'u kök hücre, %15'i endotel, %9'u kan kaynaklı hücrelerden oluştuğu bildirmiştir (72).

Kök hücrelerin yağ dokusu içerisinde kan damarları çevresindeki perisitler olduğu veya fibroblastların bir alt grubu olabileceği şeklinde yorumlar mevcut olmakla birlikte henüz kökenleri net olarak anlaşılamamıştır. Son dönemde yağ dokusu içinde, adipositler arasında SSEA-3 (Stage spesifik embriyonik antijen) olarak tanımlanan ve diğer adipoz kökenli kök hücrelerden farklı bir multipotent hücre türü keşfedilmiştir. Bu durum yağ doku içinde lokalize ve sadece acil durumlarda aktive olan multipotent kök hücrelerin olması; kapiller çevresinde yerleşen ve dokunun fizyolojik dönüşümünü düzenleyen progenitor hücrelerin varlığını ortaya koyması bakımından önemlidir (71).

Yağ doku kökenli kök hücreler, diğer endotel hücrelerinden, makrofajlardan ve periferik monositlerden CD105, CD73 ve CD90 olmak üzere taşıdıkları farklı fakat yüzey belirteçlerinin varlığıyla ayrılırlar.

Kök hücrelerin doku onarımına katkıları özellikle doku yaralanmasının var olduğu durumlarda ortaya çıkar. Normalde sağlıklı doku içerisinde sessiz bulunan kök hücreler, yaralanma sonrası ortaya çıkan endokrin ve parakrin çağrılar (selektin, kemokin, integrin etkileşimleriyle) sonucu çevre dokulardan yaralanmış dokuya doğru göç eder.

Kök hücreler, aldıkları sinyal mekanizmalarının etkisi ile ortamdaki progenitör hücreleri çoğalma ve farklılaşmaya yönlendirir. Ayrıca salgıladıkları büyüme faktörleri ve mediatörler aracılığıyla da antiinflamatuvar ve immünmodülatör etki gösterirler. Ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesine katkıda bulunurlar.

Doku hasarının ilk gününde ortama, yaralanmış dokulardan ve aktive olan trombositlerden; temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü β (TGF β) ve tümör nekrozis faktör α (TNF α) salınır.

Yoshimura ve arkadaşlarının yağ dokusunda iskemi ve reperfüzyon yaralanmasıyla ilgili yaptıkları deneysel çalışmada; yaralanmanın ilk gününde ortama salınan bFGF ve iskemiye cevap olarak, yağ doku kökenli kök hücrelerin, çoğalmakla

kalmayıp aynı zamanda kuvvetli damarlanma uyarını ve fibrojenesis inhibitörü olan hepatosit büyüme faktörü salgıladıkları tespit edilmiştir (73).

Ortamdaki apoptotik endotel hücrelerinden salınan EGF'ün de kök hücrelerin antiapoptotik cevabını arttırdığı gösterilmiştir. Yağ doku kökenli kök hücreler ortamdaki büyüme faktörleri ve uyarılara cevap olarak hem adipositlere hem de vasküler endoteliyal hücrelere dönüştüğü düşünülmeyle birlikte, vasküler endotel hücrelerine dönüşümü deneysel çalışmalarda gösterilmiş fakat *invivo* çalışmalarda nadiren tespit edilmiştir (71).

Kök hücrelerin yaralanmış ortama infiltre olan lökositlerden salınan pro-inflamatuar sitokinlerin interlökin-1 β (IL-1 β), TNF α , interferon- γ ve nitrik oksit sentetaz salınımını azaltıp, antiinflamatuar sitokinlerin (IL-1 β , IL-10, bFGF, TGF β ve antiapoptotik gen Bcl-2) salınımını arttırdığı da gözlenmiştir.

TGF β mezenkimal kök hücrelerin doku hasarı üzerindeki etkilerinin yönetilmesinde önemli rol oynar ve çevre yağ dokuda sessiz pozisyonda bulunan veya kemik iliğinden orijin alan diğer kök hücreleri aktive ederek ortama çağırır. Yaralanmanın 2-4. günlerinde yağ dokusu içinde yerleşmiş mast hücreleri ve trombositler de diğer hücreler gibi TNF α , VEGF, PDGF, TGF β salgılayarak iyileşmeye katkıda bulunur. Yaralanmanın 5-7. günlerinde ise VEGF, hepatosit büyüme faktörü, IL-8 ve matriks metalloproteinaz-8'in yara sıvısında arttığı gösterilmiştir. Kompansatuar proliferasyon olarak da adlandırılan bu dönemde yağ doku kökenli kök hücrelerin yeni yağ dokusu hücrelerini oluşturduğu gösterilmiştir (71).

Bir taraftan iskemiye bağlı bir grup hücre apoptoza giderken bir taraftan da yeni nesil adipositler oluşturularak yeniden şekillenme sürecine girilmiş olur ve yaklaşık 2 hafta içerisinde yaralanmış yağ dokusu iyileştirilir. Ortamda bulunan kök hücrelerin sayısı ve kök hücrelerin yerleştiği mikroçevreyi oluşturan matriks bileşenleri sürecin yeni dokunun rejenerasyonu ile mi yoksa fibrozis ve kalsifikasyonla mı sonuçlanacağını belirler.

Kök hücrelerin bir diğer özelliği de insan lökosit antijenlerini ekspres etmemeleri ve allojenik, aktive olmuş lenfositleri baskılayabilmeleridir. Yağ doku kökenli kök hücreler immünmodülatör özellikleri *invivo* ve *invitro* çalışmalarda gösterilmiştir.

Yağ doku kökenli kök hücreler yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştıran en dikkat çekici çalışma 2007’de Rigotti tarafından yayınlanmıştır (17). Liposakşın sonrası santrifüj edilen ve saflaştırılan yağ dokusunun tekrarlayan seanslarla radyoterapiye bağlı hasarlanmış dokulara uygulanmasını takiben, radyasyon hasarlı dokunun iyileşmesi lipoaspirat içindeki kök hücelere bağlanmıştır.

Lendeckel ve arkadaşları yağ doku kökenli kök hücreler geniş travmatik kalvaryal defekti olan bir hastada kanselöz kemik greftleriyle birlikte uygulanmış ve postoperatif 3. ayda çekilen tomografik görüntülerde belirgin kemikleşme tespit edilmiştir (74).

2009 yılında Mesimaki ve arkadaşları hemimaksillektomi uygulanan bir hastada yağ doku kaynaklı kök hücreleri ile trikalsiyum fosfat granüllerini titanyum mesh içinde prefabrike etmiş ve daha sonra elde edilen doku mikrovasküler flep olarak maksillaya transplante edilmiştir. Doku biyopsilerinde kemiğin yeniden şekillendiği saptanmıştır (75).

Son dönemde yağ doku kökenli kök hücrelerin neovaskularizasyonu arttırarak random paternli fleplerin yaşayabilirliğini olumlu yönde etkilediğine dair yayınlar mevcuttur (76).

2.3.8. Meme Büyütme ve Meme Rekonstrüksiyonunda Yağ Grefti Uygulamalarının Yeri

Meme büyütme işlemlerinde protez dışında yağ grefti uygulaması son yıllarda sıkça gündeme gelen bir konudur. Yağ grefti meme dokusu içine değil, cilt altına ve kas altı plana verilmelidir. Ancak implant ile meme büyütme kadar net bir sonuç alınamamaktadır ve yeterli büyüklükler sağlanamamaktadır. Bu nedenle sıklıkla işlemin birkaç kere tekrarlanması gerekmektedir. Ayrıca meme protezi hastalarının genellikle zayıf olmaları ve vücutlarında yeterli miktarda yağ bulunmaması, bu yöntemin kullanımını kısıtlayan bir başka faktördür. Sonuçların kalıcılığının kesin olarak tahmin edilmemesi nedeni ile meme büyütmede kullanılması tavsiye edilmeyen bir uygulamadır. Ancak seçilmiş hastalarda ve belirgin meme asimetrisi olanlarda yağ greftlemeleri uygulanabilir ve sonuçlar memnuniyet vericidir. Yağ enjeksiyonları ile ilgili bir başka sorun, oluşan kalsifikasyonların ileride çekilecek mamografileri

etkileme riskidir. Ancak yağ enjeksiyonları doğru plana yapıldığında bu risk azalmaktadır.

Mastektomi sonrasında otolog doku ile yapılan pedikülü ya da serbest flep rekonstrüksiyonlardan sonra oluşan meme asimetrisini gidermek ya da meme üst pol dolgunluğunu sağlamak için de yağ greftlemesi sıkça kullanılmaktadır (77).

Yağ greftlemesinin meme cerrahisinde önemi özellikle implant ile meme rekonstrüksiyonu yapılan hastalarda ön plana çıkmaktadır. İmplant çevresinde oluşan düzensizliklerde ve asimetride ya da implantın görünür hale geldiği durumlarda yağ greftlemesi ile yüz güldürücü sonuçlar alınabilmektedir. Cilt kalınlığı artırılarak cilt altı doku yeniden oluşturulmaktadır. İmplant ya da ekspander uygulanmadan önce yapılan birkaç seans yağ greftlemesi komplikasyon oranlarını ciddi şekilde azaltmaktadır.

Hyakasuko tarafından memeye estetik amaçlı yapılan otolog yağ greftlemesi sonrasındaki komplikasyonlar değerlendirilmiştir. 12 hastada oluşan komplikasyonlar retrospektif olarak gözden geçirilmiştir. Endürasyon, ağrı, enfeksiyon, yağın dışarı akması gibi komplikasyonlar ilk sırada bulunmuştur. Bu sonuçlar ışığında yazarlar memeye yağ enjeksiyonunun sadece tecrübeli ellerde yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (78).

Kanchwala tarafından meme rekonstrüksiyonu geçirmiş ve kontür deformiteleri ile implant ripling deformitesine yönelik yağ greftlemesi yapılmış olan 110 hasta retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Coleman tekniğiyle uyluk ve flank bölgesinden alınan yağlarla yapılan düzeltmeler sonrasında ortalama 21 aylık takip süresine sahip hastalarda 3 ay sonrasındaki kalan yağ hacmi kalıcı olarak değerlendirilmiştir. Yağ grefti uygulamasının memede oluşan sekonder deformitelerin düzeltilmesinde basit, güvenilir ve efektif yöntem olmakla birlikte düşük morbidite oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir (79).

F. Caviggioli tarafından yapılan çalışmada yağ greftlemesi uygulamasının post-mastektomi ağrı sendromunda semptomları azalttığına dair bulgular elde etmiştir. Mastektomi ile birlikte aksiller lenf nodu diseksiyonu; ileri meme kanserinin cerrahi tedavisinde hala en sık uygulanan tedavidir. Tedavi sonrasında %20-60 oranına kronik nöropatik ağrı şikayetleri görülebilmektedir. Yazar 2006 ve 2008 yılları arasında

postmastektomi ağrı sendromu nedeniyle başvuran 113 hastanın 72 tanesine yağ greftleme prosedürü uygulamış ve 13 ay boyunca ağrı kesici kullanımını takip etmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ağrı kesici kullanımında anlamlı şekilde azalma bulunmuş. Yağ grefti uygulamasının postmastektomi ağrı sendromu olan hastalarda etkili ve güvenilir bir yöntem olduğu vurgulanmıştır (80).

2.3.9. Meme Ameliyatlarında Yağ Greftlemesi Sonrası Meme Kanseri Rekürrens Riski

Meme dokusu gibi kansere dönüşme riski çok yüksek bir organa yönelik yapılan girişimsel işlemlerin güvenilirliği çok önemli bir konudur. Yağ greftlemesi gibi yüz yılı aşkın süredir cerrahlar tarafından yapılmakta gelen prosedürün kanser riskini arttırmadığına dair bir çok önemli çalışmalar mevcuttur. Ama son yıllarda yapılan birkaç adet randomize kontrollü çalışmada literatürden farklı sonuçlar bulunmuştur. Bu durum cerrahlar tarafından basit bir uygulama olarak sık yapılan bir uygulamanın tekrar sorgulanmasına neden olmuştur.

Bunun en büyük nedeni; kök hücre ve anjiyogenik ve antiapoptotik faktörler yönünden zengin bir doku olan yağ dokusunun kontrolü zor olacak şekilde kansere dönüşme riski yüksek olan bir dokuya verilmesidir.

Illouz Y.G. 1983 ve 2007 yılları arasında değişik endikasyonlarla yağ greftlemesi yaptığı 820 hastayı retrospektif olarak değerlendirmiş. Yazarın 25 yıllık deneyimine göre estetik ya da rekonstruktif amaçlı yapılan yağ grefti uygulamasında 2 temel sorunla karşılaşılmaktadır. Bunlardan ilki yağ greftinin memeye uygulandıktan sonra yağ nekrozu, kist formasyonu ve malign mikrokalsifikasyonla karışabilen endürasyonların oluşabilmesidir. Yazarın gördüğü diğer sorun ise verilen yağ dokusundaki hacim kaybının tahmin edilemez olmasıdır. Yağ greftlemesi sonrası 6 ay aralıklarla mamografi ve ultrason ile takip edilen hastalarda meme kanseri yönünden bir artışa rastlanmamış ve yağ greftlemesinin güvenilir ve etkin bir yöntem olduğu vurgulanmıştır (81).

Coleman memeye yağ grefti uygulamasının etkinliği ve güvenilirliğini gözden geçirmek üzere 17 hastayı retrospektif olarak değerlendirmiştir. Post operatif çekilen mamografilerde meme cerrahisi sonrası görülmesi beklenen sonuçlar elde edilmiştir.

Amerikan Plastik Cerrahlar Cemiyeti Yağ Grefti Çalışma Grubu'nun 2012'de yayımladığı rapora göre yağ grefti uygulaması meme büyütme, meme rekonstrüksiyonu ve geçirilmiş cerrahilere bağlı defektlerin düzeltilmesinde kullanılabilir fakat sonuçların kısmen cerraha bağlı olduğu konusunda hem fikir oldukları anlaşılmıştır. Meme kanseri tespiti açısından zorluk yaratacak her hangi bir bulgu rapor edilmemiştir. Ancak hastalar olası komplikasyonlar ve meme kanseri rekürrensi açısından bilgilendirilmelidir.

Özellikle meme kanseri açısından riskli olan popülasyonlarda dikkatli olunmalıdır. Erken yaş meme kanserinde, aile öyküsü bulunanlarda ve BRCA gen mutasyonu olan hastalarda mümkünse yağ greftlemesi prosedürünü kullanmamak gerektiği vurgulanmıştır. Sık ve düzenli kontroller ile mamografi ve ultrasonun yanında mikrokalsifikasyonların tespitinde daha duyarlı olan MR'ı da tercih etmek gerektiği belirtilmiştir (82).

Son yıllarda yapılan birçok çalışma ile yağ greftlemesinin meme kanseri riskini arttırmadığı gösterilmiştir. Oluşabilecek bir kanser rekürrensünün mamografi ve ultrason ile tanısının gecikmediği, böylece meme kanserinin takibinin etkilemediği belirtilmiştir (83-88).

Bunun yanında birçok sistemik derlemede halen tatmin edici kontrollü randomize çalışmaların olmadığı ve güvenilirliğin tam açık olmadığı belirtilmiştir. Takip sürelerinin yeterli olmadığını savunan yayınlarda mevcuttur. Yazarlar hasta seçimi sırasında daha fazla dikkat gerektiği, mastektomi sonrasında meme dokusu bırakılmadığından emin olunması, hasta takibinde daha titiz olunması gerektiğini vurgulamışlardır (89-96).

J.Y. Petit 2011 yılında invaziv meme kanseri nedeniyle mastektomi ameliyatı yapılmış 321 hastaya yağ grefti uyguladı. Hastalar 56 ay takip süreleri boyunca lokal rekürrens açısından takip edildiler. Aynı yaş ve özellikteki yağ grefti uygulanmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lokal rekürrens açısından anlamlı fark

bulunmamış. Yağ greftleme prosedürü güvenli gözükmeyle birlikte uzun takip süreli onkolojik serilerde çalışılarak bu verinin doğrulanması gerektiği vurgulanmıştır (97).

Petit 2012 yılında yayınlanan çalışmasında 59 intraepitelyal neoplazi nedeniyle mastektomi sonrası yağ greftlemesi yapılan hastaları benzer özellikteki meme kanseri hastalarıyla karşılaştırmıştır. 5 yıllık takip sonrasında yağ greftlemesi yapılan hastalarda lokal rekürrens oranı %18 bulunurken bu oran kontrol grubunda %3 olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Çalışmadaki alt gruplar incelendiğinde yağ greftlemesi yüksek risk altındaki, genç yaş meme kanserli hastalarda ve meme koruyucu cerrahi yapılan hastalarda riski arttırdığı bulunmuştur (98).

Literatür doğru hasta seçimi ve titiz hasta takibi ile yağ greftlemesinin hem augmentasyon amaçlı yapılan hem de meme kanseri hastalarında yapılan sekonder rekonstrüksiyon durumlarında da güvenilir bir yöntem olduğu yönündedir. Literatür insanda uzun dönem kontrollü randomize çalışmaların olmadığı üzerine hem fikir durumdadır (99).

Yağ dokunun mezankimal kök hücreleri anjiyogenik ve antiapoptotik özelliğe sahiptir. Bu durum meme kanseri cerrahisi sırasında eksik yapılan eksizyonlar sonrasında kalan sessiz tümör hücrelerini indükleyebilir. İnvitro ve hayvan deneylerinde kanser hücrelerinin migrasyon ve invazyonunu arttırdığı gösterilmiş. Alıcı sahadaki veya transfer edilen sağlıklı stromal hücrelerin karsinogenesizine dair kanıt yoktur (100).

Yüksek riskli hastalar (genç yaşta meme kanserine yakalananlar, aile öyküsü olanlar, BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonu olanlar) bu prosedür için uygun değildir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun onayı (sayı: 52338575-79, karar no: 2014/33-5, tarih: 13 Haziran 2014) alınarak Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Hastanesi Radyasyon Onkolojisi Bölümü'nde gerçekleştirildi.

3.1. Radyoterapi Dozunun Belirlenmesi: Pilot Çalışma

Uygulanacak radyoterapinin dozu ve etkinliğini değerlendirmek üzere deneyler öncesi bir pilot çalışma planlandı. 20 Gy ve 35 Gy düşük doz ve yüksek doz olmak üzere 2 grup sıçana Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Hastanesi Radyasyon Onkolojisi Bölümü'nde Chinac® DHX Sn3810 model (Varian Medical Systems, in Palo Alto, California, USA) cihaz ile radyoterapi uygulandı.

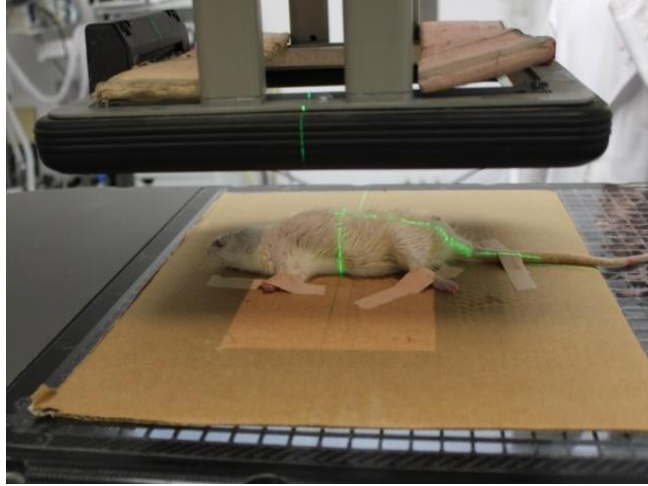
Sıçanların göğüs ön duvarında yaklaşık 4x6 cm'lik bir alana; 4 MeV enerji gücü ile, 1000cGy/dakika hızında, 0.5cm'lik parafin bolus kullanılarak, 100 cm uzaklıktan, 2mm derinliğe ulaşacak şekilde radyoterapi dozu uygulandı. (Resim 3.1)

Sıçanlar sırt üstü pozisyonda radyoterapi cihazının içine yerleştirildi ve hayvanın hayati organlarını radyoterapinin zararlı etkilerinden korumak üzere kurşun bloklar kullanıldı. (Resim 3.2-3.3)

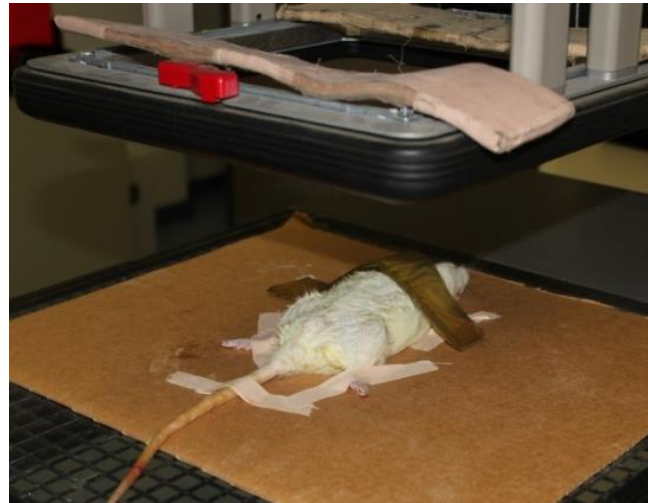
Pilot çalışma için uygulanan radyoterapi sonrası sıçanlar makroskobik ve histopatolojik olarak incelendi. 6 hafta sonunda makroskobik olarak değerlendirilen radyasyon hasarı her iki grupta da gözlenmekteydi (Resim 3.4-3.7).



Resim 3.1: Sıçan toraks ön duvarında 4X6 cm'lik alana radyoterapi uygulandı.

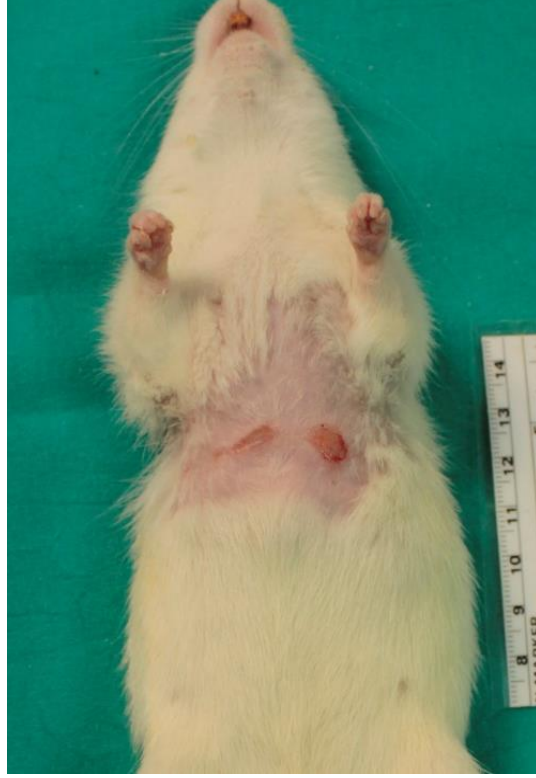


Resim 3.2: Sıçanın radyoterapi cihazı içindeki pozisyonu



Resim 3.3: Sıçanın toraks içi organları korumak üzere kullanılan bolus ve alan dışındaki diğer hayati organları korumak üzere kurşun plakaların kullanımı

20 Gy dozunda radyoterapi alan sıçanların göğüs ön duvarında kıllarda dökülme, ıslak ve kuru deskuamasyon ile bazı alanlarda cilt nekrozu görüldü (Resim 3.4 , 3.5) .

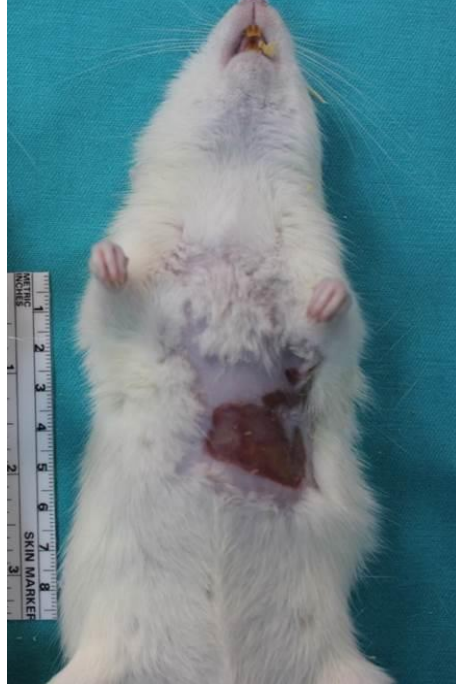


Resim 3.4: Pilot Çalışma; 20 Gy radyoterapi sonrası 6. hafta makroskobik görünümü ait örnek 1

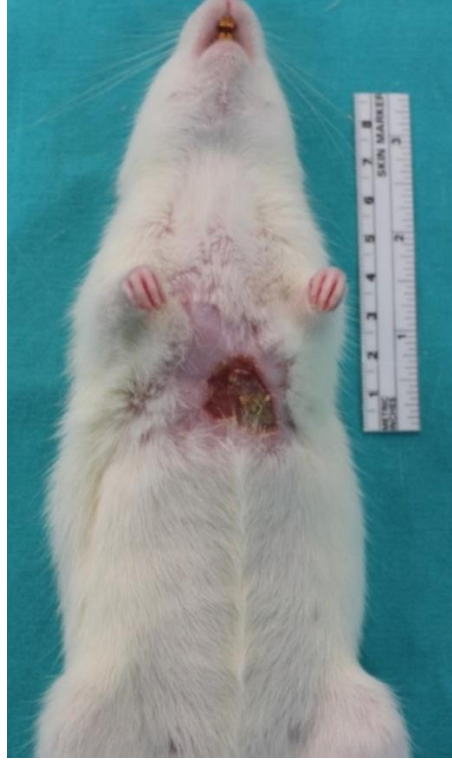


Resim 3.5: Pilot Çalışma; 20 Gy radyoterapi sonrası 6. hafta makroskobik görünümü ait örnek 2

35 Gy dozunda radyoterapi alan sıçanların göğüs ön duvarında kıllarda dökülmeye bağlı alopesi, ıslak ve kuru deskuamasyon alanları daha belirgindi. Nekroza giden alanlar daha geniş ve radyoterapini vermiş olduğu hasar daha dramatik şekilde görüldü (Resim 3.6 , 3.7).

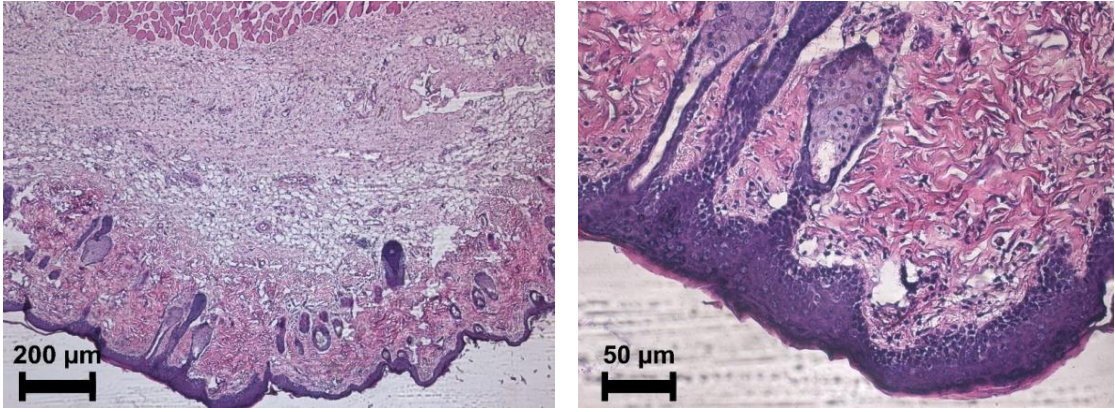


Resim 3.6: Pilot Çalışma; 35 Gy radyoterapi sonrası 6. hafta makroskobik görünümüne ait örnek 1

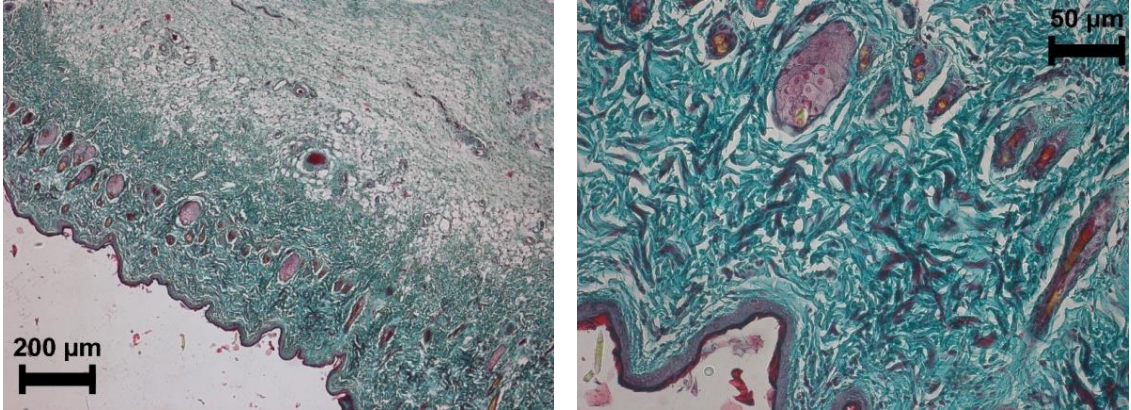


Resim 3.7: Pilot Çalışma; 35 Gy radyoterapi sonrası 6. hafta makroskobik görünümüne ait örnek 2

20 Gy dozunda radyoterapi uygulanan sıçanların 6 hafta sonunda radyoterapiye maruz kalan ve nekroza gitmeyen dokuların histopatolojik incelenmesinde H&E ile yapılan boyamalarda epidermis kalınlığında artma, dermal papillaların korunmuş olduğu, papiller-retiküler dermis geçişinin belirgin olduğu, ter bezleri ve kıl foliküllerinin normal olduğu görülmüştür (Resim 3.8). Trikrom-Masson boyamasında ödeme bağlı kollajen fibriller arasında genişlemeler olduğu göze çarpmıştır (Resim 3.9).



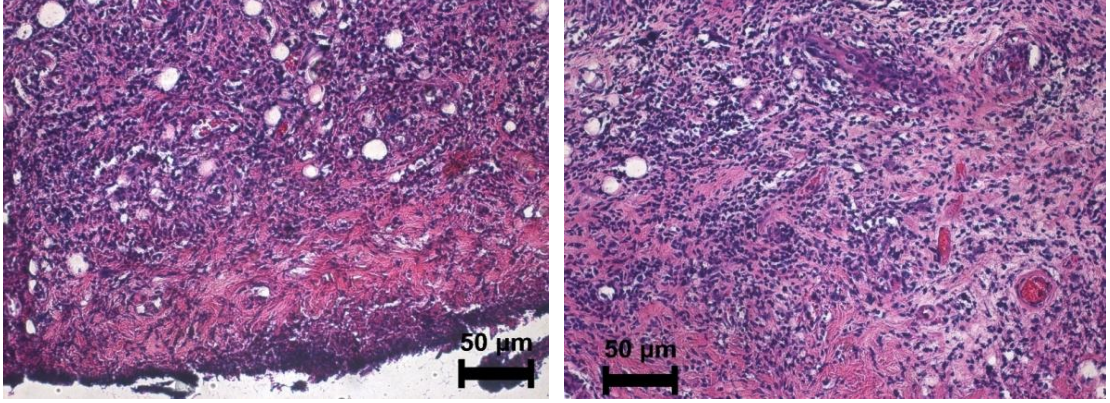
Resim 3.8: Pilot Çalışma; 20 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada Hematoksilin-Eozin boyama ile ışık mikroskobu altında nekroze olmayan alanlardan alınan doku örneklerinin histopatolojik görünümü



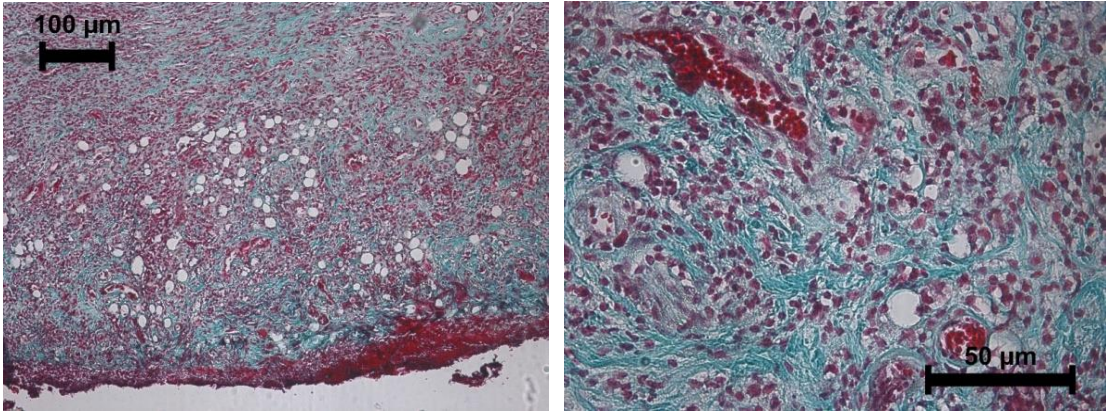
Resim 3.9: Pilot Çalışma; 20 Gy radyoterapi sonrası 6. haftada Trikrom-Masson boyama ile ışık mikroskobu altında nekroze olmayan alanlardan alınan doku örneklerinin histopatolojik görünümü

20 Gy dozunda radyoterapi uygulanan sıçanların 6 hafta sonunda radyoterapiye maruz kalan ve nekroza giden alanların histopatolojik incelenmesinde H&E ile yapılan boyamalarında epitel bütünlüğünün tamamen kaybolduğu, dermal papillaların yok olduğu, papiller-retiküler dermis geçişinin kaybolduğu görülmüştür (Resim 3.10). Trikrom-Masson boyaması ile ödeme bağlı kollajen fibriller arasında genişlemeler

olduğu, dermisteki kollajen fibriller arasına çok sayıda hücre infiltrasyonu göze çarpmıştır (Resim 3.11).



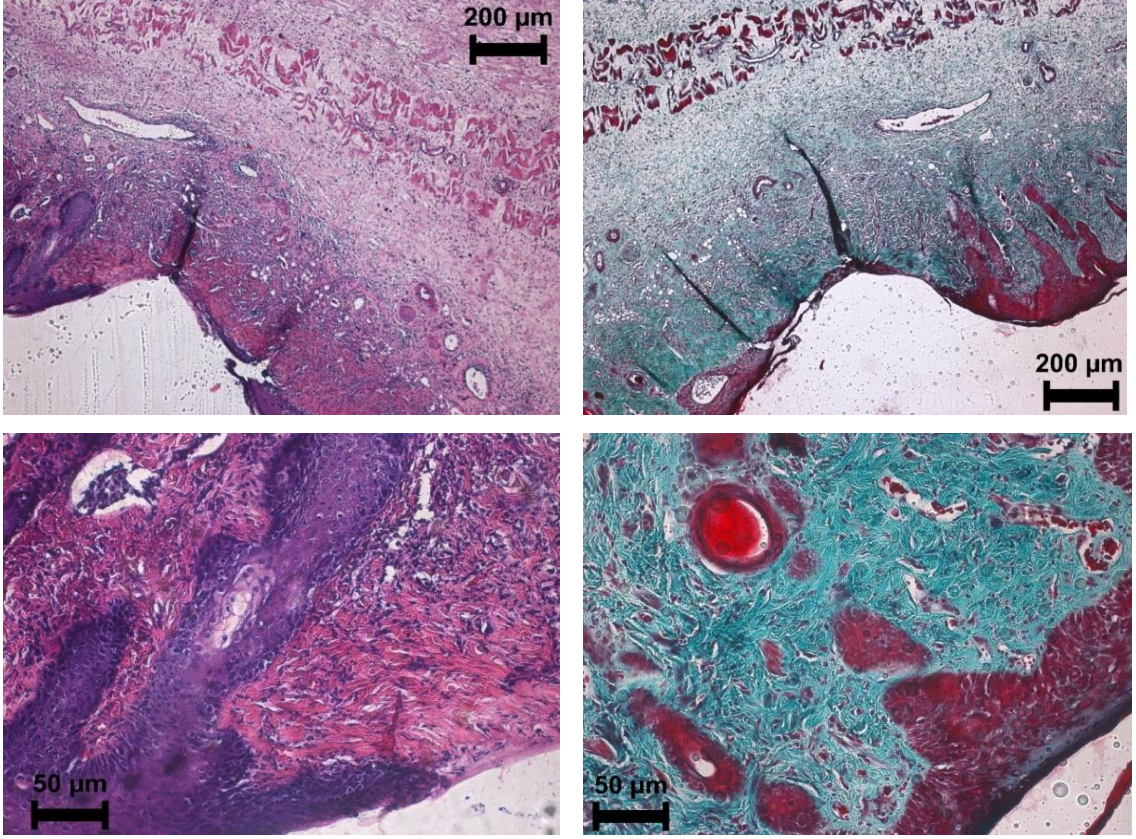
Resim 3.10: Pilot alışma; 20 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada Hematoksilen-Eozin boyama ile ışık mikroskobu altında nekroze giden alanlardan alınan doku örneklerinin histopatolojik görünümü



Resim 3.11: Pilot alışma; 20 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada Trikrom-Masson boyama ile ışık mikroskobu altında nekroze giden alanlardan alınan doku örneklerinin histopatolojik görünümü

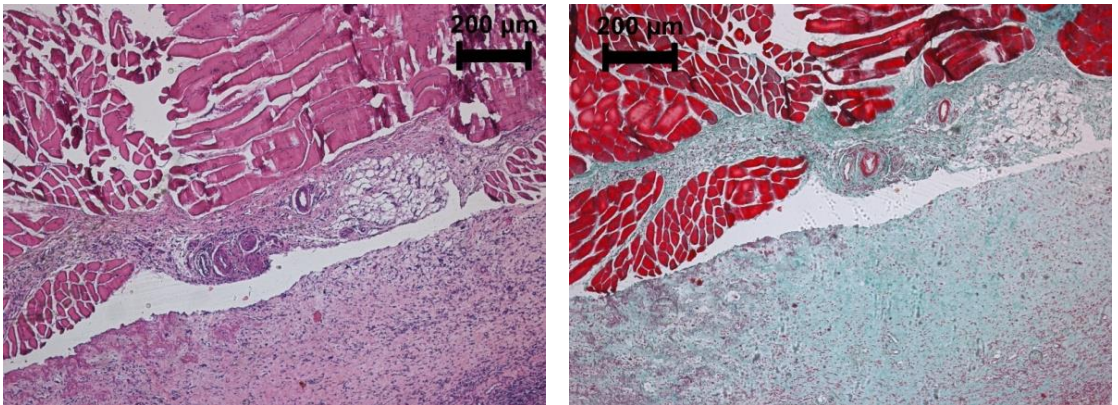
35 Gy dozunda radyoterapi uygulanan dokuların büyük çoğunluğu nekroza gitmiş ve doku btnliğu bozulmuş olarak görüldü. Işık mikroskobu altında epitel btnliğu'nn bozulduğu, dermal papillaların kaybolduğu görüldü. (Resim 3.12A)

Trikrom-Masson boyama altında dermiste kollajen fibriller arasına hücre infiltrasyonu olduğu ve damarlarda staz olduğu görüldü. (Resim 3.12B)



Resim 3.12: Pilot Çalışma; A: 35 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada Hematoksilen-Eozin B: Trikrom-Masson boyama ile ışık mikroskobu altında alınan doku örneklerinin histopatolojik görünümü

Her iki grupta, hem 20 Gy hem de 35 Gy radyoterapi dozunda kas yapılarının normal olduğu fakat kas lifleri arasında ayrılmalar olduğu görülmüştür (Resim 3.13).



Resim 3.13: Pilot Çalışma; 20 Gy dozunda radyoterapi sonrası 6. haftada Hematoksilen-Eozin ve Trikrom-Masson boyama ile ışık mikroskobu altında alınan doku örneklerinde kasların histopatolojik görünümü

Bu pilot çalışmanın 6 hafta sonunda sağladığı bilgiler ışığında makroskopik ve mikroskopik veriler değerlendirildi. 20 Gy radyoterapi dozunda istenilen etkiler ciltte görülmüştür. 35 Gy radyoterapi dozunda doku bütünlüğünün çoğu alanda kaybolduğu ve dokunun harap olduğu görülmüştür. Radyasyon onkolojisi ve histopatoloji ekibinin ortak verdiği kararlar 20 Gy radyoterapi dozu fibrozisi değerlendirmek için yeterli bulundu ve sıçanlara bu doz uygulandı.

3.2. Grupların Oluşturulması ve Radyoterapi Dozunun Uygulanması

Çalışmada; 16 adet, ortalama ağırlıkları 213gr (203-224gr) olan 150 günlük “Wistar Albino” cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanlarının tamamı standart fiziki şartların sağlandığı, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık, 20-21°C sıcaklığında tekli kafeslerde barındırıldı. Deneklerin beslenme ihtiyaçları, standart laboratuvar yemi ve musluk suyu verilerek düzenli olarak karşılandı.

Her grupta 8 sıçan olacak şekilde 2 grup oluşturuldu.

Erken Grup (n=8): Radyoterapi sonrası 0. günde yağ grefti uygulanan grup

Geç Grup (n=8): Radyoterapi sonrası 21 günde yağ grefti uygulanan grup

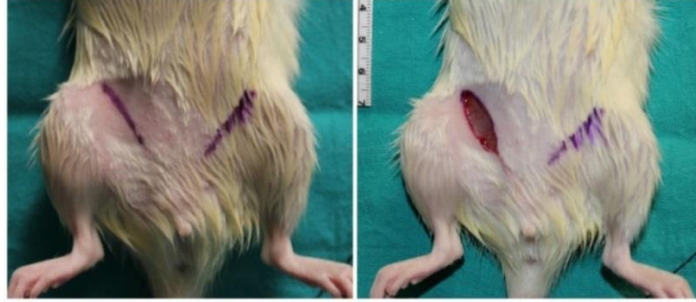
Erken Grup Kontrol (n=8) ve Geç Grup Kontrol (n=8) olarak her denek için radyasyona maruz kalan ve yağ grefti uygulanmayan sol taraf belirlendi.

3.3. Hayvanların Uyutulması ve Sakrifiye Edilmesi

Sıçanlar her işlem öncesi 50 mg/kg ketamine (Ketalar® flakon Pfizer, Brooklyn, New York, USA) + 5 mg/kg xylazine (Rompun® flakon, Bayer, Leverkusen, Germany) intra-peritoneal olarak verilerek uyutuldu. Anestezi derinliği cilt ya da parmak kıstırma yanıtları ile değerlendirildi. Sıçanlara; radyoterapi ve yağ grefti uygulaması sırasında sırt üstü pozisyonda el ve ayakları tespit edilerek işlemler uygulandı. Çalışma sonrası tüm sıçanlar periton içine 150 mg/kg ketamin hidroklorür enjekte edilerek sakrifiye edildi.

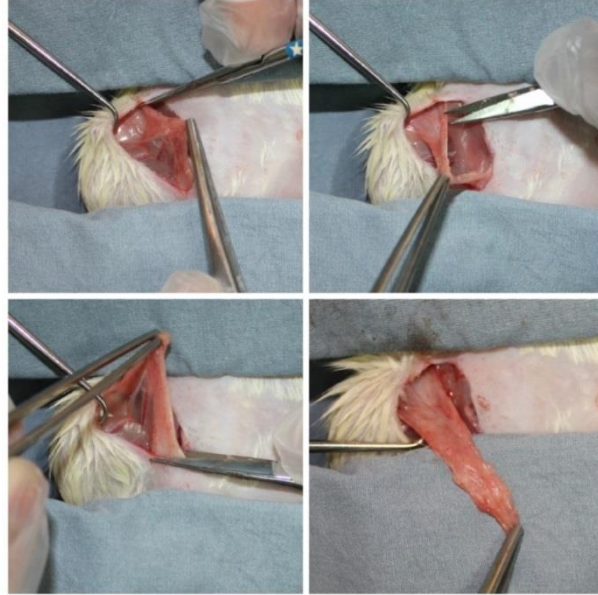
3.4. Yağ Greftinin Alınması, Hazırlanması ve Uygulanması

J.H. Piasecki ve arkadaşlarının çalışmasındaki model kılavuzluğunda yağ grefti hazırlama protokolü uygulandı. Sıçanların bilateral inguinal bölgesi steril şartlarda hazırlandı. İnguinal alanda oblik bir kesi ile cilt ve cilt altı geçildi (Resim 3.14) (55).



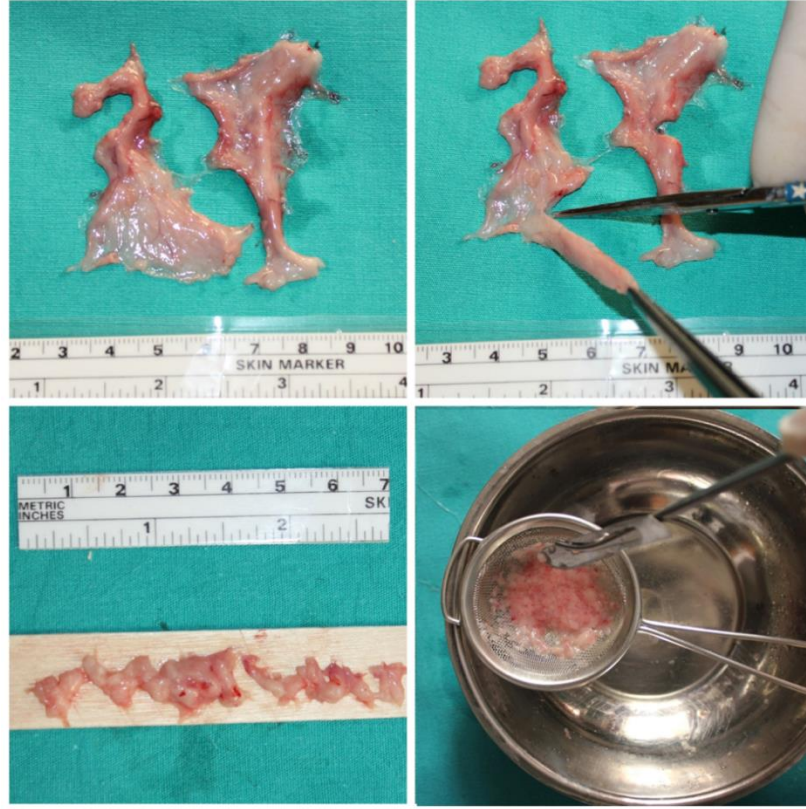
Resim 3.14: Sıçanın inguinal bölgesinde yağ yastıkçığına ulaşmak için tasarlanan insizyon ve yapılan kesi

Cerrahi makas yardımıyla atravmatik teknik uygulanarak inguinal yağ yastıkçığı eksize edildi. Damar yapıları ve bağ dokular uzaklaştırılarak cerrahi makas ve bistürü yardımıyla yağ yastıkçığı daha küçük parçalara ayrıldı (Resim 3.15).



Resim 3.15: Yağ yastıkçığının atravmatik teknik ile eksizyonu

Yağ yastıkçığı daha küçük parçalara ayrıldıktan sonra serum fizyolojik ile bolca yıkandı. Yaklaşık 2 cc'lik yağ grefti hazırlandı. Hazırlanan yağ greftlerinin ortalama ağırlığı 2.1 gram (1.9-2.3gr)'dı. Hazırlanan yağ greftleri 2 cc'lik enjektörlere dolduruldu (Resim 3.16 - 3.18).



Resim 3.16: Eksizyon ile elde edilen yağ yastığının bistüri ve cerrahi makas yardımıyla daha küçük parçalara ayrılması



Resim 3.17: Yağ greftinin serum fizyolojik ile yıkanması



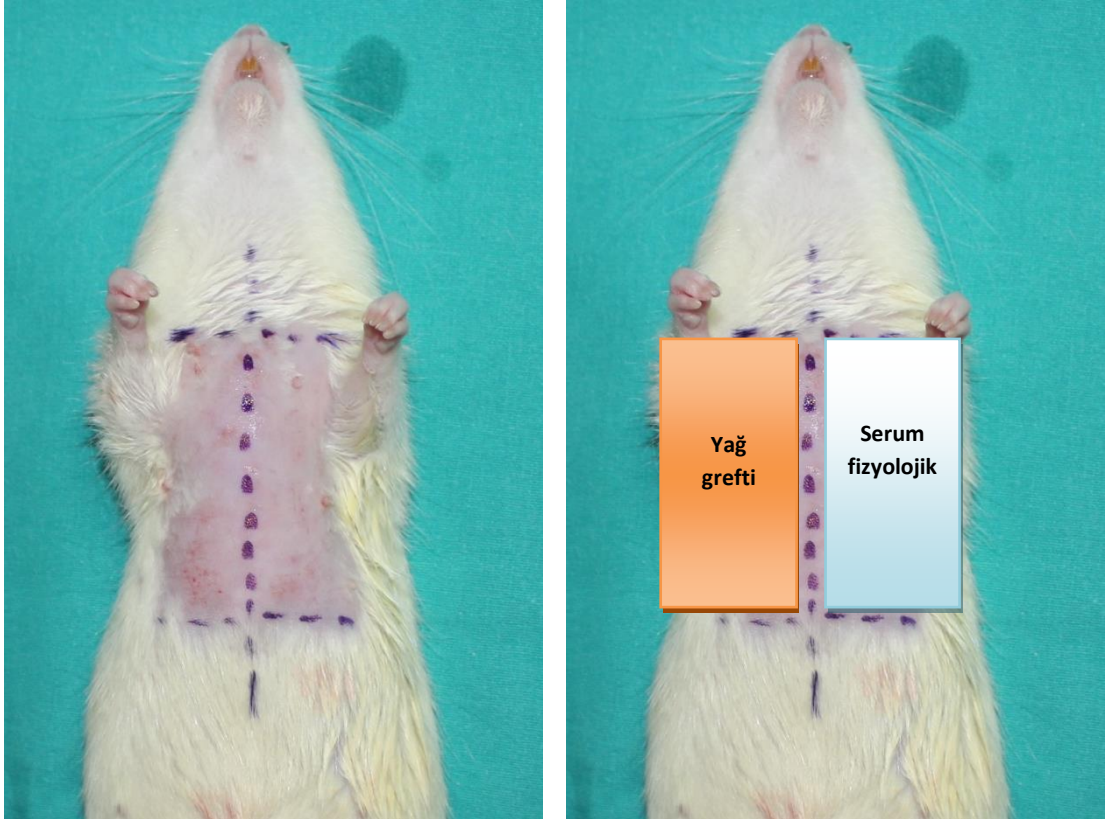
Resim 3.18: Enjektör içindeki yağ grefti

Enjeksiyon için künt uçlu Trimed® marka (LIS 2169, 1.6mm çap ve 9cm uzunluğunda, med Tıbbi Cihazlar, Ankara, Türkiye) kanül kullanıldı (Resim 3.19).



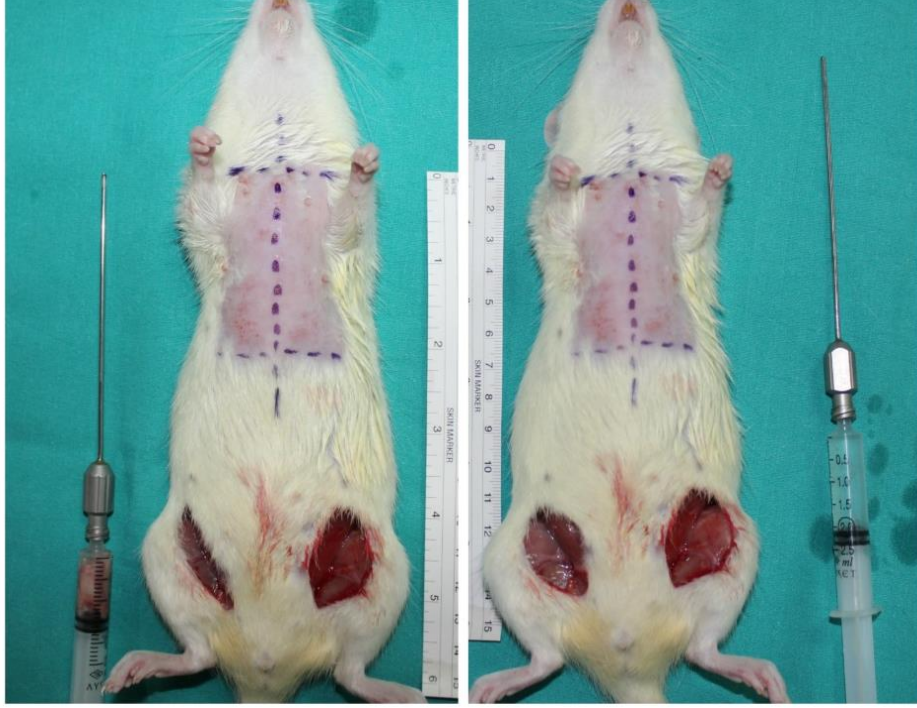
Resim 3.19: Enjeksiyon kanülü

Radyoterapiye maruz kalan alan iki eşit parçaya bölünerek sağ taraf yağ grefti uygulanacak taraf olarak belirlendi. Sol taraf kontrol alanı olarak belirlendi ve aynı miktarda serum fizyolojik enjekte edilerek standardizasyon sağlandı (Resim 3.20 , 3.21).

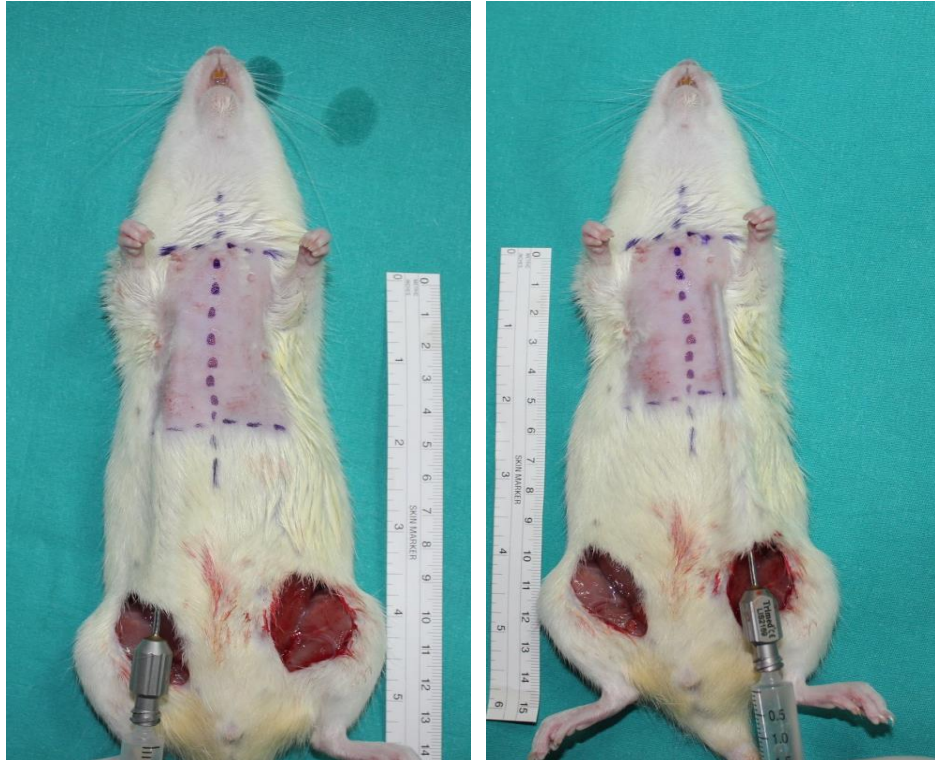


Resim 3.20: Radyoterapi sonrası yağ grefti uygulanacak alanın planlanması

Cilt altı-pektoral kas üstü plana 10 geçiş yapılarak her geçişte yaklaşık 0.2 cc olacak şekilde yağ grefti verildi (Resim 3.22)



Resim 3.21: Standardizasyonu sağlamak üzere aynı miktarda enjekte edilen serum fizyolojik



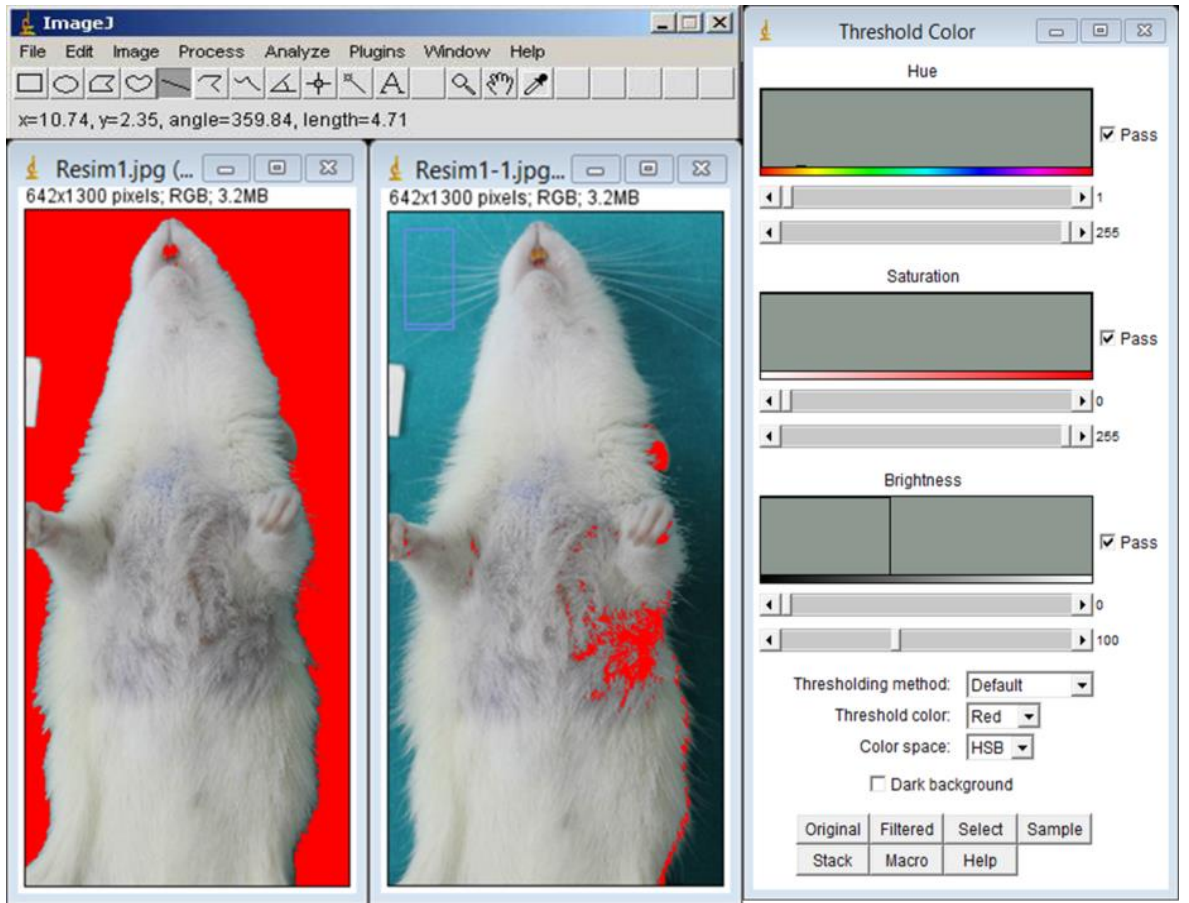
Resim 3.22: Cilt altı plana yağ grefti ve serum fizyolojik uygulanması

3.5. Cilt Yaşamsallığının Topografik Değerlendirilmesi

Tüm gruplardaki sıçanlar radyoterapi uygulamasını takiben 11 hafta sonrası tekrar anestezi verilerek, sırt üstü yatırıldı. Sıçanların toraks ön duvarı yağ grefti uygulanan ve uygulanmayan alanlar makroskobik olarak karşılaştırıldı ve fotoğraflandı. Çekilen fotoğraflar bilgisayar ortamına aktarılarak Image J® Software 1.48v JAVA (National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) programı sayesinde nekroza giden ve total alan ayrı ayrı seçilerek piksel cinsinden ortaya kondu (Şekil 3.1).

Yaşayan alanlarının tüm alana oranı yüzde (%) cinsinden hesaplandı.

Nekroze alan yüzdesi = (nekroze alan / tüm alanı) × 100



Şekil 3.1: Image J programı ile sağlam ve nekrotik alan hesaplaması

3.6. Mikroanjiyografik Değerlendirme

Her grupta bir adet sıçana, vaskülarizasyonu değerlendirmek amacıyla mikroanjiyografi yapıldı. Bu işlem için seçilen sıçanlar uyutulduktan sonra cerrahi masaya sırtüstü olacak şekilde yatırıldı. 4 ekstremitesi flaster yardımıyla tespit edildi. Abdominal aorta mikrocerrahi teknikle disseke edilerek ortaya kondu ve 4.0 ipek sütür ile askıya alındı. 22 G intraket yardımıyla askıya alınan abdominal aorta kanülize edildi. Bu sırada 100 gr %96 saflıkta turuncu renkli kurşun oksit (Akvar Kimya, Ankara), 10gr toz jelatin (Gelatin 80 Bloom, Prosis Tekstil Matbaa Gıda San.Tic.Ltd.Şti., Bağcılar, İstanbul) ve 5000 IU heparin (Nevparin®25000 IU 1 flakon, Mustafa Nevzat İlaç Sanayi A.Ş., Gayrettepe, İstanbul), 50°C'deki 100cc'lik serum fizyolojik içinde karıştırılarak homojen hale getirildi ve kontrast madde olarak kullanılmak üzere hazırlandı. Hazırlanan solüsyon uygun bir hızda, kanülize edilen abdominal aortadan verildi. Ucu kesilen kuyruktan sızıntı şeklinde geldiği ve sıçanların göz bebeğinde oluşan sarı renk görülünce işlem sonlandırıldı. Hazırlanan kontrast maddenin verilmesi tamamlandıktan sonra her sıçanın toraks ön duvarı cilt ve cilt altı dokusu total olarak alındı. Dokular, nemli gazlı bez içerisinde 4°C sıcaklıkta 1 gün bekletildikten sonra Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Hastanesi Radyoloji Bölümü'ne götürüldü ve radyografi çekim işlemi yapıldı.

3.7. Histopatolojik Değerlendirme

Fotoğraflama işlemi tamamlandıktan sonra tüm gruplardaki sıçanların yağ grefti uygulanan ve uygulanmayan alanlardan ayrı ayrı örnekler alındı. Alınan örnekler, %10'luk nötral formolün içerisine konularak histopatolojik inceleme yapılmak üzere histoloji laboratuvarına teslim edildi.

Alınan doku örnekleri %10 tamponlu nötral formol içinde 48 saat tespit edildiler. Tespit olan doku örnekleri histolojik doku takip yöntemine göre alkollerden geçirilerek dehidrate edildikten sonra ksilolde şeffaflandırmayı takiben parafine gömüldüler. 5 mikronluk seri kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin ve Masson-Trikrom ile boyandıktan sonra Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda Leica DM-6000B (Wetzlar, Germany) görüntü analiz sistemi ile ışık mikroskopunda incelendi. Görüntüler Leica DC500 dijital kamera (Wetzlar, Germany) ile bilgisayara aktarıldı. Q-Win Plus programı (Leica Q Win Plus v.3.2.0 software, Leica Microsystems Imaging Solutions

Ltd, Cambridge, UK) kullanılarak örneklerde epidermis ve dermis kalınlığı ölçüldü. Epidermis ve dermis kalınlıkları her bir örnekte 3 ayrı alanda ölçüldükten sonra ortalamaları alınarak istatistiksel olarak değerlendirildi (18,106).

Her bir gruptaki deneklerde infiltratuar hücreler iki histolog tarafından gruplarda kör olarak X400 objektif büyütmede 1 mm²'lik rastgele 5 alanda oküler mikrometre kullanılarak sayıldılar ve istatistiksel olarak değerlendirildiler. Erken ve geç dönemde yağ grefti uygulanan gruplarda damarlar iki histolog tarafından gruplara kör olarak X400 objektif büyütmede 1 mm²'lik rastgele 5 alanda oküler mikrometre kullanılarak sayıldılar. Gruplardaki fibrozis durumu Abramov Y. ve arkadaşlarının ("Histologic characterization of vaginal vs abdominal surgical wound healing in a rabbit model", Wound Rep Reg 2007,15:80-86) skorlama sisteminden uyarlanmış bir derecelendirme sistemi ile istatistiksel değerlendirmeye alındı (101).

Dermiste Fibrozis	"Grade" 0	Dermiste fibrozis yok
	"Grade" 1	Dermiste hafif fibrozis var
	"Grade" 2	Dermiste orta şiddette fibrozis var
	"Grade" 3	Dermiste yoğun fibrozis var

Yağ Greftinde Fibrozis	"Grade" 0	Greftte ve çevresinde fibrozis yok
	"Grade" 1	Greftte fibrozis yok ve çevresinde fibrozis var
	"Grade" 2	Greftte fibrozis %50 ve altında, çevresinde fibrozis var, yağ hücresi var.
	"Grade" 3	Greftte fibrozis %50-75, çevresinde fibrozis var, yağ hücresi var
	"Grade" 4	Greftte fibrozis %75 ve üzerinde, çevresinde fibrozis var, az sayıda yağ hücresi var

Tablo 3.1: Histopatolojik derecelendirme-Abramov Y.(101)'den uyarlanmıştır

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Tanımlayıcı istatistiklerden sayısal ölçümler için ortalama, ortanca, standart sapma değerleri ile niteliksel veriler için sayı ve yüzdeler verildi. Veriler normal dağılım göstermediği durumlarda non-parametrik testler kullanıldı. İstatistiksel analizlerin tümünde $p < 0.05$ 'den küçük değerler anlamlı olarak kabul edildi. Hesaplamalar için IBM SPSS® version 21 (IBM Corporation New Orchard Road Armonk, New York, USA) paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Cilt Yaşamsallığı ve Cilt Kalitesi

Tüm gruplarda radyoterapi uygulanmasını takiben 11. hafta sonunda cilt kalitesi topografik olarak incelendi. Özellikle yağ grefti uygulanan alanların her iki grupta da yağ grefti uygulanmayan kontrol alanına göre daha iyi durumda olduğu gözlemlendi. Hem erken hem de geç grupta cilt esnekliği ve kalitesi açısından kontrol alanlarına göre daha iyi durumdaydı. Erken ve geç gruplar karşılaştırıldığında cilt kalitesi ve nekroza giden alanlar arasında belirgin fark gözlenmedi (Resim 4.1 , 4.2).

Digital fotoğraf makinesi ile sabit uzaklıktan çekilen fotoğraflar bilgisayar ortamına aktarıldı ve Image J® Software 1.48v JAVA ([NIH;http://rsbweb.nih.gov/ij](http://rsbweb.nih.gov/ij): National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA) programında nekroze alan / tüm alan ölçümleri yapıldı (Tablo 4.1).

Ciltte Nekroz Alanı	Alan (%)		Alan(%)		
	Erken Grup	Erken Grup Kontrol	Geç Grup	Geç Grup Kontrol	
Denek	1	2,54	3,25	3,77	3,62
	2	1,21	7,41	1,64	4,78
	3	1,83	2,71	1,01	11,08
	4	0	1,26	1,91	10,54
	5	0	13,22	8,56	9,53
	6	2,13	17,81	2,42	13,37
	7	0,19	1,06	1,26	1,38
	8	5,32	8,23	0	2,34

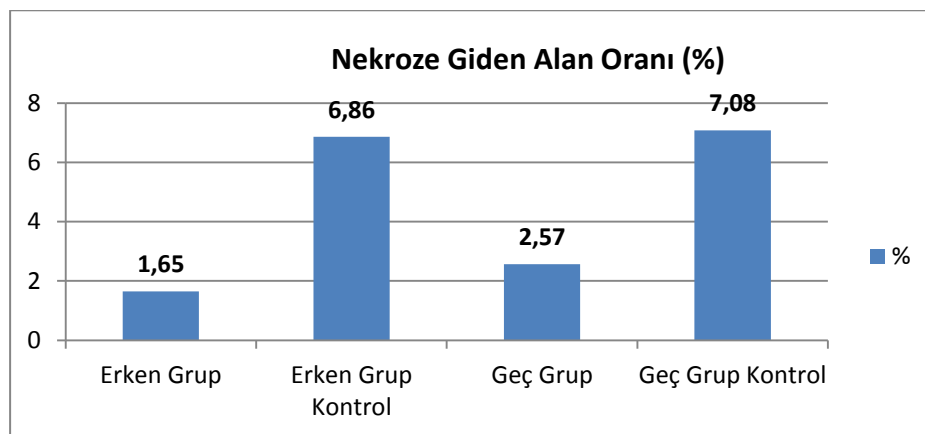
Tablo 4.1: Ciltte nekroze giden alanların yüzdesel oranı

Erken yağ grefti uygulanan grupta nekroza giden cilt ortalaması %1.65, geç yağ grefti uygulanan grupta ortalama %2.57 olarak bulundu. Erken ve geç grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Kruskal-Wallis testi, $p=0.574$) (Tablo 4.2).

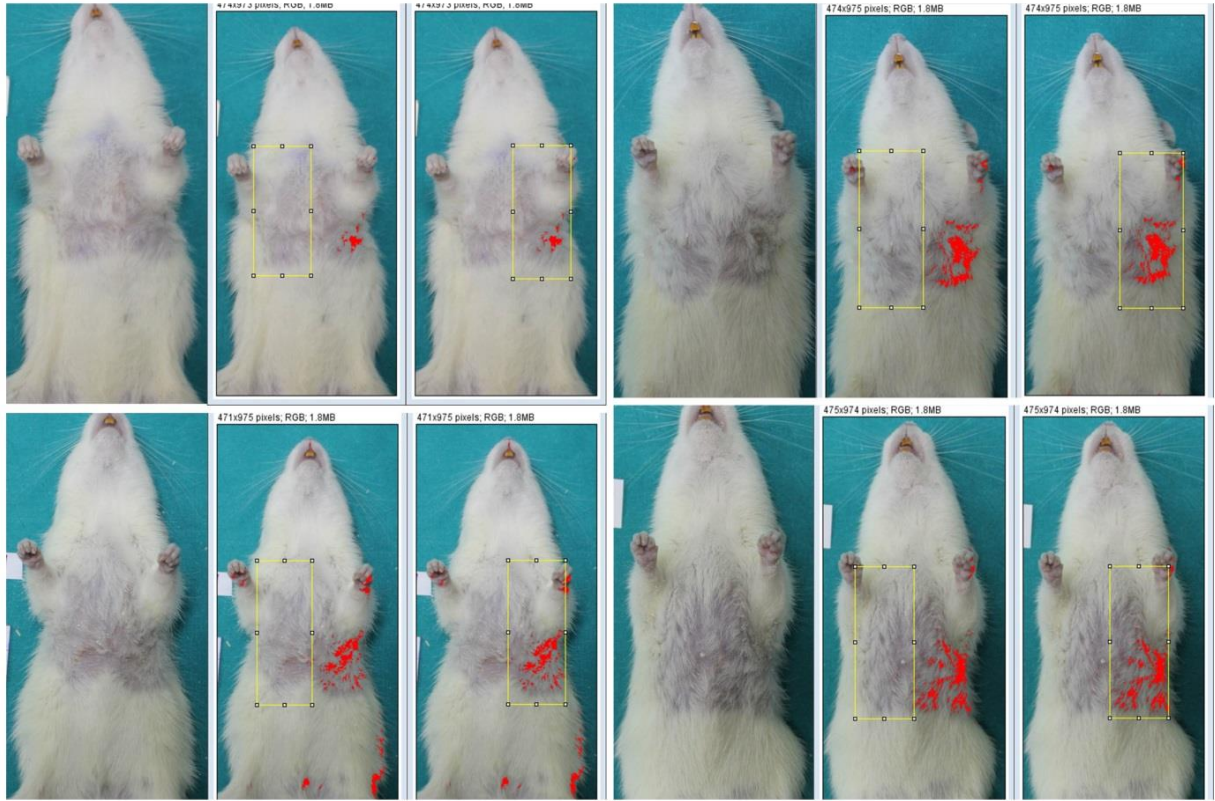
Nekroze Alan Oranı (%)		n	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	Minimum	Maksimum
Gruplar	Erken Grup	8	1,6525	1,5200	1,78461	0,00	5,32
	Erken Grup Kontrol	8	6,8688	5,3300	6,06848	1,06	17,81
	Geç Grup	8	2,5713	1,7750	2,65647	0,00	8,56
	Geç Grup Kontrol	8	7,0800	7,1550	4,56317	1,38	13,37

Tablo 4.2: Ciltte nekroze giden alan yüzdelerinin dağılımı

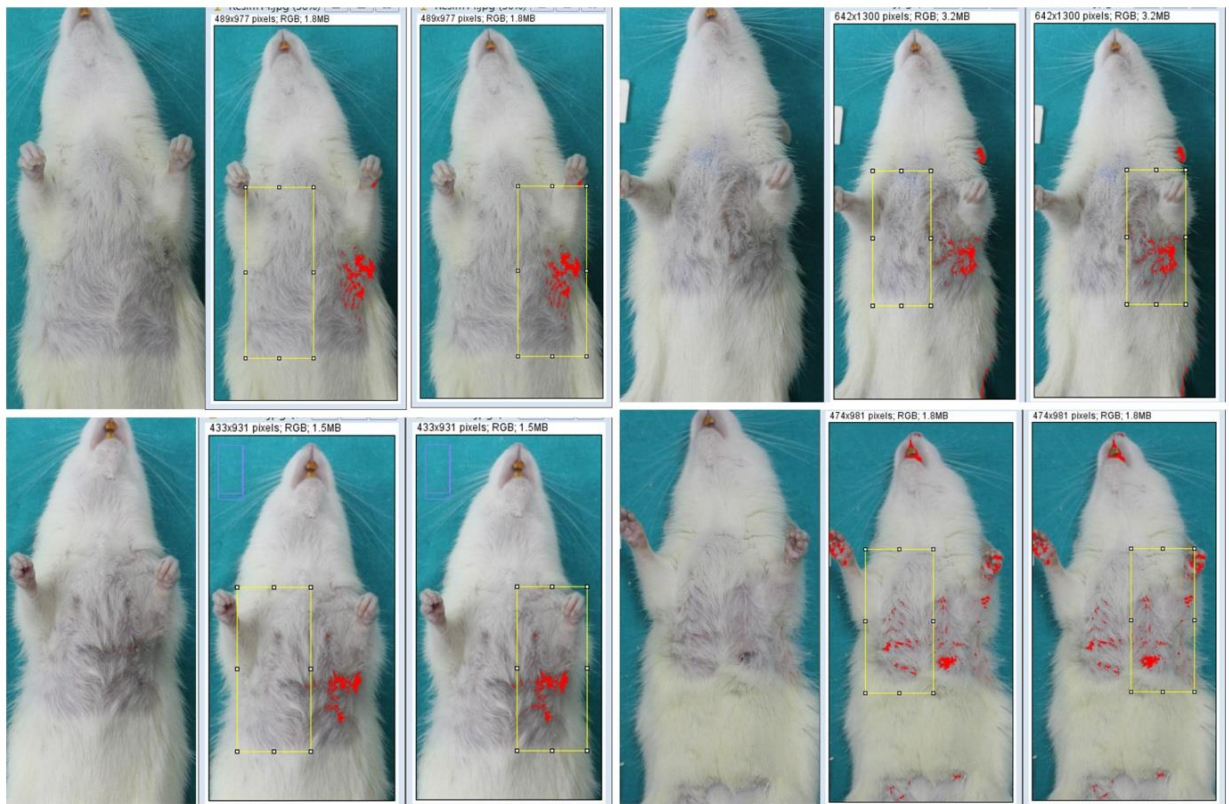
Erken yağ grefti uygulanan grubun kontrol tarafında nekroza giden cilt oranı ortalama %6.86; geç yağ grefti uygulanan grubun kontrol tarafında nekroza giden cilt oranı ortalama %7.08 olarak hesaplandı. Erken ve geç yağ grefti uygulanan gruplar kontrol grupları ile karşılaştırıldığında bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi, $p=0.012$, $p=0.025$) (Tablo 4.3).



Tablo 4.3: Ciltte nekroze giden alan yüzdelerinin dağılımı grafiği; erken ve geç grup arasındaki nekroza giden alan oranı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Kruskal-Wallis testi, $p=0.574$). Erken ve geç yağ grefti uygulanan gruplar kontrol grupları ile karşılaştırıldığında bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi, $p=0.012$, $p=0.025$)



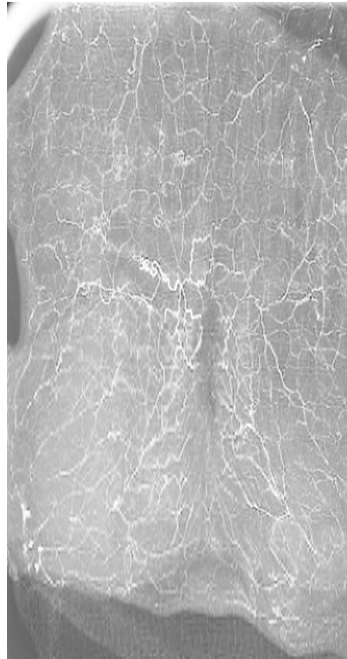
Resim 4.1: 11. hafta sonunda erken yağ grefti uygulanan deneklere örnekler ve nekrotik alanın hesaplanması



Resim 4.2: 11. hafta sonunda geç yağ grefti uygulanan deneklere örnekler ve nekrotik alanın hesaplanması

4.2. Mikroanjiyografi Görüntüleri

Her gruptan bir adet sıçanın vaskülarizasyonu örneklemek adına fotoğraflama işlemi tamamlandıktan sonra mikroanjiyografi yapıldı. Erken ve geç yağ greftlemesi yapılan tarafların vaskülarizasyonu daha yoğun olmakla birlikte erken ve geç gruplar arasında anlamlı fark görülmedi.



Resim 4.3: Erken grup mikroanjiyografi görüntüsü

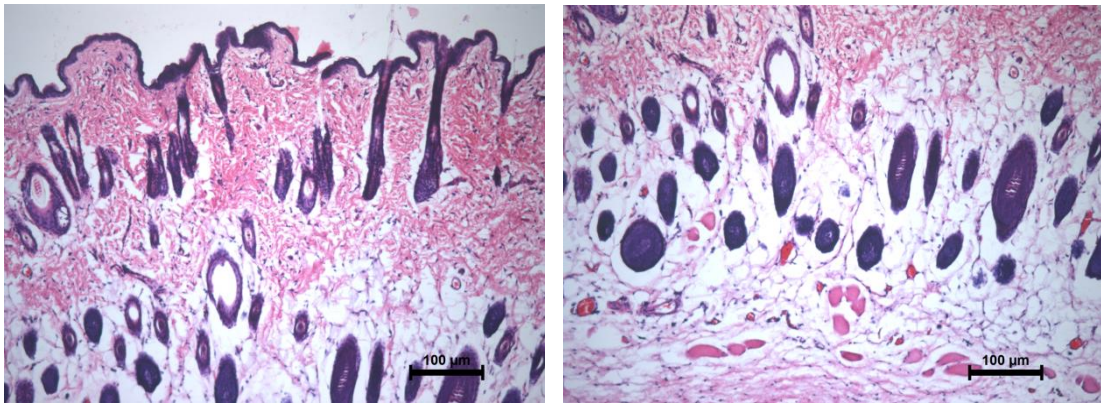


Resim 4.4: Geç grup mikroanjiyografi görüntüsü

4.3. Histopatolojik Bulgular

4.3.1. Radyoterapi Almamış Normal Cildin Histopatolojisi:

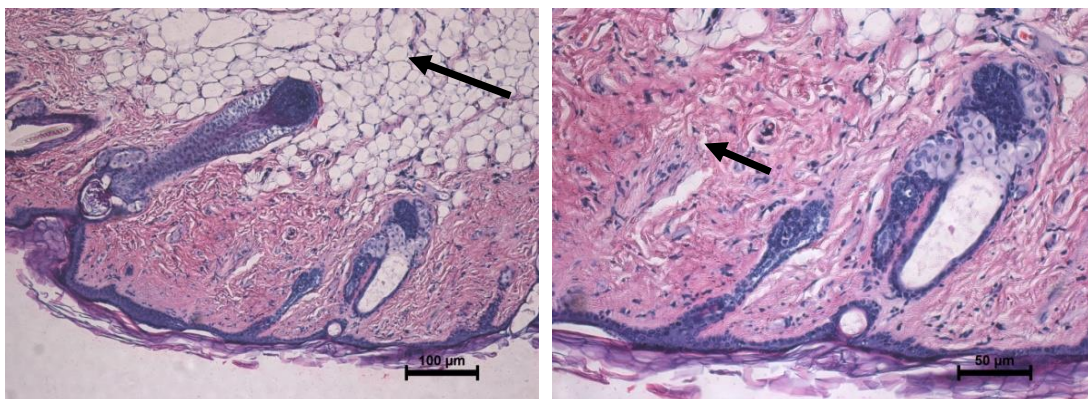
Radyoterapi uygulanmamış örnekte epidermisi oluşturan çok katlı yassı epitel, altında düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki dermis, dermis içinde kıl folikülleri ve dermis altında yağ dokusundan zengin hipodermis görüldü. Dermiste kollajen fibriller her yöne gelişigüzel dağılım göstermekteydi (Resim 4.5A). Hipodermis altında yer yer kas demetleri izlendi (Resim 4.5B).



Resim 4.5: Radyoterapi almamış ve yağ grefti uygulanmamış normal cilt; A: Epidermis altında dermis, kıl folikülleri ve hipodermis, H&E, X100. B: Hipodermis altında öbekler şeklinde kas demetleri, H&E, X100.

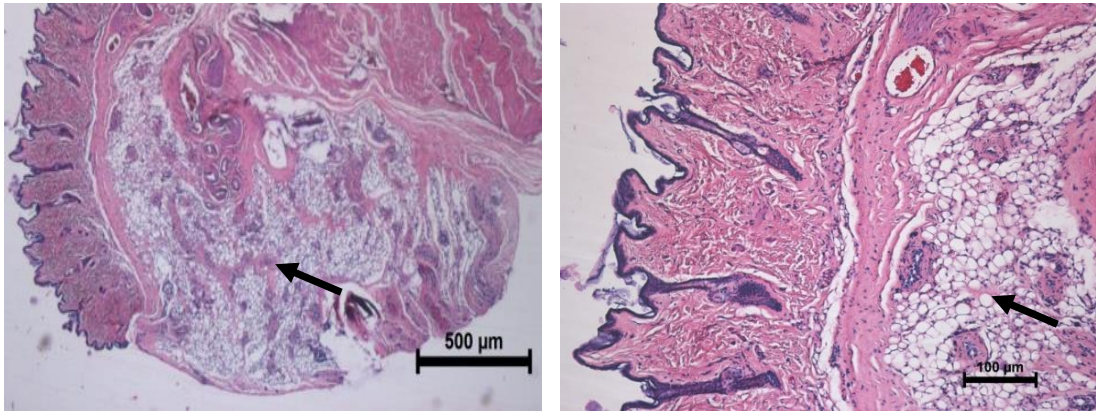
4.3.2. Radyoterapi Sonrası Erken Dönemde Yağ Grefti Uygulanan Grup Histopatolojisi:

Radyoterapi sonrası erken dönem yağ grefti uygulanmış gruba ait örnekler incelendiğinde doku bütünlüğünün korunduğu görüldü (Resim 4.6).

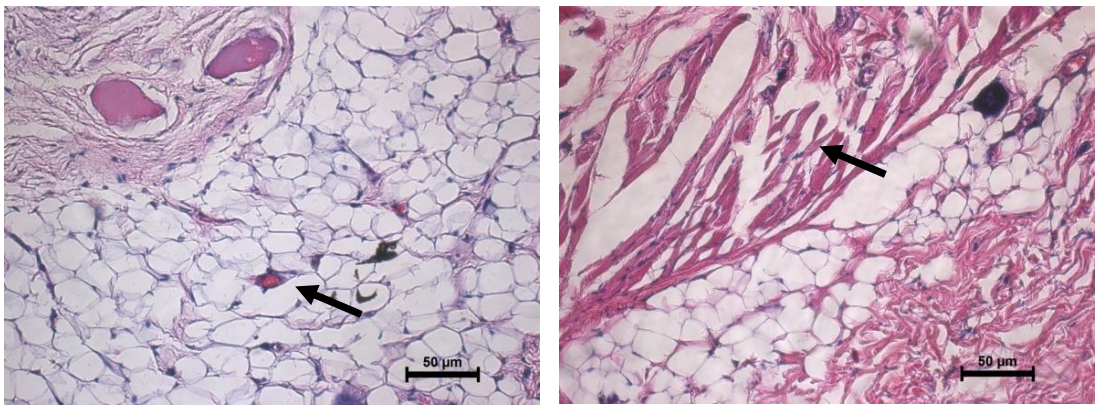


Resim 4.6: Radyoterapi sonrası erken dönemde yağ grefti uygulanmış grup; A: Devamlılığı korunmuş ince epidermis ve altında dermis, ok; yağ grefti H&E, X100. B: Dermiste bazı alanlarda infiltratif hücreler ve ödem nedeniyle araları açılmış kollajen fibriller, ok; kollajen fibriller H&E, X200.

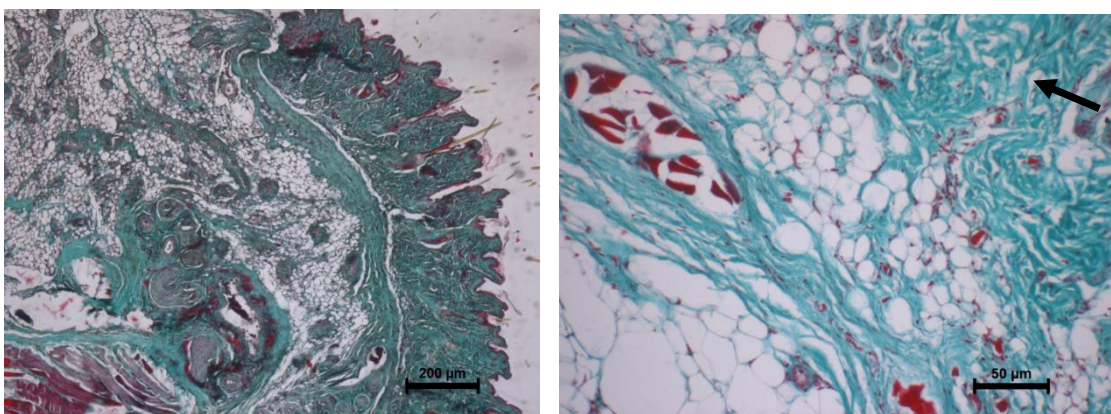
Epidermis ve altında düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındaki dermis ile komşuluğunda yağ grefti izlendi (Resim 4.6-4.9).



Resim 4.7: Radyoterapi sonrası erken dönem yağ grefti uygulanmış grup; Greft çevresinde ve içinde fibrozis, ok; uygulanan yağ grefti A: H&E, X25, B: H&E, X100.



Resim 4.8: Radyoterapi sonrası erken dönem yağ grefti uygulanmış grup; A: Yağ grefti içinde damarlar, H&E, X200. B: Greft altı kas dokusunda ödem, H&E, X200.

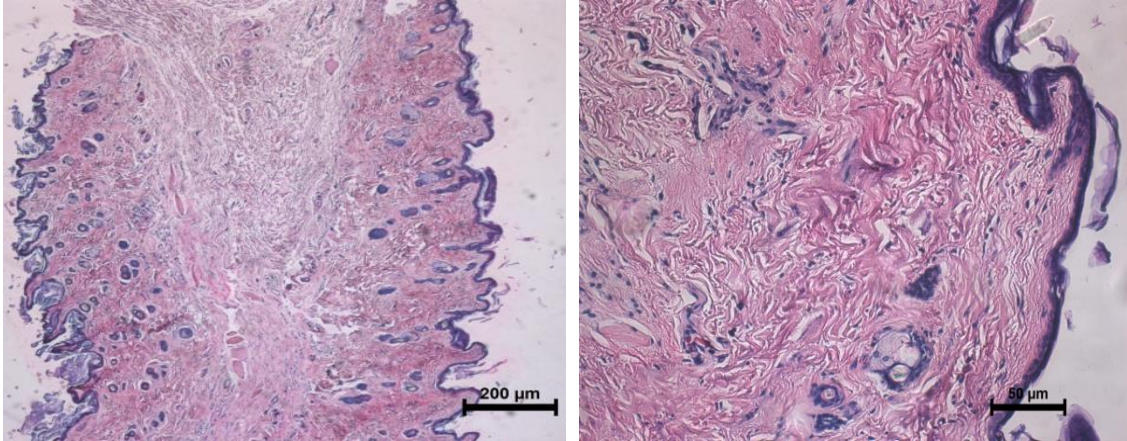


Resim 4.9: Radyoterapi sonrası erken dönem yağ grefti uygulanmış grup; A: Greft çevresinde ve içinde fibrozis, kas dokusunda ödem, Masson Trikrom, X50. B: Dermiste infiltratif hücreler ve greft çevresinde fibrotik doku, ok; fibrozis Masson Trikrom, X200.

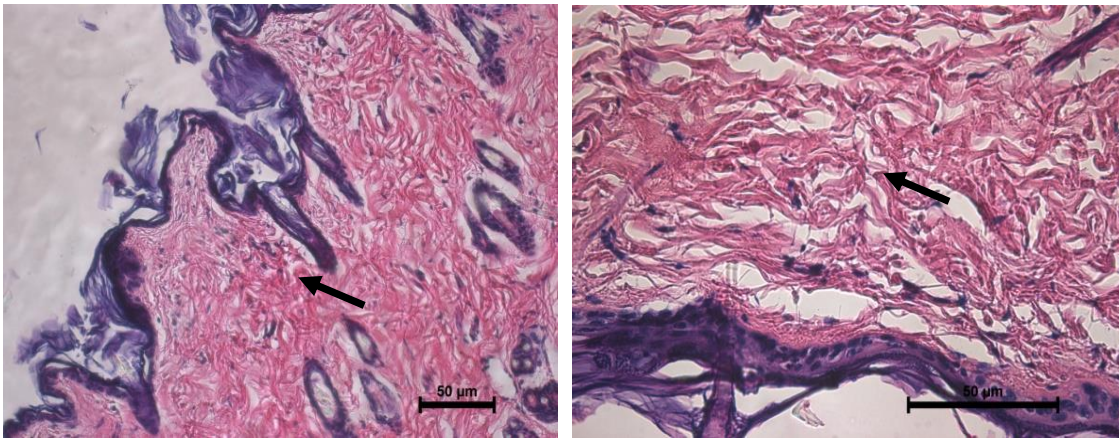
Örneklerin tümünde epitel bütünlüğü korunmuştu ancak yağ grefti uygulanmamış erken grup kontrolüne benzer şekilde epidermis kalınlığı azalmıştı. Dermal papillalar vardı ve kollajen fibriller kalın demetler şeklinde düzensiz olarak dağılım gösteriyordu. Bazı alanlarda hafif ödeme bağlı kollajen demetler arasında açılmalar vardı. Ter bezleri ve kıl folliküllerinin de yapıları normaldi. Dermiste bulunan damarların çoğunda izlenmemekle birlikte bazılarında staz vardı. Dermiste az miktarda hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Dermis kalınlığı erken kontrol grubu örneklerine yakındı. Konulan yağ greftlerinin etrafında sıkı bağ dokusu yapısında kapsül oluştuğu dikkati çekti. Greft içinde de yer yer fibrotik alanlar görülmekle birlikte greftlerin kanlanması iyi olduğu izlendi. Kas tabakası incelendiğinde kas fibrillerinin ödeme bağlı olarak birbirinden ayrılmış olduğu izlendi. Dermiste fibrozis değerlendirilmesi yapıldığında örneklerden birinde orta “grade” fibrozis, diğerlerinde ise hafif “grade” fibrozis olduğu görüldü. Yağ grefti fibrozis açısından değerlendirildiğinde örneklerden ikisinde “grade” 3 fibrozis, ikisinde “grade” 2 fibrozis ve dördünde “grade” 1 fibrozis saptandı.

4.3.3. Erken Grup Kontrol Histopatolojisi:

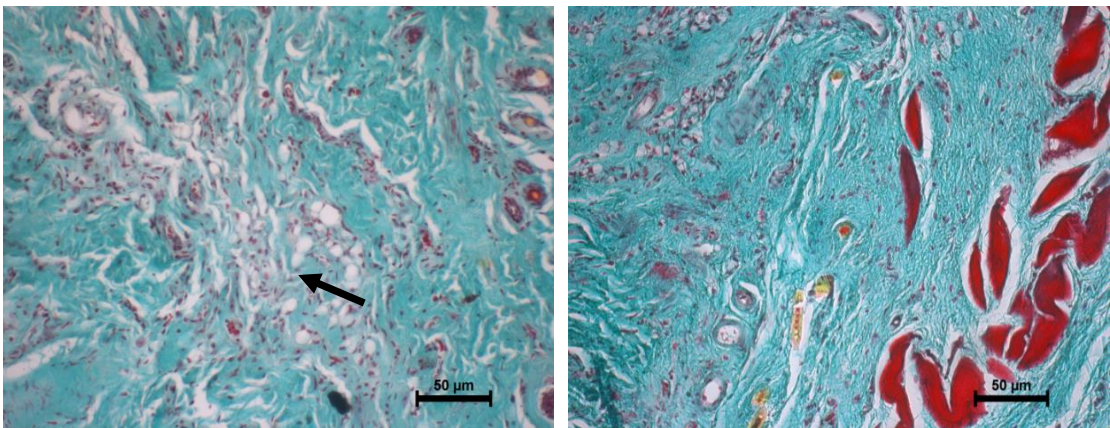
Radyoterapi uygulanmış erken dönem kontrol grubuna ait tüm örneklerde epidermis ve dermis tabakaları normal histolojik görünümdeydi. Epidermiste çok katlı yassı epitel bütünlüğü korunmuştu ancak epitel kalınlığı normal deri çok katlı yassı epiteline göre daha inceydi. Dermal papillalar normaldi. Dermis düzensiz sıkı bağ dokusunda kollajen fibriller yer yer ince yer yer daha kalın ve kısa demetler oluşturarak gelişmiş güzel dağılmışlardı. Dermis derin kısımlarında bazı alanlarda fibrozis vardı. Dermiste bulunan ter bezleri, yağ bezleri ve kıl foliküllerinde yapısal değişiklik gözlenmedi. Dermis içindeki damarlarda staz yoktu. Dermiste belli alanlarda infiltratif hücreler vardı. Kollajen demetler arasında ödeme bağlı açılmalar vardı. Dermis altında kas dokusunda da kas demetleri arasında ödeme bağlı açılmalar dikkati çekti. Dermiste fibrozis değerlendirilmesi yapıldığında örneklerden üçünde orta “grade” fibrozis ve beşinde hafif “grade” fibrozis saptandı (Resim 4.10-4.12).



Resim 4.10: Radyoterapi uygulanmış erken grup kontrol grubu; A: Normale göre oldukça ince epidermis ve dermis derinlerinde fibrozis, H&E, X50. B: Büyük büyütmede dermiste hafif ödem ve fibrotik alan, H&E, X200.



Resim 4.11: Radyoterapi uygulanmış erken dönem kontrol grubu; A: Epitel bütünlüğü korunmuş ince epidermis ve altında ödemli dermis, ok; infiltratif hücreler H&E, X200. B: Dermiste kollajen demetler arasında açılmalar ve infiltratif hücreler, ok; arası açılmış kollajen HEX400.



Resim 4.12: Radyoterapi uygulanmış erken dönem kontrol grubu; A: Dermiste ödeme bağlı araları açılmış kollajen fibriller ve infiltratif hücrelerin bulunduğu bir alan, ok; infiltratif hücreler Masson Trikrom, X200. B: Dermis derinlerinde fibrotik alan ve altında kas fibrilleri arasında ödeme bağlı açılmalar, Masson Trikrom, X200.

4.3.4. Radyoterapi Sonrası Geç Dönemde Yağ Grefti Uygulanan Grup

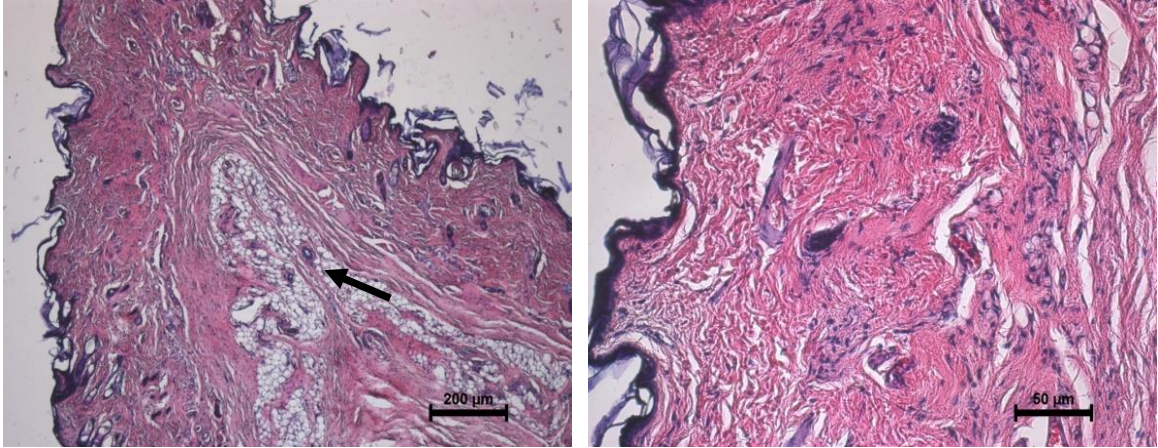
Histopatolojisi:

Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış örneklerin hepsinde diğer gruplarda olduğu gibi epitel bütünlüğünün korunduğu ve dermal papillaların, ter bezlerinin, yağ bezlerinin ve kıl foliküllerinin bulunduğu ve hepsinin normal yapıda olduğu görüldü. Dermiste kollajen fibril dağılımının hemen hemen erken yağ grefti uygulanmış gruba benzer ve normal olduğu izlendi. Ancak bağ dokusunda hafif ödem vardı ve ödeme bağlı olarak yer yer kollajen fibriller arasında açılmalar belirgindi. Dermiste bulunan damarlarda staz yoktu.

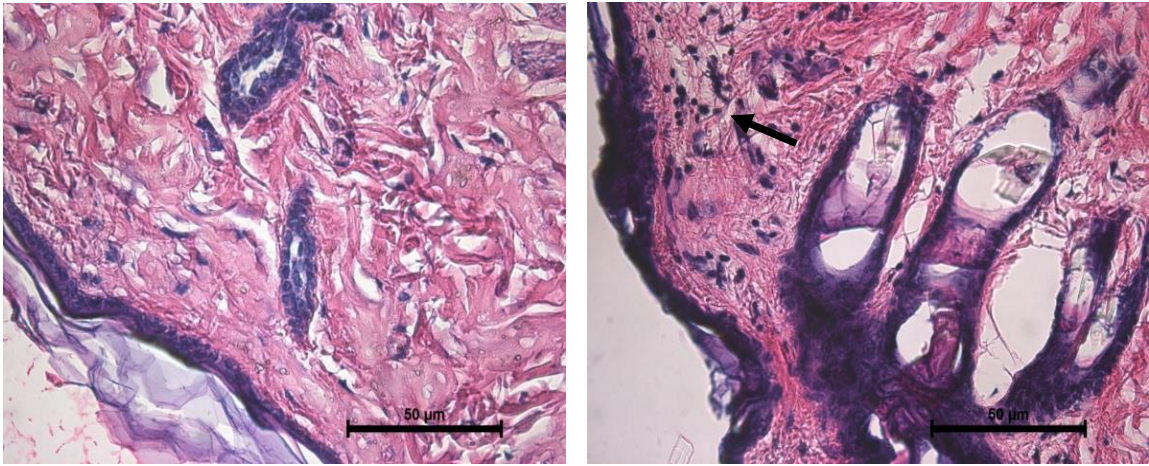
Erken greft uygulanan gruba göre dermiste daha fazla infiltratif hücre gözlenirken damar sayısının ise daha az olduğu dikkat çekti. Konulan yağ greftlerinin etrafında erken greft uygulanan gruba benzer şekilde sıkı bağ dokusu yapısında kapsül vardı. Gerek dermis gerekse greft içinde erken greft uygulanan gruba göre daha fazla fibrozis vardı (Resim 4.13 , 4.14).

Dermiste fibrozis değerlendirilmesi yapıldığında örneklerden birinde yoğun “grade” fibrozis, ikisinde orta “grade” fibrozis ve beşinde hafif “grade” fibrozis olduğu görüldü. Yağ grefti fibrozis açısından değerlendirildiğinde örneklerden ikisinde “grade” 4, üçünde “grade” 3, birinde “grade” 2 ve ikisinde “grade” 1 fibrozis saptandı.

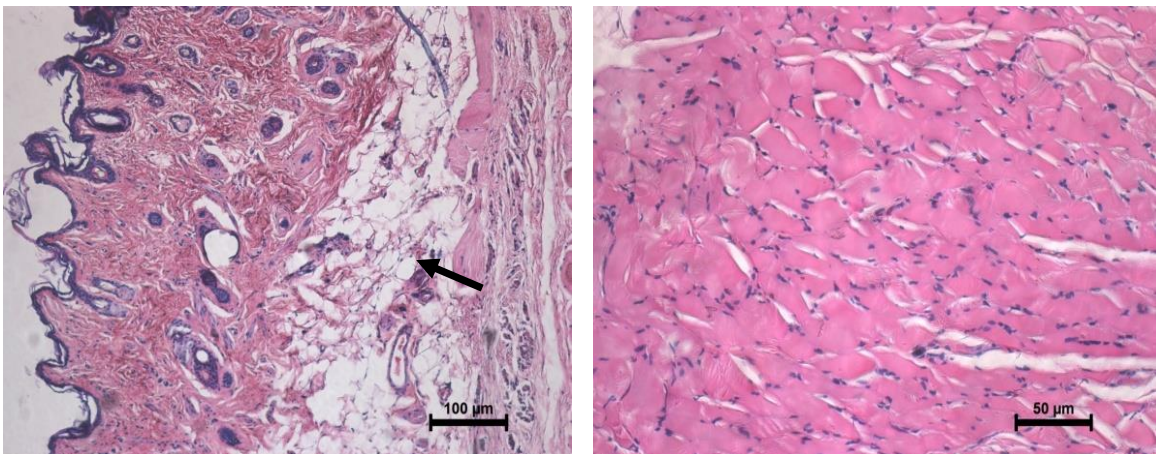
Greft altındaki kas dokusunda kas hücrelerinin yapısının erken gruba oranla daha iyi korunmuş olduğu gözlenirken kas fibrilleri arasında bazı alanlarda hafif ödeme bağlı açılmalar vardı (Resim 4.15 , 4.16).



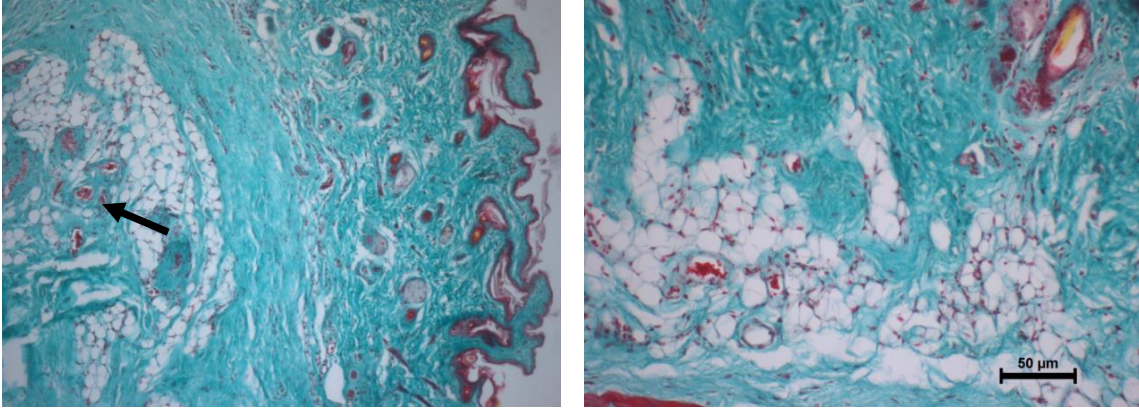
Resim 4.13: Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış grup; A: İnce epidermis ve greft çevresinde ve içinde fibrozis, ok; yağ grefti H&E, X50, B: Dermiste çok sayıda infiltratif hücre ve fibrozis, H&E, X200.



Resim 4.14: Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış grup; İnce çok katlı yassı epitel ve ödemli dermiste infiltratif hücreler, ok; infiltratif hücreler A: H&E, X400, B: H&E, X400.



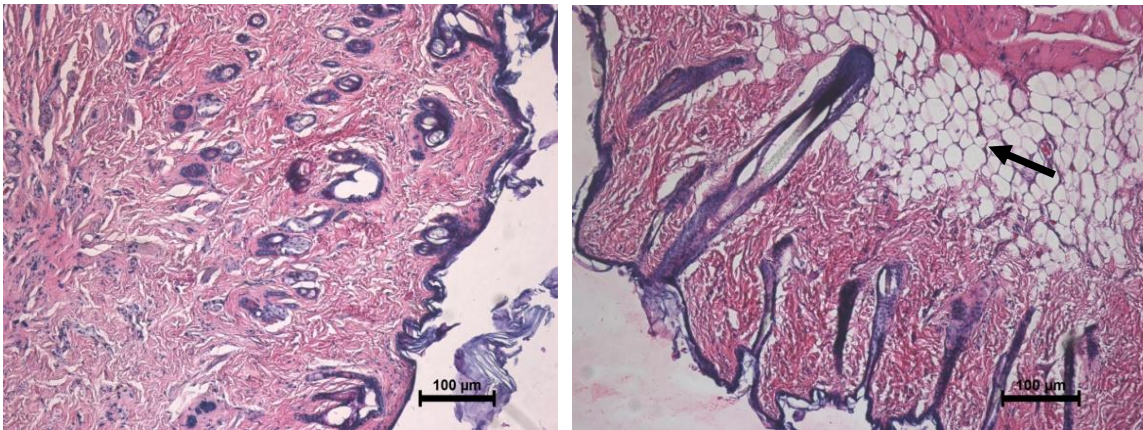
Resim 4.15: Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış grup; A: Greft içinde hafif fibrozis ve çevresinde fibrotik kapsül, H&E, X100, B: Kas dokusunda hafif ödem ve infiltratif hücreler, ok; yağ grefti H&E, X200.



Resim 4.16: Radyoterapi sonrası geç dönemde yağ grefti uygulanmış grup; A: Grefte "grade" 3 fibrozis olan örnekte greft içinde stazlı damarlar ve greft içinde ve çevresinde fibrozis, ok; stazlı damarlar Masson-Trikrom, X100. B: Fibrotik greft içinde ve çevresinde infiltratif hücreler, Masson Trikrom, X200.

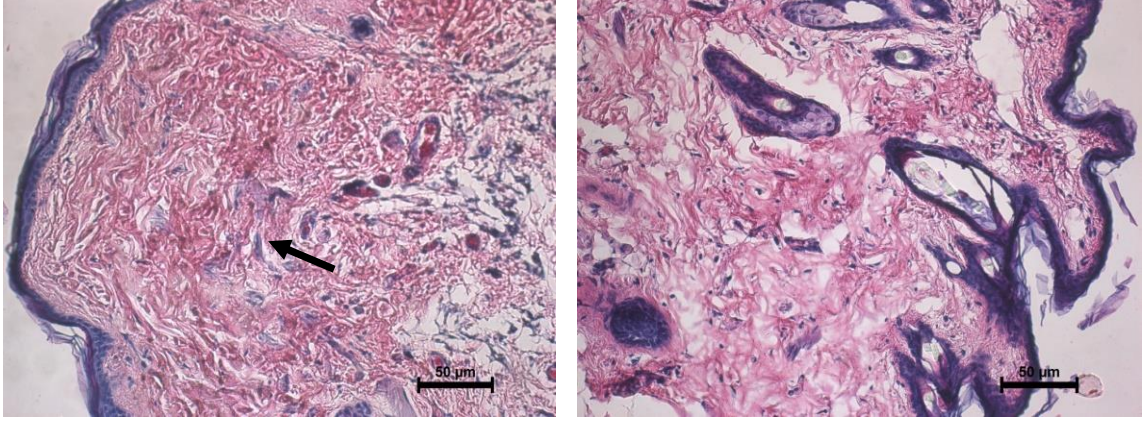
4.3.5. Geç Grup Kontrol Histopatolojisi:

Radyoterapi uygulanmış geç yağ grefti uygulanan kontrol grubu örnekleri incelendiğinde tüm örneklerde erken kontrol grubuna benzer şekilde epidermis ve dermis tabakalarının bütünlüğünün korunmuş olduğu dikkati çaktı. Epidermis ve dermis kalınlıkları erken kontrol grubuna benzerdi ancak normal epidermis kalınlığından inceydi. Dermiste yer yer ödeme bağlı olarak kollajen fibriller arasında açılmalar izlendi. Dermiste yer yer erken kontrol grubuna göre daha fazla sayıda infiltratif hücre izlendi. Dermiste bulunan deri ekleri (ter bezleri, yağ bezleri, kıl follikülleri) yapıca normaldi. Damarların çoğunda staz vardı. Deri altında kas tabakasında da kas demetleri arasında ödeme bağlı açılmalar vardı ve yer yer kas demetleri nekrotik görünümündü (Resim 4.17-4.20).

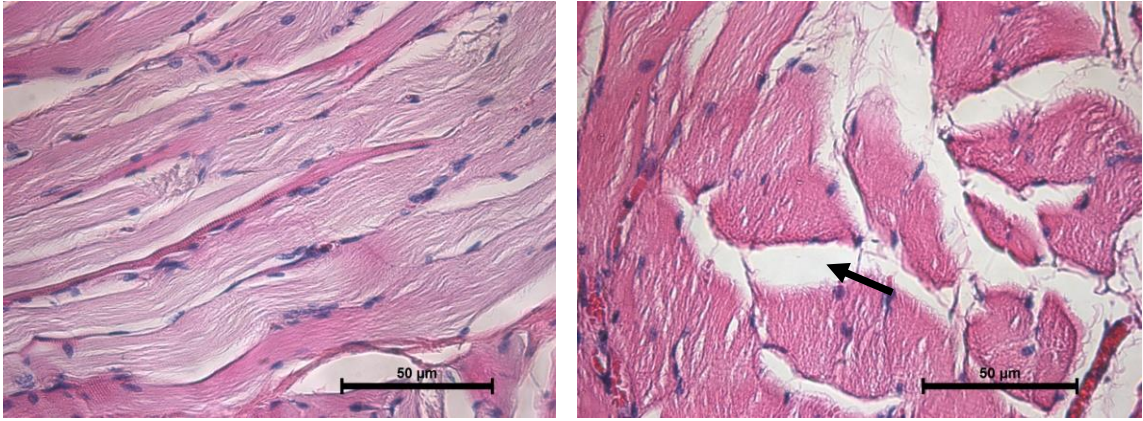


Resim 4.17: Radyoterapi uygulanmış geç dönem kontrol grubu; İnce epidermis ve dermis derinlerinde ödemli alanlar, ok; cilt altı ödem A: H&E, X100. B: H&E, X100.

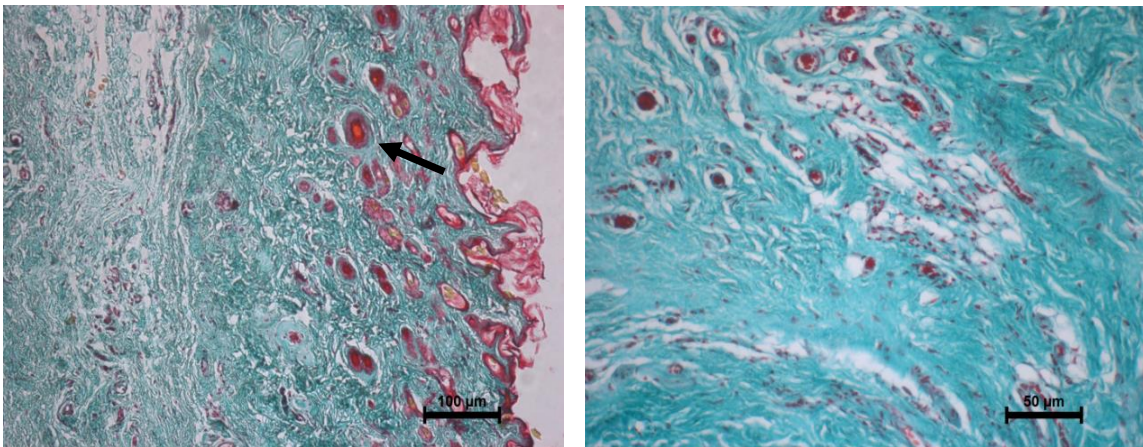
Dermiste fibrozis değerlendirilmesi yapıldığında örneklerden üçünde yoğun “grade” fibrozis, üçünde orta “grade” fibrozis ve ikisinde hafif “grade” fibrozis saptandı.



Resim 4.18: Radyoterapi uygulanmış geç dönem kontrol grubu; A: Dermis derinlerinde yoğun ödemli alanlar ve stazlı damarlar, ok; “grade” 3 fibrozis HEX200. B: Kollajen demetler arasında ödemli alanlar, H&E, X200.



Resim 4.19: Radyoterapi uygulanmış geç dönem kontrol grubu; Dermis altı kas dokusunda ödemli alanlar ve ödeme bağlı açılmalar, ok; kas lifleri araları açılmış A: H&E, X400. B: H&E, X400.



Resim 4.20: Radyoterapi uygulanmış geç dönem kontrol grubu; Dermiste ödem ve dermis derinlerinde fibrozis ve infiltratif hücreler, ok; stazlı damarlar A: Masson TrikromX100. B: Masson TrikromX200.

4.4. İstatistiksel Analizler

Dermis ve epidermis kalınlıkları her bir denek için farklı alanlarda ölçüldü (Tablo 4.4,4.7).

Dermis Kalınlığı (mikrometre)		Erken Grup			Erken Grup Kontrol			Geç Grup			Geç Grup Kontrol		
		Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 1	Alan 2	Alan 3
Denek	1	803,4	848,3	927,9	844,1	983,5	1132	781,5	770,4	766,3	612,7	486,2	551,8
	2	997,2	872,4	637,6	599,5	831,1	827,4	721,7	729,3	883	1021,5	686,7	575
	3	1064,7	1002,9	1105	784,4	947,1	844,5	982,8	919	769,3	602,8	373	624,2
	4	612,8	681	738,7	729,1	898,4	726,1	1573,3	1247,6	1187,1	786,7	489,8	738,2
	5	633,7	696,6	542,1	880,5	846	1032,9	1136,2	893,7	1079,9	792,3	793,1	810,2
	6	624,7	923,8	908,1	1289,2	1104,9	1300,1	1112,4	948,4	1054,2	765,1	793	757,1
	7	1021,7	1011,9	1069	555,6	556,3	638,3	805,1	662,6	663,4	824	719,7	835,8
	8	853,2	929,4	1015	805,3	698,5	963,4	846,4	662,8	773,4	1134,5	867,3	967,7

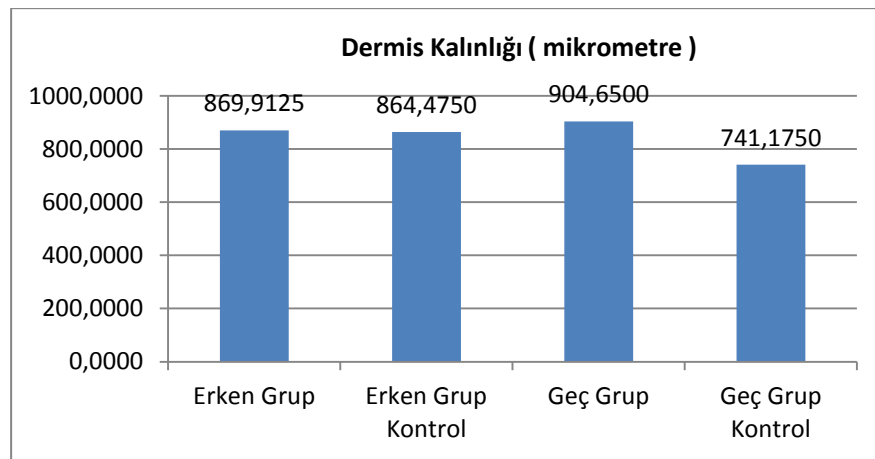
Tablo 4.4: Dermis kalınlığı (mikrometre)

Erken yağ grefti uygulanan grupta dermis kalınlığı ortalama 869.91 mikrometre, geç yağ grefti uygulanan grupta dermis kalınlığı ortalama 904.65 mikrometre olarak hesaplandı. Dermis kalınlıkları arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Bağımsız gruplarda t testi, $p=0.705$) (Tablo 4.5).

Dermis Kalınlığı Dağılımı					
Gruplar	n	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Erken Grup	8	869,9125	150,20758	542,10	1069,00
Erken Grup Kontrol	8	864,4750	211,58873	555,6	1300,1
Geç Grup	8	904,6500	205,32107	662,60	1573,30
Geç Grup Kontrol	8	741,1750	130,61890	373,00	1134,50

Tablo 4.5: Dermis kalınlığı dağılımı (mikrometre), Erken ve geç gruplar arasında dermis kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yok (Bağımsız gruplarda t testi, $p=0.705$). Erken ve geç gruplar kontrol tarafları ile karşılaştırıldığında dermis kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yok (Bağımlı gruplarda t testi, $p=0.956$, $p=0.103$).

Erken yağ grefti uygulanan deneklerin kontrol tarafında ortalama dermis kalınlığı 864.47 mikrometre; geç yağ grefti uygulanan deneklerin kontrol tarafında ortalama dermis kalınlığı 741.17 mikrometre olarak hesaplanmıştır. Erken ve geç yağ grefti uygulanan denekler kontrol alanları ile karşılaştırıldığında aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Bağımlı grupta t testi, $p=0.956$, $p=0.103$) (Tablo 4.6).



Tablo 4.6: Dermis kalınlığı dağılımı grafiği (mikrometre)

Epidermis Kalınlığı	Erken Grup					Erken Grup Kontrol					Geç Grup					Geç Grup Kontrol					
	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 4	Alan 5	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 4	Alan 5	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 4	Alan 5	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 4	Alan 5	
Denek	1	146,4	104,7	74,2	33,69	90,58	75,04	39,79	76,24	65,36	173,6	394,4	396,3	268,9	118,5	95,09	88,97	346,9	99,2	100,1	63,2
	2	48,41	32,81	71,18	39,79	100,3	135,3	92,81	108,9	100,9	122,4	201,3	188,9	75,04	118,8	55,8	94,78	72,97	126,1	100,7	85,28
	3	80,34	65,85	91,8	67,71	91,8	176,7	121	70,66	42,17	117,5	190,3	66,22	99,81	103,7	97,14	76,87	50,33	99,2	40,52	95,22
	4	95,29	90,49	117,3	56,27	64,92	108,9	41,23	46,4	48,41	30,98	113,9	58,65	41,94	131,6	52,09	120,4	88,73	38,1	96,16	77,09
	5	122,1	32,81	132,9	94,93	88,97	78,6	99,74	155,8	78	57,56	69,27	162	129,3	76,01	86,98	42,86	46,93	81,43	42,4	50,43
	6	134,7	88,29	42,4	63,01	71,79	71,86	110,7	65,85	56,27	60,61	119,5	51,72	111,9	46,93	212,1	64,16	59,63	117,3	76,24	46,61
	7	54,6	65,18	87,32	90,52	66,36	50,33	54,65	54,65	44,42	91,46	78,38	88,78	49,94	42,17	99,32	45,5	60,73	45,5	61,05	41,06
	8	142,6	82,35	35,4	70,68	72,33	164,3	53,02	117	125	117,2	110,4	76,62	37,97	111,5	66,25	137,7	102,1	101,8	57,43	101,7

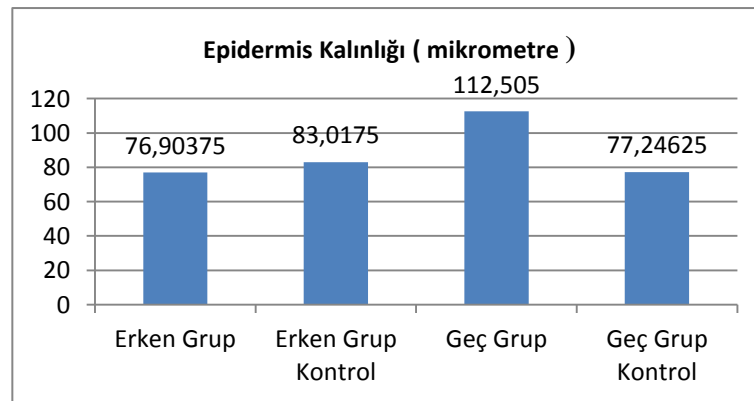
Tablo 4.7: Epidermis kalınlığı (mikrometre)

Erken yağ grefti uygulaması yapılan grupta ortalama epidermis kalınlığı ortalama 76,90 mikrometre, geç yağ greftlemesi yapılan grupta ortalama epidermis kalınlığı ortalama 112,50 mikrometre olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (Mann Whitney U testi, $p=0.161$) (Tablo 4.8).

Epidermis Kalınlığı Dağılımı					
Gruplar	n	Ortalama	Standart sapma	Minimum	Maksimum
Erken	8	76,9038	15,48508	32,81	146,40
Erken Grup Kontrol	8	83,0175	28,15981	30,98	176,70
Geç	8	112,5050	66,18663	37,97	396,30
Geç Grup Kontrol	8	77,2463	22,74848	38,10	137,70

Tablo 4.8: Epidermis kalınlığı dağılımı (mikrometre) Erken ve geç yağ grefti uygulaması yapılan deneklerde epidermis kalınlığı açısından fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (Mann Whitney U testi, $p=0.161$). Erken ve geç yağ greftlemesi yapılan gruplar kontrol tarafları ile karşılaştırıldığında epidermis kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Bağımlı gruplarda t testi, $p=0.651$, $p=0.149$)

Erken yağ greftlemesi yapılan grubun kontrol tarafında epidermis kalınlığı ortalama 83.01, geç yağ greftlemesi yapılan grubun kontrol tarafında epidermis kalınlığı ortalama 77.24 olarak hesaplanmıştır. Erken ve geç yağ greftlemesi yapılan gruplar kontrol tarafları ile karşılaştırıldığında epidermis kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Bağımlı gruplarda t testi, $p=0.651$, $p=0.149$) (Tablo 4.9).



Tablo 4.9: Epidermis kalınlığı dağılımı grafiği (mikrometre)

Cilt ve cilt altında oluşan fibrozis her bir denek için yağ grefti uygulanan ve uygulanmayan taraflarda hafif, orta, yoğun “grade” olarak değerlendirildi (Tablo 4.10).

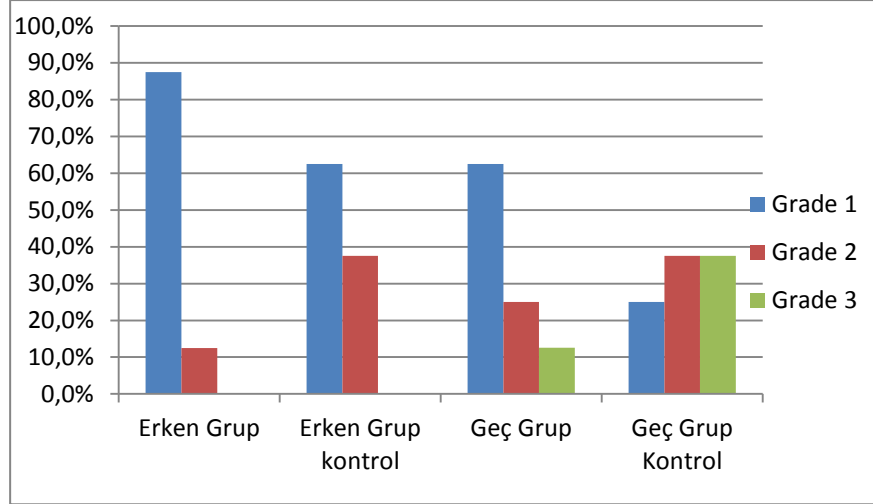
Dermiste Fibrozis		Fibrozis (“grade”)		Fibrozis (“grade”)	
		Erken Grup	Erken Grup Kontrol	Geç Grup	Geç Grup Kontrol
Denek	1	1	2	1	2
	2	1	2	1	3
	3	1	1	2	3
	4	1	1	2	2
	5	1	1	1	2
	6	1	2	1	1
	7	2	1	3	1
	8	1	1	1	3

Tablo 4.10: Dermiste fibrozis

Erken yağ grefti uygulanan grupta dermiste fibrozis açısından deneklerin %87.5’i hafif “grade” bulunurken geç yağ grefti uygulanan gruptaki deneklerin %62.5’i hafif “grade” olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda bu oran erken grup kontrolde %62.8 iken geç grup kontrolde %25,0’tir. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Fibrozis derecelendirilmesi için gruplara düşen denek sayısı yeterli olmadığı için p değeri hesaplanamamıştır (Tablo 4.11-4.12).

Dermiste fibrozis		“grade” 1 (hafif)	“grade” 2 (orta)	“grade” 3 (yoğun)
Erken Grup	Sayı	7	1	0
	%	87,5%	12,5%	0,0%
Erken Grup Kontrol	Sayı	5	3	0
	%	62,5%	37,5%	0%
Geç Grup	Sayı	5	2	1
	%	62,5%	25,0%	12,5%
Geç Grup Kontrol	Sayı	2	3	3
	%	25,0%	37,5%	37,5%

Tablo 4.11: Dermiste fibrozis dağılımı



Tablo 4.12: Dermiste fibrozis dağılımı grafiği

Yağ grefti etrafında damar sayısı erken yağ grefti uygulaması yapılan grupta ortalama 3.8 adet, geç yağ greftli uygulaması yapılan grupta ortalama 3.0 olarak hesaplanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Mann-Whitney U testi, $p=0.345$) (Tablo 4.13).

Vaskülarite (kapiller sayısı)		n	Ortalama	Ortanca	Standart Sapma	minimum	maksimum
Gruplar	Erken	8	3,83	3,50	1,47196	2,00	6,00
	Geç	8	3,00	3,00	1,30931	1,00	5,00

Tablo 4.13: Damar sayısı açısından erken ve geç yağ greftlemesi yapılan grupların dağılımı Yeni oluşan damar sayısı açısından erken ve geç gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. (Mann-Whitney U, $p=0.345$)

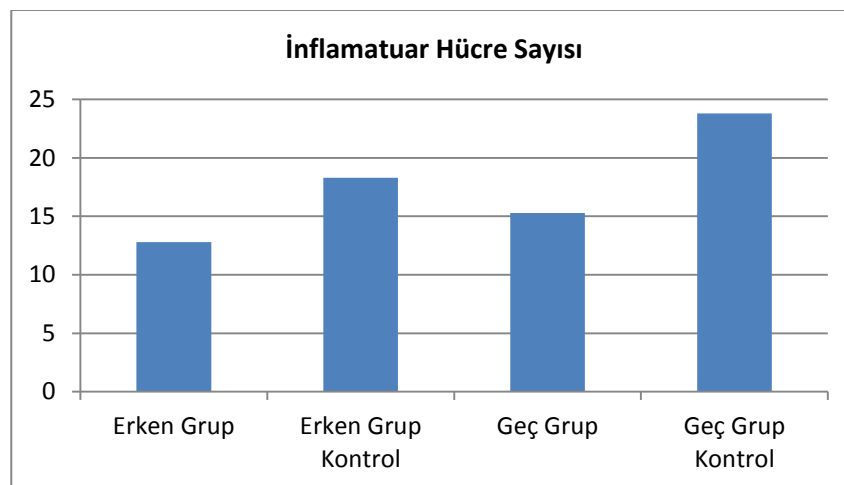
İnfiltratif hücre sayısı açısından 5 farklı alanda sayım yapıldı. Erken yağ grefti uygulaması yapılan grupta ortalama 12.8, geç yağ grefti uygulaması yapılan grupta ortalama 15.3 infiltratif hücre sayıldı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Bağımsız gruplarda t testi, $p=0.705$). Erken ve geç yağ greftlemesi yapılan gruplar kontrol grupları ile karşılaştırıldığında infiltratif hücre sayısı açısından belirgin düşüş olmakla beraber bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. (Bağımlı gruplarda t testi, $p=0.068$, $p=0.080$) (Tablo 4.14-4.16).

İnfiltratif Hücre Sayısı	Erken Grup					Erken Grup Kontrol					Geç Grup					Geç Grup Kontrol					
	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 4	Alan 5	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 4	Alan 5	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 4	Alan 5	Alan 1	Alan 2	Alan 3	Alan 4	Alan 5	
Denek	1	7	13	6	7	8	16	17	16	16	21	31	25	23	19	27	32	24	27	18	18
	2	18	23	25	21	22	27	23	19	20	26	13	16	13	11	9	21	40	37	22	18
	3	18	17	8	10	6	21	14	29	19	26	18	16	21	23	22	33	21	26	23	27
	4	14	12	13	16	14	13	13	19	12	14	11	12	8	16	17	21	24	31	28	27
	5	9	7	11	14	11	23	16	21	23	20	8	10	13	8	8	18	24	43	38	38
	6	7	8	13	8	11	20	18	24	22	23	11	11	4	11	7	21	12	16	14	14
	7	13	18	17	19	14	13	14	9	16	17	21	24	18	16	21	11	8	12	12	17
	8	11	17	14	12	15	17	16	12	18	22	6	12	18	11	12	32	24	28	25	28

Tablo 4.14: İnflamatuar hücre sayısı

İnflamatuar Hücre Sayısı						
Gruplar	n	Ortalama	Ortanca	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Erken	8	12,8750	12,5000	4,96955	7,00	22,00
Erken Grup Kontrol	8	18,3750	19,0000	3,85218	13,00	23,00
Geç	8	15,3750	12,5000	6,06954	8,00	25,00
Geç Grup Kontrol	8	23,8750	25,0000	8,21910	12,00	38,00

Tablo 4.15: İnflamatuar hücre sayısı dağılımı (mikrometre), erken ve geç grupları arasında infiltratif hücre sayısı açısından anlamlı fark yok (Bağımsız gruplarda t testi, $p=0.705$). Erken ve erken grup kontrol arasında infiltratif hücre açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yok (Bağımlı gruplarda t testi, $p=0.068$). Geç ve geç grup kontrol arasında infiltratif hücre sayısı açısından anlamlı fark yok (Bağımlı gruplarda t testi, $p=0.080$)



Tablo 4.16: İnflamatuar hücre sayısı dağılımı grafiği

5. TARTIŞMA

Yağ dokusu, içerisinde mezenkimal kökenli zengin kök hücre rezervine sahip bir dokudur. Sadece radyoterapiye bağlı değil daha birçok nedene bağlı oluşan fibrozisin dokuda bıraktığı olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için yağ grefti uygulaması sıkça yapılmaktadır. Yağ grefti uygulamaları bugün sadece skarlı dokuların iyileştirilmesi amacıyla değil aynı zamanda yaşlanan dokuların kalitesini arttırmak ve atrofik ciltlerin dolgunluğunu sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır.

Son yıllardaki çalışmalar yağ dokunun stromal vasküler hücrelerinin de kemik iliği kaynaklı kök hücreler kadar preanjyogenik kapasiteler yönünden zengin rejeneratif birikime sahip bir kaynak olduğunu göstermiştir (16).

J. Rehman ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile farelerde yağ hücrelerinin endotelial hücrelere değişimi tetikleyen yani damar oluşumunu sağlayan anjiyogenik ve antiapoptotik faktörler salgıladığı ispat edilmiştir (16).

Radyoterapi dokular üzerinde kalıcı ve ilerleyici etkilere sahiptir. Sebep olduğu lokal doku hipoksisi, myointimal fibrozis, ateroskleroz ve bozulmuş lökosit migrasyonu fibroblastların fonksiyonlarını normal olarak yerine getirememesine sebep olur. Fonksiyonu bozulmuş fibroblastlar aşırı ve düzensiz kollajen birikimiyle beraber dokuda kalıcı fibrozise neden olur (108).

Radyoterapi uygulanmış dokularda yağ greftlemesi ile doku kalitesindeki artış yağ doku içerisindeki zengin kök hücre kaynağına bağlanmaktadır. Yağ doku kökenli kök hücreler büyüme faktörleri salgılamaktadır. Bu faktörler aracılığı ile anjiyogenik ve antiapoptotik durumlara neden olmaktadır. Yağ doku kökenli kök hücreler yaralanmaya karşı oluşan uyarılara cevap olarak hem adipositlere hem de vasküler endotelial hücrelere dönüştüğü düşünülmektedir. Vasküler endotel hücrelerine dönüşüm deneysel çalışmalarda gösterilmiş fakat invivo çalışmalarda nadiren tespit edilmiştir. Bunun yanında yağ greftlemesi uygulanan yaralanmış dokularda vaskülaritenin arttığı ve yara iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (71).

Kök hücrelerin yaralanmış ortama lökositlerden salınan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltıp, antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını arttırdığı gösterilmiştir.

Radyoterapi sonrası oluşan fibrozisin nedeni; endotel hasarı ve perivasküler alanda difüzyonun bozulmasına bağlı optimal olmayan perfüzyon sonucunda doku onarım yetersizliğine bağlı kısır döngüdür. Yağ greftinin, radyoterapi almış cilt gibi dolaşımı sınırdan olan dokularda, fibrozisi engellemedeki önemi damar yoğunluğunu arttırmasına ve doku hipoksisini önlemesine bağlanmaktadır. Kök hücre tedavileriyle vaskülarizasyon ve faktör aracılı hücre artışıyla kronik hasarın etkileri geriye çevrilmeye çalışılmaktadır.

Yağ greftlemesi ile dokuda oluşan fibrozisin bir miktar geriye döndürülebileceği gösterilmiştir. Çalışmamızın amaçları içerisinde yağ greftlemesi uygulamasını daha erken dönemde yaparak fibrozis daha oluşmadan bu kısır döngüyü kırabilmektir.

Sıçanların cildinde fibrosizi değerlendirmek adına kontrollü olarak radyasyon yaralanması oluşturmak için gereken radyoterapi dozunu belirlemek üzere literatür incelendi. Radyasyonun verdiği hasarı önlemeye ve oluşan yan etkileri tedavi etmek üzere yapılan çalışmalar tarandı. Sıçanlarda radyasyon yaralanması için model oluşturmak üzere yapılan çalışmalarda kullanılan radyoterapi dozu 20 Gy ve 76.5 Gy arasında değişmektedir (18,102-107).

Ann Schwentker ve arkadaşlarının çalışmasında 20 Gy dozunda verilen radyoterapinin, yara iyileşmesi, skar formasyonu oluşması, yara kırılma kuvveti değerlendirmesi yapmak üzere kontrol gruplarına göre anlamlı değişikliklere neden olduğunu belirtilmiştir (102).

Vishal D. Thanik ve arkadaşları çalışmalarında 45 Gy radyoterapi dozunu, yüksek doz olarak değerlendirmiştir. Cilt perfüzyonunda progresif bozulma, uzamış alopesi, dermal kalınlaşma ve fibrozis etkilerinin görüldüğünden, elastikiyetin ve kırılma kuvvetinin azaldığından bahsetmişler. 45 Gy ve üzerinde radyoterapi verilen deneklerin %12 oranında öldükleri bildirilmiştir (104).

Çalışmada kullanılacak radyoterapi dozu ve etkinliğini değerlendirmek üzere deneyler öncesi bir pilot çalışma planlandı. 20 Gy ve 35 Gy düşük doz ve yüksek doz olmak üzere 2 grup sıçana yara iyileşmesini ve fibrozisi değerlendirmek üzere radyasyon dozu uygulandı.

Pilot çalışma için uygulanan radyoterapi sonrası sıçanlar makroskopik ve histopatolojik olarak incelendi. 6 hafta sonunda makroskopik olarak değerlendirilen radyasyon hasarı her iki grupta da gözlenmekte idi.

20 Gy dozunda radyoterapi alan sıçanların göğüs ön duvarında kıllarda dökülmeye bağlı alopesi, cilt elastikiyetinde azalma, ıslak ve kuru deskuamasyon ile bazı alanlarda cilt nekrozu görüldü.

35 Gy dozunda radyoterapi alan sıçanların göğüs ön duvarında kıllarda dökülmeye bağlı alopesi, cilt elastikiyetinde azalma, aksillaya yakın bölgelerde cilt kontraktürüne bağlı bantlar dikkat çekti. Islak ve kuru deskuamasyon alanları daha belirgindi. Nekroza giden alanlar daha geniş ve radyoterapinin vermiş olduğu hasar daha dramatik şekilde görüldü. Bu bulgular literatür ile uyumluydu.

20 Gy dozunda radyoterapi verilen sıçanların 6 hafta sonunda radyoterapiye maruz kalan ve nekroza gitmeyen alanların ışık mikroskobu altında yapılan histopatolojik incelenmesinde H&E ile yapılan boyamalarında epidermis kalınlığında artma, dermal papillaların korunmuş olduğu, papiller-retiküler dermis geçişinin belirgin olduğu, ter bezlerinin, kıl foliküllerinin normal olduğu görülmüştür. Trikrom-Masson boyaması ile ödeme bağlı kollajen fibriller arasında genişlemeler olduğu göze çarpmıştır. 20 Gy dozunda radyoterapi verilen sıçanların 6 hafta sonunda radyoterapiye maruz kalan ve nekroza giden alanların ışık mikroskobu altında yapılan histopatolojik incelenmesinde H&E ile yapılan boyamalarında epitel bütünlüğünün tamamen kaybolduğu, dermal papillaların yok olduğu, papiller-retiküler dermis geçişinin kaybolduğu görülmüştür. Trikrom-Masson boyaması ile ödeme bağlı kollajen fibriller arasında genişlemeler olduğu, dermisteki kollajen fibriller arasına çok sayıda hücre infiltrasyonu göze çarpmıştır.

35 Gy dozunda radyoterapi uygulanan dokuların büyük çoğunluğu nekroza gitmiş ve doku bütünlüğü bozulmuş olarak görüldü. Işık mikroskobu altında epitel bütünlüğünün bozulduğu, dermal papillaların kaybolduğu görüldü. Trikrom-masson boyama altında dermiste kollajen fibriller arasına hücre infiltrasyonu olduğu ve damarlarda staz olduğu görüldü.

Her iki grupta, hem 20 Gy hem de 35Gy radyoterapi dozunda da kas yapılarının normal olduğu fakat kas lifleri arasında ayrılmalar olduğu dikkat çekmiştir.

Bu pilot çalışmanın 6 hafta sonunda sağladığı bilgiler ışığında makroskobik ve mikroskobik veriler değerlendirildi. 20 Gy radyoterapi dozunda istenilen etkiler ciltte görülmüştür. 35 Gy radyoterapi dozunda doku bütünlüğünün çoğu alanda kaybolduğu ve dokunun harap olduğu görülmüştür. Bu dozun fibrozisi değerlendirmek için fazla olduğu düşünüldü. Radyasyon onkolojisi ve histopatoloji ekibinin ortak verdiği kararlar 20 Gy radyoterapi dozu yara iyileşmesini ve fibrozisi değerlendirmek için yeterli bulundu ve sıçanlara bu doz uygulandı.

Adipositlerin hassas yapıları ve yüksek metabolik aktiviteye sahip olmaları greft olarak aktarıldıklarında sağ kalımlarını ve etkinliklerini sınırlamaktadır. Sıçanlara uygulanacak yağ greftleme metodunu belirlemek üzere literatür incelendi. J.H. Piasecki ve arkadaşlarının yağ greftlemesi için bir model oluşturmak ve yağ sağ kalımını araştırmak üzere yaptıkları çalışma incelendi. Sıçan inguinal bölgesindeki yağ yastıkçığını farklı elde etme ve hazırlama yöntemleri karşılaştırılan bu çalışmada eksize edilen yağ dokunun vakum ile elde edilen yağ dokusuna göre hacimsel yağ kalımının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Eksizyon ile alınan adipositler daha az deforme olmaktadır (55).

J.H. Piasecki ve arkadaşlarının yağ sağ kalımını arttırmak üzere elde edilen yağ greftlerini serum fizyolojik ile yıkamaları ile elde edilen greftin yağ hücre oranı ve adiposit sağ kalımı arttığı görülmüştür (55). Aynı çalışmada sağ kalımı arttırmak üzere elde edilen yağ greftler santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. 3 dakika 1000 devir/dakika hızında santrifüj edilen yağ dokusu ile greftteki yağ hücre oranı ve adiposit sağ kalımının arttığı görülmüştür (55).

Çalışmamızda J.H. Piasecki ve arkadaşlarının çalışmasındaki sonuçları göz önünde tutularak yağ grefti hazırlama protokolü uygulandı. Her bir alanda yaklaşık 10 geçiş yaparak her geçişte yaklaşık 0.2 cc yağ grefti cilt altı plana verildi. Cilt altına verilen yağ grefti yeterli miktardaydı ve cilt altında fark edilir bir dolgunluk sağladı. Yağ grefti sağ kalımı bu teknik ile en ideal şekilde sağlanmaya çalışılmıştır.

Erken ve geç yağ greftlemesi sonrasında yağ greftlemesi uygulanan taraflar yağ grefti uygulanmayan kontrol tarafına göre daha iyi durumdaydı. Nekroze giden alanların yüzdesi yağ grefti uygulanan taraflarda daha azdı. Yağ grefti uygulanan taraflardaki olumlu değişiklikler 11 hafta boyunca radyoterapi görmüş alanlarda

izlendi. Fakat 11 hafta sonunda radyoterapiye bağlı ciltte açılan geniş yaralar kapandı, radyoterapi öncesi traşlanan ve daha sonra radyoterapi etkisiyle dökülen tüyler tekrar çıktı. Sıçanların yüksek iyileşme potansiyelleri nedeniyle erken ve geç yağ grefti uygulanan taraflardaki farkın görülebilmeye ihtimali azalmıştır. Yağ grefti uygulanan taraflarda cilt esnekliği ve aksiller kontraktür yönünden daha iyi durumdaydı. Erken ve geç yağ greftlemesi yapılan gruplar arasında cilt kalitesi açısından anlamlı bir fark görülmedi. Bu durum radyoterapi sonrasında geçen 11 hafta sonunda sıçanların yüksek iyileşme potansiyelleri nedeniyle gözlenememiş olma ihtimali çok yüksektir. Bu durum aynı şekilde erken ve geç dönemde yağ grefti uygulanan ve kontrol tarafları için de geçerlidir. 11 hafta sonunda sıçanların yüksek iyileşme potansiyelleri nedeniyle erken grupta kontrol tarafına göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptansa da doku kalitesindeki gözle görülür fark beklenenin çok altındadır. Bu durumun bir nedeni de kontrol tarafı olarak seçilen alanın yağ greftlemesi uygulanan alana komşu bir alanda olması ve uygulanan yağ greftinin anjiyogenik, antiinflamatuvar ve antifibrotik özelliklerinden etkilenmiş olmasıdır.

11 hafta sonunda yapılan histopatolojik inceleme literatür ile uyumludur. M. Klinger; travma ve cerrahiye bağlı skarlara sahip olan hastalara yağ greftlemesi uygulanmıştır. Yağ grefti uygulaması sonrası yapılan histopatolojik incelemede dermis kalınlığı artmış, dermal papilla ve kan damarı yoğunluğu normal cilde yakın bulunmuştur (12). Çalışmamızda da yağ grefti uygulanan taraflarda damar yoğunluğu daha yüksek bulunmuştur. Dermal papillalar ve epitel bütünlüğü erken yağ grefti uygulanan tarafta neredeyse radyoterapi almamış cilde yakındır.

Garza R.M. ve arkadaşlarının çalışmasında yağ grefti uygulanan sıçanların histopatolojik incelemesi yapılan ciltlerinde inflamatuvar hücre yoğunluğu daha az, kapiller yoğunluğu ve CD31 ile yapılan immunhistokimyasal çalışmada vasküleritenin artmış olduğu bulunmuştur. Kollajen depolanması ve yoğunluğunun daha az olduğu, kollajen dizilimlerinin daha düzenli olduğu fibrozis etkilerinin daha az olduğu vurgulanmıştır (18). Sultan ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışmada yağ greftlemesinin; revaskülarizasyonu hızlandırdığı ve fibrozisi azalttığı gösterilmiştir. sekiz hafta sonunda kollajen dizilimlerinin daha organize olduğu görülmüştür (13).

Çalışmamızda erken ve geç yağ greftlemesi yapılan tarafların dermis kalınlıkları ve epitel bütünlükleri yağ greftlemesi yapılmayan taraflara göre daha iyi

durumdadır. Özellikle erken yağ grefti uygulanan grupta radyoterapinin etkilerinden olan epidermis kalınlığının artışı gerilemiştir. Erken ve geç gruplarda belirgin fark olmamakla beraber yağ grefti uygulanan taraflarda dermis kalınlığı artmış ve dermiş bütünlüğü daha iyi durumdadır.

Erken yağ grefti uygulanan grupta dermis ve epidermiste fibrozis açısından deneklerin %87.5'i hafif "grade" fibrozis bulunurken geç yağ grefti uygulanan gruptaki deneklerin %62.5'i hafif "grade" fibrozis olarak bulunmuştur. Radyoterapi sonrası hemen uygulanan yağ grefti fibrozisin etkilerini azaltmada daha etkili olmuştur. Yağ grefti uygulanan taraf, yağ grefti uygulanmayan tarafa göre kollajen dizilimi ve yoğunluğu açısından daha iyi durumdaydı.

Yağ grefti uygulanan grupta nekroza giden alan oranlarının kontrol taraflarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde az olması radyoterapinin etkilerinin görülmesi ve yağ grefti etkinliğinin ortaya konması bakımından çalışmamızda kullandığımız tekniğin doğru uygulandığını göstermektedir. İnflamatuar hücre sayısı erken yağ greftli uygulanan tarafta geç tarafa göre daha azdır. Yağ greftinin erken uygulanması yağın antiinflamatuvar özelliklerinin daha etkin şekilde ortaya çıkmasını sağlamıştır. Yağ grefti uygulamasını erken dönemde uygulamanın olumlu etkileri fibrozisten çok inflamasyonu azaltmasıdır. Dermis kalınlığı, vaskülarite, dermis ve epidermiste fibrozis açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da bu parametreler ışığında cilt kalitesi yönünden erken dönemde yağ greftlemesi yapılan denekler daha iyi durumdadır. Çalışmamızda yağ grefti uygulamasının fibrozisi azaltan ve cilt kalitesini arttıran olumlu etkiler görülmüştür. Bu etkiler erken yağ greftlemesi yapılan grupta daha fazladır.

Yağ grefti uygulamasını erken dönemde uygulamanın bir başka avantajı da radyoterapinin geç dönem ortaya çıkan ve doku dolaşımını bozan olumsuz etkileri ortaya çıkmadan uygulayarak yağ grefti sağ kalımının artabilmesidir. Histopatolojik incelemede erken gruptaki yağ grefti içindeki fibrozis daha azdır. Sağ kalan fazla yağ miktarı ile yağın olumlu antifibrotik özellikleri daha fazla ortaya çıkabilecektir.

İstatistiksel olarak farkı ortaya çıkaracak yeni çalışmalar ile erken yağ greftlemesinin tam anlamıyla doku kalitesini artırması yönünden faydalı olduğu ortaya konabilecektir.

6. SONUÇ

Radyoterapinin dokuya verdiği travmanın en ciddi olanı geç dönemde ortaya çıkan fibrozistir. Fibrozisin birçok kaynakta geri dönüşümsüz olduğu söylenmektedir. Ancak yağ grefti uygulamaları ile yeni oluşan damar sayıları arttırılarak, doku hipoksisi önlenerek dokuda oluşan fibrozis geriye döndürülebilmektedir.

Çalışmamızda yağ grefti uygulaması ilk defa radyoterapinin hemen arkasından uygulanmıştır. Radyoterapi sonrası erken ve geç dönemde yağ grefti uygulaması ilk defa karşılaştırılmıştır. Yağ grefti uygulaması daha erken dönemde yapılarak fibrozis daha oluşmadan fibrozis oluşmasındaki hipoksi-fibrozis kısır döngüsü kırılmaya çalışılmıştır.

Yağ doku greftlemesi ile yara iyileşmesi hızlanmaktadır. Yüksek dozda radyasyon alacak veya ciddi derecede radyoterapi hasarı oluşması beklenen hastalarda doku defekti oluşmadan yağ grefti uygulanarak doku iyileşmesi hızlandırılabilir.

Minimal donör saha morbiditesi yaratır. Kolay elde edilme ve hazırlanma avantajları ile yağ grefti uygulaması yapılarak hastalarda ortaya çıkacak morbidite azaltılacaktır. Böylece hastanede yatış süresi ve tıbbı masraflar azalacaktır.

Daha yüksek bir radyoterapi dozunun ve erken ve geç gruplar arasındaki farkın 3 haftadan daha fazla olduğu, daha fazla denek sayısı ile yeni çalışmalar planlanması gerektiğini düşünmekteyiz.

Erken yağ grefti uygulamasının olumlu etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı farklar ortaya çıkarabilecek yeni çalışmalar planlanmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Jemal A. ve ark., Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1975-2002, Division of Cancer Control and Population Sciences, National Cancer Institute, Bethesda-Washington, CA Cancer J Clin, 2006, 56:106-130
2. Sautter-Bihl ve ark., DEGRO Practical guidelines for radiotherapy of breast cancer: II. Postmastectomy radiotherapy, irradiation of regional lymphatics, and treatment of locally advanced disease, Strahlenther Onkol., 2008, 184:347-353
3. Serra-Renom ve ark., Breast: Original Articles Fat Grafting in Postmastectomy Breast Reconstruction with Expanders and Prostheses in Patients Who Have Received Radiotherapy: Formation of New Subcutaneous Tissue, Plastic and Reconstructive Surgery, 2010, 125 1:12-18
4. Krueger E.A. ve ark., Complications and patient satisfaction following expander/implant breast reconstruction with and without radiotherapy, International Journal Radiation Oncology Biology Physics, 2001, 1;49(3):713-21
5. Salgarello M. ve ark., Fat grafting and breast reconstruction with implant: another option for irradiated breast cancer patients, Plastic and Reconstructive Surgery, 2012, 129(2):317-29
6. Salgarello M. ve ark., Autologous fat graft in irradiated tissue prior to alloplastic reconstruction of the breast: report of two cases, Aesthetic Plastic Surgery, 2010, 34(1):5-10
7. Ribuffo D. ve ark., Treatment of irradiated expanders: protective lipofilling allows immediate prosthetic breast reconstruction in the setting of postoperative radiotherapy, Aesthetic Plastic Surgery, 2013, 37(6):1146-5
8. Irani Y. ve ark., Autologous fat grafting in radiated tissue prior to breast prosthetic reconstruction: is the technique reliable?, Annales Chir. Plast. Esthet., 2012, 57(1):59-66
9. Sarfati I. ve ark., Adipose-tissue grafting to the post-mastectomy irradiated chest wall: preparing the ground for implant reconstruction, Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, 2011, 64(9):1161-6

10. Phulpin B. ve ark., Rehabilitation of irradiated head and neck tissues by autologous fat transplantation, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2009, 123(4):1187-97
11. Coleman S.R., Structural fat grafting: more than a permanent filler, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2006, 118-3-108S-120S
12. Klinger M. ve ark., Autologous fat graft in scar treatment, *J. Craniofacial Surgery*, 2013, 24(5):1610-5
13. Sultan S.M. ve ark., Fat grafting accelerates revascularisation and decreases fibrosis following thermal injury, *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 2012, 65(2):219-27
14. Mojallal A. ve ark., Improvement of skin quality after fat grafting: clinical observation and an animal study, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2009, 124(3):765-74
15. Coleman S.R., Hand rejuvenation with structural fat grafting, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2002, 110(7):1731-44; discussion 1745-7
16. Rehman J. ve ark., Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells, *Circulation*, 2004, 16;109(10):1292-8
17. Rigotti G. ve ark., Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2007, 15;119(5):1409-22; discussion 1423-4
18. Garza R.M. ve ark., Studies in fat grafting: Part III. Fat grafting irradiated tissue improved skin quality and decreased fat graft retention, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2014, 134(2):2495
19. Thorne C.H., *Grabb and Smith's Plastic Surgery*, 6th Edition, Lippincott Williams and Wilkins, 2007, Türkçe çevirisi, S.M. Gültan, Güneş Tıp Kitabevi, Normal ve Anormal Yara İyileşmesi, sayfa:15-22, Yapısal Yağ Grefleme, sayfa:480-485
20. O'Brien M., *Plastic And Hand Surgery İn Clinical Practice – Classifications And Definitions*, 2009, London, Springer, *Fundamentals of Plastic Surgery*, sayfa:14-15

21. Chio T.W., Stone's Plastic Surgery Facts and Figures, Third edition, Türkçe çevirisi, Nebil Yeşiloğlu, Stone Plastik Cerrahide Güncel Bilgiler, 2014, Sevil Yayıncılık, Yara Bakımı, sayfa:1-14
22. Sayek İ. ve Özmen M.M., Temel Cerrahi El Kitabı, 2013, 4. Baskı, Engin A., Kısım II, Bölüm 22, Yara İyileşmesi, Güneş Tıp Kitabevleri, sayfa:242-254
23. Camporeale J., Basics of Radiation Treatment, 2008, CJON, Kısım 12, Cilt 2, sayfa:193-195
24. Aydın Y., Akut Radyasyon Yaralanmaları, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Cilt Hastalıkları ve Yara Bakımı Sempozyumu,18-19 Ekim 2001, İstanbul, s. 173-187 Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Komisyonu
25. Pak Y., Radyasyon Onkolojisi ve Radyoterapi Kavramları, Radyoterapinin Radyobiolojisi, Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi, Cilt 2, Sayı 1, 2001
26. Şahinler İ. ve Ergen Ş.E., Radyasyon Onkolojisinde Temel Yaklaşımlar, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No: 79, 2012, İstanbul
27. Görgün B., Radyasyon Hasarları ve Plastik Cerrahi, Plastik Cerrahi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nobel Tıp Kitabevi, 1998, sa:121-123
28. Hornsby C., Fletcher J. ve Blyth C.M., The production of a best practice statement in the skincare of patients receiving radiotherapy, Journal of Radiotherapy in Practice, 2005, 4, 2-3, 126-130
29. McQuestion M., Evidence-based skin care management in radiation therapy: clinical update, Seminars in Oncology Nursing, 2011, 27(2):e1-17
30. Pommier P. ve ark., Phase III randomized trial of Calendula officinalis compared with trolamine for the prevention of acute dermatitis during irradiation for breast cancer, Journal of Clinical Oncology, 2004, 15;22(8):1447-53
31. Faithfull S. ve Wells M., Supportive Care İn Radiotherapy, Wells M. ve MacBride S., Bölüm 8, Radiation Skin Reactions, Livingstone, 2003, sa:135-159

32. Sancak B. ve ark., Radyoterapi Gören Baş-Boyun Kanserli Hastalarda Kollajen Sentezinde Artış, Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi, Cilt 4, Sayı 2, 2003, Ankara
33. Radiation Therapy Oncology Group, Acute radiation morbidity scoring criteria, Acute Radiation Morbidity Scoring Criteria, 2012
34. Radiation Therapy Oncology Group, Late radiation morbidity scoring criteria, Late Radiation Morbidity Scoring Schema, 2012
35. Mornex F. ve ark., Scoring system of late effects of radiations on normal tissues: the SOMA-LENT scale, Cancer Radiother., 1997, 1(6):622-68
36. Mustoe T.A. ve Porras-Reyes B.H., Modulation of wound healing response in chronic irradiated tissues, Clinics in Plastic Surgery, 1993, 20 (3): 465-472
37. Bernstein E.F., Sullivan F.J. ve Mitchel J.B., Biology of chronic radiation effect on tissues and wound healing, Clinics in Plastic Surgery, 1993, 20(3): 435-453
38. Aydıngöz İ.E., İyonize Radyasyonun Deri ve Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri, Tüm Yönleriyle Yara İyileşmesi, Editör: Erdem C. ve Çelebi C.R., Ayrıntı Matbaacılık Ltd, Ankara, 1996, 47-56 S. B
39. Tholpady S.S. ve ark., Adipose tissue: Stem cells and beyond, Clinics in Plastic Surgery, 2006, 33(1):55-62,vi
40. Sezgin B. ve Özmen S., Alıcı Sahaya Preoperatif Uygulanacak Mikroporasyon Tekniğinin Yağ Grefti Sağ Kalımına Etkisi, Gazi Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2013
41. Strem B.M. ve ark., Multipotential differentiation of adipose tissue derived stem cells, Keio J Med, 2005, 54(3):132141
42. Zuk P.A. ve ark., Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells, Journal Molecular Biology Of The Cell, 2002, 13(12):4274295
43. Neuber F., Fettransplantation, Bericht uber die Verhandlungen, der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, Zentralbl Chir., 1893;22:66
44. Miller C.C., Cannula Implants and Review of Implantation Techniques in Esthetic Surgery, Chicago, The Oak Press, 1926

45. Peer L.A., Loss of weight and volume in human fat grafts, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1950, 5:217
46. Illouz Y.G., Communications at the Societe Francaise de Chirurgie Esthetique, 1978
47. Illouz YG., The fat cell "graft": a new technique to fill depressions, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1986, 78:122,123
48. Klein J., Tumescent technique for local anesthesia improves safety in large volume liposuction, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1993, 92:1085-1098
49. Coleman S.R., Structural fat grafts: the ideal filler?, *Clinics in Plastic Surgery*, 2001, 28(1):111-9
50. Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. *Aesth Plastic Surgery*, 1995;19:421425
51. Fournier P. ve Otteni F., Lipodissection in body sculpturing: the dry technique, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1983, 72:598-609
52. Minn K.W. ve ark., Effects Of fat preparation methods on the viabilities of autologous fat grafts, *Aesthetic Plastic Surgery*, 2010, 34:626631
53. Niechajev I. ve Sevcuk O., Long term Results of fat transplantation: clinical and histologic studies, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1994, 94:496-506
54. Pinski K.S. ve Roenigk H.H.Jr., Autologous fat transplantation: Long term follow up, *J Dermatol Surg Oncol.*, 1992, 18:179184
55. Piasecki J.H. ve ark., An experimental model for improving fat graft viability and purity, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2007, 15;119(5):1571-83
56. Konona T.C. ve ark., The fate of suctioned and surgically removed fat after reimplantation for soft tissue augmentation: A volumetric and histologic study in the rabbit, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1993, 91:763-768
57. Eppley B.L. ve Sadove A.M., A physicochemical approach to improving free fat survival: Preliminary observations, *Aesthetic Plastic Surgery*, 1991, 15(3): 215-218
58. Coleman S.R., Avoidance of arterial occlusion from injection of soft tissue fillers, *J. Aesthetic Surgery*, 2002, 22:555-557

59. Zhong X. ve ark., Improved fat graft viability by delayed fat flap with ischaemic pretreatment, *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 2009, 62:526-531
60. Har-Shai Y. ve ark., An integrated approach for increasing the survival of autologous fat grafts in the treatment of contour defects, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1999, 104:945-954
61. Tholpady S.S. ve ark., The cellular plasticity of human adipocytes, *Ann Plast Surg.*, 2005, 54:651-65
62. Langer S. ve ark., Rvascularization of transplanted adipose tissue: A study in the dorsal skinfold chambers of hamsters, *Ann Plastic Surgery*, 2002, 48(1): 53-59
63. Nishimura T. ve ark., Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts, *Laryngoscope*, 2000, 110(8): 1333-8
64. Locke M.B. ve de Chalain T.M., Current practice in autologous fat transplantation: suggested clinical guidelines based on a review of recent literature, *Ann Plastic Surgery*, 2008, 60(1):98-102
65. Suga H. ve ark., Adipose tissue remodeling under ischemia: death of adipocytes and activation of stem/progenitor cells, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2010, 126(6):1911-23
66. Zuk P.A. ve ark., Human adipose tissue is a source multipotent stem cells, *J. Molecular Biology Of The Cell*, 2002, 13:4279-95
67. Zuk P.A. ve ark., Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies, *Journal of Tissue Engineering*, 2001, 7(2): 211-228
68. Helder M.N. ve ark., Stem cells from adipose tissue allow challenging new concepts for regenerative medicine, *Journal of Tissue Engineering*, 2007, 13(8): 1799- 1808
69. Yamada Y. ve ark., Cardiac stem cells in brown adipose tissue express CD133 and induce bone marrow non-hematopoietic cells to differentiate into cardiomyocytes, *Stem Cells.*, 2007, 25(5): 1326 -1333
70. Stocchero I.N, ve Stocchero G.F., Isolation of stem cells from human adipose tissue: technique, problems and pearls, Y.-G. Illouz and Sterodimas A.

(editors), *Adipose Stem Cells and Regenerative Medicine*, Chapter 2, Springer, Verlag-Berlin Heidelberg, 2011, sa:13-18

71. Gündeşlioğlu Ö., Altuntaş Z., İnce B., Dadacı M., Aktan M, Duman S., Yağ Doku Kökenli Kök Hücreler ve Plastik Cerrahide Uygulama Alanları, *Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi*, 2013, cilt 21, sayı 3
72. Eto H. ve ark., Characterization of adipose tissue and cellular components: differences between aspirated adipose tissue and excised adipose tissue. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2009, 24:1087-97
73. Suga H. ve ark., IFATS collection: FGF-2- induced HGF secretion by adipose-derived stromal cells inhibits post-injury fibrogenesis through a JNK-dependent mechanism, *Stem Cells*, 2009, 27:238-49
74. Lendeckel S. ve ark., Autolous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: Case report, *J. Craniomaxillofac. Surgery*, 2004, 32:370-3
75. Mesimaki K., Lindroos B. ve Tornwall J., Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells, *Int. J. Oral Maxillfacial Surgery*, 2009, 38:201-9
76. Uysal C.A. ve ark., Effect of mesenchymal stem cells on skin graft to flap prefabrication: an experimental study, *Ann Plastic Surgery*, 2010, 65(2):237-44
77. Howes ve ark., Case Reports: Autologous Fat Grafting for Whole Breast Reconstruction, *Plastic and Reconstructive Surgery, Global Open*, 2014, cilt 2, sayı 3, sa:124
78. Hyakusoku H. ve ark., Complications after autologous fat injection to the breast, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2009, 123(1):360-70; discussion 371-2
79. Kanchwala S.K. ve ark., Autologous fat grafting to the reconstructed breast: the management of acquired contour deformities, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2009, 124(2):409-18
80. Caviggioli F. ve ark., Autologous fat graft in postmastectomy pain syndrome, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2011, 128(2):349-52

81. Illouz Y.G. ve Sterodimas A., Autologous fat transplantation to the breast: a personal technique with 25 years of experience, *Aesthetic Plast Surgery*, 2009, 33(5):706-15
82. 2012 Post-Mastectomy Fat Graft/Fat Transfer ASPS Guiding Principles, American Society Of Plastic Surgeons, 444 East Algonquin Road Arlington Heights
83. Delay E. ve ark., Fat injection to the breast: technique, results, and indications based on 880 procedures over 10 years, *J. Aesthetic Surgery*, 2009, 29(5):360-76
84. Rigotti G. ve ark., Determining the oncological risk of autologous lipoaspirate grafting for post-mastectomy breast reconstruction, *Aesthetic Plastic Surgery*, 2010, 34: 475-480
85. Losken A. ve ark., Autologous fat grafting in secondary breast reconstruction, *Ann. Plastic Surgery*, 2011, 66: 518-522
86. Krumboeck A., Giovanoli P. ve Plock J.A., Fat grafting and stem cell enhanced fat grafting to the breast under oncological aspects recommendations for patient selection, *Breast*, 2013
87. Alexandre R.B. ve ark., Review Article: Breast fat grafting: experimental or established procedure?, *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica, Rev. Bras. Cir. lást.*, cilt 27, sayı 4, São Paulo, 2012
88. Carvajal J. ve Patiño J.H., Mammographic findings after breast augmentation with autologous fat injection, *Aesthetic Surgery Journal*, 2008, 28(2):153-62
89. Largo R.D. ve ark., Efficacy, safety and complications of autologous fat grafting to healthy breast tissue: a systematic review, *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 2014, 67(4):437-48
90. Claro F. Jr. ve ark., Sistemic review: Applicability and safety of autologous fat for reconstruction of the breast, *The British Journal of Surgery*, 2012, 99(6):768-80
91. Lohsiriwat V. ve ark., Review: Autologous fat transplantation in patients with breast cancer: "silencing" or "fueling" cancer recurrence?, *Breast*, 2011, 20(4):351-7

92. Krastev T.K., Jonasse Y. ve Kon M., Oncological safety of autologous lipoaspirate grafting in breast cancer patients: a systematic review, *Annals of Surgical Oncology*, 2013, 20(1):111-9
93. Veber M. ve ark., Radiographic findings after breast augmentation by autologous fat transfer, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2011, 127(3):1289-99
94. Krumboeck A., Giovanoli P. ve Plock J.A., Fat grafting and stem cell enhanced fat grafting to the breast under oncological aspects-recommendations for patient selection, *Breast*, 2013, 22(5):579-84
95. Petit J.Y. ve ark., The oncologic outcome and immediate surgical complications of lipofilling in breast cancer patients: a multicenter study Milan-Paris-Lyon experience of 646 lipofilling procedures, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2011, 128(2):341-6
96. Brenelli F. ve ark., Oncological safety of autologous fat grafting after breast conservative treatment: a prospective evaluation, *The Breast Journal*, 2014, 20(2):159-65
97. Petit, J.Y. ve ark., Locoregional recurrence risk after lipofilling in breast cancer patients, *Annals of Surgical Oncology*, 2011
98. Petit J.Y. ve ark., Evaluation of fat grafting safety in patients with intraepithelial neoplasia: a matched-cohort study, *Annals of Surgical Oncology*, 2013, 24(6):1479-84
99. Rietjens M. ve ark., Safety of fat grafting in secondary breast reconstruction after cancer, *J. Plastic Reconstr. Aesthet. Surgery*, 2011, 64: 477-483
100. Pearl R.A., Leedham S.J. ve Pacifico M.D., The safety of autologous fat transfer in breast cancer: lessons from stem cell biology, *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 2012, 65(3):283
101. Abromov Y. ve ark., Histologic characterization of vaginal vs abdominal surgical wound healing in a rabbit model”, *Wound Rep. Reg.*, 2007, 15:80-86
102. Schwentker A. ve ark., A model of wound healing in chronically radiation-damaged rat skin, *Cancer Letters*, 1998, 5;128(1):71-8

103. Rifkin L.H. ve ark., An athymic rat model of cutaneous radiation injury designed to study human tissue-based wound therapy, *Radiation Oncology*, 2012, 8;7:68
104. Thanik V.D. ve ark., A novel mouse model of cutaneous radiation injury, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2011, 127(2):560-8
105. Chin M.S. ve ark., Skin perfusion and oxygenation changes in radiation fibrosis, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2013, 131(4):707-16
106. Sultan S.M. ve ark., Human fat grafting alleviates radiation skin damage in a murine model, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2011, 128(2):363-72
107. Doyle J.W. ve ark., The effects of radiation on neovascularization in a rat model, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1996, 98(1):129-35; discussion 136-9
108. Lin S.J. ve Hijjawi J.B., *Plastic and Reconstructive Surgery Board Review*, 2nd Revised edition Mc Graw Hill Higher Education, Department of Plastic and Reconstructive Surgery at Northwestern University Medical School, 2006, Wisconsin, sayfa:120