



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

**ANKARA SAĞLIK UYGULAMA ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ**

**OTOLOG KONDÜSYONEL SERUMUN
SIÇANLARDAKİ YAĞ GREFTİ
YAŞAYABİLİRLİĞİNE ETKİSİNİN PLATELETTEN
ZENGİN PLAZMA – YAĞ GREFTİ
KOMBİNASYONU İLE KONTROLLÜ
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Gökay Baykara



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

**ANKARA SAĞLIK UYGULAMA ve ARAŞTIRMA HASTANESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ**

**OTOLOG KONDÜSYONEL SERUMUN
SIÇANLARDAKİ YAĞ GREFTİ
YAŞAYABİLİRLİĞİNE ETKİSİNİN PLATELETTEN
ZENGİN PLAZMA – YAĞ GREFTİ
KOMBİNASYONU İLE KONTROLLÜ
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Gökay Baykara

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nezih Sungur

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA – 2019

TEŞEKKÜR

İhtisas hayatım boyunca aktardığı bilgi ve mesleki deneyiminin yanında bilimselliği, disiplini ile örnek olan ahlaki ve vicdani birçok konuda kendisinden çok şey öğrendiğim, yetişmemde sonsuz emeği olan, yanında çalışmaktan onur duyduğum değerli hocam Sayın Prof.Dr. Uğur Koçer'e,

Engin bilgi ve bilimselliğiyle her zaman yol gösteren, kendisiyle çalışmaktan onur duyduğum aynı zamanda tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Nezih Sungur'a,

Birlikte çalışma imkânı bulduğum bilgi birikimi ve deneyimleriyle bana yol gösteren saygıdeğer hocalarım, abilerim ve ablalarım,

Klinikte birlikte çalışmasak da tanımaktan şeref duyduğum, en bilimsel, en iyi kalpli, tez sürecimde hiç yalnız bırakmayan, daima destek olan, benden kurtulamayacak olan abim Op.Dr. Kadri Özer'e,

Beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelere, hastane personellerine,

Beni bugünlere getiren, zorlukları beraber aştığımız, her zaman yanımda olduklarından emin olduğum anneme, babama, kardeşime,

Teşekkür ederim. İyi ki varsınız...

GÖKAY BAYKARA

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
GRAFİKLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 YAĞ GREFTİ	5
2.1.1 GENEL ÖZELLİKLER	5
2.1.2 TARİHÇE	6
2.1.3 YAĞ GREFTİNİN ELDE EDİLMESİ	9
2.1.4 YAĞ GREFLERİNDE SAĞ KALIM.....	12
2.2 PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA (PZP)	14
2.2.1 PLATELET FİZYOLOJİSİ	14
2.2.2 PZP’NİN TARİHÇESİ.....	15
2.2.3 PZP’NİN TANIMI	15
2.2.4 PZP HAZIRLANMASI.....	17
2.3 İNTERLÖKİN-1 RESEPTÖR ANTAGONİSTİ VE İNFLAMASYON	18
2.4 OTOLOG KONDÜSYONEL SERUM (ACS)	20
2.4.1 ACS TANIMI	20
2.4.2 ACS’NİN HAZIRLANMASI.....	20
2.4.3 ACS İÇERİĞİNDEKİ SİTOKİN VE BÜYÜME FAKTÖRLERİ	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. GRUPLAR.....	22
3.2. DENEY PLANI.....	22

3.2.1 YAĞ GREFTİNİN HAZIRLANMASI.....	23
3.2.2 PZP HAZIRLANMASI VE UYGULANMASI.....	25
3.2.3 ACS HAZIRLANMASI VE UYGULANMASI	25
3.4 RADYOLOJİK İNCELEME	27
3.5 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	28
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	28
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ	59
KAYNAKLAR.....	61

KISALTMALAR VE SİMGELER

ACD-A	: Acid Sitrat Dekstroz-A
ACS	: Autologous Conditioned Serum, Otolog Kondüsyonel Serum
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
EGF	: Epidermal Growth Faktör
FDA	: Food and Drug Administration
FDGF	: Fibroblast Derived Growth Factor
FGF	: Fibroblast Growth Faktör
HGF	: Hepatosit Growth Factor
IGF-1	: İnsülin Like Growth Faktör-1
IL-1	: İnterlökin-1
IL-1 Ra	: İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PZP	: Plateletten Zengin Plazma
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TGF- β 1	: Transforming Growth Factor-Beta1
TNF- α	:Tumor Necrosis Factor- α
VEGF	: Vasküler Endotelial Growth Factor

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Yağ greftlemenin tarihsel gelişimi.....	7
Şekil 2. In vivo yağ grefti transplantasyon sekansı; doku onarım fazı ilk 3 ayı kapsarken, stabilizasyon fazı 3. ayın sonunda başlar.....	12
Şekil 3. Periferik tabaka: yaşayan tabaka (adipositler ve adipoz kökenli kök hücreleri içerir).	13
Şekil 4. ACD-A içeren tüplere donörden alınan kanın antrifüj işlemi sonrası görünümü	18
Şekil 6. Sıçan Sırtındaki Enjeksiyon Planı.	23
Şekil 5. Enjeksiyon Sonrası Lateral Görünüm	23
Şekil 7. Sıçanda inguinal yağ yastığı ekspozürü (sol) ve alınan yağ yastıkçığının görüntüsü (sağ)	24
Şekil 8. İnguinal bölgeden alınan yağ yastıkçığından yağ grefti hazırlanması ve enjeksiyona hazır hale getirilmesi	24
Şekil 9. Sıçan kanından Hazırlanan PZP örnekleri.....	25
Şekil 10. Mikroküreler içeren ACS tüpüne (Sanakin®) alınmış sıçan kanı (sol) ve inkübasyon sürecindeki sıçan kanı görünümü (sağ)	26
Şekil 11. Santrifüj işlemi sonrası oluşan serum ve eritrosit çözeltisi (sol) ve elde edilen ACS (sağ).....	26
Şekil 12. Enjeksiyon sonrası Bilgisayarlı Tomografi görüntülerinin alınması	27
Şekil 17. Postoperatif 1.ay ACS + yağ grefti grubu histopatolojik görüntüsü (x100).....	48
Şekil 18. Postoperatif 1.ay PBS + yağ grefti histopatolojik görüntüsü. Artmış inflamasyon bulguları (x40)	48
Şekil 19. Postoperatif 1.ay PRP + yağ grefti histopatolojik görüntüsü. İnflamasyon artışı bulguları (x100)	49
Şekil 20. Postoperatif 3.ay ACS + yağ grefti histopatolojik görünüm(x100)	49
Şekil 21. Postoperatif 3.ay PBS + yağ grefti histopatolojik görünüm. Materyali fagosit etmiş makrofajlar, inflamatuvar hücreler (x40)	50

Şekil 22. Postoperatif 3.ay PZP + yağ grefti histopatolojik görünüm.Boyama sırasında erimiş yağ materyali (x40).....	50
Şekil 23. Postoperatif 5.ay ACS + yağ grefti histopatolojik görünüm (x40)	51
Şekil 24. Postoperatif 5.ay ACS + yağ grefti grubu histopatolojik görünüm(x100)	51
Şekil 25. Postoperatif 5.ay PBS + yağ grefti grubu histopatolojik görünüm (x40)	52
Şekil 26. Postoperatif 5.ay PZP + yağ grefti histopatolojik görünüm (x40).....	52



GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Erken postoperatif dönem grupların interquartik karşılaştırılması. Veriler minimum değer 25 persentil, 50.persentil, 75.persentil ve maksimum değer olarak verilmiştir. Erken postoperatif dönem, üç grup için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı bulunmuştur. ($p > 0,05$; ANOVA testi, $F = 1,405$).....	29
Grafik 2. Erken postoperatif dönem grupların interquartil karşılaştırılması. Veriler minimum değer, 25. persentil, 50.persentil, 75.persentil ve maksimum değer olarak verilmiştir. Üç grup incelendiğinde, postoperatif 1.ay dönemi için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$; ANOVA testi, $F = 9,297$).....	32
Grafik 3. Orta postoperatif dönem grupların interquartik karşılaştırılması. Veriler minimum değer, 25. persentil, 50.persentil, 75.persentil ve maksimum değer olarak verilmiştir. Üç grup incelendiğinde, postoperatif 3.ay dönemi için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$; ANOVA testi, $F = 11,690$).....	34
Grafik 4. Geç postoperatif dönem grupların interquartil karşılaştırılması. Veriler minimum değer, 25. persentil, 50. persentil, 75. persentil ve maksimum değer olarak verilmiştir. Üç grup incelendiğinde, postoperatif 5.ay dönemi için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$; Kruskal Wallis-H testi).....	36
Grafik 5. ACS + yağ grefti grubunda verilen hacim (900 mikrolitre) sonrasında, erken postoperatif, geç postoperatif 1.ay, 3.ay ve 5.ay bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerlerinin karşılaştırılması (Mavi çubuk ile gösterilmiştir). Turuncu çizgi grafi ile ilk verilen hacme göre yüzdelik değişim gösterilmiştir.....	37
Grafik 6. PBS + yağ grefti grubunda verilen hacim (900 mikrolitre) sonrasında, erken postoperatif, geç postoperatif 1.ay, 3.ay ve 5.ay bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerlerinin karşılaştırılması (Mavi çubuk ile	

gösterilmiştir). Turuncu çizgi grafi ile ilk verilen hacme göre yüzdelik değişim gösterilmiştir.....	38
Grafik 7. PZP + yağ grefti grubunda verilen hacim (900 mikrolitre) sonrasında, erken postoperatif, geç postoperatif 1.ay, 3.ay ve 5.ay bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerlerinin karşılaştırılması (Mavi çubuk ile gösterilmiştir). Turuncu çizgi grafi ile ilk verilen hacme göre yüzdelik değişim gösterilmiştir.....	39
Grafik 8. Grupların zaman içerisindeki hacim değişimi	40
Grafik 9. Grupların aylara göre ilk verilen hacme oranlarının hesaplandığı yüzde değişimlerinin çizgi grafikte gösterimi	41
Grafik 10. Histopatolojik açıdan kalıcılık değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması	43
Grafik 10. Histopatolojik açıdan kalıcılık değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması	43
Grafik 11. Histopatolojik açıdan inflamasyon değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması.	44
Grafik 12. Histopatolojik açıdan vaskülarizasyon değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması.....	45
Grafik 13. Histopatolojik açıdan fibrozis değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması.....	46

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. PZP içeriğindeki büyüme faktörleri ve görevleri	16
Tablo 2. ACS içeriğinde bulunan sitokin ve büyüme faktörleri.....	21
Tablo 3. 1.ayda sakrifiye edilen sıçanların bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerleri	31
Tablo 4. 3. ayda sakrifiye edilen sıçanların bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerleri	33
Tablo 5. 5.ayda sakrifiye edilen sıçanların bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerleri	35
Tablo 6. Grupların aylara göre ilk verilen hacme oranlarının hesaplandığı yüzde değişimleri	41

ÖZET

Amaç: Yağ greftlerinin yüksek rezorbsiyon oranları mevcut olup literatürde yüzde yirmi ile doksan arasında rezorbsiyon görülmüştür. Bu sorunu çözmek için birçok additif madde denenmiştir. Otolog kondüsyonel serum (Autologous Conditioned Serum-ACS), doğal olarak oluşan interlökin-1 (IL-1) inhibitörü olan interlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) yönünden zenginleştirilmiş otolog bir kan ürünüdür. Klinik olarak ilk kez 1997 yılında kullanılmış ve 2001 yılından sonra da Orthokine adıyla ticarileştirilmiştir. Osteoartrit tedavisinde kullanılan ACS, birkaç çalışma dışında pek popülerize olamamıştır. Bu çalışmadaki amaç, otolog olarak yüksek miktarlarda ve ucuz bir şekilde hazırlanabilen yağ grefti gibi bir materyalin sağkalımını arttırmak için yine otolog olarak kandan elde edilen otolog kondüsyonel serumun kombinasyonunu gündeme getirmek ve bunu da sık olarak kullanılan ve etkinliği ispatlanmış plateletten zengin plazma (PZP) ve yağ grefti kombinasyonu ile karşılaştırarak etkinliğini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 37 adet izojenik Sprague-Dawley tipi sıçanlar dâhil edilerek, random olarak 3 grup oluşturulup her grupta n=9 olacak şekilde dağıtılmıştır. Geriye kalan 10 sıçan ise her iki groin bölgesinden her bir bölgede yaklaşık 1,5 ml olacak şekilde yağ grefti alınarak slicing yapıl mak üzere kullanılmıştır. Sonrasında bu 10 sıçandan PZP ve ACS hazırlamak amacıyla ortalama 10 ml kan intrakardiyak alınarak sakrifiye edilmiştir. Bütün gruplarda sıçan sırtlarına 3 adet 0,9 ml. lik dermis ve subkutan doku arasında dolgu materyali yerleştirildi. Birinci şişlik bölgesine 0,2 ml PZP + 0,7 ml yağ grefti kombinasyonu, ikinci şişlik bölgesine 0,2 ml ACS + 0,7 ml yağ grefti kombinasyonu, üçüncü şişlik bölgesine ise 0,2 ml PBS (Fosfat Tamponlu Salin) + 0,7 ml yağ grefti kombinasyonu enjekte edildi. Hazırlanan üç grup sırasıyla 4. hafta, 12. hafta ve 20. haftalarda sakrifikasyon öncesi Bilgisayarlı Tomografileri (BT) çekilerek ortalama hacimleri hesaplandı. Patolog tarafından kalıcılık, vaskülarite, inflamasyon ve fibrozis miktarları ölçülerek istatistiksel değerlendirmeleri yapıldı.

Bulgular: Postoperatif 1. ay döneminde üç grup arasında ortalama hacim değişiklikleri anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Postoperatif 1. ayda üç grup için ölçülen ortalama hacim değerlerine bakıldığında sayısal olarak ACS + yağ grefti grubunun diğer gruplardan yüksek olduğu, ikinci sırada PZP + yağ grefti grubu olduğu izlenmiştir. Postoperatif 3. ay ve 5. ay döneminde benzer olarak yine üç grup arasında ortalama hacim değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Postoperatif 1. ayda histopatolojik açıdan kalıcılık, inflamasyon ve vaskülarizasyon değerlerinde anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$), fakat fibrozis açısından anlamlı bir fark izlenmiştir ($p<0,05$). Postoperatif 3. ayda her üç grup arasında sadece kalıcılık anlamlı olarak bulunmuş ($p<0,05$); inflamasyon, vaskülarizasyon ve fibrozis açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Postoperatif 5. ayda kalıcılık, inflamasyon ve fibrozis karşılaştırmaları istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuş ($p<0,05$); vaskülarizasyon her üç grup arasında anlamlı olarak bulunamamıştır ($p>0,05$). Tüm gruplar arasında zaman içerisindeki değişime bakıldığında ACS + yağ grefti grubunda kalıcılık ve vaskülarizasyonun diğer gruplardan daha yüksek oranda olduğu; inflamasyonun ve fibrozisin ise daha düşük oranda olduğu izlenmiştir.

Sonuç: Yağ greftinin, kolay elde edilebilir, ucuz ve otolog bir ürün olan ACS ile kombine edilmesi, yağ grefti yaşayabilirliğini erken, orta ve geç dönemde arttırabileceği önerilebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: ACS; Autologous Conditioned Serum; Platelet Rich Plasma; Plateletten Zengin Plazma; PRP; PZP; Yağ grefti

ABSTRACT

Aim: Fat grafts have high resorption rates, with twenty to ninety percent resorption in the literature. Many additive substances have been tried to solve this problem. Autologous Conditioned Serum (ACS) is an autologous blood product enriched for interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra) which is an inhibitor of naturally formed interleukin-1 (IL-1). It was first used clinically in 1997 and commercialized under the name Orthokine after 2001. ACS, which is used in the treatment of osteoarthritis, has not been popularized except in a few studies. The aim of this study was to raise the combination of autologous conditional serum obtained from the blood as autologous again to increase the survival of a material such as fat graft which can be prepared in high amounts and inexpensively as autologous, and this is frequently used and proven platelet rich plasma (PRP) and fat to compare the graft combination with the graft.

Materials and Methods: Thirty-seven isogenic Sprague-Dawley rats were included in the study and randomly divided into three groups and each group was divided into $n = 9$. The remaining 10 rats were used to slicing fat grafts of approximately 1,5 ml in each region from both groin regions. Subsequently, those 10 rats were sacrificed by taking 10 mL of intracardiac blood to prepare PRP and ACS. In all groups, totally three filling material which was 0,9 ml in each was placed in dermis and subcutaneous tissue on the rats. 0,2 ml PRP + 0,7 ml fat graft combination in the first swelling region, 0,2 ml ACS + 0,7 ml fat graft combination in the second swelling region, 0,2 ml Phosphate Buffered Saline (PBS) + 0,7 ml fat graft combination in the third swelling region were injected. The mean volume of the three groups were calculated by computed tomography (CT) before sacrifice at 4 weeks, 12 weeks and 20 weeks, respectively. The persistence, vascularity, inflammation and fibrosis levels were measured and evaluated by the pathologist.

Results: The mean volume changes were significant between the three groups in the first postoperative month ($p < 0.05$). When the mean volume values measured for the three groups in the first postoperative month were examined, it

was observed that the ACS + fat graft group was higher than the other groups and the second group was the PRP + fat graft group. Similarly, mean volume values between the three groups were statistically significant in the postoperative 3rd and 5th months ($p < 0.05$). No significant difference was found in histopathological persistence, inflammation and vascularization values at postoperative 1st month ($p > 0.05$), but a significant difference was observed in fibrosis ($p < 0.05$). In the postoperative 3rd month only permanence was found to be significant among all three groups ($p < 0.05$); there was no significant difference in inflammation, vascularization and fibrosis ($p > 0.05$). Permanence, inflammation and fibrosis were compared at postoperative 5th month ($p < 0.05$). vascularization was not found to be significant between the three groups ($p > 0.05$). While we look at the change over time between all groups, the retention and vascularization of ACS + fat graft group was higher than the other groups; inflammation and fibrosis were lower.

Conclusion: Combination of fat graft with ACS, an easily available, inexpensive and autologous product, may improve fat graft viability in the early, middle and late period.

Keywords: ACS; Autologous Condition Serum; Platelet Rich Plasma; PRP; Fat graft

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaşlanma, bir sistemin fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlardan kaynaklanan eksojen ve endojen streslere karşı cevap verme yetisinde azalma ile karakterize çok yönlü ve zamana bağımlı kompleks bir olaydır (1). Deri yaşlanması ise yapısal ve moleküler bozulma ile beraber derinin fonksiyon ve görüntüsünü etkileyen sinsi ve progresif seyreden oldukça karmaşık bir süreçtir ve patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır (1).

Son yıllarda cilt yaşlanmalarının etkilerini azaltmak ya da yok etmek amacıyla birçok madde denenmiştir. Bu maddeler içinde, çeşitli farmasötik ve kimyasal maddeler ile tıbbi cihazlar bulunmaktadır. Günümüzde cilt yaşlanmalarını azaltmak için minimal invazif yapılan uygulamalar giderek popülerite kazanmaktadır. 2017 yılında yayınlanan rapora göre minimal invaziv girişimle yüz bölgesine uygulanan en çok kozmetik materyaller, botulinum toksin uygulamaları, dermal dolgu maddeleri ile plateletten zengin plazma (PZP) ve kimyasal peeling uygulamaları olduğu görülmüştür (2).

Yaşlanma, travma, tümör eksizyonu, konjenital anomaliler gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişen volüm kaybının restore edilebilmesi için dolgu materyalleri kullanmak gerekebilir. Günümüzde ticari olarak hazır preparatlar halinde geçici ve kalıcı dolgu materyalleri mevcuttur. Fakat bu tür maddeler her ne kadar günümüzde yan etki profilleri önemli derecede azaltılmış olsa da yine de vücuda yabancı bir materyal olarak kalacaktır. Geçmişte otolog yani öz dokuya alternatif birçok materyal bildirilmiştir (3). Ancak sentetik materyallerin kullanımı, yüksek maliyet, alerjik reaksiyonlar, distorsiyon, stabilite kaybı, uzun dönem rezorpsiyonu, zayıf biyo-uyumluluk, karsinogenik ve/veya teratojenik etkilerinin bilinmemesi ve ulaşımı zor olması gibi pek çok nedenden dolayı hasta konforu ve cerrahın motivasyonu açısından olumsuz durumlarla sonuçlanabilmektedir (4–6). Onarım cerrahisinin temel prensibi olan ‘benzeri benzeriyle onar’ sloganıyla otolog dokunun kullanımı ve tekniğin iyileştirilmesi plastik cerrahi önderliğinde tüm tıbbi branş ve uygulamalarda özellikle son zamanlarda artan bir ivme göstermiştir (6–8).

Yağ greftlerinin yüksek rezorbsiyon oranları mevcut olup literatürde yüzde 20 ile 90 arasında rezorbsiyon oranları raporlanmıştır (9). Yüksek rezorbsiyon oranlarının altında yatan mekanizma net olarak belli olmamasına karşın; bu konuda en çok kabul gören teori; Peer'in hücre sağkalım teorisidir (10). Bu teoriye göre, greft uygulama anında sağ kalan yağ hücre (adiposit) sayısı, ileriki dönemde greft sağkalımını belirleyen ana faktördür (10). 2012 yılında, Eto ve ark.'larının yaptığı bir çalışmaya göre ise uygulanan yağ greftinin 300 nm'lik çeperinde sağ kalan adipositler ve adipositlere farklılaşabilen bağ doku içerisindeki adipoz doku kaynaklı kök hücrelerin ve preadipositlerin ilerleyen dönemde greftin sağ kalımına etkisinin bulunduğu ortaya konulmuştur (11). Genel olarak bakıldığında yağ greftinin sağ kalımını etkileyen başlıca faktörler; alıcı sahanın kanlanma miktarı, aktarılma sırasındaki canlı adiposit sayısı, greftin vasküler yatağa temas halinde olması ve dokuda oluşan inflamasyonun şiddetidir. Bu nedenlerden dolayı Coleman, 2015 yılında yayınladığı makalede yağ greftlemede öngörülebilirliği ve sağ kalımı arttıracak additif maddelerin (plateletten zengin plazma, stromal vasküler fraksiyon, vs. gibi) kullanılabileceğini fakat halen kesin çalışmaların olmadığını belirtmektedir (12).

Platelet temelli biyolojik materyaller, 2009 yılından beri plastik ve rekonstruktif cerrahi alanında sıklıkla kullanılmaya başlanmış ve kullanımı artarak devam etmiştir. Plateletten Zengin Plazma (PZP), kolay, ucuz, hızlı, etkili ve güvenli bir ürün olarak tanımlanabilir (13). Plateletten zengin plazma (PZP), otolog kandan elde edilen tam kanda bulunan bazal plateletten daha fazla konsantrasyon içeren küçük hacimdeki plazma süspansiyonunu tanımlar (13). Plateletler, yara iyileşmesinde önemli bir role sahip olan büyüme faktörleri yönünden zengin yapılardır. Özellikle, hücre proliferasyonunda, kemotaksiste, hücre farklılaşmasında ve anjiogenezde kritik bir role sahip olduğu bilinen platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor β 1 (TGF- β 1), vascular endothelial growth factor (VEGF), epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factor 1 (IGF-1) veya fibroblast growth factor (FGF) gibi büyüme faktörlerinin yoğun seviyelerine sahiptir (14). Nakamura ve ark. PZP'nin yağ greftlemede kullanılabileceğini ve sağkalımı arttırdığını bir sıçan deneyi ile

göstermesinden sonra PZP ve yağ grefti birlikteliği artmaya başlamış ve yüz güldürücü sonuçlar elde edilmiştir (15). Bu etkiyi ise, PZP'nin içerdiği büyüme faktörlerinin adipoz prekürsör hücrelerinde proliferasyona ve diferansiyasyona yardımcı olduğu ve erken revaskülarizasyonu arttırmasıyla ilişkilendirmişlerdir (15).

Bilindiği üzere, nakledilecek olan yağ doku esasen iki bileşen içermektedir: aselüler malzeme ve hücreler. Santrifüjleme sonrasında, üç seviye oluşmaktadır: alt tabaka kan ve debris, su ve kullanılan tümesant tekniğine ait solüsyonu içerir; orta kısım enjekte edilecek yağ tabakasını; üst tabaka ise yıkılan yağ asitlerinin oluşturduğu yağlı tabakayı temsil eder (16). Buradaki aselüler malzemelerin olduğu alt serozanjyöz tabaka ve üst yağlı tabaka uzaklaştırılarak greft enjekte edilebilir hale getirilir. Eğer uzaklaştırılmadan kullanılırsa, aselüler materyalin reseptör alanına girişi, hücrelere (çoğunlukla doku temizliğinde yer alan makrofajlar) olduğu kadar proteolitik ve lipolitik enzimlerin aktivasyonunu da sağlar. Bununla birlikte; iltihabi inflamasyon reaksiyonu, konulan yağ bölgesindeki boşluğu artırır ve elde edilen hacmi azaltır (17). Dolayısıyla, inflamasyonun varlığı, yağ greft tutulumunu azaltmaktadır. Literatürde inflamasyonu azaltarak maksimum sağkalımı sağlamak hedefi ile majör lipid antioksidan olan eksojen vitamin E, fetal sıgır serumu gibi materyaller kullanılarak başarı elde edilmeye çalışılmıştır (18,19). Çalışmalar göstermiştir ki, yaşayabilirliğin artması için reseptör düzeyindeki inflamasyonun minimize edilmesi gerektiğidir. Günümüzde bu başlangıç seviyesi ile ilgili yapılan çalışmalarda, özellikle yara iyileşme modellerinde görülmüştür ki, pro-inflamatuvar sitokinler olan IL-1 β (İnterlökin-1 Beta) ve TNF- α (Tumor Nekrozis Faktör-a) bu inflamatuvar sürecin anahtar sitokinleridir (20).

Otolog Kondüsyonel Serum (Autologous Conditioned Serum – ACS), doğal olarak oluşan interlökin-1 (IL-1) inhibitörü olan interlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) yönünden zenginleştirilmiş otolog bir kan ürünüdür (21). ACS, IL-1'in patolojik koşulların önemli bir ajanı olduğu düşünülen durumları tedavi etmek için lokal olarak uygulanmakta fakat pek popülerize olamayan bir materyal olarak kalmıştır. Bu konuyla ilgili sadece birkaç yorum yazılmıştır (21). Bu antagonist, markette FDA (Food and Drug Administration) tarafından onay almış ve E. coli

(*Eschericia coli*) üzerinden rekombinant olarak üretilen Kineret® adıyla satılmaktadır. Bir diğer materyal olan Anakinra® ise metotreksat ile kombine edilerek inflamatuvar durumların tedavisinde ya da osteoartrit dizlerde eklem içi kullanılmaktadır (21).

Wehling ve ark., 1990 yılı ortalarında, ucuz ve pratik bir otolog interlökin-1 reseptör antagonistinin hazırlanışını tanımladılar (22). Klinik olarak ilk kez 1997 yılında kullanıldı. 2001 yılından sonra da Orthokine® adıyla ticarileştirildi. Osteoartrit tedavisinde kullanılan ACS, birkaç çalışma dışında pek popülerize olamadı. 2016 yılında yapılan bir çalışmada, ACS'de IL-1 reseptör antagonistinin plazma değerlerine göre ortalama 6 kat yüksek olduğu gösterilmiştir (23).

Çalışmamızda oluşturulan hipotez, antiinflamatuvar ve otolog bir ürün olan ACS ile yağ greftini uygulama öncesinde kombine ederek ilk günlerde oluşacak proinflamatuvar sitokinleri minimize edip greft sağkalımının artışı görmektir. İlk yıkımın engellenmesi ile mevcut adiposit hücrelere, adiposit prekürsörleri ve diğer hücrelerin yaşayabilirliği çevre doku ile olan iletişimi sonrasında artacağını öngörmekteyiz. Bu çalışma ile otolog dolgu materyali olarak kullanılan yağın en büyük ve en önemli problemi olan rezorpsiyon ihtimalini en aza indirerek plastik cerrahide diğer çalışmalara öncülük edeceğini düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 YAĞ GREFTİ

2.1.1 Genel Özellikler

Genel olarak yağ dokusu dediğimiz yapı, adipositlerden oluşur ve mezenkimal kaynaklıdır. Adipositlerin dışında stromal vasküler komponent denilen bir hücre grubunu da barındırmaktadır. Stromal vasküler komponent nötrofiller, makrofajlar, fibroblastlar, perisitler, endotel hücreleri ve kök hücrelerden oluşur (24). Beyaz ve kahverengi yağ dokusu olmak üzere iki farklı yağ dokusu bulunmakla beraber insanların yağ dokusunun çoğunluğu beyaz yağ dokusundan oluşmaktadır. Kahverengi yağ dokusu, yenidoğan döneminde vücudun belli bölgelerinde yoğun olarak bulunur ve yaş ile beraber miktarı giderek azalır. Beyaz yağ dokusunun ayrıca endokrin ve metabolik olaylarda görev aldığı da ortaya konmuştur. Endokrin ve metabolik olaylara örnek verilecek olursa, yağ dokudan salınan hormonlardan leptin ön plana çıkmaktadır. Leptin açlık durumunda azalır, tokluk döneminde artan bir hormondur ve adipositlerden salınır. Beyinde tokluk sinyali oluşmasını sağlamaktadır.

Yağ dokusu içerisindeki her bir yağ hücresi, kapiller ağ ile temas edecek şekilde zengin bir vasküler ağı sahiptir. Bir yağ hücresinin ortalama çapı 50-150 mikrometredir ve 1 yıl ile 10 yıl arasında değişim gösteren yaşam süresi vardır. Kök hücreler, perisitler ile adipositler arasında yer alır ve iskemik durumlarda anjiyojenik faktörler salgılayarak vasküler endotelial hücrelere dönüşürler. Yaşlılarda kök hücre sayısı azalır ve buna sekonder olarak yıkım süreci, yapım sürecinin önüne geçer ve yağ dokusu miktarı azalır.

Yağ dokusu, vücutta doku parsiyel oksijen basıncı en yüksek olan dokudur. Kapiller ağın zengin olması ve oksijen tüketiminin az olması bu durumun nedeni olarak gösterilmektedir. Ayrı ayrı incelendiğinde, adipositlerin yağ dokusu içindeki hücrelerden iskemiye en duyarlı hücre grubu olduğu, kök hücrelerin ise ciddi iskemide bile 3 gün süre ile hayatta kalabildiği gösterilmiştir. Doku hasarında oluşan inflamatuvar süreçte ortaya çıkan mediatörler nedeni ile yıkım devam eder. Ancak hasarlı hücrelerden salınan mediatörler ile kök hücreler aktive olarak

proliferasyon tetiklenirken aynı zamanda aktive olan kök hücreler salgıladıkları büyüme faktörleri ile fibrozis oluşumunu baskılamaya çalışırlar.

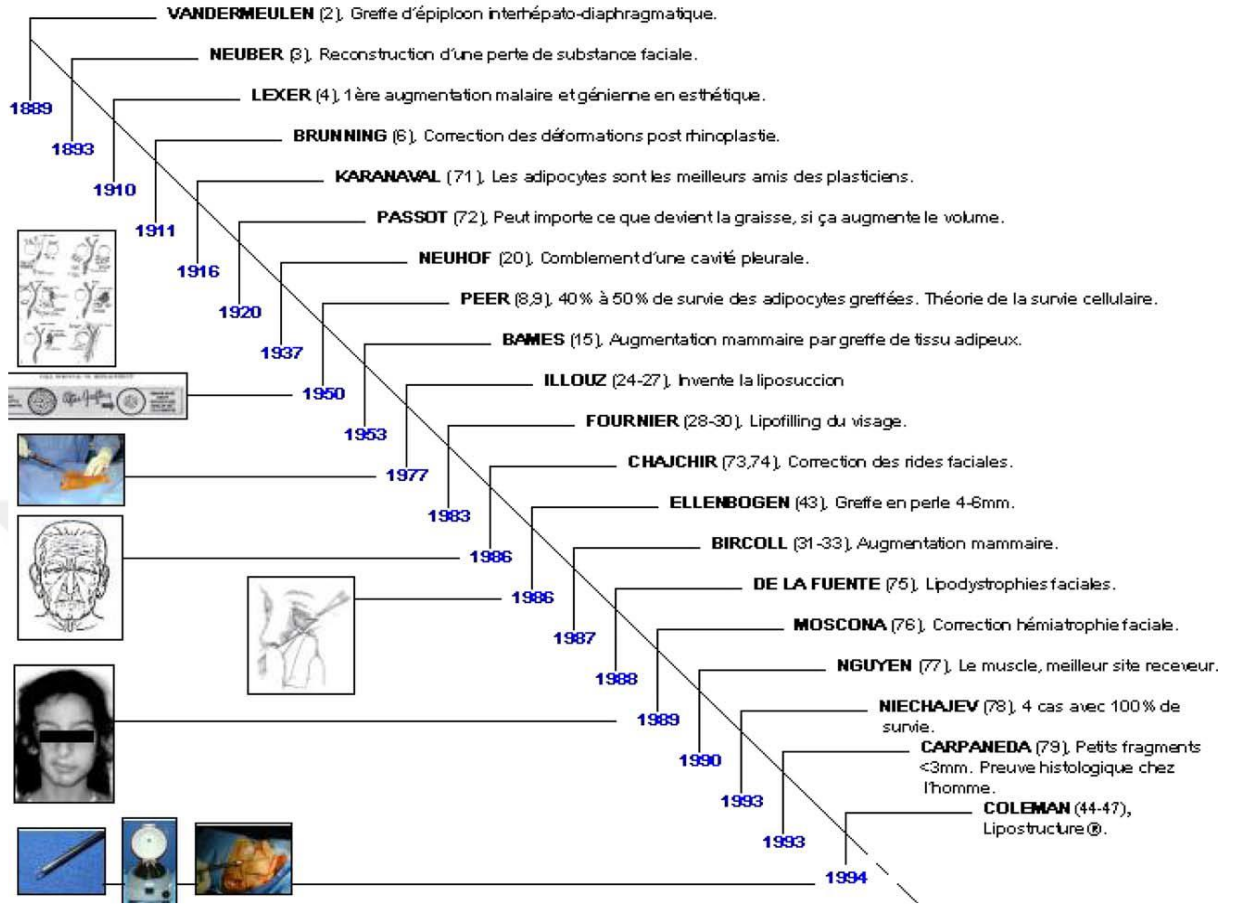
2.1.2 Tarihçe

İnsanlarda otolog yağ grefti uygulaması ilk olarak 1800’lü yıllarda rapor edilmiştir. Yağ dokusu transplantasyonu ise ilk kez 1889 yılında Van Der Meulen tarafından rapor edilmiş olup serbest olarak omentum ve yağ dokusunu karaciğer ve diyafram arasına aktarımını sağlayarak gerçekleştirmiştir (25).

Yağ greftlerinin rekonstrüktif ve estetik cerrahideki kullanımı ise yüz yılı aşkın bir geçmişe sahiptir (Şekil 1). 1893 yılından günümüze kadar uzanan bu süreç Mojallal tarafından tarihsel olarak üç ana döneme ayrılmıştır (26).

- 1.Dönem - Açık Cerrahi Dönemi (1893 - 1977): Lipoaspirasyonun keşfinden önceki yağ dokunun herhangi bir değişiklik olmadan tek parça transplantasyonunu temsil eder.
- 2.Dönem - Rafine Edilmemiş Dönem (1977 - 1994): Yağ doku aspirasyonun keşfinden sonraki travmatik, rafine edilmemiş dönemi temsil eder.
- 3.Dönem - Rafine Dönem (1997 - Günümüz): Sydney Coleman’ın atravmatik tekniğinin popülerleşmesinden sonraki rafine dönemi temsil eder.

Bilinen ilk otolog yağ grefti uygulaması 1893 yılında Alman Plastik Cerrah Gustav Adolf Neuber (1850-1932) tarafından orbita çevresinde tüberküloza bağlı geçirilmiş osteomyelite ikincil doku defekti ve nedbeleşmeyi tedavi etmek amacıyla koldan orbita bölgesine yağ doku naklidir (27). Yine aynı dönemde Neuber, sifiliz sonrası oluşan “Eyer burun” deformitesini aynı yöntemle tedavi etmeye çalışmıştır (28). Neuber, uygulamalarını ilk denemelerde büyük kiteli yağ greftleri ile yapmış, bu uygulamalarının başarısızlığa uğraması üzerine, çoklu küçük yağ greftlerinin kullanılmasını önermiştir. Neuber, bu uygulamalarını, Romberg Sendromu, atrofik skar ve meme ameliyatlarında kitle grefti olarak kullanmıştır (28).



Şekil 1. Yağ greftlemenin tarihsel gelişimi

1895 yılında, Viktor Czeryny (1842 - 1916), tek taraflı parsiyel mastektomi sonrası gelişen meme asimetrisi bulunan hastaya, simetriyi sağlayabilmek için amacıyla hastadan çıkarılan lipomu yine aynı hastaya naklini gerçekleştirmiştir (28). 1908 yılında bu yöntem Martin Bartels Charles Willi tarafından yüz ve meme estetik prosedürlerinde augmentasyon amaçlı kullanılaya başlanmıştır (29). Ancak yağ dokunun hızlı rezorpsiyonu nedeniyle bu fikir çok hızlı bir şekilde terkedilmiştir. Lexer, 1910 yılında Neuber'in tekniğini modifiye ederek tek parça büyük blok halinde yağ greftiyle çene ve yanak bölgelerine augmentasyon uygulamış; erken ve geç dönemlerde tatmin edici sonuçlar elde ettiğini raporlamıştır (26). Ancak aynı dönemde Lexer'in modifiye ettiği tekniği uygulayan cerrahlar onun uzun dönemdeki tatmin edici sonuçları yerine greftlerin oldukça yüksek oranlarda rezorbe olduğunu bildirmişlerdir (8,26). Bruning, 1911

yılında yağ greftlemeyi subkutan olarak ilk kez uygulamıştır ve bu uygulamayı yumuşak doku dolgusu olarak tanımlamıştır (30). Başlangıçta başarılı sonuçlar bildirirse de vakalar dramatik bir şekilde rezorpsiyonla sonuçlanmıştır (29). 1914 yılına gelindiğinde kraniyofasiyal cerrahiden, meme rekonstrüksiyonuna hatta ankiloz tedavisinde eklem hareket açıklığını arttırmak amacıyla yağ grefti uygulamaları rapor edilmiştir (29). 1956 yılında Lyndon Peer serbest yağ greftlerinde ortalama adiposit sağ kalımının % 50 civarında olduğunu raporlamış ve greftin travma ve/veya mekanik kuvvetlere maruz kalmasının greft hacim kaybıyla doğru orantılı olduğunu bildirmiştir (31).

1977 yılında liposuction tekniğinin efektif bir yöntem olarak ortaya konması ile rafine edilmemiş dönem başlamıştır (26). İşlenmemiş yağ aspiratını ilk kez kullanan Illouz, 1983 yılında vücut şekillendirme amacıyla yaptığı 3000 üzerindeki vaka sayısı ile 5 yıllık sonuçlarını yayınlamış ve böylece vücuttan alınan yağların greft olarak kullanılabilmesinin önünü açmıştır (32). Özellikle Avrupa’da 1970’li yıllarda künt uçlu kanüller ve negatif basınç kullanılarak yağ aspirasyonu uygulanmaya başlanmış, 1988 yılında Fournier mikrokanulleri yağ aspire ve enjekte etmekte kullanarak yöntemi popularize etmiştir (33). Aynı dönemlerde, Klein ise tümesant tekniğini tanımlamış ve geniş hacimlerde yağ almanın bu teknikle daha güvenli ve daha az kanama ile daha az ağrı ile mümkün olduğunu göstermiştir (34). Daha sonra, Fournier yayınladığı makalede, düşük basınçta elle aspirasyon ile elde edilen yağın üç dakika süren bir santrifüj sonrasında, çok planlı enjeksiyon basamaklarını içeren ‘Lipofilling’ tekniğini kullanmaya başladığını bildirmiştir (35). Dokuyla uyumlu, kalıcı ve doğal görünümlü sonuçlar elde edilen bu teknik uygulama kolaylığı sayesinde hızla yayılmıştır. 1997 yılında ünlü plastik cerrah Sydney Coleman pek çok cerraha ulaşır popülerleşen tekniği ‘Lipostructure’ ile rafine dönem olarak adlandırılan üçüncü dönemi başlatmıştır (36). Bu teknik ile, yağ greftinin enjektör ile düşük basınçla atravmatik elde edilmesi, elde edilen yağ greftinin santrifüj işlemi ile diğer kan elemanlarının saflaştırılması, minimal yağ dokusu enjekte edilmesi, yağ hücrelerinin etraf dokular ile temas yüzeyinin artırılması ve bu sayede revaskülarizasyonlarının kolaylaştırılmasını ele almıştır (36,37). Böylece modern anlamda yağ greftleme işlemi, tekrar popülaritesini

kazanmakla kalmayıp belki de günümüzde en sık uygulanan ve üzerinde en çok çalışılan yöntem ünvanını elde etmiştir.

Yağ greftleri; skar iyileştirme, yüz gençleştirme, kontur düzeltme, doku defektlerinin onarımı, yüz, meme, kalça gibi bölgelerde estetik amaçlı projeksiyon artışı, radyoterapi görmüş ciltlerde görülen sertleşmeyi gidermek gibi durumlarda başarılı sonuçlar vermesi nedeniyle plastik, rekonstruktif ve estetik cerrahide yerini bulmuş ve sıkça uygulanmaktadır (38).

2.1.3 Yağ Greftinin Elde Edilmesi

Yağ grefti uygulamaları, yağ greftinin alınması, işleme tekniği ve enjeksiyonu gibi kendi içinde de birçok başlık içeren çok aşamalı bir prosedürdür. Prosedürün her aşaması pek çok farklı uygulama ve fikir ayrılıkları içermektedir. Geliştirilen tekniklerin ana hedefi adiposit sağ kalım oranını artırmak ve daha güvenilir sonuçlar elde etmektir. Uzun dönemde kalıcı ve ön görülebilir sonuçlara ulaşmak için santrifüj, bekletme, süzme veya direkt verme gibi parametreler üzerinden pek çok teknik modifikasyonların tanımlanmasına yol açmıştır (39).

Donör saha seçimi genellikle fazla yağ dokusunun olduğu bölgeye göre yapılmaktadır. Donör saha farkına göre hücre sağkalımında değişiklik olup olmadığını anlamaya yönelik pek çok deneysel ve klinik çalışmalar mevcuttur. Hudson ve ark.'ları da abdomen, femoral-gluteal bölge, meme gibi bölgelerden alınan yağları karşılaştırdıkları çalışmalarında, femoral bölgeden alınan yağ greftinin daha büyük adipositler içerdiğini ve daha yüksek lipojenik aktiviteye sahip olduklarını, bunun tersine yüzden alınan yağ greftlerinin daha küçük adipositler içerdiği ve daha düşük adipojenik aktiviteye sahip olduklarını göstermişlerdir (40). Trepsat ise donör sahayı alıcı sahanın belirlediğini, diz iç yüzünden alınan yağ dokusunun daha az fibrozis ve daha elastik özellik gösterdiği için göz altı bölgesi için uygun olduğunu öne sürmüştür (41). Abdominal ve non abdominal donor sahalardan alınan yağ greftleri ile kraniyofasyal mikrozomili hastalarda yapılan asimetri düzeltilmesi işlemlerinde eşit sonuçlar alınmıştır (42). Abdomen ve uyluktan alınan yağ greftleri ile yapılan meme augmentasyonları sonucu fark saptanmamıştır (43).

Coleman, donör sahanın yağ grefti uygulamalarında sonuca etki etmediğini; bu yüzden kolay ulaşılabilir ve estetik kontur sağlayacak bölgelerden yağ grefti alınmasını önermiştir (44).

Sonuç olarak yapılan araştırmalarda ideal donör saha konusunda fikir birliği yoktur. Bununla birlikte ulaşımı kolay olduğu, greft alımı kolay olduğu ve yağ yoğunluğu fazla olduğu için çoğunlukla karın ön duvarı, uyluk lateralleri ve kalçalar tercih edilmektedir.

Donör sahanın hazırlanmasında genellikle tümesant tekniği yapılmaktadır. Bu tümesant solüsyonun kullanılmasının ağrıyı ve kanamayı azaltma ve yağ alınması işlemini kolaylaştırma avantajları mümkündür. Agostini ve ark.'larının bir çalışmada tümesant teknikle alınan yağ dokusunun, kuru teknikle alınan yağ dokusuna göre canlılığının daha fazla olduğunu göstermişlerdir (45). Epinefrin, lidokainle birlikte kullanıldığında yağ doku fonksiyonlarını ve adiposit metabolik aktivitesini kalıcı olarak etkilememektedir. Tüm lokal anestezikler lidokain benzeri etki göstererek adiposit yaşayabilirliğine katkı sağlamaktadır (44).

Yağ greftinin donör sahadan alınmasında kullanılan yöntem; son zamanlarda popüler olan Coleman tekniğidir (46). Bu teknikte 3 mm'lik 15 cm veya 23 cm uzunlukta küt uçlu Coleman kanülü, 10 ml'lik Luer Lock enjektörüne bağlanır (46). Kanülün ucu, donör alana yerleştirildikten sonra enjektörün pistonu manual olarak geri çekilerek negatif basınç oluşturulur ve yağ dokuları aspire edilmiş olur. Böylece geleneksel liposuction yerine enjektör ile elde edilmesiyle daha az negatif basınç uygulanmakta, bu sayede hem adiposit bütünlüğü korunup hem de adiposit fonksiyonları olumsuz etkilenmemektedir (46).

Yağ dokusunun alıcı sahaya verilmeden önce yağ dokusunun işlenmesi için farklı yöntemler mevcuttur. Amerikan Plastik Cerrahi Derneği tarafından 2012 yılında yayınlanan ulusal anket sonuçlarına göre plastik cerrahların yağ greftinin hazırlanması sırasında; en sık sentrifugasyon işlemini (% 34) ve klasik süzme işlemini (% 34), diğer sıklıklarda ise gazlı bezle süzme işlemini (% 11) kullandıklarını göstermiştir (47).

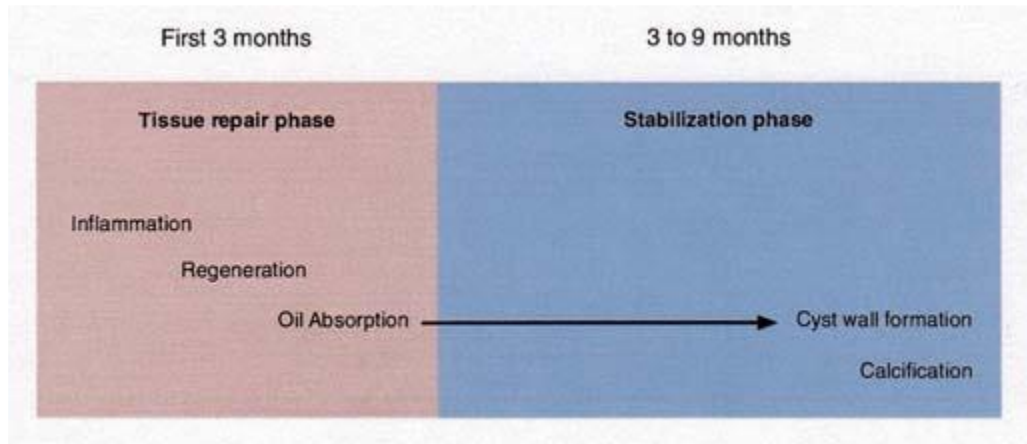
Coleman tekniğinde ideal santrifüj yöntemi, 3000 rpm hızda 3 dakika olarak raporlanmıştır (48). 1998 yılındaki bu makaledeki yaşayabilirliği arttıracak postülatlarını sıralamış ve santrifüjleme değerini 3000 rpm/3 dk olarak belirlemiştir (48). Bu postülatlar, yağ greftinin babası olarak anılan Coleman ile yıllarca kullanılagelmiştir ve halen günümüzde kullanılmaktadır. Fakat, literatürde gözden kaçan bir nokta, Coleman tekniği ile kullanılan santrifüjleme hızının adiposit hücresel fonksiyonuna zarar verebileceği düşüncesidir. Ferraro ve ark.'ları, Coleman tekniğinde kullanılanlar gibi yüksek santrifüj kuvvetlerin (dakikada 3000 devir/900 xg) hassas yağ hücrelerine önemli ölçüde zarar verdiğini belirtirken, çok düşük santrifüj kuvvetlerinin (500 rpm) yağ dokusu üzerinde çok az etki gösterdiğini bildirmiştir (49). Hoareau ve ark.'ları, Coleman tekniğinde yaygın olarak kullanılan (3000rpm / 900 xg'de 3 dakika) kuvvetli santrifüjlemenin (900 xg, 1800 xg, gibi), düşük santrifüjemeye oranla (100 xg, 400 xg, gibi) adipoz dokuya daha çok zarar verdiğini, yüksek santrifüjlemenin düşük santrifüjemeye göre 3 kat daha yüksek adiposit ölümüne neden olduğunu bildirmiştir (50). > 400 xg ivmelenme kuvvetlerinde yapılan santrifüjlemelerin yağ dokularda geri dönüşümsüz hasar ve adiposit ölümü oluşturduklarını raporlamışlardır (50). Özer ve Çolak, yağ hazırlanmasında özellikle santrifüjleme kuvvetinin 300 xg altında olması gerektiğini ve alınan yağların en az 10 dakika santrifüjleme öncesinde soğukta dekantasyonda bekletilmesi gerektiğini belirtmişlerdir (51).

Yağ greftinin alıcı sahaya verilmesi de büyük önem taşımaktadır. Coleman'a göre yağ greftinin enjeksiyonu iğne veya kanül geri çekilirken yapılmalı ve her defasında mümkün olduğunca az miktarda ve farklı seviyelere enjekte edilmelidir. Enjeksiyonun hızının artırılması hücresel hasarın artmasına ve greft içerisine immun sistem hücre infiltrasyonunu artırarak greftin rezorbe olmasına neden olur (44). Greft dokusunun yaşayabilmesi için çevre dokuda neovaskülarizasyon oluşması gerekir, bu sebeple greft dokusu ne kadar çok çevre dokuyla temas ederse yağ grefti yaşayabilirliği de o miktarda artar.

2.1.4 Yağ Greftlerinde Sağ Kalım

Yağ grefti uygulamalarının plastik cerrahide popülerlik kazanmasından sonra en önemli sorun, alıcı dokuya verilen yağ miktarının kalıcılığını sürdürmek, resorpsiyonunu önlemek olmuştur. Yağ greftinin yaşayabilirliği, canlı yağ hücre sayısına, alıcı sahanın kanlanma özelliklerine, mikrovasküler yoğunluğa, iskemiye dayanma süresine, ortamdaki inflamasyon tipi ve derecesine, sistemik büyüme faktörleri gibi birçok faktöre bağlıdır (52).

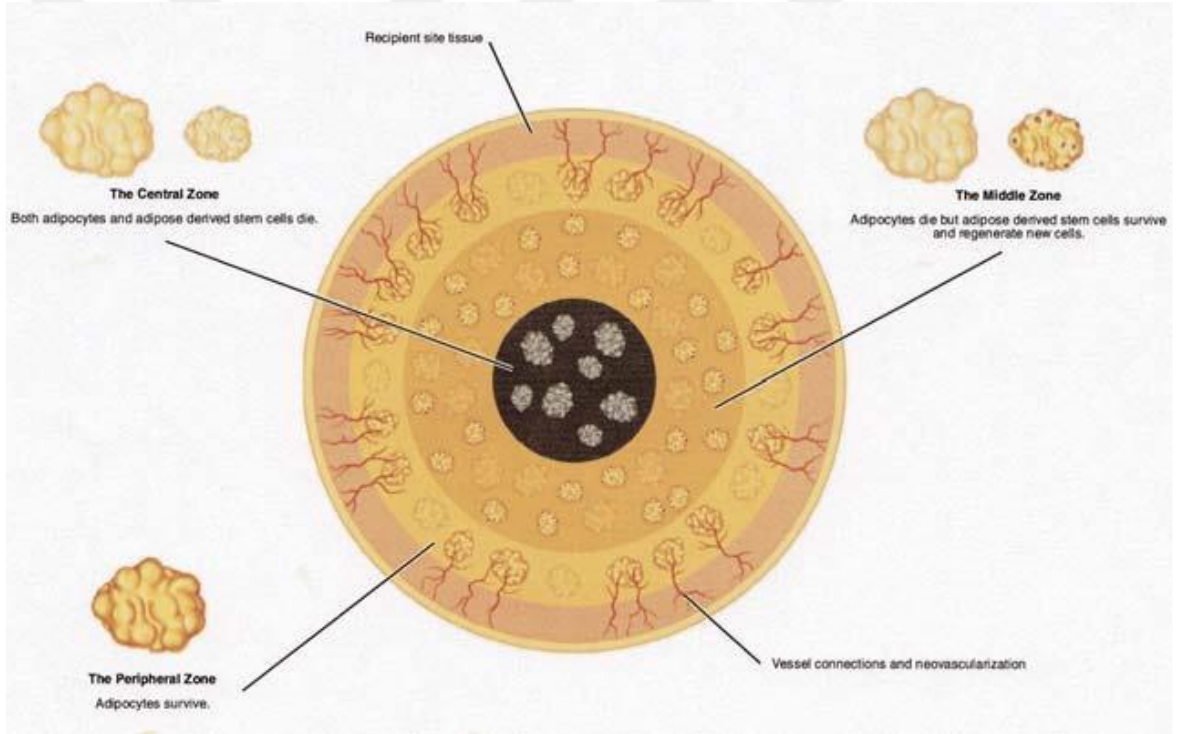
Eto ve ark.'larının yaptığı çalışma adipoz türevi stromal hücrelerin 3 gün boyunca canlı kalmasına rağmen, adipositlerin iskemik koşullar altında ölüme karşı en duyarlı olduklarını ortaya koymuştur (11). Adipositlerin çoğunun ilk 24 saatte öldüğünü sadece alıcı dokunun sınırına 0,03 cm (300 mikron) mesafedeki adipositlerin bazılarının sağ kaldığını göstermişlerdir (11). Öncül hücre sayısının 3. günde anlamlı olarak arttığını ve 7. günde canlı adiposit sayısının belirgin yükseldiğini bildirmişlerdir (11). Bulgular 3. ve 7. günler arasında adipositlerin onarım ve rejenerasyonunun başladığını göstermiştir (11). Çalışma yağ dokunun onarım sırasında dinamik bir rejenerasyon sürecinden geçtiğini ortaya koymuştur. Adipoz kaynaklı kök hücrelerin greftleme sonrası 3. günde başlattığı; 7. günde adipogeneze dönüşen sürecin 3. ayda sona erdiğini göstermiştir (11). Ancak lipid damlacıklarının rezorpsiyonu 9. aya kadar devam ettiğini de gösterilmiştir (53) (Şekil 2).



Şekil 2. In vivo yağ grefti transplantasyon sekansı; doku onarım fazı ilk 3 ayı kapsarken, stabilizasyon fazı 3. ayın sonunda başlar.

Hem öncül ve kök hücrelerin hem de adipositlerin yaşamını yitirdiği greftin santral alanı skar dokusu veya kist formasyonu ile iyileşir (11). Yağ greftinin nihai hacmi replase edilen adiposit miktarıyla ilişkilidir. Eğer greft olarak kullanılan yağ doku yalnızca küçük çaplı yağ damlacıkları içermektedirse rezorpsiyon 3. ayda sona erer ve bu tarihten sonra greftte hacim değişikliği beklenmez (11,51).

Deri greftlerine benzer şekilde yağ greftleri de nakledildikten sonra ilk 4 gün plazmatik imbibisyon ile beslenmektedirler. Yağ greftlerinde aktarımdan 2-4 gün sonra anjiogenezin başladığı gözlenmiştir. Neo-anjiyogenez, dış kısımdan başlar ve santral bölge iskemik kalır (54). Böylece greftte dıştan içe doğru histolojik olarak üç ayrı bölge izlenir (53) (Şekil 3).



Şekil 3. Periferik tabaka: yaşayan tabaka (adipositler ve adipoz kökenli kök hücreleri içerir).

Neo-anjiyogenez greft sağ kalımında kritik rol oynar. Nishimura ve ark., damarlanma olmasına rağmen yağ greftlerinde hacim kaybı olduğunu tespit etmişlerdir (55). Erken dönemdeki yağ doku kaybını iskemi sonucu gelişen nekroza bağlarken, geç dönemdeki hacimsel kayıpları apoptoza bağlı adiposit azalması ile açıklamışlardır (55).

Yağ grefti yaşayabilirliğinde bir diğer sorun ise artmış inflamasyonun etkisidir. İlk günün sonunda yağ greftinde bulunan ve alıcı alanda vasküler yatakla temas etmeyen adipositlerde apoptoz ve nekroz gelişmekte, alanda oluşturulan travmaya sekonder lokal olarak inflamatuvar bir yanıt olmakta (akut inflamasyon), bölgeye göç eden notrofiller, makrofajlarla ve az miktarda lenfositler ile birlikte ölü adipositler fagosit edilmekte ve hücrel debris temizlenmektedir. Inflamatuvar hücre göçünü takip eden sitokin salınımıyla inflamasyon giderek artmakta, bu durum lokal ödem ve intersistiyel sıvı artışına neden olmakta ve bunun sonucu olarak da yağ grefti uygulanan alanda genel bir iskemiye neden olmaktadır (56). Takip eden dönemde parçalanmış adipositlerden açığa çıkan yağ damlacıkları polimorfonükleer lökosit hücrelerince (nötrofil) çevrelenerek yağ vakuollerini ve yağ kistlerini oluşturmaktadırlar. Bu nedenle akut dönemde oluşacak olan inflamasyon miktarının azaltılması, yağ grefti yaşayabilirliğini arttırabilmektedir. Yine yağ grefti yaşayabilirliğini arttırmak için VEGF, PDGF, EGF, IGF gibi büyüme faktörleri ve vaskülarizasyonu arttıracak, inflamasyonu azaltacak plateletten zengin plazma, adiposit kaynaklı kök hücre gibi uygulamalar yapılmış ve bu yöntemlerle yapılan yağ enjeksiyonları sonucunda uygulanan yağ grefti yaşayabilirliğinin artırılabilirdiği gösterilmiştir (51,57–59).

Ayrıca alıcı sahanın işlem öncesinde VEGF uygulanarak, mikroporasyon uygulanarak ve eksternal negatif basınç uygulanarak vaskülaritesi arttırılmış ve sonrasında yağ grefti uygulanmış ve yağ greftinin yaşayabilirliğinde artış olduğu saptanmıştır (60).

2.2 PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA (PZP)

2.2.1 Platelet Fizyolojisi

Tipik bir kan örneğinde şekilli elemanların dağılımı % 93 eritrosit, % 6 platelet ve % 1 oranında lökosit şeklindedir (61). Plateletler, ilk kez Fransız bir uzman olan Alfred Donne tarafından 1842 yılında kanda görülmüştür (13). Bunlar yaşam ömürleri 7 ile 10 gün arasında değişen küçük diskoid hücreler olarak tanımlanmıştır. Yaralanmayı takiben plateletler aktive ve agrege olup inflamatuvar ve iyileşme kaskatlarını uyaran birçok hormon ve granül açığa çıkarmaktadır.

Plateletler, hemostazdan, yeni bağ dokunun oluşturulmasından ve revaskularizasyondan sorumlu olmakla beraber uzun yıllar boyunca araştırmacıların ilgisini çekmiştir.

2.2.2 PZP'nin Tarihçesi

PZP, ilk olarak 1970'li yıllarda hematologlar tarafından trombositopenisi olan hastaya normal plazma seviyesinin üzerinde platelet bulunan plazma transfüzyonu yapılarak tedavi etmeyi amaçlarken tanımlanmıştır (62). Platelet jel adıyla PZP benzeri bir materyal ilk kez 1997 yılında, Whitman ve ark. tarafından titanyum implantların kullanıldığı maksillofasiyal rekonstruksiyon ameliyatlarında kullanılmıştır (63). Ardından Marx ve ark., 1998 yılında yaptıkları karşılaştırmalı çalışmada, mandibular defekt rekonstrüksiyonu için kullandıkları kansellöz kemik greftleri üzerine PZP uygulamışlar ve PZP'nin kemik iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri olduğunu tespit etmişlerdir (64). Bu çalışmada PZP'nin kemiğin yeniden şekillenme hız ve derecesini arttırdığı ve bunu plateletlerden salınan PDGF ve TGF- β aracılığıyla sağladığı bildirilmiştir (64).

2.2.3 PZP'nin Tanımı

PZP, normalin üzerinde bir platelet konsantrasyonu olan otolog kanın plazma fraksiyonunun bir hacmidir (65). Normal platelet sayımı sağlıklı bir bireyde mikrolitre başına 150.000 ve 450.000 arasında değişmektedir. PZP'de ise mikrolitre kanda en az 1.000.000 platelet sağlanması hedeflenerek tanımlanmıştır (65). Yani platelet oranı normal kandaki platelet oranına göre 3 ila 8 kat artmaktadır (61). Yapılan çalışmalarda, elde edilen PZP'nin kandaki platelet konsantrasyonunun minimum 1,3 ila 2 kat, maksimum ise 4 ila 6 kat arasında olması optimum olarak raporlanmakla birlikte, düşük konsantrasyon katlarında suboptimal etki, yüksek konsantrasyon değerlerinde ise inhibisyon etki gösterdiği belirtilmiştir (66–68).

Plateletten zengin plazmada otolog kandan daha fazla miktarda platelet ve büyüme faktörü vardır. Plateletin içeriğindeki transforming büyüme faktörü (TGF)- α 1 ve TGF- α 2, epidermal büyüme faktörü (EGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF-2) ve platelet kaynaklı growth

faktörü (PDGF)'ün 3 izomeri (PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB) gibi birçok büyüme faktörü ve platelet tromboplastin, trombospondin, koagülasyon faktörleri, endostatin, kalsiyum, serotonin, histamin ve hidrolitik enzimleri kullanmayı amaçlayan, son yıllarda kullanımı oldukça yaygınlaşmış bir üründür (69).

Tablo 1. PZP içeriğindeki büyüme faktörleri ve görevleri

Büyüme faktörü	Fonksiyonu
Transforming büyüme faktörü β (TGF- β)	Farklaşmamış mezenkimal hücre proliferasyonunu uyarır.
	Endotelial, fibroblastik ve osteoblastik mitogenezi regüle eder
	Kollojen sentezini ve kollagenaz sekresyonunu regüle eder.
	Diğer büyüme faktörlerinin mitojenik etkisini regüle eder.
	Endotelial kemotaksisi ve angiogenezi stimüle eder.
	Makrofaj ve lenfosit proliferasyonunu inhibe eder.
Fibroblast büyüme faktörü (FGF)	Kondrositlerin ve osteoblastların farklılaşmasını ve büyümesini destekler
	Mezenkimal hücreler, kondrositler ve osteoblastlar için mitojeniktir.
Platelet kaynaklı büyüme faktörü a ve b (PDGF)	Mezenkimal hücreler ve osteoblastlar için mitojeniktir.
	Düz kas, glial ve fibroblast hücrelerinde mitogenezi ve kemotaksisi stimüle eder.
	Kollojen sentezini ve kollagenaz sekresyonunu regüle eder.
	Makrofaj ve nötrofil kemotaksisini stimüle eder.
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	Endotelial kemotaksisi veya angiogenezi stimüle eder.
	Kollojenaz sentezini regüle eder.
	Epitelial veya mezenkimal mitogenezi stimüle eder.
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	Angiogenezi ve damar permeabilitesini artırır
	Endotel hücreleri için mitogenezi stimüle eder.
Konnektif doku büyüme faktörü (CTGF)	Angiogenezi destekler
	Kartilaj rejenerasyonu
	Fibrozis ve platelet adezyonu
İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF 1 ve 2)	Fibroblastlar için kemotaktiktir ve protein sentezini stimüle eder.
	Kemik formasyonunu artırır.
Platelet faktör 4 (PF-4)	Nötrofillerin yaradaki başlangıç etkilerini stimüle eder
	Fibroblastlar için kemosis arttırıcı
İnterlökin 8 (IL-8)	Proinflamatuvar mediatör
	İnflamatuvar hücreleri güçlendirici
Keratinositik growth faktörü (KGF)	Endotelial hücrelerin büyümesini, migrasyonunu, adezyonunu ve sağ kalımını destekler.
	Angiogenesis

PZP, tamamen bio-uyumlu ve güvenilirdir. Endotelial hücrelere diğer kan hücre ürünlerinden daha fazla mitotik etki yapmaktadır. Otolog PZP kullanımı, anjiogenezi stimüle etmekte ve hasarlı dokuların yeniden yapılanmasına yardımcı olmaktadır. Plateletlerin içerisindeki alfa granülleri PDGF, VEGF, TGF ve EGF gibi anjiogenezi stimüle eden, hücre proliferasyonunu, matürasyonunu ve matriks formasyonunu uyaran hücreler içermektedir (70). Ayrıca platelet içinde tromboplastin, trombospondin, koagülasyon faktörleri, endostatin, kalsiyum, serotonin, histamin ve hidroliz enzimlerinde yer almaktadır. Plateletlerde bulunan bu büyüme faktörleri ve sitokinler hücre rejenerasyonunda önemli rol oynarlar (70).

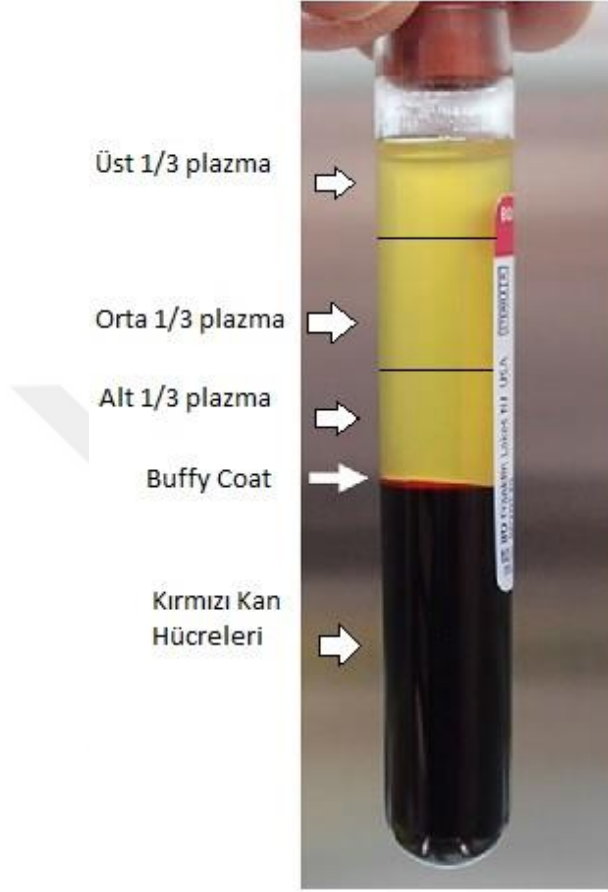
2.2.4 PZP Hazırlanması

PZP hazırlanması üzerine geniş bir aralıkta ve çok değişken şekilde protokoller raporlanmıştır. Bu farklılıklar, değişken biyolojik yanıtların oluşmasına neden olabilmektedir. PZP hazırlanmasına ait uygun değerlerin eldesi konusunda tam bir fikir birliği olmayıp yapılan bazı çalışmalar, ticari olarak kullanılan bazı santrifüj cihazlarının etkinliğini kıyaslamaya yönelik gerçekleştirilmiştir (14).

Çalışmalarda PZP'nin hazırlanması sırasında kullanılan antikoagülasyon solüsyonları karşılaştırılmış ve yapılan santrifüjün hızı ve devir sayısının etkisi araştırılmıştır (68,71). Nitekim herkes tarafından kabul edilen bir standartizasyona ulaşamamıştır. Bunun yanı sıra bir takım araştırmacılar kalsiyum klorid gibi bir takım ajanlarla PZP'nin yağ greftindeki etkisini arttırmayı denemişler ve olumlu raporlamışlardır (72). Fakat kalsiyum ya da trombin gibi aktivatörlerle aktivasyon durumu, başka çalışmalarda etkinliklerinin olmadığı gösterilmiştir ki halen tartışma konusudur (73).

PZP hazırlanması konusunda Ozer ve ark.'larının 2019 yılında yayınlanan çalışmasında en yüksek konsantrasyonda otolog PZP eldesi için kullanılması gereken optimum değerler, donörden alınan kanın sitrat dekstroza-A(ACD-A) içeren tüplere konulması sonrası 5 dakika süre ile 1630 xg ivmelenme kuvvetinde santrifüjlenmesi olarak bulunmuştur (68).

Santrifüjleme işlemi sonrası kırmızı küreler, plateletler ve beyaz küreler; pıhtılaşma faktörlerini içeren plazmadan ayrılır. Plazma bölgesinde tüm



plateletlerin % 90'a yakın bir kısmının alt 1/3 plazma bölgesi ve buffy coat olarak da adlandırılan plazmanın en alt bölgesindeki plazma ve kırmızı küreler arasındaki kesişim bölgesinde toplandığı görülmüştür (74). Böylelikle, PZP hazırlanması esnasında alt 1/3 plazma bölgesi ve buffy coat bölgesinin alınması önerilmiştir (74).

Şekil 4. ACD-A içeren tüplere donörden alınan kanın antrifüj işlemi sonrası görünümü

2.3 İNTERLÖKİN-1 RESEPTÖR ANTAGONİSTİ VE İNFLAMASYON

İnterlökin-1 (IL-1) iki farklı proteinden meydana gelmekte olup bunlar IL-1 α ve IL-1 β 'dir. İkinci kromozom üzerinde iki ayrı gen tarafından meydana getirilen IL-1 α ve IL-1 β 'nin antijenik yapıları farklı olmalarına rağmen biyolojik aktiviteleri ve etkinlikleri aynıdır (75). IL-1 birçok farklı tipte hücre tarafından üretilir, ancak antijen stimülasyonu sırasında ana üretici hücre makrofajdır (75). IL-1'i üreten diğer hücreler, immün sistemin hücreleri (nötrofiller, doğal öldürücü hücreler, B lenfositleri, uyarılmış T lenfositleri), merkezi sinir sisteminin hücreleri (astrositler, mikroglial hücreler), fibroblastlar, Langerhans hücreleri, keratinositler,

vasküler endotel ve düz kas hücreleri ve yaralanmalara cevaben hemen hemen tüm çekirdekli hücrelerdir (75). IL-1'in, yaralanmaya karşı birçok sistemik akut faz yanıtının ana indükleyicisi olduğu ve antijen kaynaklı immünolojik reaksiyonlar, endotoksinler, ultraviyole ışınlama ve mikrobiyal ve viral ajanlar dahil olmak üzere birçok uyarıcıya cevap olarak üretildiği gösterilmiştir (75).

T lenfositlerini uyaran ajanlar, aynı zamanda makrofajları da uyarak IL-1 oluşmasına neden olabilirler. IL-1'in etkili olabilmesi için hücre düzeyinde bulunan reseptörlere bağlanması gerekir. Reseptöre bağlandıktan sonra hücre içinde meydana gelen olayların gelişimi tam olarak bilinmemektedir (75)

IL-1, antijen sunan hücrelerin kapasitesini artırır. B lenfositleri üzerindeki etkileri ile B lenfositlerinin proliferasyonunu, immünglobulin sentezini ve hücre yüzeyinde immünglobulin reseptörlerinin sayısını arttırmaktadır. IL-1, lokal nötrofil infiltrasyonuna, gecikmiş, tipte hücresel hassasiyete, fibroplazi ve anjiyogeneze neden olmaktadır.

IL-1'in derialtı enjeksiyonundan sonra lokal inflamatuvar reaksiyon oluşur ve bu reaksiyon enjeksiyondan bir saat sonra başlar ve 3-4 saatte maksimuma ulaşır. İnflamasyon bölgesinde önce nötrofiller damar boyunca sıralanır ve endotele yapışırlar. Daha sonra nötrofil infiltrasyonu ve dokulara mayi ekstrasvazasyonu oluşur. IL-1'in endotel hücresi üzerine etkisi sonucu ortamda TNF, prostaglandin, IL-6 ve prokoagülan aktivite meydana gelir. Bunun sonucunda lokal inflamasyon ve tromboz oluşur. Düşük dozda IL-1, TNF ile sinerjistik etki göstermektedir. IL-1 ve TNF hipotalamusa etki ederek ateş, hepatositlere etki ederek de akut faz proteinlerin yapılmasına neden olmaktadır.

İnterlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1 Ra), IL-1 ile aynı aileden olup antiinflamatuvar etki gösterir. IL-1 Ra, lokal olarak infeksiyon veya inflamasyonun bulunduğu bölgeden lokal olarak ve hepatositlerden akut faz reaktanı olarak üretilir. IL-1Ra, hedef hücre aktivitesini tetiklemediğinden hem IL-1 α , hem de IL-1 β fonksiyonu bloke olur. IL-1 Ra, nötrofil ve monositler tarafından üretilir. Bu protein IL-1 reseptörü için IL-1 ile yarışarak in vivo ve in vitro IL-1 fonksiyonlarını inhibe eder (76).

2.4 OTOLOG KONDÜSYONEL SERUM (ACS)

2.4.1 ACS Tanımı

Otolog kondüsyonel serum (Autologous Conditioned Serum - ACS), doğal olarak oluşan interlökin-1 (IL-1) inhibitörü olan interlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1 Ra) yönünden zenginleştirilmiş otolog bir kan ürünüdür (21). ACS, IL-1'in patolojik koşullarının önemli bir ajanı olduğu düşünülen koşulları tedavi etmek için lokal olarak uygulanmakta fakat pek popülerize olmayan bir materyal olarak kalmıştır. Bu antagonist piyasada FDA tarafından onay almış ve E. coli üzerinden rekombinant olarak üretilen Kineret® adıyla mevcut olarak pazarlanmaktadır. Bir diğer materyal olan Anakinra® ise metotreksat ile kombine edilerek inflamatuvar durumların tedavisinde ya da osteoartrit dizlerde eklem içi kullanılmaktadır (21).

1990 ortalarında Wehling ve arkadaşları, ucuz ve pratik bir otolog interlökin-1 reseptör antagonisti fikrini tanımladılar (22). Amaç inflamatuvar kaskadın başlamasına ve ilerlemesine sebep olan İnterlökin-1 (IL-1), Tumor Necrosis Factor (TNF) ve IL-6 gibi ana inflamatuvar mediatörlerin baskılanmasını sağlamaktı (77). Klinik olarak ilk kez 1997 yılında kullanıldı. 2001 yılından sonra da Orthokine® adıyla ticarileştirildi. Osteoartrit tedavisinde kullanılan ACS, birkaç çalışma dışında pek popülerize olmadı.

Yapılan çalışmalarda makrofaj ve monositlerin IL-1 Ra açısından en önemli endojen kaynak oldukları tespit edilmiştir (78,79). IL-1 Ra üretimi bazı belli yüzeylere yapışma dahil çeşitli uyarılarla artırılabilir (79). Bu bilgiye dayanarak Meijer ve ark., tam kandan IL-1 Ra üretimini stimüle edecek bir metod geliştirmişlerdir (79).

2.4.2 ACS'nin Hazırlanması

Meijer ve ark.'nın tanımladığı metoda göre periferik venlerden alınan kan, kanda bulunan monosit ve diğer adheziv hücrelerin yapışmasına olanak sağlayan içinde 200'e yakın mini cam küre içeren 2,5 mm çapında tüplere alınır (79). Daha sonra alınan tüpler 37 derecede birkaç saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrası açığa çıkan serum 3500 rpm 10 dakika boyunca santrifüje edilir. Santrifüj sonrası oluşan plazmanın tamamı ACS olarak tanımlanır (79). Meijer ve ark.'nın bu çalışması

sonrası çeşitli ticari kitler piyasaya sunulmuştur (Sanakin®, Orthokine®, Arthrokinex®, gibi).

2.4.3 ACS İçeriğindeki Sitokin ve Büyüme Faktörleri

Tablo 2. ACS içeriğinde bulunan sitokin ve büyüme faktörleri

Sitokin	IL-1ra	IL-1β	IL-6	TNF-α	IL-10	FGFb	VEGF	HGF	IGF1	PDGF AB	TGFβ
Test edilen örnek sayısı	224	224	200	92	92	92	92	92	92	92	80
İnkübasyon öncesi konsantrasyon (pg/ml)											
Basal ^b	236	<3.9	<12.5	<15.6	<7.8	14.6	61	431	86 000	205	1 165
İnkübasyon sonrası konsantrasyon (pg/ml)											
Mean	2 014.8	7.9	28.7	10.1	33.4	26.6	508.6	1 339.3	117 208.8	39 025.6	97 939.0
SD	4 381.1	8.7	48.1	9.6	18.9	20.8	307.7	928.7	51 644.4	10 515.8	113 418.3
Minimum	390.3	1.4	0.9	3.0	4.1	2.8	114.1	691.4	37 430.0	19 601.0	13 067.0
Maximum	31 057.0	48.9	250.2	69.7	105.0	104.5	1 694.0	6 473.0	440 000.0	66 208.0	823 000.0

FGFb = fibroblast growth factor-b; HGF = hepatocyte growth factor; IGF1 = insulin-like growth factor-1; IL = interleukin; PDGF = platelet-derived growth factor; TGFβ = transforming growth factor-β; TNF-α = tumor necrosis factor-α; VEGF = vascular endothelial growth factor.

Kan hücrelerinin stimülasyonu sonrası oluşan ACS, sadece IL-1 Ra içermemekte aynı zamanda birçok farklı büyüme faktörü ve sitokin içermektedir (21) (Tablo 3). Aslında daha önce yapılan çalışmalarda ACS'nin terapötik etkilerinin sadece IL-1 Ra'ya bağlı olup olmadığı gösterilememiştir (21). Wehling ve ark.'ın yaptığı çalışma sonuçları da bunu destekler niteliktedir (22). ACS içeriğinde genel olarak antiinflamatuvar sitokinler bulunmasına karşın bazal değerlerine göre TNF-α ve IL-1 β da yüksek görülmüş fakat diğer antiinflamatuvar sitokinler kadar yükselmediği tespit edilmiştir (21).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulunun izni (Ek-1) alındıktan sonra Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma "Helsinki Deklarasyonu Son Versiyonu"na ve "Klinik Uygulamalar Yönergesi"ne uygun olarak yürütüldü.

Çalışmaya 37 adet, yaşları 2 ile 4 ay arasında değişen ortalama 200-250 g ağırlığındaki erkek, izojenik Sprague-Dawley tipi sıçanlar dahil edildi. Random olarak 3 grup oluşturularak her grupta n=9 olacak şekilde gruplara ayrıldı. Geriye kalan 10 sıçan ise PZP, ACS ve yağ grefti hazırlamak için kullanıldı. Çalışma süresince standart koşullar temin edildi.

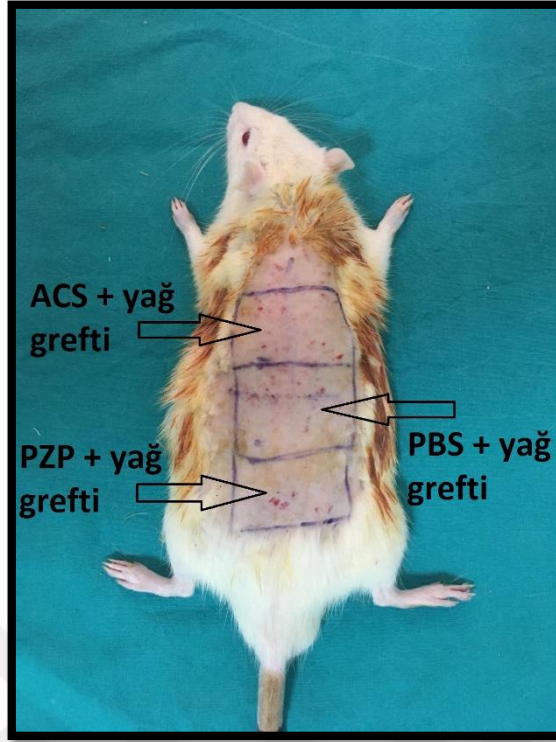
3.1. GRUPLAR

Çalışmaya 37 adet yaşları 2-4 ay arasında değişen ortalama 200-250 gr ağırlığındaki erkek Sprague-Dawley tipi sıçanlar dahil edildi. Random olarak 3 grup oluşturuldu ve her grupta n=9 olacak şekilde ayarlandı. Geriye kalan 10 sıçan ise izojenik kabul edildiğinden Plateletten Zengin Plazma (PZP), Otolog Kondüsyonel Serum (ACS) ve yağ grefti hazırlamak için kullanıldı. Kontrol grubu için kullanılacak fosfat tamponlu salin(PBS) biyokimya bölümünden temin edildi.

3.2. DENEY PLANI

Sıçanlar 3 gruba ayrıldıktan sonra sıçan sırtları traşlanarak üç eşit bölgeye ayrıldı. Üst kadrana hazırlanan 0,7 cc yağ grefti ile 0,2 cc ACS enjekte edildi. Kontrol grubu olarak planlanan orta kadrana 0,7 cc yağ grefti ile 0,2 cc PBS enjekte edildi. Alt kadrana ise 0,7 cc yağ grefti ile 0,2 cc PZP enjekte edildi. 3 gruba ayrılan tüm sıçanlara aynı işlem uygulandı (Şekil 5 - 6).

Grup 1'deki deneklere postoperatif 4. haftada, grup 2'deki deneklere postoperatif 12. haftada, grup 3'teki deneklere postoperatif 20. haftada sakrifikasyon planı yapıldı. Böylelikle erken, orta ve geç dönem yağ grefti kalıcılığı saptanması planlandı.



Şekil 6. Sıçan Sırtındaki Enjeksiyon Planı.

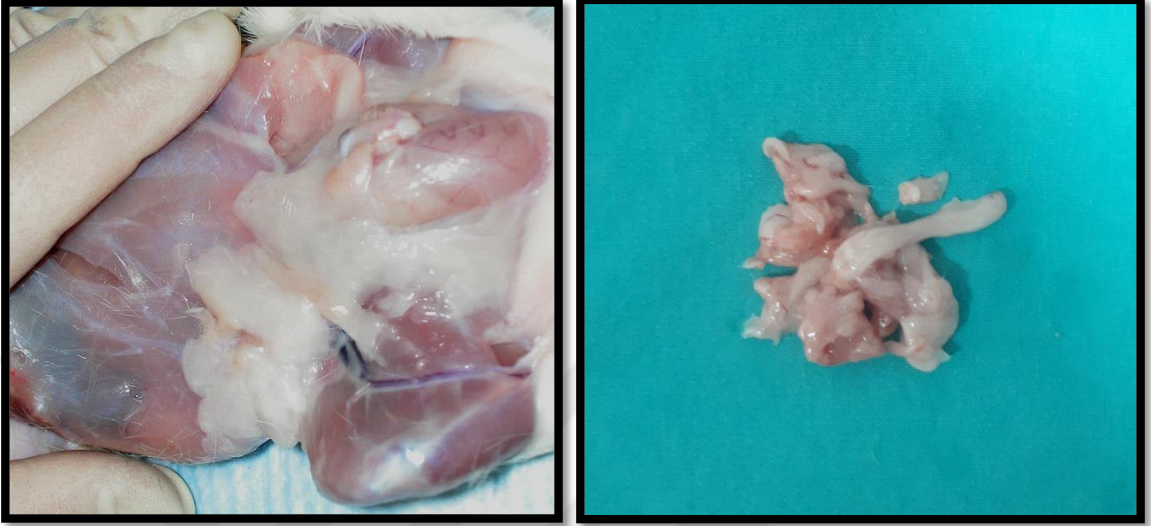


Şekil 5. Enjeksiyon Sonrası Lateral Görünüm

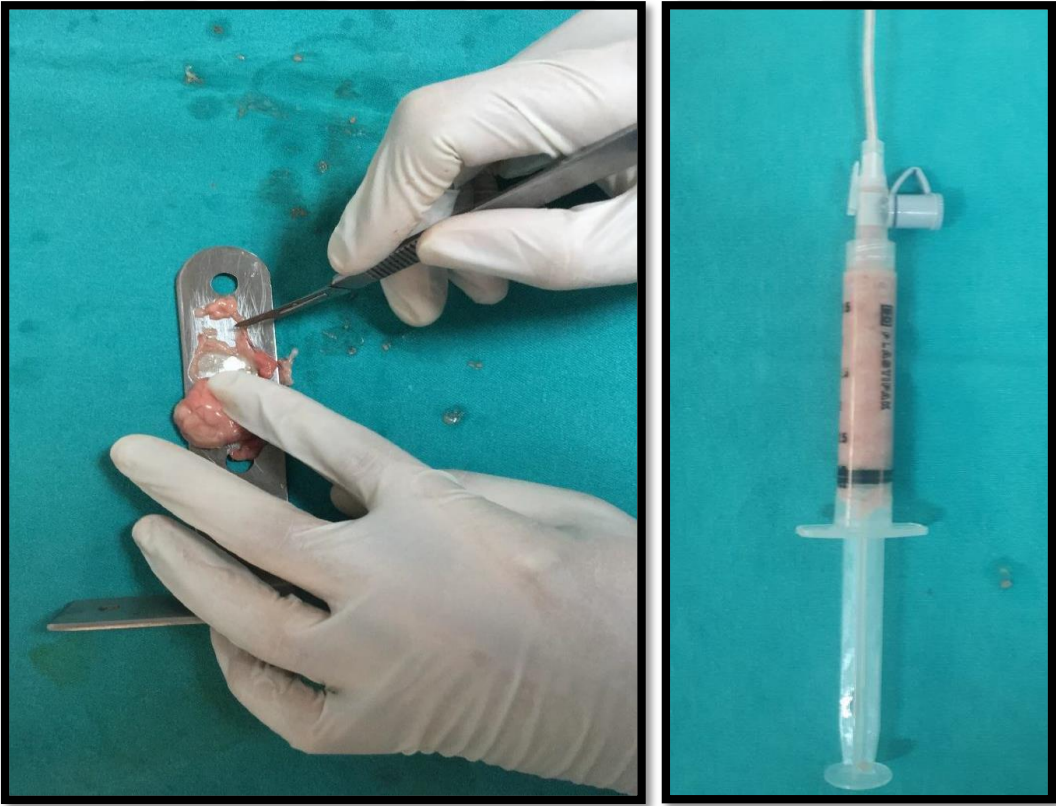
3.2.1 Yağ Greftinin Hazırlanması

Yağ grefti, sıçanlar izojenik kabul edildiğinden çalışmaya dahil edilmeyecek olan 10 adet sıçandan hazırlandı. Bütün sıçanlara hazırlanan yağ grefti, deneyin başlangıç gününde taze olarak 10 adet sıçanın her bir groin bölgesinden alınan yaklaşık 1,5 ml yağ yastıkçığından alındı (Şekil 7). Her bir

sıçandan elde edilen yağ dokusu, 10 ml fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ile yoğun bir şekilde yıkanıp, tüm boyutları 1 mm'den küçük parçalara kesilerek bir macun haline getirildi (Şekil 8).



Şekil 7. Sıçanda inguinal yağ yastığı ekspozürü (sol) ve alınan yağ yastığının görüntüsü (sağ)

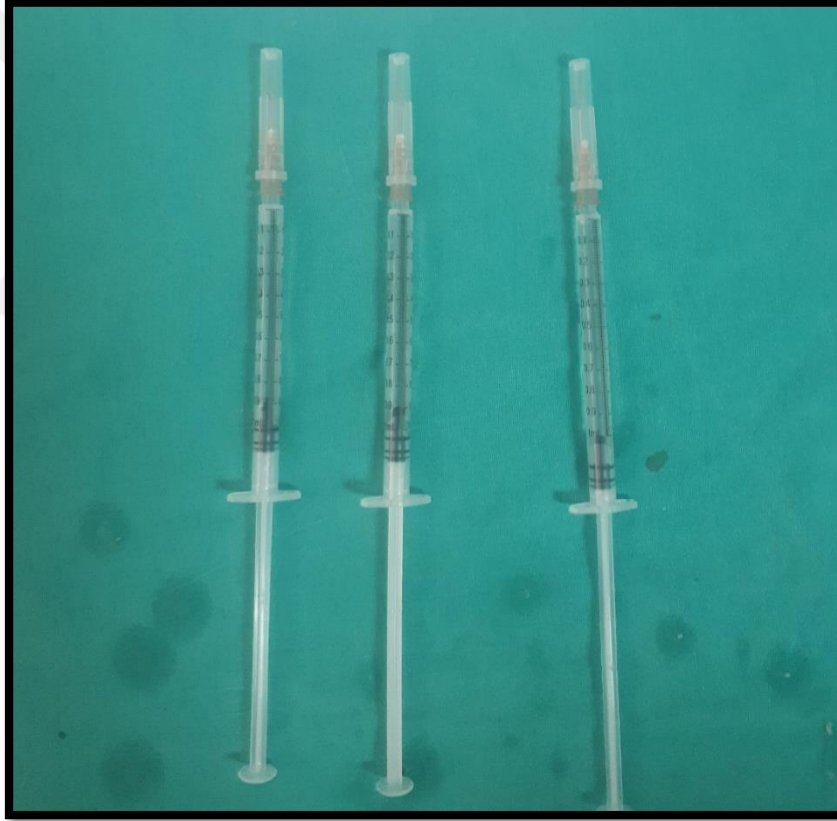


Şekil 8. İnguinal bölgeden alınan yağ yastığından yağ grefti hazırlanması ve enjeksiyona hazır hale getirilmesi

3.2.2 PZP Hazırlanması ve Uygulanması

Ozer ve ark.'nın yayınladığı çalışmaya göre otolog PZP elde edilmiştir (68,74). PZP, sıçanlar izojenik kabul edildiğinden çalışmaya dahil edilmeyecek inguinal yağ yastıkçıları alınan sıçanlardan hazırlandı. 5 adet sıçanın intrakardiyak olarak tüm kanı alınarak (ortalama 8-10 ml/sıçan) 0.6 ml asit sitrat dekstroze (ACD-A) içeren 6 ml. lik tüplere konularak (Asit sitrat dekstroze/tam kan oranı 1/9 olacak şekilde) 1630 RCF değerinde 5 dk santrifüj edilip buffy coat bölgesi ile plazmanın alt 1/3 kısmı alınarak PZP eldesi sağlandı.

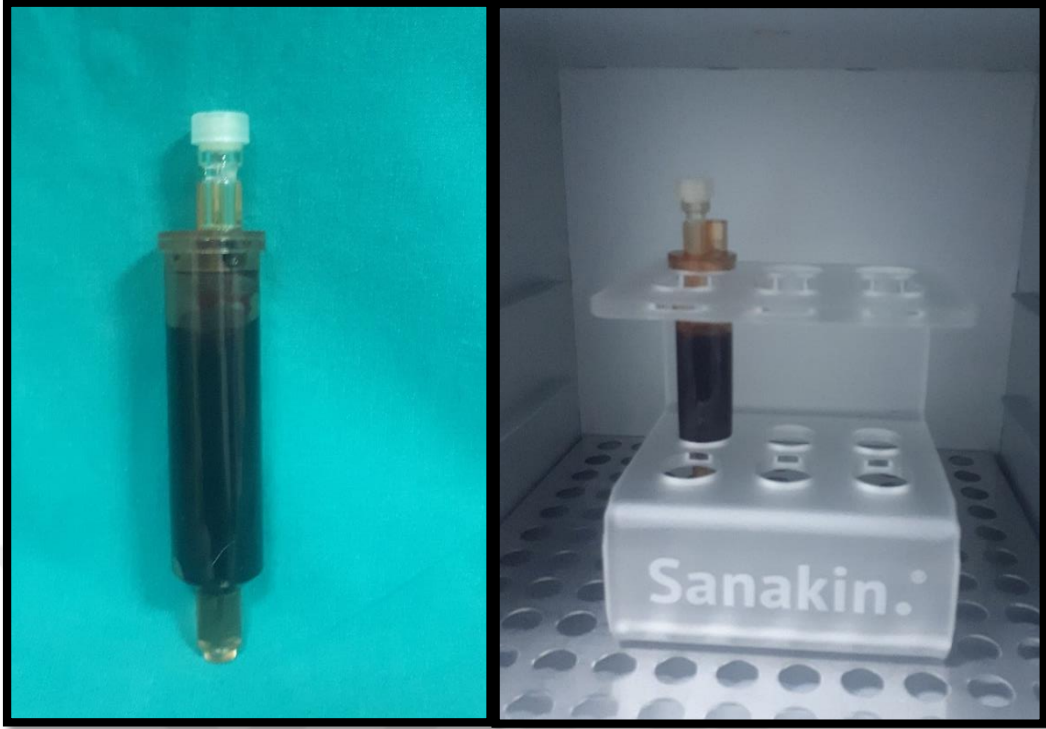
Her sıçanın sırt bölgesi alt kadranına toplam 0,9 cc olacak şekilde hazırlanan 0,2 cc PZP, sıçanın groin bölgesinden hazırlanan 0,7 cc yağ grefti ile karıştırılarak enjekte edildi.



Şekil 9. Sıçan kanından Hazırlanan PZP örnekleri

3.2.3 ACS Hazırlanması ve Uygulanması

ACS, sıçanlar izojenik kabul edildiğinden çalışmaya dahil edilmeyecek inguinal yağ yastıkçığı alınan sıçanlardan hazırlandı. 5 adet sıçanın intrakardiyak



Şekil 10. Mikroküreler içeren ACS tüpüne (Sanakin®) alınmış sıçan kanı (sol) ve inkübasyon sürecindeki sıçan kanı görünümü (sağ)



Şekil 11. Santrifüj işlemi sonrası oluşan serum ve eritrosit çözeltisi (sol) ve elde edilen ACS (sağ)

olarak tüm kanı alınarak (ortalama 8-10 ml/sıçan) 10 ml'lik 200'e yakın mikroküre içeren 2,5 mm çapında tüplere (Sanakin®) alındı (Şekil 10). Tüpler üç defa döndürüldükten sonra 37 derecede 3 saat 15 dk boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süreci tamamlanınca 4000 rpm değerinde 5 dakika süre ile santrifüj uygulandı. Santrifüj sonrası elde edilen serumun tümü başka bir enjektöre alınarak ACS eldesi sağlandı (Şekil 11).

Her sıçanın sırt bölgesi alt kadrana toplam 0,9 cc olacak şekilde, hazırlanan 0,2 cc ACS, sıçanın groin bölgesinden hazırlanan 0,7 cc yağ grefti ile karıştırılarak enjekte edildi.

3.4 RADYOLOJİK İNCELEME

Her şişlik bölgesinin yükseklik, genişlik ve uzunluğu ve hacimleri



Şekil 12. Enjeksiyon sonrası Bilgisayarlı Tomografi görüntülerinin alınması

yoğunluğu belirlemek amacıyla analiz edildi.

başlangıçta ve grupların ötenazi tarihlerinden önce BT görüntüleme ile ölçüldü ve karşılaştırmalar yapıldı. Greftlerin in vivo bilgisayarlı tomografi (BT) taramaları başlangıçta (postoperatif 2. gün) ve ötenazi öncesi gerçekleştirildi (Şekil 12). Taramalar, 55 kV'lık X-ışını tüp voltajı ve 450 uA'lık bir tüp akımı ile bir yüksek çözünürlüklü, ince kesit BT ile yapıldı. Hacimler, 4 mm'lik bir ilgi bölgesi içindeki vokseller arasındaki ortalama

3.5 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Her grubun belirlenen sürelerinin sonunda dijital fotograflama ve radyolojik görüntülemeleri ile alan hesaplamalarından sonra, sırt bölgesi en-bloc şeklinde ayrılarak % 10 formalin içine konuldu. İnceleme için, parafine gömmeden sonra üç dolgu bölgesinden örnekler alındı. Tüm slaytlar yumuşak doku patolojisinde uzmanlaşmış bir kör patolog tarafından gözden geçirildi. Hematoksilen-Eozin boyama sonrasında, neovaskülarizasyon miktarı ve doğası tespit edilerek, papiller dermal tabakada bulunan vasküler yapıların sayısı bulundu. Dokularda oluşan inflamasyon yüzdesi, fibrozis miktarı ve yabancı cisim reaksiyonu tespit edildi. Yağ nekrozu yüzdesi, bölümdeki toplam alana kıyasla, lipofajları (köpük hücreler ve dudaklı yüklü makrofajlar olarak da bilinir) içeren toplam yağ dokusunun yüzdesi olarak hesaplandı.

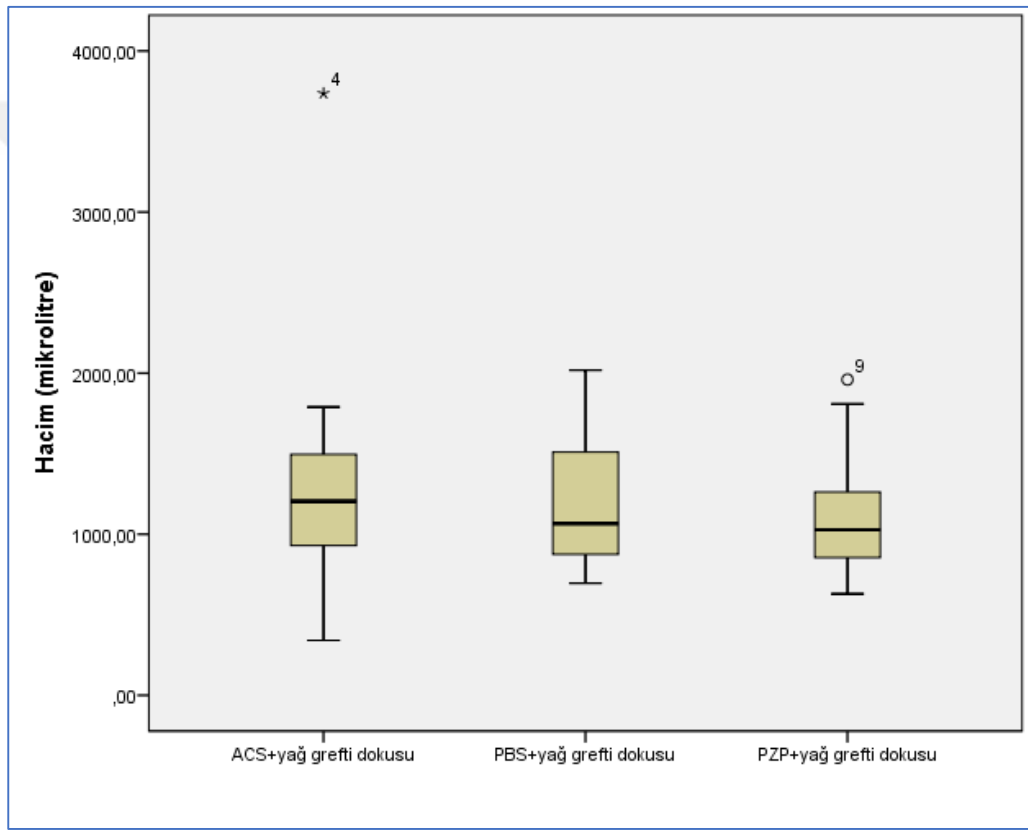
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS(Statistical Package for the Social Sciences) Paket Program 20.0 sürümü ile analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Değişkenlerin analizinde Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Post Hoc Testi kullanıldı.

İstatistiki anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Deneklerin sırt bölgelerine yerleştirilen kombine yağ greftlerinin hacim ölçümlerine erken ve geç postoperatif dönemde bakıldı. Erken postoperatif dönem operasyon sonrası sıfırıncı günü temsil ederken, geç postoperatif dönem grupların sakrifikasyon gününü (postoperatif 1.ay, 3.ay ve 5.ay) temsil etmektedir. Ölçümler, “Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (SD)” şeklinde, minimum ve maksimum değerler ile birlikte verildi.



Grafik 1. Erken postoperatif dönem grupların interquartik karşılaştırılması. Veriler minimum değer 25 persentil, 50.persentil, 75.persentil ve maksimum değer olarak verilmiştir. Erken postoperatif dönem, üç grup için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı bulunmuştur. ($p > 0,05$; ANOVA testi, $F = 1,405$)

Erken postoperatif dönemde, tüm deneklerin hacim ölçümleri ortalamaları karşılaştırıldığında [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum - Maksimum) olarak verilmiştir], ACS + yağ grefti grubu $1287,517 \pm 599,298$ (341,00 – 3737,00) olarak bulundu. PBS + yağ grefti grubu $1193,714 \pm 369,629$ (696,00 – 2018,00) olarak bulunurken PZP + yağ grefti grubu $1087,785 \pm 318,907$ (630 – 1960,00)

olarak bulunmuştur. Üç grup incelendiğinde (Grafik 1), varyansların homojen dağıldığı ($p > 0,05$; Levene testi, $F = 1,376$) ve dağılımın normal dağılımdan farklılığı anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Shapiro - Wilk normallik testi). Bu testlerin sonuçlarına dayanılarak ANOVA testi uygulandı. Erken postoperatif dönem üç grup için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$; ANOVA testi, $F = 1,405$).

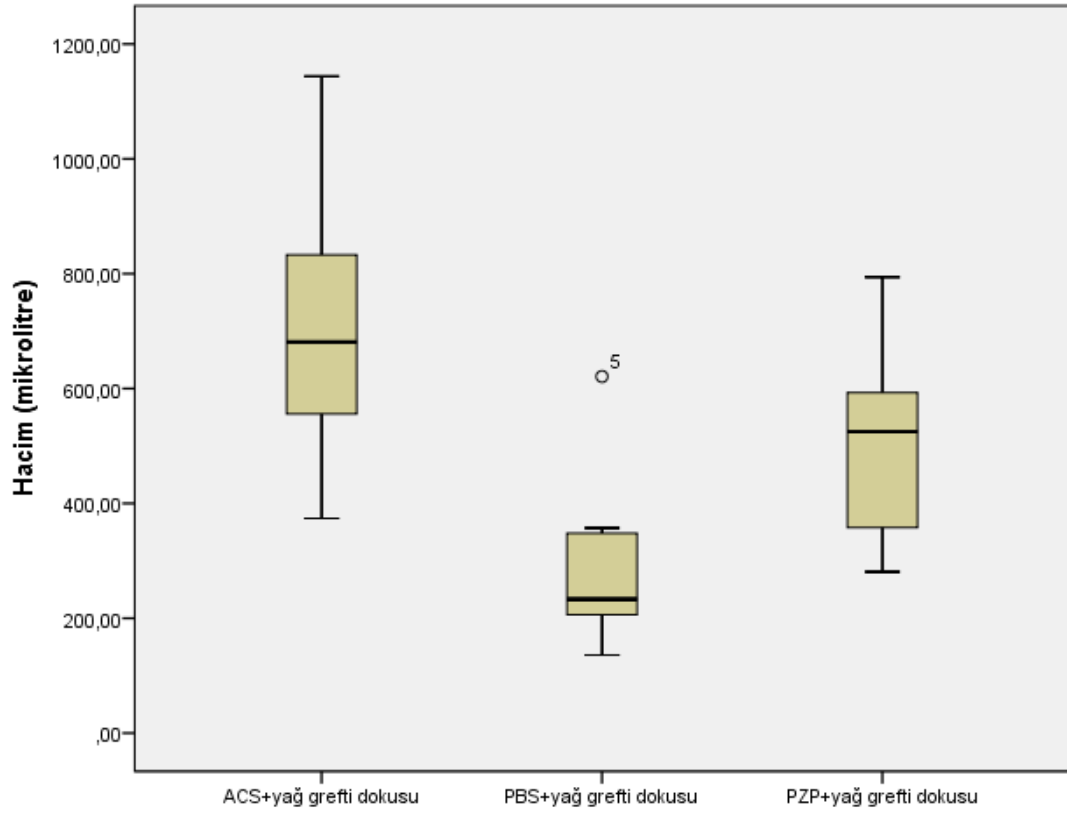
Postoperatif 1.ay döneminde, tüm deneklerin hacim ölçümleri (Tablo 3) ortalamaları karşılaştırıldığında [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum - Maksimum) olarak verilmiştir], ACS + yağ grefti grubu $677,222 \pm 243,594$ ($374,00 - 1144,00$) olarak bulundu. PBS + yağ grefti grubu $289,111 \pm 143,316$ ($136,00 - 621,00$) olarak bulunurken PZP + yağ grefti grubu $494,925 \pm 245,721$ ($136,00 - 1144,00$) olarak bulunmuştur.

Üç grup incelendiğinde (Grafik 2), varyansların homojen dağıldığı ($p > 0,05$; Levene testi, $F(3,104) = 1,065$) ve dağılımın normal dağılımdan farklılığı anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Shapiro- Wilk normallik testi). Bu testlerin sonuçlarına dayanılarak ANOVA testi uygulandı. Postoperatif 1.ay döneminde üç grup için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$; ANOVA testi, $F = 9,297$).

Postoperatif 1. ay dönemi incelendiğinde, ACS + yağ grefti grubu ve PBS + yağ grefti grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olarak izlenmiştir ($p < 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=4000$). Postoperatif 1.ay ACS + yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu karşılaştırıldığında ise aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=23000$). PBS + yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu ikili kıyaslamaları incelendiğinde aradaki farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=10000$).

Tablo 3. 1.ayda sakrifiye edilen sıçanların bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerleri

	Verilen Hacim(μl)	Erken Postoperatif Ölçülen Hacim(μl)	Geç Postoperatif Ölçülen Hacim(μl)
ACS + yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	1790,20	589,29
Sıçan no.2	900,00	3736,59	700,87
Sıçan no.3	900,00	1494,40	681,34
Sıçan no.4	900,00	1191,14	833,04
Sıçan no.5	900,00	1493,64	1143,95
Sıçan no.6	900,00	1311,88	376,12
Sıçan no.7	900,00	918,70	373,92
Sıçan no.8	900,00	1076,06	840,53
Sıçan no.9	900,00	1383,64	556,26
PBS+ yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	1353,49	277,83
Sıçan no.2	900,00	1678,19	620,93
Sıçan no.3	900,00	1882,88	205,68
Sıçan no.4	900,00	1483,36	356,85
Sıçan no.5	900,00	1343,28	225,52
Sıçan no.6	900,00	1540,04	196,51
Sıçan no.7	900,00	1055,48	136,17
Sıçan no.8	900,00	1063,42	232,72
Sıçan no.9	900,00	1058,08	348,36
PZP + yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	1266,1362	354,51882
Sıçan no.2	900,00	1808,8785	593,03895
Sıçan no.3	900,00	1959,831	525,11976
Sıçan no.4	900,00	784,7168	589,22752
Sıçan no.5	900,00	760,5336	442,338
Sıçan no.6	900,00	1300,1592	281,232
Sıçan no.7	900,00	846,16956	794,08512
Sıçan no.8	900,00	838,9092	728,6625
Sıçan no.9	900,00	662,3724	357,84

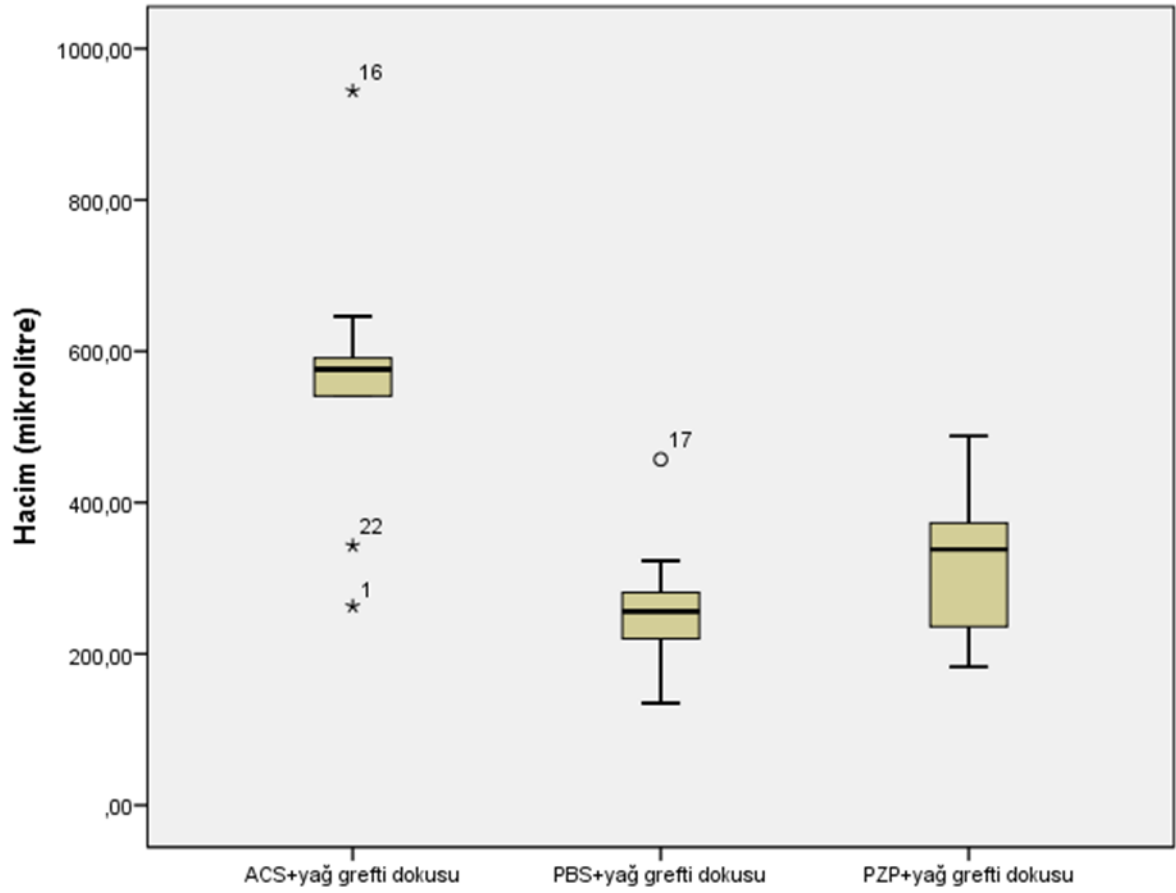


Grafik 2. Erken postoperatif dönem grupların interkuartil karşılaştırılması. Veriler minimum değer, 25. persentil, 50. persentil, 75. persentil ve maksimum değer olarak verilmiştir. Üç grup incelendiğinde, postoperatif 1. ay dönemi için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$; ANOVA testi, $F = 9,297$).

Postoperatif 3. ay dönemi verileri incelendiğinde (Tablo 4) [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum - Maksimum) olarak verilmiştir], ACS + yağ grefti grubu $558,666 \pm 191,219$ (263,00 – 944,00) olarak bulundu. PBS + yağ grefti grubu $262,777 \pm 90,641$ (135,00 – 457,00) olarak bulunurken PZP + yağ grefti grubu $327,222 \pm 105,554$ (183,00 – 488,00) olarak bulunmuştur. Üç grup incelendiğinde (Grafik 3), varyansların homojen dağıldığı ($p > 0,05$; Levene testi, $F(3,104) = 898$) ve dağılımın normal dağılımdan farklılığı anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Shapiro- Wilk normallik testi). Bu testlerin sonuçlarına dayanılarak ANOVA testi uygulandı. Postoperatif 3. ay döneminde üç grup için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur. ($p < 0,001$; ANOVA testi, $F = 11,690$).

Tablo 4. 3. ayda sakrifiye edilen sıçanların bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerleri

	Verilen Hacim(μl)	Erken Postoperatif Ölçülen Hacim(μl)	Geç Postoperatif Ölçülen Hacim(μl)
ACS + yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	1157	263
Sıçan no.2	900,00	1684	541
Sıçan no.3	900,00	1594	591
Sıçan no.4	900,00	1498	646
Sıçan no.5	900,00	1784	576
Sıçan no.6	900,00	1630	944
Sıçan no.7	900,00	1012	542
Sıçan no.8	900,00	1167	343
Sıçan no.9	900,00	1252	582
PBS+ yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	1388	135
Sıçan no.2	900,00	1617	281
Sıçan no.3	900,00	2018	232
Sıçan no.4	900,00	778	220
Sıçan no.5	900,00	707	193
Sıçan no.6	900,00	1555	457
Sıçan no.7	900,00	1228	268
Sıçan no.8	900,00	1537	256
Sıçan no.9	900,00	1327	323
PZP + yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	1257	192
Sıçan no.2	900,00	1494	338
Sıçan no.3	900,00	1199	236
Sıçan no.4	900,00	1398	370
Sıçan no.5	900,00	1255	436
Sıçan no.6	900,00	1021	488
Sıçan no.7	900,00	1356	373
Sıçan no.8	900,00	996	183
Sıçan no.9	900,00	1090	329



Grafik 3. Orta postoperatif dönem grupların interquartik karşılaştırılması. Veriler minimum değer, 25. persentil, 50.persentil, 75.persentil ve maksimum değer olarak verilmiştir. Üç grup incelendiğinde, postoperatif 3.ay dönemi için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$; ANOVA testi, $F = 11,690$).

Postoperatif 3. ay dönemi incelendiğinde, ACS + yağ grefti grubu ve PBS + yağ grefti grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olarak izlenmiştir ($p < 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=5000$). Postoperatif 3.ay ACS + yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu karşılaştırıldığında ise aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olarak izlenmiştir ($p < 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=10000$). PBS + yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu ikili kıyaslamaları incelendiğinde aradaki farkın anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=26000$).

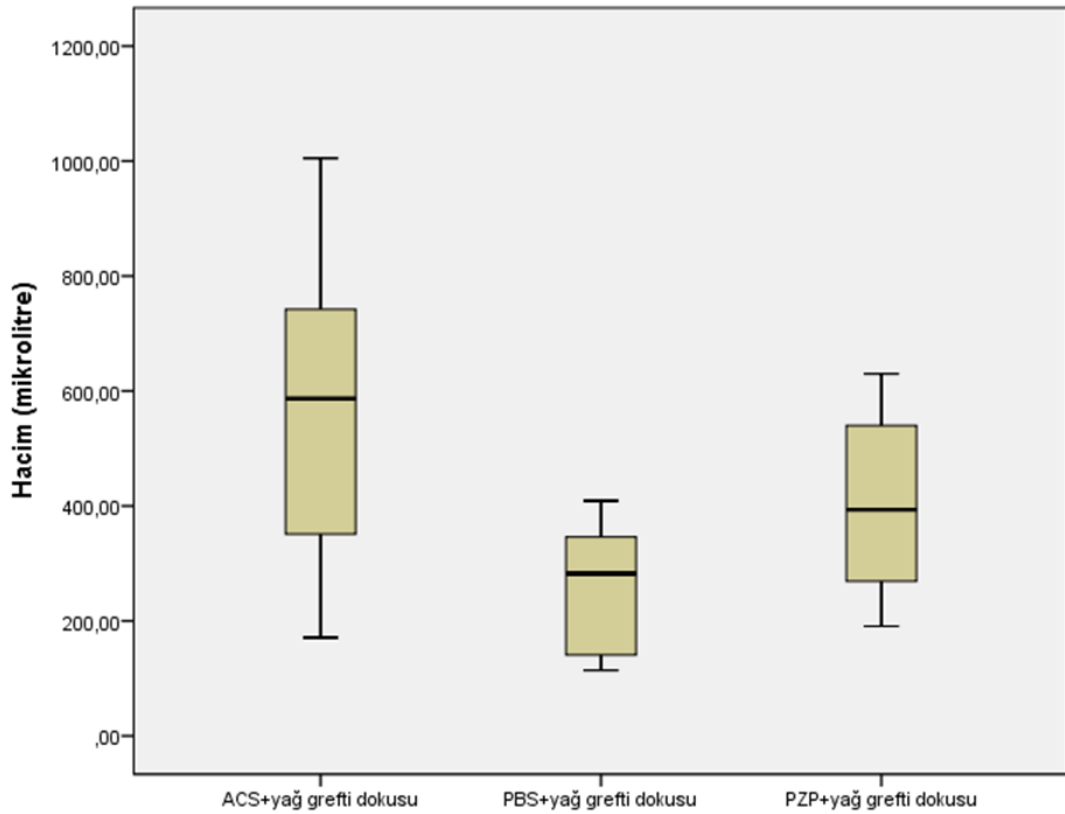
Postoperatif 5.ay döneminde, tüm deneklerin hacim ölçümleri (Tablo 6) ortalamaları karşılaştırıldığında [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum - Maksimum) olarak verilmiştir], ACS + yağ grefti grubu $576,300 \pm 276,235$ (171,00

– 1005,00) olarak bulundu. PBS + yağ grefti grubu $265,400 \pm 107,229$ (114,00 – 409,00) olarak bulunurken PZP + yağ grefti grubu $391,100 \pm 156,532$ (191,00 – 630,00) olarak bulunmuştur.

Tablo 5. 5.ayda sakrifiye edilen sıçanların bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerleri

	Verilen Hacim(μl)	Erken Postoperatif Ölçülen Hacim(μl)	Geç Postoperatif Ölçülen Hacim(μl)
ACS + yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	1370	351
Sıçan no.2	900,00	1079	716
Sıçan no.3	900,00	810	742
Sıçan no.4	900,00	1217	171
Sıçan no.5	900,00	873	509
Sıçan no.6	900,00	608	324
Sıçan no.7	900,00	941	941
Sıçan no.8	900,00	920	341
Sıçan no.9	900,00	719	665
PBS+ yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	1045	216
Sıçan no.2	900,00	887	346
Sıçan no.3	900,00	820	281
Sıçan no.4	900,00	954	141
Sıçan no.5	900,00	864	114
Sıçan no.6	900,00	901	139
Sıçan no.7	900,00	1069	409
Sıçan no.8	900,00	804	284
Sıçan no.9	900,00	773	346
PZP + yağ grefti grubu			
Sıçan no.1	900,00	999	269
Sıçan no.2	900,00	900	451
Sıçan no.3	900,00	940	377
Sıçan no.4	900,00	1035	410
Sıçan no.5	900,00	1048	191
Sıçan no.6	900,00	982	198
Sıçan no.7	900,00	1040	569
Sıçan no.8	900,00	727	276
Sıçan no.9	900,00	630	630

Üç grup incelendiğinde (Grafik 4), varyansların homojen dağılmadığı görüldü ($p < 0,05$; Levene testi, $F(3,104) = 6,748$). Fakat dağılımın normal dağılımdan farklılığı anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Shapiro-Wilk normallik testi). Bu testlerin sonuçlarına dayanılarak Kruskal Wallis-H testi uygulandı. Postoperatif 5. ay döneminde üç grup için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$; Kruskal Wallis-H testi).

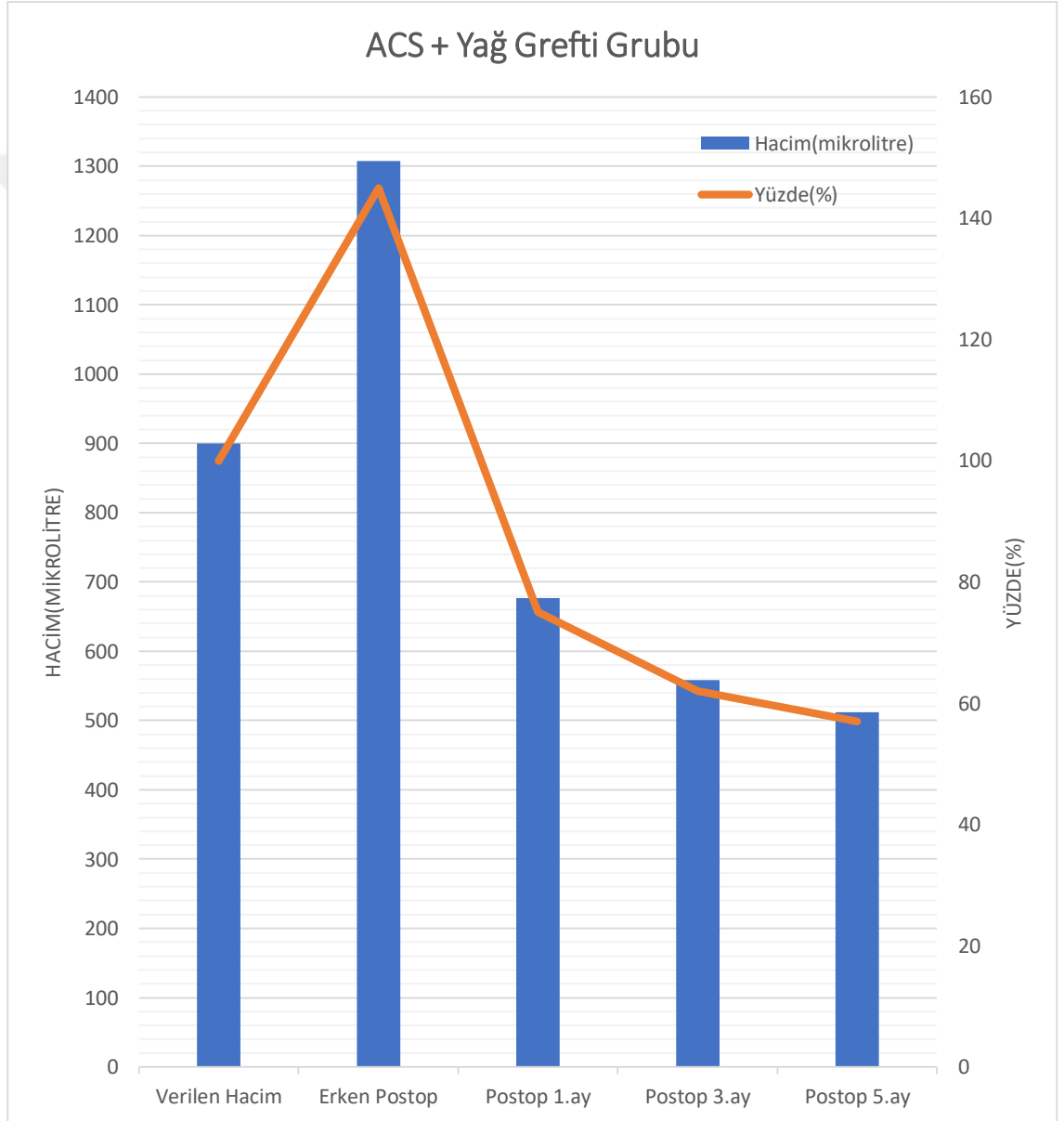


Grafik 4. Geç postoperatif dönem grupların interquartil karşılaştırılması. Veriler minimum değer, 25. persentil, 50. persentil, 75. persentil ve maksimum değer olarak verilmiştir. Üç grup incelendiğinde, postoperatif 5. ay dönemi için karşılaştırmalar yapıldığında farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$; Kruskal Wallis-H testi).

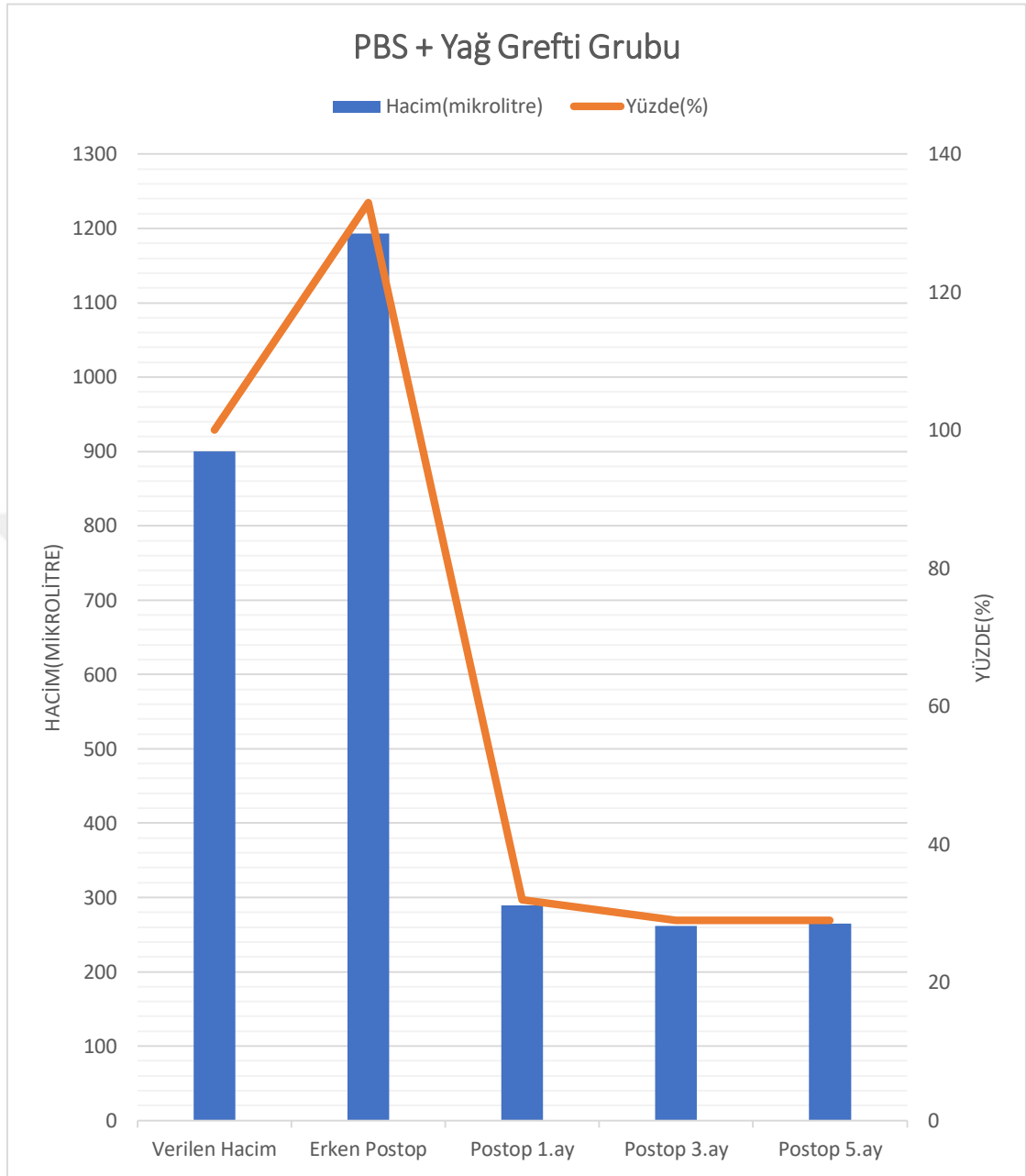
Postoperatif 5. ay dönemi incelendiğinde, ACS + yağ grefti grubu ve PBS + yağ grefti grubu kendi aralarında karşılaştırıldığında, aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olarak izlenmiştir ($p < 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=19000$). Postoperatif 5. ay ACS + yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu karşılaştırıldığında ise aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı

bulunmuştur ($p>0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=37000$). PBS + yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu ikili kıyaslamaları incelendiğinde aradaki farkın anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=28000$).

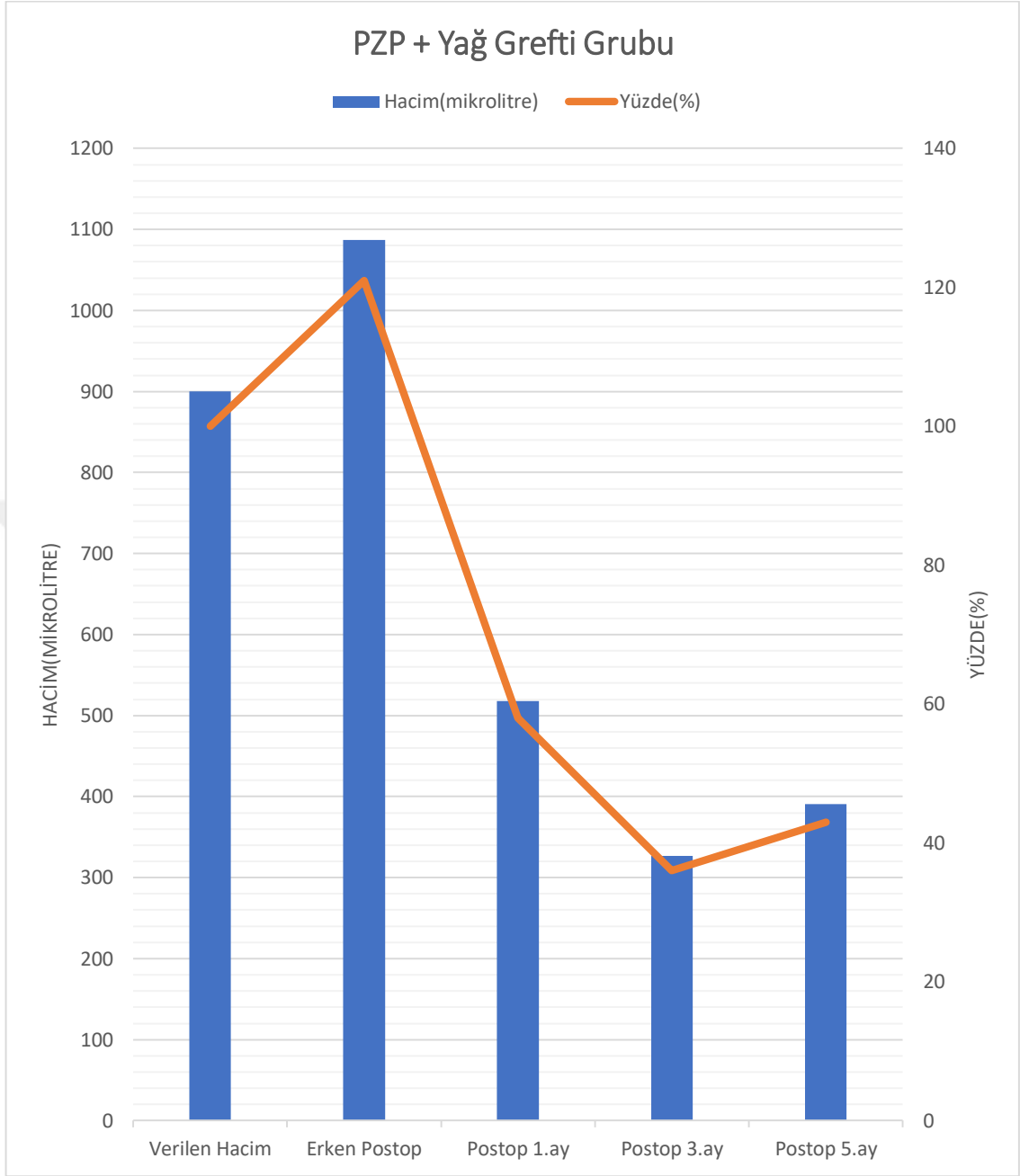
Grafik 5, Grafik 6, Grafik 7, Grafik 8 ve Grafik 9’da ACS + yağ grefti grubu, PBS + yağ grefti grubu ve PZP + yağ grefti grubunun erken postoperatif ve geç postoperatif dönemdeki değişimleri verilmiştir.



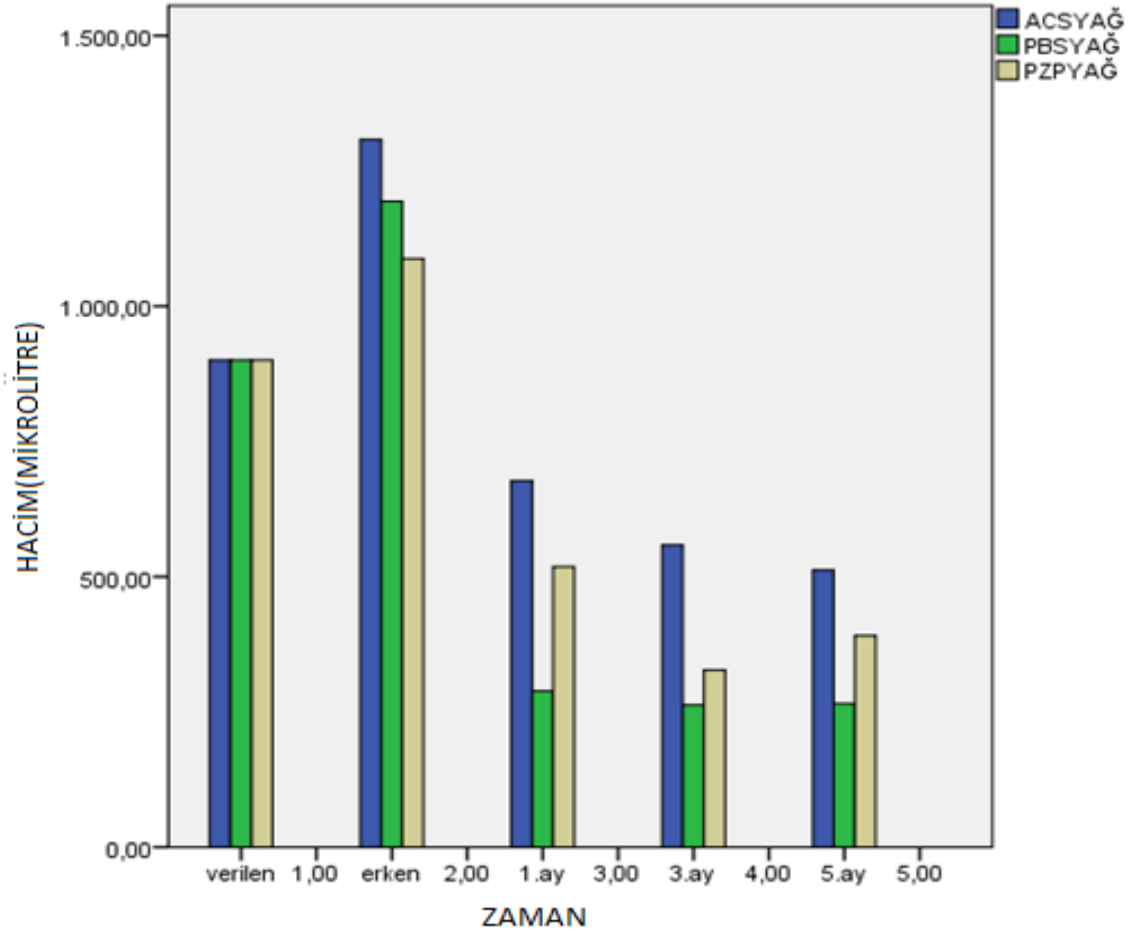
Grafik 5. ACS + yağ grefti grubunda verilen hacim (900 mikrolitre) sonrasında, erken postoperatif, geç postoperatif 1.ay, 3.ay ve 5.ay bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerlerinin karşılaştırılması (Mavi çubuk ile gösterilmiştir). Turuncu çizgi grafi ile ilk verilen hacme göre yüzdelik değişim gösterilmiştir.



Grafik 6. PBS + yağ grefti grubunda verilen hacim (900 mikrolitre) sonrasında, erken postoperatif, geç postoperatif 1.ay, 3.ay ve 5.ay bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerlerinin karşılaştırılması (Mavi çubuk ile gösterilmiştir). Turuncu çizgi grafi ile ilk verilen hacme göre yüzdelik değişim gösterilmiştir.



Grafik 7. PZP + yağ grefti grubunda verilen hacim (900 mikrolitre) sonrasında, erken postoperatif, geç postoperatif 1.ay, 3.ay ve 5.ay bilgisayarlı tomografi yardımı ile ölçülen hacim değerlerinin karşılaştırılması (Mavi çubuk ile gösterilmiştir). Turuncu çizgi grafi ile ilk verilen hacme göre yüzdelik değişim gösterilmiştir.



Grafik 8. Grupların zaman içerisindeki hacim değişimi

Tüm grupların aylara göre değişimi, ilk verilen hacim 900 mikrolitre bazal olarak alındığında hacimlerin yüzde hesaplamaları yapılmış ve Grafik 8'deki çizgi grafik elde edilmiştir. Erken postoperatif dönemde ACS + yağ grefti grubu hacim yükselmesi ortalama % 145 olup en yüksek durumdadır. PBS + yağ grefti grubunda % 133, PZP + yağ grefti grubunda ise % 121 olarak izlenmiştir. Yaklaşık 1 ay sonraki hacim yüzde ölçümlerinde, tüm gruplarda oranın % 100'ün altına düştüğü ve PBS + yağ grefti grubundaki düşüşün daha fazla olduğu izlenmiştir. Grafik 8'de görüldüğü üzere ACS + yağ grefti grubu ve PZP + yağ grefti grubunun aylar içerisinde azaldığı fakat ACS + yağ grefti grubu yüzdesinin diğer gruplara oranla daha fazla hacim yüzdesine sahip olduğu görülmektedir.



Grafik 9. Grupların aylara göre ilk verilen hacme oranlarının hesaplandığı yüzde değişimlerinin çizgi grafikte gösterimi

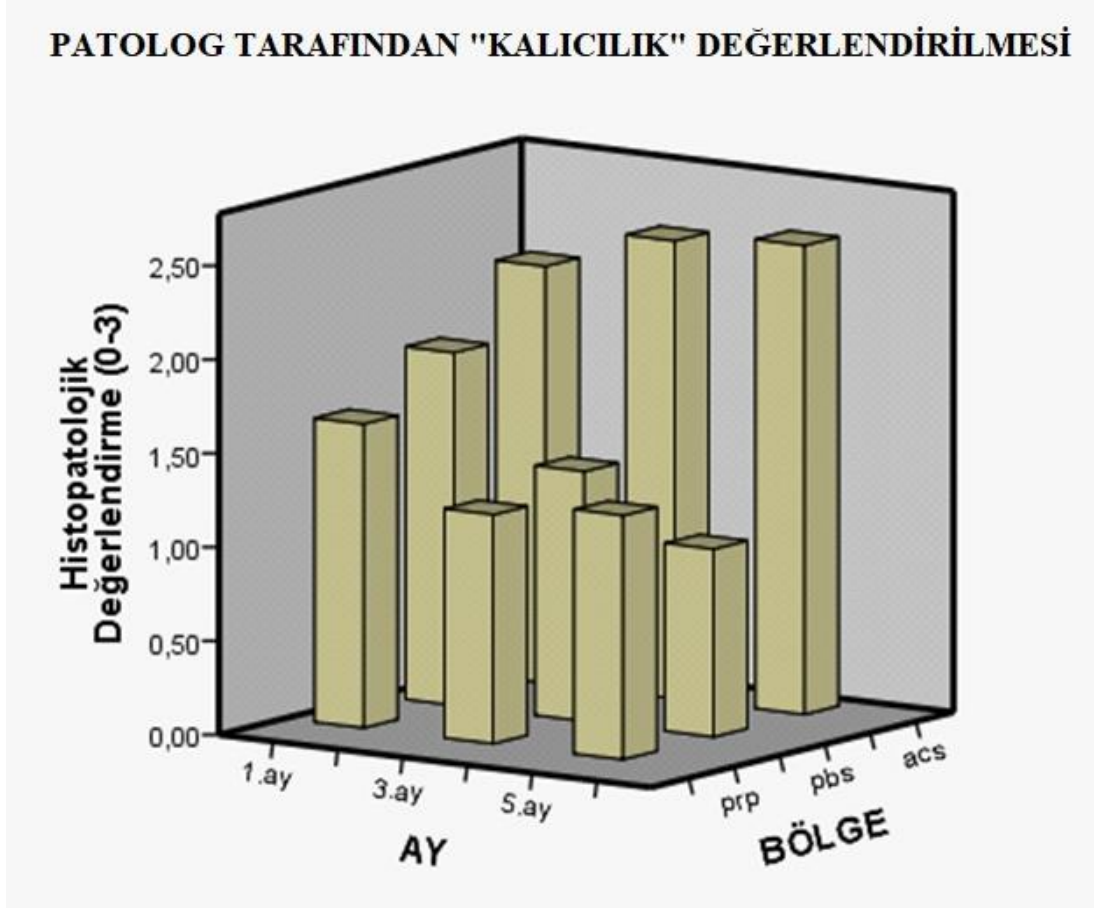
Tablo 6. Grupların aylara göre ilk verilen hacme oranlarının hesaplandığı yüzde değişimleri

GRUP	VERİLEN HACİM (%)	ERKEN POSTOP (%)	POSTOP 1. AY (%)	POSTOP 3. AY (%)	POSTOP 5. AY (%)
ACS + Yağ Grefti	100	145	75	62	57
PBS + Yağ Grefti	100	133	32	29	29
PZP + Yağ Grefti	100	121	58	36	43

Histopatolojik incelemelerde yapılan kalıcılık, vaskülarizasyon, inflamasyon ve fibrozis değerlendirmeleri karşılaştırıldı. Postoperatif 1. ayda histopatolojik açıdan kalıcılık değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum -Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $2,22 \pm 1,09$ (0-3); PBS + yağ grefti grubu $1,88 \pm 0,78$ (1-3); PZP + yağ grefti grubu $1,62 \pm 0,74$ (1-3) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmamıştır ($p>0,05$; ANOVA testi). Aynı şekilde postoperatif 1. ayda inflamasyon değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum -Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $1,55 \pm 0,72$ (1-3) ; PBS + yağ grefti grubu $1,55 \pm 0,52$ (1-2) ; PZP + yağ grefti grubu $1,75 \pm 0,46$ (1-2) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmamıştır ($p>0,05$; ANOVA testi). Postoperatif 1. ayda vaskülarizasyon değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum -Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $1,22 \pm 0,44$ (1-2) ; PBS + yağ grefti grubu $1,22 \pm 0,44$ (1-2); PZP + yağ grefti grubu $1,25 \pm 0,46$ (1-2) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmamıştır ($p>0,05$; ANOVA testi). Postoperatif 1. ayda fibrozis değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum -Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $1,22 \pm 0,44$ (1-2); PBS + yağ grefti grubu $1,55 \pm 0,52$ (1-2); PZP + yağ grefti grubu $1,87 \pm 0,35$ (1-2) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuştur ($p<0,05$; ANOVA testi).

Postoperatif 1. aydaki histopatolojik açıdan kalıcılık, vaskülarizasyon, inflamasyon ve fibrozis yönünden ikili karşılaştırmalar yapılmış, ACS+ yağ grefti grubu ve PBS + yağ grefti grubu arasında kalıcılık, inflamasyon, vaskülarizasyon ve inflamasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$; Mann Whitney-U testi, sırasıyla $U=29500$, $U=38,500$, $U=40500$, $U=27000$). ACS+yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu arasında kalıcılık, inflamasyon, vaskülarizasyon arasında anlamlı fark bulunmayıp ($p>0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=21500$, $U=28000$, $U=35000$), fibrozis açısından anlamlı fark bulunmuştur($p<0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=12500$). PBS + yağ grefti grubu ve PZP + yağ grefti grubu arasında ikili karşılaştırma yapıldığında kalıcılık,

inflamasyon,vaskülerizasyon ve inflamasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.($p>0,05$; Mann Whitney-U testi, sırasıyla $U=29000$, $U=29,000$, $U=35000$, $U=24500$).

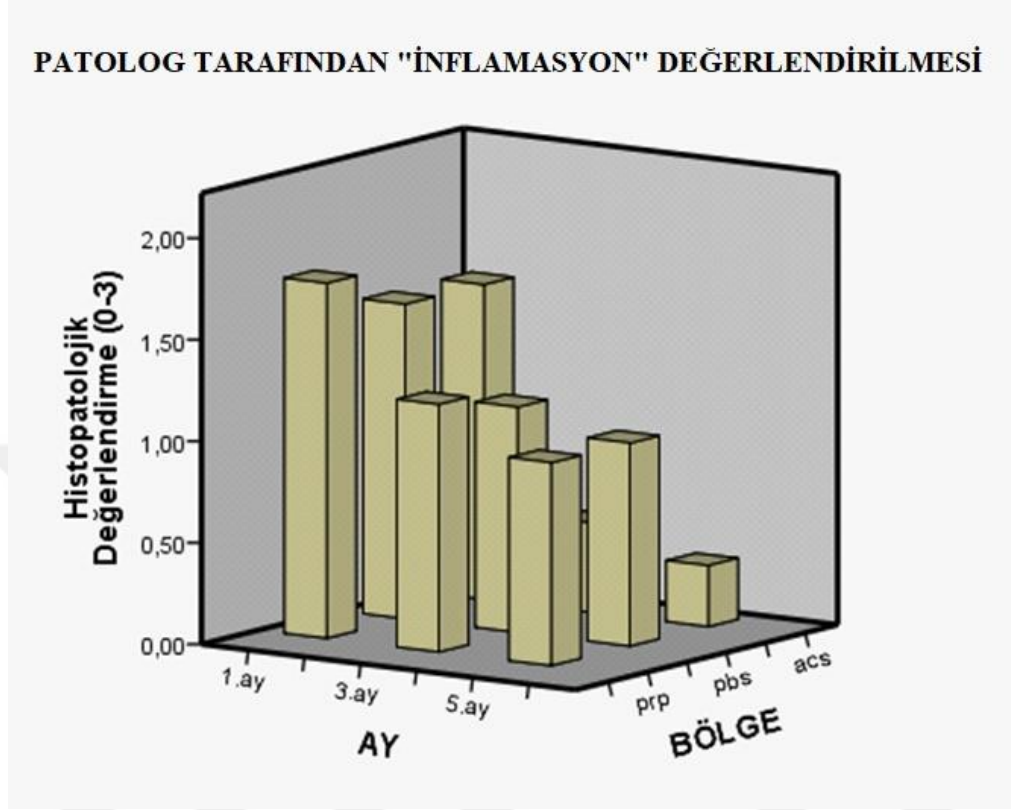


Grafik 10. Histopatolojik açıdan kalıcılık değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması

Grafik 11. Histopatolojik açıdan kalıcılık değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması

Postoperatif 3. ayda histopatolojik açıdan kalıcılık değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum -Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $2,44 \pm 0,72$ (1-3) ; PBS + yağ grefti grubu $1,33 \pm 0,5$ (1 – 2) ; PZP + yağ grefti grubu $1,22 \pm 0,44$ (1-2) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuştur ($p < 0,002$; ANOVA testi). Aynı şekilde postoperatif 3.ayda inflamasyon değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum -Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $0,44 \pm 0,52$ (0-1); PBS + yağ grefti grubu $1,11 \pm 0,60$ (0 – 2); PZP + yağ grefti

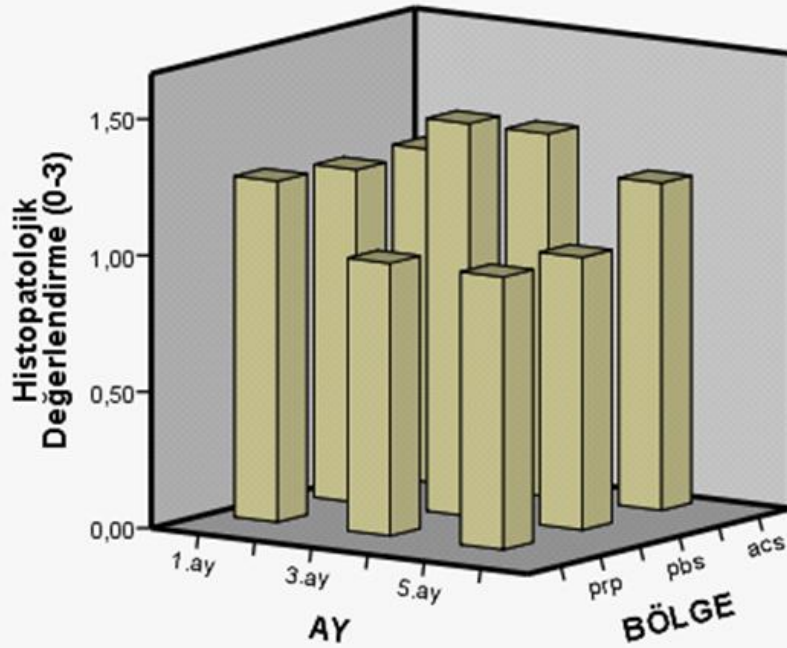
grubu $1,22 \pm 0,44$ (1-2) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmamıştır ($p > 0,05$; ANOVA testi).



Grafik 12. Histopatolojik açıdan inflamasyon değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması.

Postoperatif 3. ayda vaskülarizasyon değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum -Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $1,33 \pm 0,5$ (1-2) ; PBS + yağ grefti grubu $1,44 \pm 0,52$ (1 – 2) ; PZP + yağ grefti grubu $1,00 \pm 0,00$ olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmamıştır ($p > 0,05$; ANOVA testi). Postoperatif 3.ayda fibrozis değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum - Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $1,11 \pm 0,33$ (1-2) ; PBS + yağ grefti grubu $1,00 \pm 0,00$; PZP + yağ grefti grubu $1,11 \pm 0,33$ (1-2) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmamıştır ($p > 0,05$; ANOVA testi).

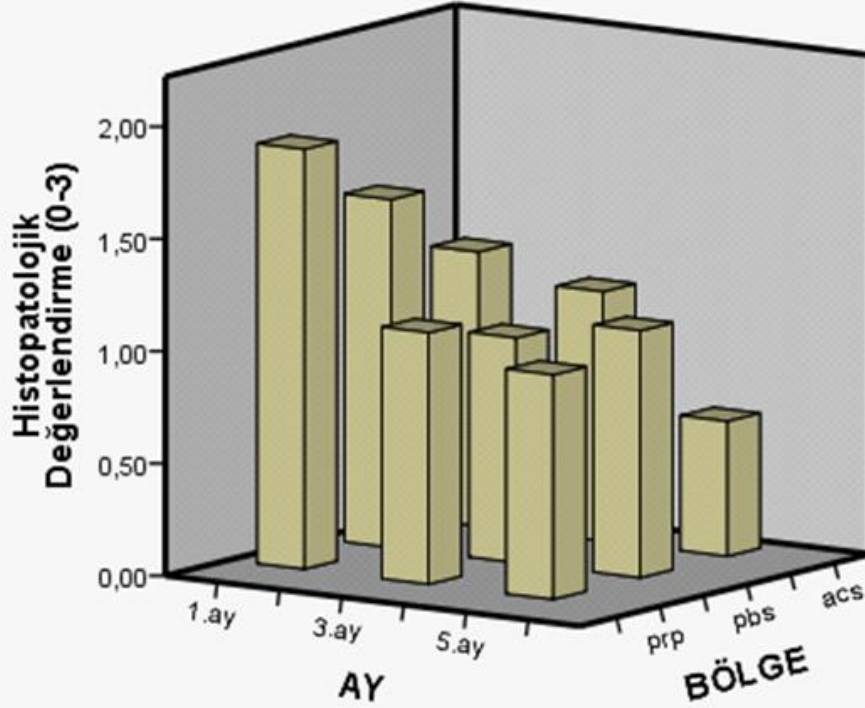
PATOLOG AÇISINDAN "VASKÜLARİZASYON" DEĞERLENDİRİLMESİ



Grafik 13. Histopatolojik açıdan vaskülarizasyon değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması

Postoperatif 3. aydaki histopatolojik açıdan kalıcılık, vaskülarizasyon, inflamasyon ve fibrozis yönünden ikili karşılaştırmalar yapılmış, ACS+ yağ grefti grubu ve PBS + yağ grefti grubu arasında vaskülarizasyon ve inflamasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$; Mann Whitney-U testi, sırasıyla $U=36000$, $U=36,000$). Fakat kalıcılık ve inflamasyon açısından anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$; Mann Whitney U testi, sırasıyla $U=10500$, $U=18500$). ACS + yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu arasında yine aynı şekilde kalıcılık, inflamasyon, açısından anlamlı fark bulunmuş olup ($p < 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=8500$, $U=14000$), vaskülarizasyon ve fibrozis açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=2700$, $U=40500$). Fakat PBS + yağ grefti grubu ve PZP + yağ grefti grubu arasında ikili karşılaştırma yapıldığında kalıcılık, inflamasyon, vaskülarizasyon ve fibrozis açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$; Mann Whitney-U testi, sırasıyla $U=36000$, $U=37,000$, $U=22500$, $U=36000$).

PATOLOG AÇISINDAN "FİBROZİS" DEĞERLENDİRİLMESİ

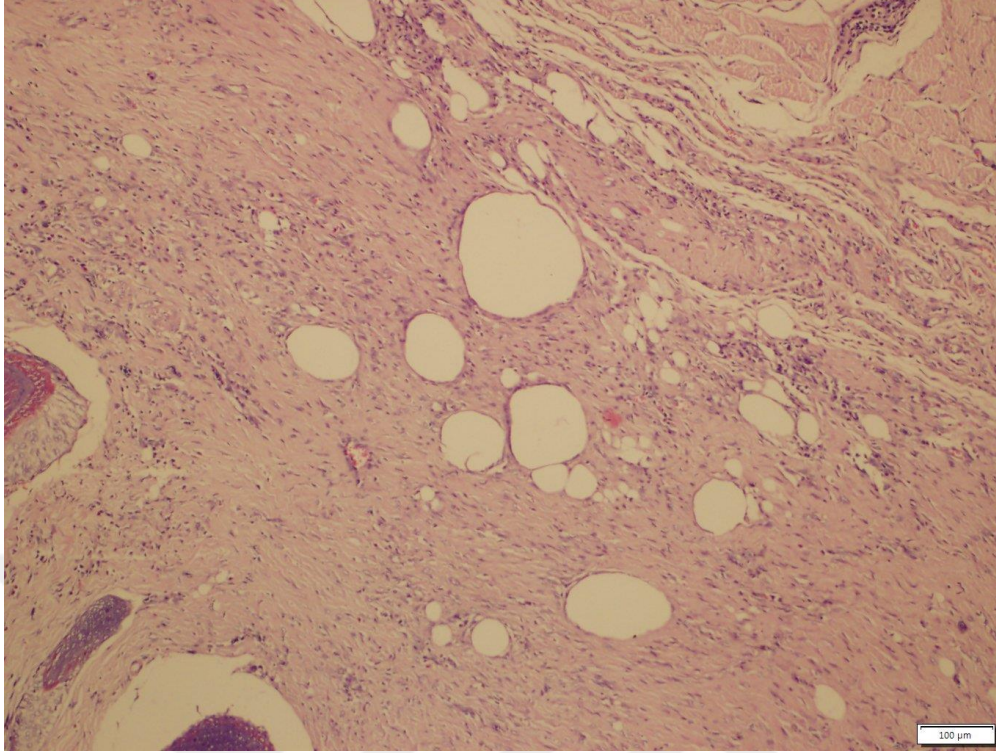


Grafik 14. Histopatolojik açıdan fibrozis değerlendirilmesinin gruplar arası ve aylar açısından karşılaştırılması.

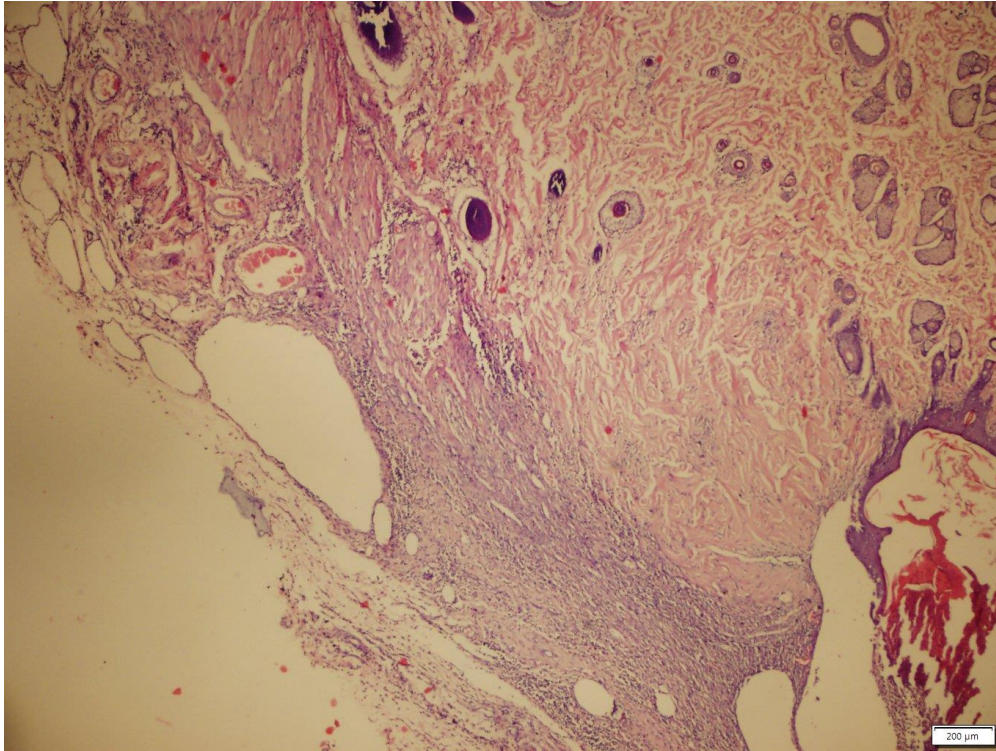
Postoperatif 5. ayda histopatolojik açıdan kalıcılık değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum - Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $2,50 \pm 0,52$ (2-3) ; PBS + yağ grefti grubu $1,00 \pm 0,66$ (0 – 2) ; PZP + yağ grefti grubu $1,30 \pm 0,67$ (0-2) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuştur ($p < 0,002$; ANOVA testi). Aynı şekilde postoperatif 5.ayda inflamasyon değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum - Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $0,30 \pm 0,48$ (0-1) ; PBS + yağ grefti grubu $1,00 \pm 0,47$ (0 – 2) ; PZP + yağ grefti grubu $1,30 \pm 0,47$ (0-2) olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuştur ($p < 0,05$; ANOVA testi). Postoperatif 5. ayda vaskülarizasyon değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum - Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $1,20 \pm 0,42$ (1-2) ; PBS + yağ grefti grubu $1,00 \pm 0$; PZP + yağ grefti grubu $1,00 \pm 0,00$ olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmamıştır ($p > 0,05$;

ANOVA testi). Postoperatif 5. ayda fibrozis değerlendirildiğinde [Ortalama $\pm$ Standart Deviasyon (Minimum -Maksimum) olarak verilmiştir] ACS + yağ grefti grubu $0,60 \pm 0,51$ (0-1) ; PBS + yağ grefti grubu $1,1 \pm 0,31$ (1-2) ; PZP + yağ grefti grubu $1,00 \pm 0$ olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuştur ($p < 0,05$; ANOVA testi).

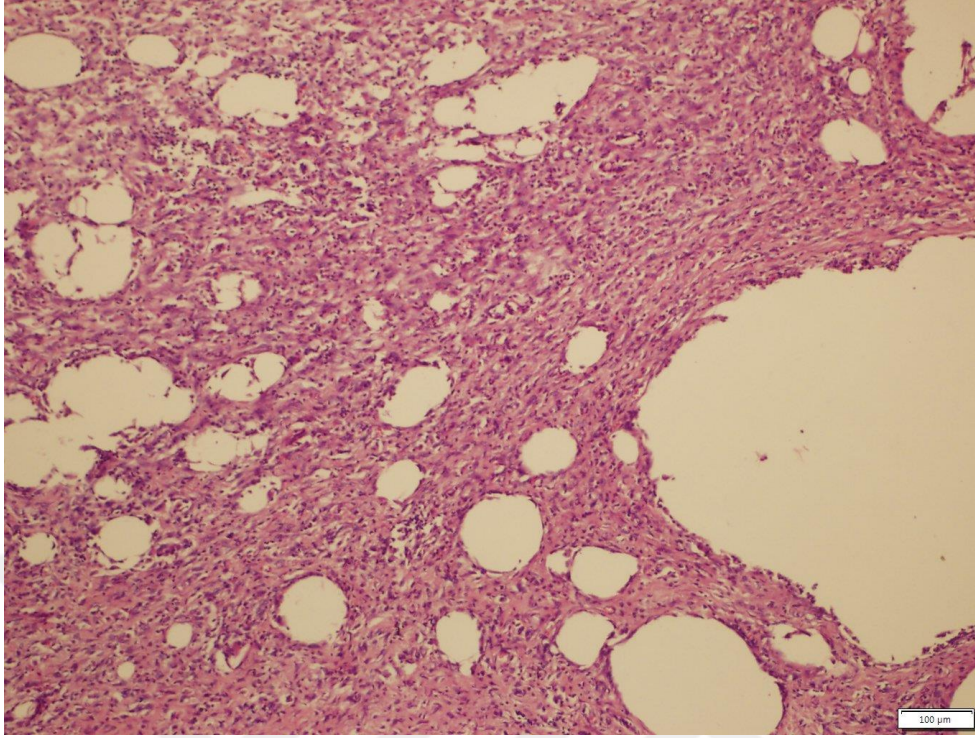
Postoperatif 5. aydaki histopatolojik açıdan kalıcılık, vaskülarizasyon, inflamasyon ve fibrozis yönünden ikili karşılaştırmalar yapılmış, ACS+ yağ grefti grubu ve PBS + yağ grefti grubu arasında vaskülarizasyon ve inflamasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$; Mann Whitney-U testi, sırasıyla $U=40000$, $U=27,000$). Fakat kalıcılık ve inflamasyon açısından anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$; Mann Whitney U testi, sırasıyla $U=5000$, $U=18500$). ACS + yağ grefti grubu ile PZP + yağ grefti grubu arasında yine aynı şekilde kalıcılık, inflamasyon, açısından anlamlı fark bulunmuş olup ($p < 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=10000$, $U=22000$), vaskülarizasyon ve fibrozis açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$; Mann Whitney-U testi, $U=40000$, $U=30000$). Fakat PBS + yağ grefti grubu ve PZP + yağ grefti grubu arasında ikili karşılaştırma yapıldığında kalıcılık, inflamasyon, vaskülarizasyon ve inflamasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$; Mann Whitney-U testi, sırasıyla $U=38000$, $U=50,000$, $U=50000$, $U=45000$).



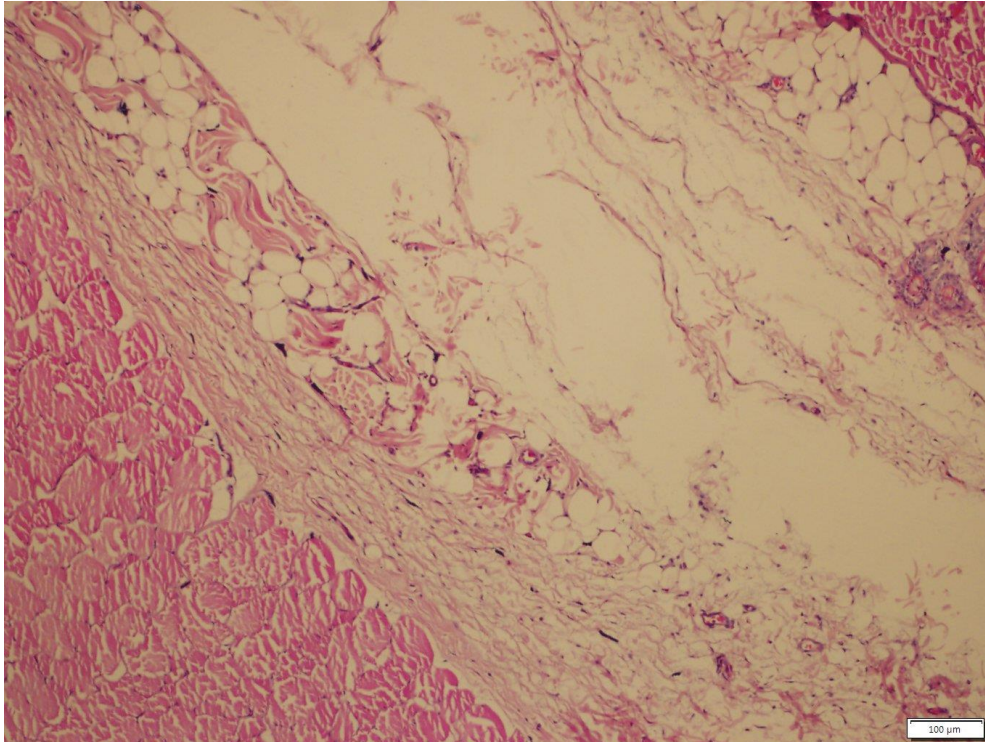
Şekil 13. Postoperatif 1.ay ACS + yağ grefti grubu histopatolojik görüntüsü (x100)



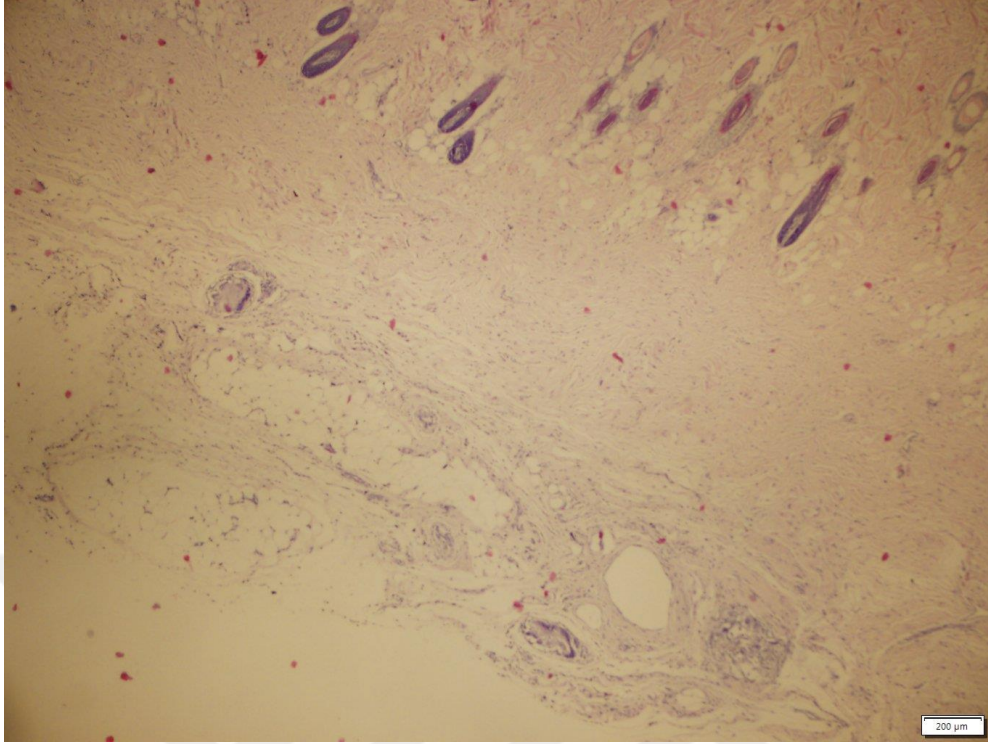
Şekil 14. Postoperatif 1.ay PBS + yağ grefti histopatolojik görüntüsü. Artmış inflamasyon bulguları (x40)



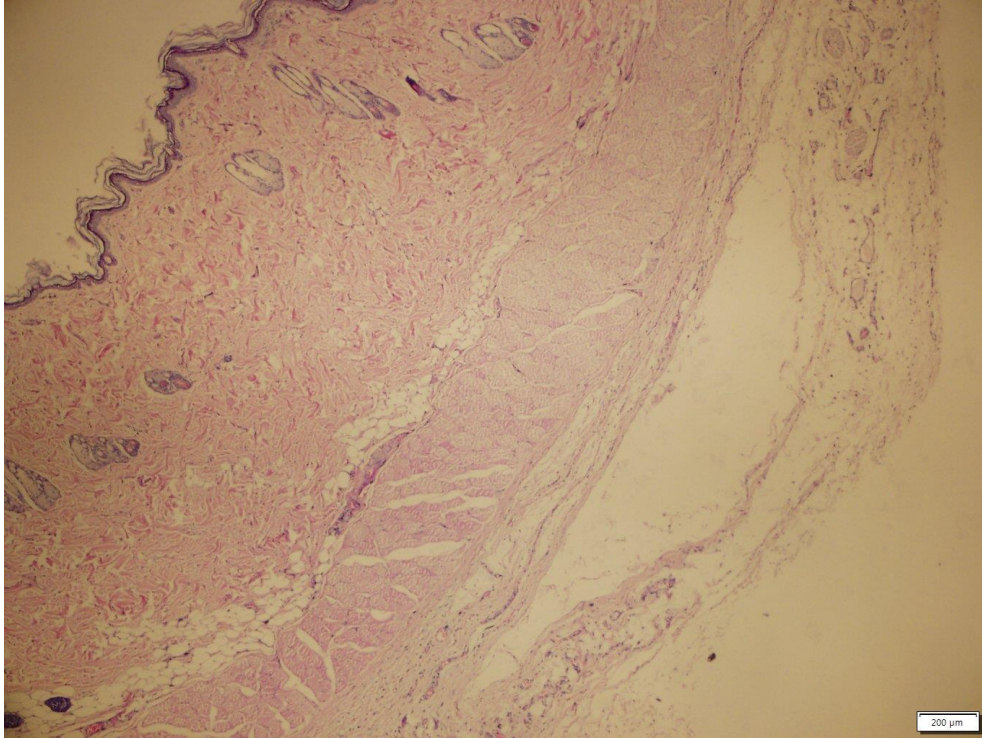
Şekil 15. Postoperatif 1.ay PRP + yağ grefti histopatolojik görüntüsü. İnflamasyon artışı bulguları (x100)



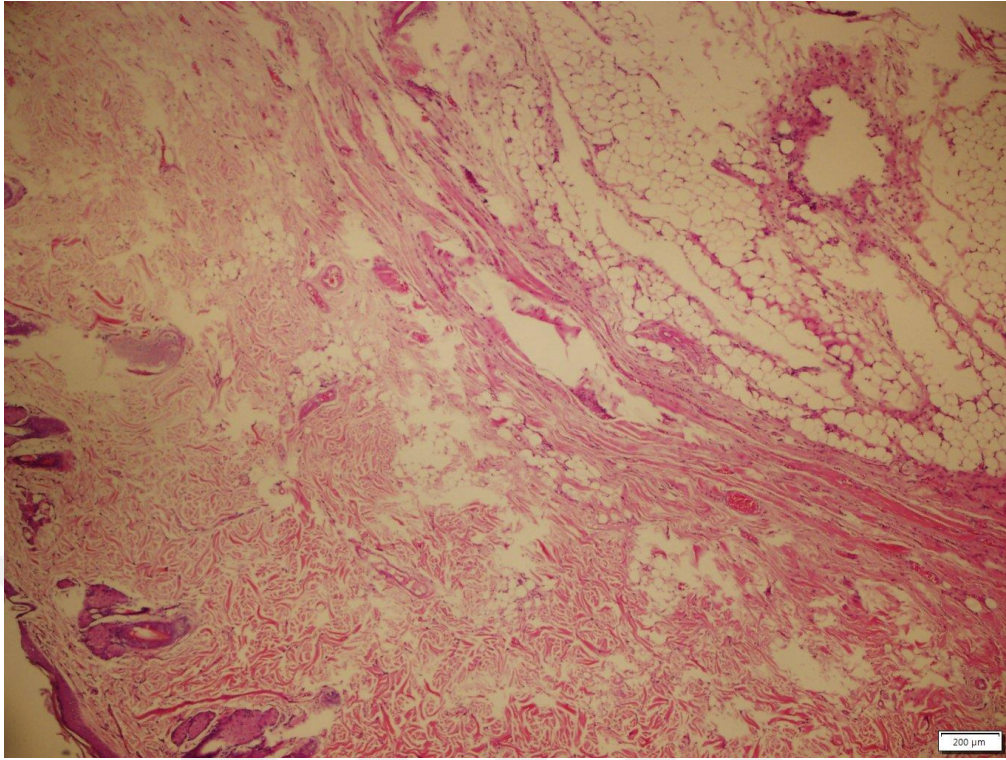
Şekil 16. Postoperatif 3.ay ACS + yağ grefti histopatolojik görünüm(x100)



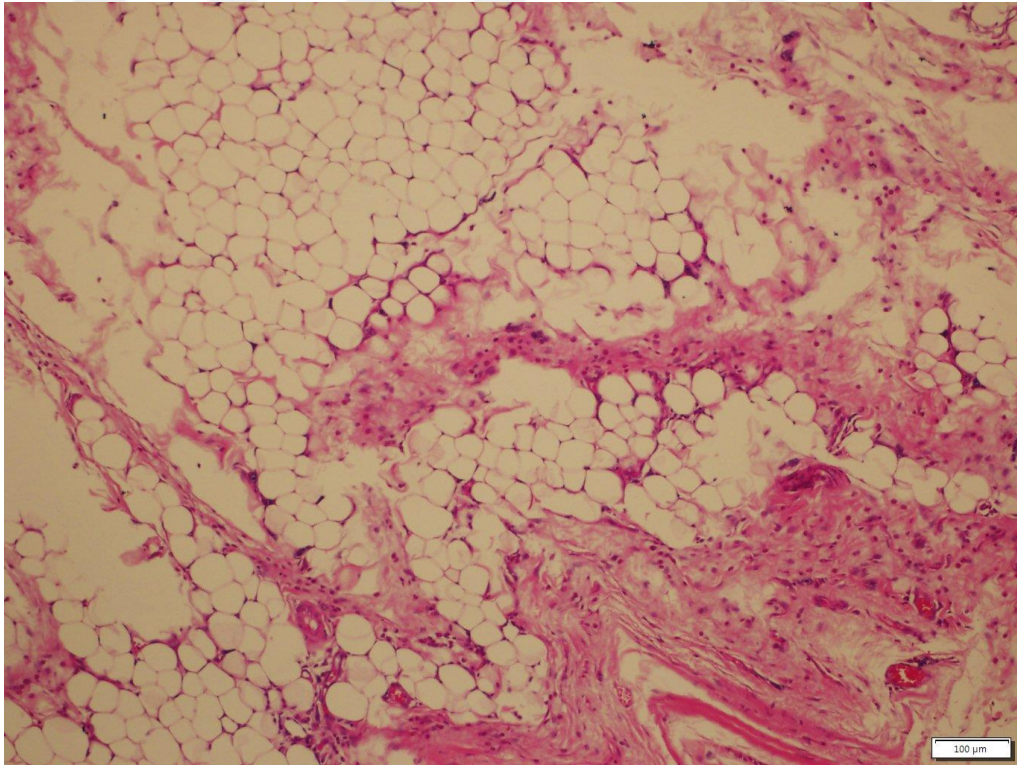
Şekil 17. Postoperatif 3.ay PBS + yağ grefti histopatolojik görünüm. Materyali fagosit etmiş makrofajlar, inflamatuvar hücreler (x40)



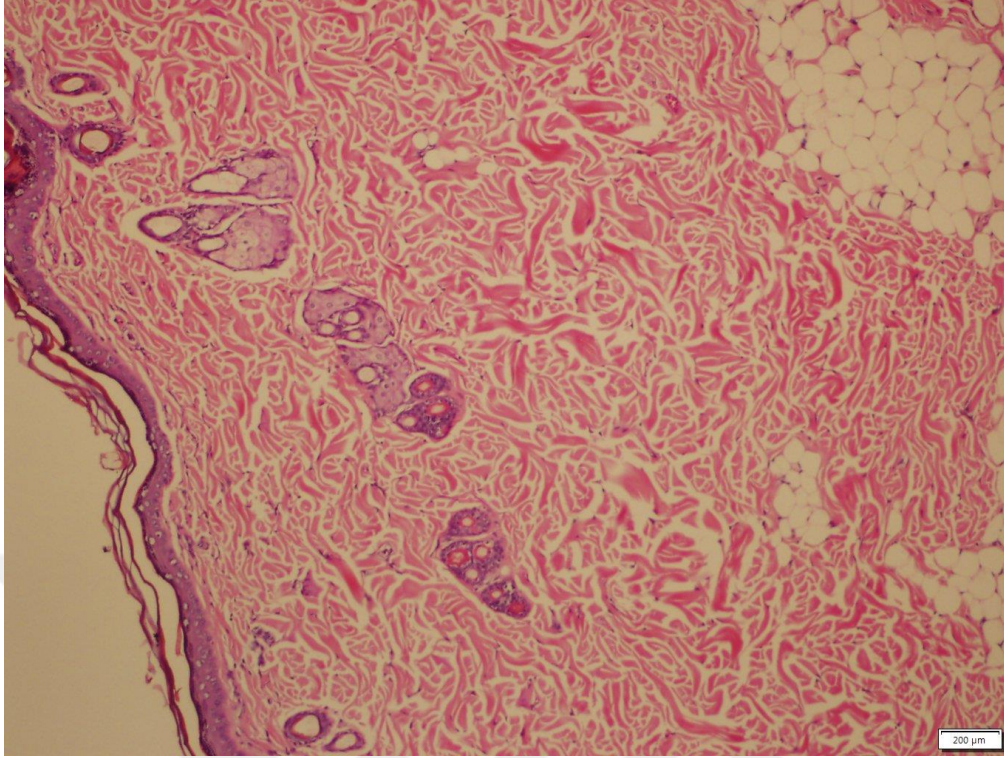
Şekil 18. Postoperatif 3.ay PZP + yağ grefti histopatolojik görünüm.Boyama sırasında erimiş yağ materyali (x40)



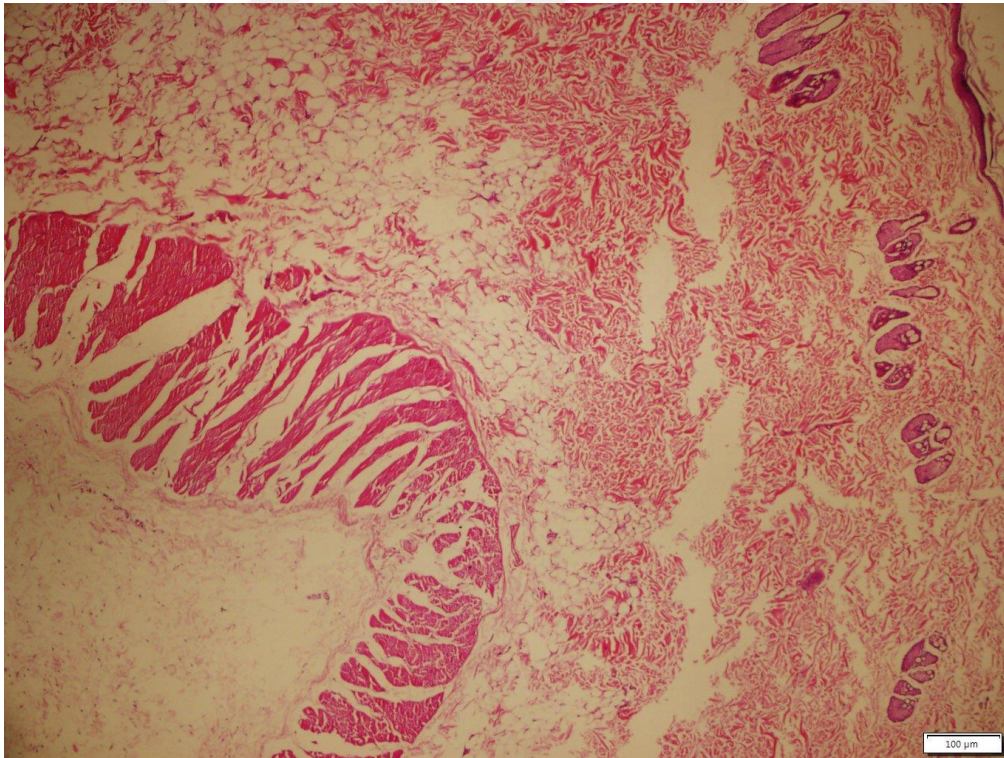
Şekil 19. Postoperatif 5.ay ACS + yağ grefti histopatolojik görünüm (x40)



Şekil 20. Postoperatif 5.ay ACS + yağ grefti grubu histopatolojik görünüm(x100)



Şekil 21. Postoperatif 5.ay PBS + yağ grefti grubu histopatolojik görünüm (x40)



Şekil 22. Postoperatif 5.ay PZP + yağ grefti histopatolojik görünüm (x40)

5. TARTIŞMA

İlk yumuşak doku augmentasyonu uygulaması Alman Cerrah Neubert tarafından gerçekleştirilmiş, şırınganın keşfi ile 1911 yılında Brunning tarafından yağ enjeksiyonu başlamıştır (30). Fakat görülen yağ nekrozu ve rezorbsiyon nedeniyle uzun süre askıda kalmış daha sonraki 100 yıllık süreçte yapılan sistematizasyon ve keşifler yağ greftinin kalıcılığını ve kalitesini artırmak amacıyla yapılmıştır.

Otolog yağ grefti uygulaması, yumuşak doku defektlerinin rekonstruksiyonu için sıklıkla kullanılmaktadır. Bu prosedürün bu kadar popülerleşmesinin ana nedenlerinden birisi de işlemin kolaylığı ve düşük morbidite oranına sahip olmasıdır. Fakat ana dezavantajı ise % 70-90'lara varan hacim kaybıdır (80).

Otolog yağ greftlerinin sağ kalımını arttıran ve azaltan faktörler incelendiğinde karşımıza toplama ve uygulama tekniği gibi makro faktörler, alıcı alan kalitesini etkileyen intrinsik ve ekstrinsik faktörler, greftin uygulanmaya hazır hale getirilmesi için kullanılan işleme, arıtma metodları karşımıza çıkmaktadır (51).

Yağ greftlerinin aktarımı sonrası greft hacim kaybıyla ilgili birçok mekanizma öne sürülmüştür. Bir teori, adipositlerin aktarımı sırasında avasküler nekroz ve travmatik rüptüre maruz kalmasıdır. İkinci bir teori ise inflamasyona bağlı hücre ölümü ve yağ greftinde oluşan fibrozisdir (81). Rossatti tarafından postoperatif 2. gündeki yağ greftlerinin histolojik incelemesinde, polimorfonükleer lökositler, plazma hücreleri, lenfositler ve eozinofillerin hücrel infiltrasyonu gözlenmiştir (82). İnflamasyon, yağ greftini plasmatik imhibisyon ile beslenmesini güçleştirir ve erken dönem preadiposit sağ kalımını azaltır (83). Yine de, greft alanında endotelial hücreler, fibroblastlar ve adipositlerde nekrozlar görülmüştür. Prosedürden 48 saat sonra otolog yağ transplantı üzerinde sadece parsiyel vaskülarizasyon görülmüştür (82). Kan desteğindeki gecikme, yağ grefti yaşayabilirliğinde kritik bir sonuç doğurmakta ve iskemiye duyarlılığı artırmaktadır. Sonuç olarak dejeneratif değişiklikler meydana gelmekte, nükleus dağılmakta, hücre membranı ayrılmaktadır. Hücre yıkımı sonrası revaskülarize

olmayan alanda yağ kistleri ve vakuoller oluşmakta ve fibrozis gelişmektedir. Enjekte edilen yağ, histiositler tarafından absorbe edilerek bölgesel lenf nodlarına taşınmaktadır (84).

Erken dönemdeki yağ greftindeki hacim kaybı, akut nekroz, geç dönemde oluşan hacim kaybı ise apoptozise bağlı yağ hücre azalmasına bağlanmıştır. Bu durum yeniden damarlanma (neovaskülarizasyon) oluştuktan sonra bile devam eden yağ greft hacim azalmasını açıklar. Bu nedenlerden dolayı, alıcı alandaki kanlanmayı, inflamasyonu, lokal ve sistemik inflamatuvar sitokinleri, büyüme faktörlerini regüle etmek amacıyla birçok molekül (insülin, matriks metalloproteinaz 2 inhibitörleri, E vitamini, polimer tedavileri, çeşitli büyüme faktörleri, hiperbarik oksijen uygulması, gibi) kullanılmıştır. Çeşitli büyüme faktörlerinin de yağ hücreleri ve çevresinde neovaskülarizasyonu artırarak yağ grefti yaşayabilirliğini artırdığı gösterilmiştir (85).

Plateletten zengin plazma da yağ grefti yaşayabilirliğini arttırmak için kullanılan adjuvan maddelerdendir (51,59). Gentile ve ark.'nın klinik çalışmasına göre meme rekonstruksiyonu yapılan hastalardan sadece yağ greftlemesi yapılan kontrol grubunda yağ grefti yaşayabilirliği % 39 iken, PZP eklenen grupta ise % 69 olarak bulunmuştur (86). PZP, transforming büyüme faktörü (TGF)- α 1 ve TGF- α 2, epidermal büyüme faktörü (EGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF-2) ve platelet kaynaklı growth faktörü (PDGF)'ün 3 izomeri (PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB) gibi birçok büyüme faktörü ve platelet tromboplastin, trombospondin, koagülasyon faktörleri, endostatin, kalsiyum, serotonin, histamin ve hidrolitik enzimleri içerir (70).

PZP'nin birçok çalışmada yağ grefti yaşayabilirliğini artırdığı gösterilse de bunun yanında proinflamatuvar özelliğinden dolayı nekrotik doku ve preadipositlerin absorpsiyonunu, granülasyon dokusunun proliferasyonunu arttırdığı da bildirilmiş, bazı çalışmalarda yağ greftlemede etkisi olmadığı bile raporlanmıştır (87). Bunların sonucu olarak da, yağ grefti uygulanan alıcı bölgede fibrozis, kist ve vakuol oluşumunu da arttırmaktadır (88). Her ne kadar nihai sonuç yağ grefti yaşayabilirliğini arttırmak olsa da inflamasyonun artışı, yağ grefti yaşayabilirliğinin daha fazla olmasını engellemektedir.

Meijer tarafından 2003 yılında tanımlanan otolog kondüsyonel serum (ACS); yüksek miktarda IL-1 reseptör antagonisti (IL-1 Ra) konsantrasyonu ve IL-4, IL-6, IL-10, epidermal growth faktör (EGF), vasküler endotelyal growth faktör (VEGF), hepatosit growth factor (HGF), insülin like growth faktör (IGF 1), platelet derived growthth faktör (PDGF) ve transforming growth faktör (TGF- β 1) gibi birçok antiinflamatuvar sitokin ve büyüme faktörü içermektedir (22,79). PZP ile karşılaştırıldığında ACS'nin; çok daha yüksek miktarda sitokin ve büyüme faktörü içerdiği görülmektedir (21,22,79). IL-1Ra miktarı (pg/ml), ACS'de 2014,80 pg/ml iken PZP içerisinde 232,40 pg/ml olarak bulunmuştur. Büyüme faktörleri incelendiğinde FGF β , IGF-1, VEGF ve PDGF-AB miktarları, ACS'de sırasıyla 26,6; 117208,80; 508,60 ve 39025,60 pg/ml iken PZP'de 20,4; 59181,40; 204,30 ve 10712,50 pg/ml olduğu raporlanmıştır (22,79). Bu biyolojik tedavi modeli, veteriner hekimlikte, klinik olarak ise diz osteoartritlerinde, lomber kompresyon tedavilerinde, supraspinatus patolojilerinde kullanılmış ve pozitif etkileri gözlenmiştir (22,89,90). Diğer taraftan mezenkimal kök hücre tedavisi amaçlı olarak sistemik ya da lokal yöntemle özellikle inflamasyon kaynaklı hastalıkların tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır (91).

Bu nedenlerden dolayı; bu çalışmada inflamasyon kaskadını başlatan ana sitokinlerden kabul edilen Interlökin-1'i reseptör düzeyinde baskılayan ve içeriğinde çok sayıda büyüme faktörü ve çeşitli sitokinler bulunduran ACS (Otolog IL-1 Ra) kullanılarak yağ grefti yaşayabilirliği ve kalıcılığı artırılması amaçlanmıştır.

Erken postoperatif dönemde (postoperatif 0. gün), tüm deneklerin BT sonrası hacim ölçümlerinde, hacim değişimleri arasındaki farklılık üç grup için de anlamlı olarak bulunmamıştır ($p > 0,05$). Yani ilk yapılan hacimler eşit dağıtılmıştır. Postoperatif 1. ay döneminde, tüm deneklerin BT sonrası hacim ölçümleri ortalamaları karşılaştırıldığında üç grup arasında ortalama hacim değişiklikleri anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu gruplar incelendiğinde, ACS + yağ grefti grubunun diğer gruplardan yüksek olduğu, ikinci sırada PZP + yağ grefti grubu olduğu izlenmiştir. Postoperatif 1. ayda PBS + yağ grefti grubu ile karşılaştırılan ACS + yağ grefti ve PZP + yağ grefti gruplarının PBS + yağ grefti

grubu ile karşılaştırılmasında hacim değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p < 0,05$); fakat ACS + yağ grefti ile PZP + yağ grefti grupları arasındaki ikili karşılaştırmada istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık izlenmemiştir ($p > 0,05$).

Postoperatif 3. ayda yine üç grup arasında ortalama hacim değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Orta dönem olarak adlandırılabilen bu dönemde ACS eklenen grubun, PBS ve PZP eklenen gruplara göre ikili karşılaştırmalarında daha yüksek hacme sahip olduğu görülmüş ve bu fark yine istatistiksel açıdan anlamlı izlenmiştir ($p < 0,05$) fakat PZP eklenen gruptaki hacim yüksekliğinin PBS eklenen gruba göre daha fazla olduğu izlenmiş ama aradaki fark anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Postoperatif 5. ay döneminde üç grup arasındaki ortalama hacim değerleri arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0,05$). ACS eklenen gruptaki hacmin PBS eklenen gruba göre yüksek olduğu ve farkın istatistiksel açıdan anlamlı olarak izlendiği ($p < 0,05$) fakat PZP eklenen grubun PBS ve ACS eklenen gruplarla ikili karşılaştırmalarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadığı ortaya konulmuştur ($p > 0,05$).

Yağ grefti eklendikten sonra bakılan hacimlerin postoperatif 1.ay dönemine geçerken ortalama hacim değerlerinde hızlı bir düşüş izlenmekte ve bu düşüş postoperatif 3.ayda da oran olarak ciddi miktarda azalmış olmasına rağmen devam etmektedir. Fakat devam eden postoperatif 5. ayda PZP içeren grupta postoperatif 3.aya göre hacimsel oranda artma izlenmiştir. Bu artışın sebebinin ise PZP'nin proinflatuar etkisi sonrası daha artmış olarak görülen inflamasyonun oluşturduğu hücre yıkımı sonrası meydana gelen yağ kistleri ve vakuollerin artışı ve fibrozisin hacimsel değişime etkisi olduğu iddia edilebilir. Patolojik incelemelerde de görülen PZP grubundaki inflamasyondaki artışın diğer gruplardan fazla olması bu hipotezi destekler niteliktedir.

Zaman-hacim grafiklerinde de görüldüğü üzere zaman içerisinde her üç grupta da düşüş görülmesine rağmen; PBS grubuna oranla diğer gruplardaki ortalama hacim yüzdesinin yüksek devam ettiği görülmektedir. Ayrıca ACS

grubunda diğer gruplara oranla her zaman daha yüksek bir hacim yüzdesi olduğu görülmekte ve bu yükseklik her üç ayda da istatistiksel açıdan anlamlı izlenmiştir.

PZP ve PBS eklenen gruplarda; artmış inflamasyon nedeniyle oluşan yağ vakuolleri, kistler ve fibrozisin ACS grubundan daha fazla olması yetersiz vaskülarizasyona ve yağ greftinin yetersiz beslenmesine neden olduğu (92), sonuç olarak da ACS grubuna kıyasla ortalama hacim yüzdesinin daha düşük görülmesini destekler niteliktedir.

Yağ greftleri yaşayabilirliğinin devamı için en önemli mediatörler anjiogenezisi uyaran; içlerinde VEGF ve EGF gibi sitokinleri de içeren mitojenik ve kemotaktik büyüme faktörleridir. VEGF gen terapileri yağ grefti yaşayabilirliğinde kanıtlanmış tedavilerdendir (93). Oh ve ark.'nın PZP içeren ve içermeyen yağ greftleri ile greft yaşayabilirliğini araştırdığı fareler üzerinde yaptıkları çalışmadaki sonuçların da PZP lehine olmasının nedenlerinden biri de budur (92). Çalışmamızda ACS içeren grubun da PZP içeren gruptan daha yüksek miktarda hacim yüzdesinin bulunması; ACS içeriğindeki büyüme faktörlerinin PZP'den çok daha yüksek miktarda olması ile de açıklanabilir.

Çalışmamızda histopatolojik incelemelerde yapılan kalıcılık, vaskülarizasyon, inflamasyon ve fibrozis değerlendirmeleri de karşılaştırılmış, postoperatif 1. ayda histopatolojik açıdan kalıcılık, inflamasyon ve vaskülarizasyon değerlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$), sadece fibrozis açısından anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Postoperatif 3. ayda incelendiğinde, her üç grup arasında sadece kalıcılık anlamlı olarak bulunmuş ($p < 0,05$); inflamasyon, vaskülarizasyon ve fibrozis açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Postoperatif 5. ayda ise kalıcılık, inflamasyon, fibrozis istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmuş ($p < 0,05$); vaskülarizasyon her üç grup arasında anlamlı farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Bu veriler incelendiğinde, histopatolojik açıdan kalıcılık değerlendirmesi, BT sonuçlarındaki ortalama hacim yüzdelerini destekler nitelikte olup ACS içeren grupta PZP ve PBS içeren gruba göre tüm aylarda kalıcılığın yüksek olduğu, bunu PZP grubunun takip ettiği görülmektedir. Yine aynı şekilde ACS içeriğindeki anjiogenezisi uyaran mediatörlerin miktarının çok yüksek

olması; histopatolojik açıdan vaskülarizasyon miktarının neden ACS içeren grupta daha fazla olduğunu açıklamaktadır.

PZP'nin proinflamatuvar özelliği ve ACS'nin antiinflamatuvar özelliği histopatolojik açıdan inflamasyon değerlendirmesinin gösterildiği grafikte net olarak izlenmektedir. Yine inflamasyonun etkisi sonucu ortaya çıkan fibrozis, ACS içeren grupta histopatolojik görüntülemeye diğer gruplara göre daha az miktarda izlenmiştir.



6. SONUÇ

Çalışmamızda Otolog Kondüsyonel Serum (ACS) eklenerek yağ grefti yaşayabilirliği; daha önceki çalışmalarda etkisi kanıtlanmış PZP ile karşılaştırılmış ve bazı sonuçlara ulaşılmıştır. Bu sonuçlara göre;

1. ACS eklenen yağ grefti grubu; PZP içeren ve içermeyen diğer yağ grefti gruplarına göre postoperatif 1. ay, 3. ay ve 5. ayda hacimsel olarak yüksek oranda ve istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

2. 3. aydan 5. aya geçiş sırasında PZP içeren grupta görülen hacimsel artışın nedeninin; diğer gruplara kıyasla daha fazla izlenen inflamasyon nedeniyle oluşan yağ vakuelleri, kistler ve fibrozis kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

3. ACS içeren yağ grefti grubunda yine hacimsel farkı destekler nitelikte histopatolojik incelemede PZP ve PBS içeren yağ grefti gruplarına göre postoperatif 1. ay, 3. ay ve 5. ayda kalıcılık yüksek oranda ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

4. ACS içeren yağ grefti grubunda histopatolojik açıdan inflamasyon değerlendirildiğinde antiinflamatuvar özelliğinden dolayı bu grupta diğer gruplara göre daha az inflamasyon izlenmiştir. İnflamasyonun tüm gruplarda zaman içerisinde azaldığı fakat ACS içeren yağ grefti grubunda daha yüksek oranda düşüş izlenmektedir.

5. ACS içeren yağ grefti grubunda vaskülarizasyonun histopatolojik açıdan postoperatif 1. ay, 3. ay ve 5. ayda diğer gruplara oranla yüksek oranda görülmüş ve istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuştur.

6. ACS içeren yağ grefti grubunda diğer gruplara kıyasla fibrozisin, incelenen tüm aylarda diğer gruplara oranla histopatolojik açıdan daha düşük olduğu görülmüş ve istatistiksel açıdan anlamlı olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak yağ greftinin, kolay elde edilebilir, ucuz ve otolog bir ürün olan ACS ile kombine edilmesi, yağ grefti yaşayabilirliğini erken, orta ve geç dönemde arttırdığı görülmüştür. Çalışmamızın, bu konuda yapılacak uygulamalarda ACS içeren yağ greftleme prosedürlerinde öncül olacağı ve bu

uygulamanın ileri klinik çalışmalara yol göstererek literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.



KAYNAKLAR

1. Tüzün YDN. Fotoyaşlanma ve Kronolojik Yaşlanma Arasındaki Farklar. Türkiye Klin J Intern Med Sci. 2005;1:16.
2. Surgeons ASOP. Top Five Cosmetic Surgical Procedures 2017 [Internet]. 2017. Available from: <https://www.plasticsurgery.org/documents/News/Statistics/2017/top-five-cosmetic-plastic-surgery-procedures-2017.pdf>
3. Eppley BL, Dadvand B. Injectable soft-tissue fillers: clinical overview. Plast Reconstr Surg [Internet]. 2006 Sep 15;118(4):98e-106e. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16980841>
4. Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. Plast Reconstr Surg [Internet]. 2004 Jan;113(1):391–5; discussion 396–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14707664>
5. Locke MB, de Chalain TMB. Current practice in autologous fat transplantation: suggested clinical guidelines based on a review of recent literature. Ann Plast Surg [Internet]. 2008 Jan;60(1):98–102. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18281805>
6. Carruthers J, Carruthers A, Humphrey S. Introduction to Fillers. Plast Reconstr Surg [Internet]. 2015 Nov;136(5 Suppl):120S-131S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26441092>
7. Marwah M, Kulkarni A, Godse K, Abhyankar S, Patil S, Nadkarni N. Fat Ful’fill’ment: A Review of Autologous Fat Grafting. J Cutan Aesthet Surg [Internet]. 2013 Jul;6(3):132–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24163528>
8. Klein AW, Elson ML. The history of substances for soft tissue augmentation. Dermatol Surg [Internet]. 2000 Dec;26(12):1096–105. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11134984>
9. Thanik VD, Chang CC, Lerman OZ, Allen RJ, Nguyen PD, Saadeh PB, et al. A murine model for studying diffusely injected human fat. Plast

- Reconstr Surg [Internet]. 2009 Jul;124(1):74–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19568047>
10. Peer LA. Cell survival theory versus replacement theory. *Plast Reconstr Surg* (1946) [Internet]. 1955 Sep;16(3):161–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13266544>
 11. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, et al. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2012 May;129(5):1081–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22261562>
 12. Coleman SR, Katzel EB. Fat Grafting for Facial Filling and Regeneration. *Clin Plast Surg*. 2015;42(3):289–300.
 13. Ozer K. Plateletten zengin plazma hazırlanmasında optimum değerlerin saptanması. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2014.
 14. Magalon J, Bausset O, Serratrice N, Giraudo L, Aboudou H, Veran J, et al. Characterization and comparison of 5 platelet-rich plasma preparations in a single-donor model. *Arthroscopy* [Internet]. 2014 May [cited 2014 Sep 13];30(5):629–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arthro.2014.02.020>
 15. Nakamura S, Ishihara M, Takikawa M, Murakami K, Kishimoto S, Nakamura S, et al. Platelet-rich plasma (PRP) promotes survival of fat-grafts in rats. *Ann Plast Surg* [Internet]. 2010;65(1):101–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20548232>
 16. Serra-Renom JM, Serra-Mestre JM. Atlas of minimal invasive facelift: facial rejuvenation with volumetric lipofilling. 1st ed. Switzerland: Springer; 2016. 13–14 p.
 17. Condé-Green A, Baptista LS, de Amorin NFG, de Oliveira ED, da Silva KR, Pedrosa CDSG, et al. Effects of centrifugation on cell composition and viability of aspirated adipose tissue processed for transplantation. *Aesthet Surg J*. 2010;30(2):249–55.
 18. Sadick NS, Hudgins LC. Fatty acid analysis of transplanted adipose tissue. *Arch Dermatol*. 2001;137(6):723–7.

19. Ellenbogen R. Free autogenous pearl fat grafts in the face--a preliminary report of a rediscovered technique. *Ann Plast Surg* [Internet]. 1986 Mar;16(3):179–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3273033>
20. Huang S-H, Wu S-H, Lee S-S, Chang K-P, Chai C-Y, Yeh J-L, et al. Fat Grafting in Burn Scar Alleviates Neuropathic Pain via Anti-Inflammation Effect in Scar and Spinal Cord. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(9):e0137563. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26368011>
21. Evans CH, Chevalier X, Wehling P. Autologous Conditioned Serum. *Phys Med Rehabil Clin N Am* [Internet]. 2016;27(4):893–908. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmr.2016.06.003>
22. Wehling P, Moser C, Frisbied. D, McIlwraith CW, Kawcak CE, Krauspe R, et al. Autologous conditioned serum in the treatment of orthopedic diseases: The Orthokine?? therapy. *BioDrugs*. 2007;21(5):323–32.
23. Sawyere DM, Lanz OI, Dahlgren LA, Barry SL, Nichols AC, Werre SR. Cytokine and Growth Factor Concentrations in Canine Autologous Conditioned Serum. *Vet Surg*. 2016;45(5):582–6.
24. Nguyen A, Guo J, Banyard DA, Fadavi D, Toranto JD, Wirth GA, et al. Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 1: Current concepts and review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* [Internet]. 2016 Feb;69(2):170–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26565755>
25. Meulen VD. *Considérations générales sur les greffes graisseuses et sérograisseuses épiploïques et leurs principales applications*. Paris; 1919.
26. Mojallal A, Foyatier J-L. Historical review of the use of adipose tissue transfer in plastic and reconstructive surgery. *Ann Chir Plast Esthet* [Internet]. 2004 Oct;49(5):419–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15518942>
27. Li F, Guo W, Li K, Yu M, Tang W, Wang H, et al. Improved Fat Graft Survival by Different Volume Fractions of Platelet-Rich Plasma and Adipose-Derived Stem Cells. *Aesthetic Surg J* [Internet]. 2015;35(3):319–

33. Available from: <https://academic.oup.com/asj/article-lookup/doi/10.1093/asj/sju046>
28. Mazzola RF, Mazzola IC. History of fat grafting: from ram fat to stem cells. *Clin Plast Surg* [Internet]. 2015 Apr;42(2):147–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25827559>
29. Davis K. Making the Body Beautiful: A Cultural History of Aesthetic Surgery (review). *Bull Hist Med* [Internet]. 2000;74(4):848–9. Available from: http://muse.jhu.edu/content/crossref/journals/bulletin_of_the_history_of_medicine/v074/74.4davis.html
30. Bruning P. Contribution à l'étude des greffes adipeuses. *Bull Acad R Med Belgique*. 1919;28:66.
31. Peer LA. The neglected free fat graft. *Plast Reconstr Surg* (1946) [Internet]. 1956 Oct;18(4):233–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13379008>
32. Illouz YG. Body contouring by lipolysis: a 5-year experience with over 3000 cases. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1983 Nov;72(5):591–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6622564>
33. Fournier PF. Why the syringe and not the suction machine? *J Dermatol Surg Oncol* [Internet]. 1988 Oct;14(10):1062–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3170927>
34. Klein JA. Tumescence technique for local anesthesia improves safety in large-volume liposuction. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1993 Nov;92(6):1085–98; discussion 1099-100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8234507>
35. Fournier PF. Fat grafting: my technique. *Dermatol Surg* [Internet]. 2000 Dec;26(12):1117–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11134988>
36. Coleman SR. Structural fat grafts: the ideal filler? *Clin Plast Surg* [Internet]. 2001 Jan;28(1):111–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11248861>

37. Coleman SR. Structural fat grafting: More than a permanent filler. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(3 SUPPL.):108–20.
38. Hsu VM, Stransky CA, Bucky LP, Percec I. Fat grafting's past, present, and future: why adipose tissue is emerging as a critical link to the advancement of regenerative medicine. *Aesthetic Surg J* [Internet]. 2012 Sep;32(7):892–9. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22942117>
39. Fisher C, Grahovac TL, Schafer ME, Shippert RD, Marra KG, Rubin JP. Comparison of harvest and processing techniques for fat grafting and adipose stem cell isolation. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2013 Aug;132(2):351–61. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23584621>
40. Hudson DA, Lambert E V, Bloch CE. Site selection for fat autotransplantation: some observations. *Aesthetic Plast Surg* [Internet]. 1990;14(3):195–7. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2399850>
41. Trepsat F. Periorbital rejuvenation combining fat grafting and blepharoplasties. *Aesthetic Plast Surg* [Internet]. 2003;27(4):243–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15058544>
42. Lim AA, Fan K, Allam KA, Wan D, Tabit C, Liao E, et al. Autologous fat transplantation in the craniofacial patient: the UCLA experience. *J Craniofac Surg* [Internet]. 2012 Jul;23(4):1061–6. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22777454>
43. Small K, Choi M, Petruolo O, Lee C, Karp N. Is there an ideal donor site of fat for secondary breast reconstruction? *Aesthetic Surg J* [Internet]. 2014 May 1;34(4):545–50. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24604787>
44. Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B. The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2015 Oct;136(4):897–912. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24655651>

45. Agostini T, Lazzeri D, Pini A, Marino G, Li Quattrini A, Bani D, et al. Wet and dry techniques for structural fat graft harvesting: histomorphometric and cell viability assessments of lipoaspirated samples. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2012 Aug;130(2):331e-339e. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22495217>
46. Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson REH, Vasconez HC. Autologous fat grafts harvested and refined by the coleman technique: A comparative study. *Plast Reconstr Surg*. 2008;122(3):932–7.
47. Kling RE, Mehrara BJ, Pusic AL, Young VL, Hume KM, Crotty CA, et al. Trends in autologous fat grafting to the breast: a national survey of the american society of plastic surgeons. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2013 Jul;132(1):35–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23806907>
48. Coleman SR. Structural Fat Grafting. *Aesthetic Surg J*. 1998;18(5):386–8.
49. Ferraro GA, De Francesco F, Tirino V, Cataldo C, Rossano F, Nicoletti G, et al. Effects of a new centrifugation method on adipose cell viability for autologous fat grafting. *Aesthetic Plast Surg*. 2011;35(3):341–8.
50. Hoareau L, Bencharif K, Girard A, Gence L, Delarue P, Hulard O, et al. Effect of centrifugation and washing on adipose graft viability : A new method to improve graft efficiency. *Br J Plast Surg* [Internet]. 2013;66(5):712–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjps.2012.12.033>
51. Ozer K, Colak O. Micro-Autologous Fat Transplantation Combined With Platelet-Rich Plasma for Facial Filling and Regeneration. *J Craniofac Surg* [Internet]. 2019 Jan;1. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00001665-9000000000-95066>
52. Piasecki JH, Gutowski KA, Lahvis GP, Moreno KI. An experimental model for improving fat graft viability and purity. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2007 Apr 15;119(5):1571–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17415252>
53. Pu LLQ. Mechanisms of Fat Graft Survival. *Ann Plast Surg* [Internet].

- 2016 Feb;77 Suppl 1:S84-6. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26808753>
54. Bartynski J, Marion MS, Wang TD. Histopathologic evaluation of adipose autografts in a rabbit ear model. *Otolaryngol Head Neck Surg* [Internet]. 1990 Apr;102(4):314–21. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2136268>
 55. Nishimura T, Hashimoto H, Nakanishi I, Furukawa M. Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free fat grafts. *Laryngoscope* [Internet]. 2000 Aug;110(8):1333–8. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10942136>
 56. Kato H, Mineda K, Eto H, Doi K, Kuno S, Kinoshita K, et al. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue remodeling during the first 3 months. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2014 Mar;133(3):303e-313e. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24572875>
 57. Jin R, Zhang L, Zhang Y-G. Does platelet-rich plasma enhance the survival of grafted fat? An update review. *Int J Clin Exp Med* [Internet]. 2013;6(4):252–8. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23641301>
 58. Hong SJ, Lee JH, Hong SM, Park CH. Enhancing the viability of fat grafts using new transfer medium containing insulin and beta-fibroblast growth factor in autologous fat transplantation. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* [Internet]. 2010 Jul;63(7):1202–8. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19556175>
 59. Ozer K, Atan O. The Addition of Platelet-Rich Plasma to Facial Lipofilling: A Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Trial. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2018;142(5):795e-796e. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30222676>
 60. Hamed S, Egozi D, Kruchevsky D, Teot L, Gilhar A, Ullmann Y. Erythropoietin improves the survival of fat tissue after its transplantation in nude mice. *PLoS One* [Internet]. 2010 Nov 15;5(11):e13986. Available

from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21085572>

61. Dhillon RS, Schwarz EM, Maloney MD. Platelet-rich plasma therapy - future or trend? *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Sep 13];14(4):219. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3580559&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
62. Alves R, Grimalt R. A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Ski appendage Disord* [Internet]. 2018 Jan;4(1):18–24. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29457008>
63. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 1997 Nov;55(11):1294–9. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9371122>
64. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* [Internet]. 1998 Jun [cited 2014 Nov 15];85(6):638–46. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9638695>
65. Marx RE. Platelet-Rich Plasma (PRP): What Is PRP and What Is Not PRP? *Implant Dent* [Internet]. 2001 Dec;10(4):225–8. Available from:
<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00008505-200110000-00002>
66. Graziani F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res* [Internet]. 2006 Apr [cited 2014 Nov 14];17(2):212–9. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16584418>
67. Rappl LM. Effect of platelet rich plasma gel in a physiologically relevant platelet concentration on wounds in persons with spinal cord injury. *Int Wound J* [Internet]. 2011 Apr [cited 2014 Nov 14];8(2):187–95. Available

from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21385319>

68. Ozer K, Kankaya Y, Colak O, Kocer U. The Impact of Duration and Force of Centrifugation on Platelet Content and Mass in the Preparation of Platelet-Rich Plasma. *Aesthetic Plast Surg* [Internet]. 2019 Aug 15;43(4):1078–84. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00266-019-01375-9>
69. Li W, Enomoto M, Ukegawa M, Hirai T, Sotome S, Wakabayashi Y, et al. Subcutaneous injections of platelet-rich plasma into skin flaps modulate proangiogenic gene expression and improve survival rates. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2012 Apr;129(4):858–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22456358>
70. Bir SC, Esaki J, Marui A, Sakaguchi H, Kevil CG, Ikeda T, et al. Therapeutic treatment with sustained-release platelet-rich plasma restores blood perfusion by augmenting ischemia-induced angiogenesis and arteriogenesis in diabetic mice. *J Vasc Res* [Internet]. 2011;48(3):195–205. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21099226>
71. Janse van Rensburg WJ, van der Merwe P. Comparison of Commercially Available Blood Collection Tubes Containing Sodium Citrate and Hirudin in Platelet Aggregation Testing. *Med Sci Monit Basic Res* [Internet]. 2017 Jul 27;23:264–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28747619>
72. Hersant B, Bouhassira J, SidAhmed-Mezi M, Vidal L, Keophiphath M, Chheangsun B, et al. Should platelet-rich plasma be activated in fat grafts? An animal study. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg* [Internet]. 2018; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2018.01.005>
73. Lee JW, Kwon OH, Kim TK, Cho YK, Choi KY, Chung HY, et al. Platelet-rich plasma: quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. *Arch Plast Surg* [Internet]. 2013 Sep 28 [cited 2014 Sep 13];40(5):530–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24773596>
74. Ozer K, Kankaya Y, Çolak Ö. An important and overlooked parameter in

- platelet rich plasma preparation: The mean platelet volume. *J Cosmet Dermatol* [Internet]. 2018 Jun 3;c(May). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29862631>
75. Plataniias LC, Vogelzang NJ. Interleukin-1: biology, pathophysiology, and clinical prospects. *Am J Med* [Internet]. 1990 Nov;89(5):621–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2239982>
 76. Gabay C, Smith MF, Eidlen D, Arend WP. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) is an acute-phase protein. *J Clin Invest* [Internet]. 1997 Jun 15;99(12):2930–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9185517>
 77. Machon V, Hirjak D, Lukas J. Therapy of the osteoarthritis of the temporomandibular joint. *J Craniomaxillofac Surg* [Internet]. 2011 Mar;39(2):127–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20692843>
 78. Carter DB, Deibel MR, Dunn CJ, Tomich CS, Laborde AL, Slightom JL, et al. Purification, cloning, expression and biological characterization of an interleukin-1 receptor antagonist protein. *Nature* [Internet]. 1990 Apr 12;344(6267):633–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2139180>
 79. Meijer H, Reinecke J, Becker C, Tholen G, Wehling P. The production of anti-inflammatory cytokines in whole blood by physico-chemical induction. *Inflamm Res*. 2003;52(10):404–7.
 80. Chajchir A. Fat injection: long-term follow-Up. *Aesthetic Plast Surg* [Internet]. 1996;20(4):291–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8791566>
 81. Bellini E, Grieco MP, Raposio E. The science behind autologous fat grafting. *Ann Med Surg* [Internet]. 2017 Dec;24(August):65–73. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2017.11.001>
 82. Rossatti B. Revascularisation and phagocytosis in free fat autografts: an experimental study. *Br J Plast Surg* [Internet]. 1960 Apr;13:35–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14439199>

83. Shoshani O, Shupak A, Ullmann Y, Ramon Y, Gilhar A, Kehat I, et al. The effect of hyperbaric oxygenation on the viability of human fat injected into nude mice. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2000 Nov;106(6):1390–6; discussion 1397-8. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11083573>
84. Saunders MC, Keller JT, Dunsker SB, Mayfield FH. Survival of autologous fat grafts in humans and in mice. *Connect Tissue Res* [Internet]. 1981;8(2):85–91. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6453693>
85. Yuksel E, Weinfeld AB, Cleek R, Wamsley S, Jensen J, Boutros S, et al. Increased free fat-graft survival with the long-term, local delivery of insulin, insulin-like growth factor-I, and basic fibroblast growth factor by PLGA/PEG microspheres. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2000 Apr;105(5):1712–20. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10809102>
86. Gentile P, Di Pasquali C, Bocchini I, Floris M, Eleonora T, Fiaschetti V, et al. Breast reconstruction with autologous fat graft mixed with platelet-rich plasma. *Surg Innov*. 2013;20(4):370–6.
87. Willemsen JCN, Van Dongen J, Spiekman M, Vermeulen KM, Harmsen MC, van der Lei B, et al. The Addition of Platelet-Rich Plasma to Facial Lipofilling: A Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Trial. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2018 Feb;141(2):331–43. Available from:
<http://insights.ovid.com/crossref?an=00006534-9000000000-98336>
88. Lei H, Xiao R. A Study of the Effect of Platelet-Rich Plasma on Outcomes After Aspirated Human Fat Grafting With Experimental Design. *J Craniofac Surg* [Internet]. 2019 Aug 28; Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31469736>
89. Becker C, Heidersdorf S, Drewlo S, de Rodriguez SZ, Krämer J, Willburger RE. Efficacy of epidural perineural injections with autologous conditioned serum for lumbar radicular compression: an investigator-initiated, prospective, double-blind, reference-controlled study. *Spine*

- (Phila Pa 1976). 2007;32(17):1803–8.
90. Baltzer AWA, Moser C, Jansen SA, Krauspe R. Autologous conditioned serum (Orthokine) is an effective treatment for knee osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil* [Internet]. 2009;17(2):152–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2008.06.014>
 91. de Witte SFH, Merino AM, Franquesa M, Strini T, van Zoggel JAA, Korevaar SS, et al. Cytokine treatment optimises the immunotherapeutic effects of umbilical cord-derived MSC for treatment of inflammatory liver disease. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2017;8(1):140. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28595619>
 92. Oh DS, Cheon YW, Jeon YR, Lew DH. Activated platelet-rich plasma improves fat graft survival in nude mice: a pilot study. *Dermatol Surg* [Internet]. 2011 May;37(5):619–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21492303>
 93. Yi CG, Xia W, Zhang LX, Zhen Y, Shu MG, Han Y, et al. VEGF gene therapy for the survival of transplanted fat tissue in nude mice. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* [Internet]. 2007;60(3):272–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17293285>

