

T.C.

MALTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

**AMNİYON ZARI VE AMNİYON ZARINA SARILMIŞ
KIKIRDAK GREFTLERİN RATLARDA DORSAL NAZAL
AUGMENTASYONDA KULLANIMI**

Dr. Hakan KARA

**KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr. Altay ATEŞPARE

Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. S. Bülent ARMAN

Etik Kurul Onayı Karar Sayısı: MLT.ÜNİ. HDYET./2011/07-10

**Ekim 2011
İSTANBUL**

ÖNSÖZ

Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Ana Bilim Dalındaki uzmanlık eğitimim süresince, bilimsel ve cerrahi eğitimimde bilgi ve deneyimlerini aktararak yol gösteren, uyumlu ve sistemli bir çalışma ortamı içerisinde teşvik edici tavırlarıyla her zaman desteğini gördüğüm ve emeklerini unutmayacağım sayın hocam Prof. Dr. Öncel KOCA' ya; eğitimimin son yılında fakültemiz bünyesine katılarak, eğitim ve öğretim programlarıyla bilimsel açıdan daima en iyi ve en yeni bilgileri zamanından fedakarlık etmekten kaçınmayarak, cerrahi bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve tam bir öğretmen tavrıyla tecrübe ve bilgilerinden faydalandığım hocam Doç. Dr. Çetin VURAL'a; gerek tez çalışmalarım süresince, gerekse asistanlığım boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, eğitimimin her safhasına büyük katkıları olan tez hocam Yard. Doç. Dr. Altay ATEŞPARE' ye; kliniğimize katıldığı ilk günden eğitimimin son gününe kadar bilgi ve deneyimleriyle her zaman bana yol gösterici olan, bilimsel gelişme ve yeniliklere açık olmayı öğreten, , eğitimimin her safhasına çok büyük katkıları olan hocam Yard. Doç. Dr. Öner ÇELİK'e; asistanlığım boyunca bilimsel ve cerrahi eğitimimde bilgi ve deneyimlerini aktararak yol gösteren hocam Yard. Doç. Dr. Zerrin BOYACI' ya; asistanlığım boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve tez çalışmamın patolojik incelemeleri esnasındaki tam desteğinden faydalandığım hocam Doç. Dr. Ahmet MİDİ' ye; asistanlığım boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım hocam Prof. Dr. Emre ÜSTÜNDAĞ'a; idari ve bilimsel konudaki desteklerinden dolayı Anabilim dalı Başkanımız Prof. Dr. S. Bülent ARMAN' a ayrı ayrı teşekkür eder, minnet ve saygılarımı sunarım.

Asistanlığım boyunca sevgi, saygı ve uyum içerisinde çalıştığımız asistan arkadaşım Dr. Ozan ÖZDEMİR'e, asistanlığım ve tez çalışması esnasında desteğinden faydalandığım arkadaşım Oktay DEMİREL'e, klinik hemşireleri ve personeline teşekkür ederim.

Beni bu günlere getiren değerli anne ve babama saygılarımı sunarım.

Dr. Hakan KARA

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----|
| ÖNSÖZ | II |
| İÇİNDEKİLER | III |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | IV |
| ŞEKİLLER ve TABLOLAR | V |
| RESİMLER | VI |
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2.GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. İnsan Nazal Dorsum Anatomisi | 3 |
| 2.2. Rat Burun Anatomisi | 6 |
| 2.3. Kartilaj Doku Özellikleri | 7 |
| 2.4. Greft Etkisi | 9 |
| 2.5. Greft Başarısını Etkileyen Faktörler | 10 |
| 2.6. Nazal Transplantlar | 12 |
| 2.7. Amniyon Zar Greft | 17 |
| 2.8. Amniyon Zar Greft Etkileri | 19 |
| 2.9. Amniyon Zarın Elde Edilmesi Ve Hazırlanması | 22 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 24 |
| 4. BULGULAR | 31 |
| 5. TARTIŞMA | 39 |
| 6. ÖZET | 48 |
| 7. KAYNAKLAR | 49 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- A : Arteria
AZT : Amniyon Zar Transplantasyonu
DMEM : Dulbecco Modified Eagle Medium
HLA : İnsan Lökosit Antijeni
HIV : İnsan İmmünyetmezlik Virusu
H&E : Hematoxilen and Eosin
IL : İnterlökin
INF : İnterferon
M : Musculos
N : Nervus
SMAS : Süperfisyal Musküler Aponörotik Sistem
TGF- β : Transforming Büyüme faktörü-Beta
TIMP : Metalloproteinaz Doku İnhibitorleri
V : Vena

ŞEKİLLER

Şekil 1: Nazal piramidi oluşturan yapılar (Sol)

Şekil 2: SMAS (Sağ)

Şekil 3: Copray tarafından rat nazal anatomisinin insan nazal anatomisine benzer şekilde şematize edilmesi

Şekil 4: Kartilaj Doku Histolojisi

TABLolar

Tablo 1 : Sadece Katlanmış Amniyon Zar Greft İçeren Grup Bulguları

Tablo 2 : Sadece Tek Parça Greft İçeren Grup Bulguları

Tablo 3 : Amniyon Zara Sarılı Tek Parça Greft İçeren Grup Bulguları

Tablo 4 : Amniyon Zara Sarılı Doğranmış Greft İçeren Grup Bulguları

Tablo 5 : Sham Opere Grup Bulguları

RESİMLER

- Resim 1:** Tek kat yayılmış amniyon zarı (sol)
- Resim 2:** Amniyon zarı üzerinde doğranmış kıkırdak parçacıkları (sağ)
- Resim 3:** Amniyon zara sarılı doğranmış kıkırdak parçacıkları içeren greft (sol)
- Resim 4:** Amniyon zara sarılı doğranmış kıkırdak parçacıkları içeren greft (sağ)
- Resim 5:** Amniyon zarının katlanması (sol)
- Resim 6:** Amniyon zara sarılı doğranmış kıkırdak parçacıkları içeren greft (sağ)
- Resim 7:** Postoperatif 3. ayda Grup 3 greft morfolojisi (sol)
- Resim 8:** Postoperatif 3. ayda Grup 3 greft morfolojisi (sağ)
- Resim 9:** Postoperatif 3. ayda Grup 4 greft morfolojisi (sol)
- Resim 10:** Postoperatif 3. ayda Grup 4 greft morfolojisi (sağ)
- Resim 11:** Postoperatif 3. ayda Grup 4 greft morfolojisi (sol)
- Resim 12:** Postoperatif 3. ayda Grup 4 greft morfolojisi (sağ)
- Resim 13:** SMAS altında katlanmış amnion zar görünümü (H&E X200) (sol)
- Resim 14:** Nükleusları izlenen viable kartilaj hücreleri (H&E X400) (sağ)
- Resim 15:** Yeni periferal kondrosit proliferasyonu (H&E X400) (sol)
- Resim 16:** Tek tek veya 2-5 hücreli gruplar halinde yeni periferal kondrosit proliferasyonu (H&E X400) (sağ)
- Resim 17:** Postoperatif 3. ayda doğranmış kıkırdak parçaları ve amnion zarı (H&E X40) (sol)
- Resim 18:** Postoperatif 3. ayda SMAS altında amniyon zarı kaybolmuş tek parça intakt kartilaj dokusu (H&E X40) (sağ)
- Resim 19:** Kartilaj doku yapıları arasında fibrokollajenize bağ dokusu (H&E X400) (sol)
- Resim 20:** Kronik iltihabi hücre infiltrasyonu ve vasküler yapılar (H&E X400) (sağ)
- Resim 21:** Kartilaj dokusunun kaybolduğu alanda yoğun kronik iltihabi hücre infiltrasyonu (H&E X100) (sol)
- Resim 22:** Sağlam kartilaj dokuları (H&E X40) (sağ)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisinde; son yıllarda burun eksternal deformitelerinin onarımı için, çeşitli biyolojik materyallere sarılmış doğranmış kıkırdak parçaları içeren greft materyalleri kullanılmakta ve bu konuda yeni greft materyallerine ihtiyaç duyulmaktadır (1).

Burun sırtı augmentasyonu ve septorinoplasti operasyonları sonrası gelişen hacim kaybı ve burun sırtı düzensizlikleri, fonksiyonel ve estetik amaçlarla yapılan bu ameliyatların başarısını etkileyen en önemli faktörlerden birisi olmaya devam etmektedir (2).

Burun sırtı augmentasyonu ve düzensizliğinin giderilmesinde otolog ve homolog kıkırdak, kemik, fasya, cilt, yağ dokusu, duramater, perikard gibi biyolojik materyaller yanında metaller, silikon, teflon, silastik, Gore-Tex, titanyum gibi alloplastik materyaller de kullanılmıştır (3).

İdeal bir materyalin dokudaki defekti veya deformiteyi düzeltecek en uygun materyal olarak seçilmesi için; yerleştirildiği bölgede ek bir komplikasyona yol açmaması, doku uyumu, inflamatuvar reaksiyon ve yabancı cisim reaksiyonu yaratmaması, enfeksiyona dirençli olması, uzun vadede dokuda şeklini ve volümünü koruyarak stabil kalması, çabuk ve kolay elde edilebilmesi, ekonomik olması ve kolay çıkarılabilir olması gerekir (4).

Günümüzde otolog kıkırdak greftler özellikle burun fonksiyonel ve estetik cerrahisinde en sık kullanılan materyallerdir. Revizyon durumlarında ise en çok kullanılan septum otojen greftleri genellikle yetersiz miktardadır. Rinoplasti sonrası nazal dorsumdaki düzensizlik ve defektlerin onarımında; değişik şiddette ezilmiş greftler, doğranmış kıkırdak greftler ve biyolojik materyallere sarılmış doğranmış kıkırdak greftler kullanılmaya devam etmektedir. Kıkırdak parçalar bir fasya ile sarılarak kullanıldığında canlılığını daha iyi korumakta ve daha iyi sonuçlar elde edilmektedir. (2,3,5)

Ancak fasyanın elde edilmesi ayrı bir inzisyon ve operasyon gerektirdiği ve operasyon süresini uzattığından, bu amaçla kullanım için hazır olarak elde edilebilen biyolojik materyallerin kullanımı araştırılmaktadır (6).

Amniyon zar uygulamaları, ilk defa Davis tarafından 1910 yılında deri yerine fetal zarların kullanılması ile başlamıştır. Amniyon zar, fetal zarlardan elde edilen homolog bir biyolojik materyaldir. Amnion zarın epitelizasyonu kolaylaştırdığı, epitel hücresi ömrünü uzattığı, inflamasyon ve nedbe oluşumunu azalttığını destekleyen çalışmaların yayınlanmasıyla birlikte, özellikle göz, plastik cerrahi, jinekoloji ve genel cerrahi dallarında yaygın kullanım alanı bulmuştur (7,8).

Kolay elde edilebilir, hazır ve ucuz bir materyal olarak amniyon zarı, pek çok özellikleri ile tercih edilebilecek ve yeni kullanım sahaları bulabilecek biyolojik bir materyaldir (8).

Bu deneysel araştırma; burun eksternal deformatelerinin onarımı için en uygun implant ve dolgu materyali kullanımı konusundaki bilimsel çalışmalara katkı sağlamak amacı ile yapılmıştır. Çalışma kapsamında; katlanmış amniyon zarı, tek parça otolog kıkırdak greft, amniyon zarına sarılmış tek parça otolog kıkırdak greft ve amniyon zarına sarılmış doğranmış otolog kıkırdak greft burun sırtında deneysel dolgu materyali olarak kullanılmış ve elde edilen sonuçlar histopatolojik ve hacimsel parametreler dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnsan Nazal Dorsum Anatomisi

2.1.1. Eksternal Burun Anatomisi

Burun; üst kısmı kemik, alt kısmı kıkırdak yapılardan oluşan bir piramit şeklindedir. Bu kemik ve kıkırdak çatı üzerinde cilt ve bunun altında bu çatıyı örten kaslar, SMAS bulunmaktadır. Bu üçgen piramidin tepesi burun kökü (radiks), tabanı ise burun delikleridir. Piramidin iki yan duvarı osteokartilajinöz yapıda olup os nazale ve üst lateral kartilajlar (triangüler kartilajlar) tarafından meydana gelmiştir.

Nazal kemikler, orta hatta birbiri ile eklem yaparak, lateralde maksiller kemiğin frontal çıkıntısı, ventralde frontal kemiğin nazal çıkıntısı, etmoid kemiğin perpendiküler laminasının ön ve üst kısmıyla ve septal kıkırdak ile eklem yapar. İki yan duvar orta hatta bir açı ile birleşerek burun sırtını yani dorsumu oluştururlar (9).

2.1.2. Kemik Piramit

Kemik çatı, tüm burun iskeletinin üst yarısı veya üst 1/3 lük bölümünü oluşturur. Kemik dorsumun en dar yeri palpebral kasların medial tendonlarının yapıştığı yere uyan interkantall hat; her iki medial kantusu birleştiren hayali horizontal çizgidir. Bu hat üzerinde kemik sert ve kalın, altında ise daha incedir. İnterkantall hattın yaklaşık 10 mm üzerinde nazal kemiğin üst sınırı olan nazofrontal sütür hattı mevcuttur. Kemik dorsuma önden bakıldığında kum saati görünümündedir. Lateralde bakıldığında glabella ile nazal dorsum arasında kalan yumuşak doku alanı en konkav bölüm olup nazion olarak adlandırılır(10).

2.1.3. Kıkırdak Çatı

Burun kıkırdak çatısı üst lateral kartilajlar, alar kartilajlar, septal kartilaj ve aksesuar minor kartilajlar tarafından oluşmuştur. Septal kartilajın dorsal kısmı burun sırtının oluşmasına yardımcı olup, nazal tip desteğini oluşturur.

Her iki üst lateral kırıkta, superiorde nasal kemiklerle ve medialde ise septumla birleşir. Üst lateral kırıklar Nazal kemiklerle birleşmede de, kaudal planda onların devamı gibidir. Üst lateral kartilajın lateral sınırı Nazal kemiğin altında sonlanır ve bu noktalarda herhangi bir iskelet desteğine sahip değildir. Başlıca desteği septum ve Nazal kemikler tarafından oluşturulmaktadır (10,11).

2.1.4. Eksternal Burun Kanlanması

Burun dış kısmının arteriyel beslenmesi, a. karotis eksterna ve interna dalları tarafından sağlanmaktadır. a. karotis eksternanın a.fasyalis dalı ve a. karotis internanın a.oftalmika dalından gelir.

A.fasyalis, a.labialis superior dalını verdikten sonra a.angularis adını alır. A.angularis lateral nazal dalları ile dorsum ve burun yanlarını besler. A.labialis superior burun alar kısmını besler. A.oftalmika uç dalı a.dorsalis nasi ise burun üst kısmını besler.

Venleri ise v.fasyialis ve v.angularis aracılığı ile v.jugularis internaya doğrudur.

Lenfatik drenajı ise submandibuler ve parotis lenf nodları ile juguler zincire dökülürler (9,10,11).

2.1.5. Nazal Piramidin Yüzeyel Kısmını Oluşturan Yapılar

Nazal piramit; dışarıdan içeriye doğru aşağıdaki yapılar tarafından oluşturulur:

- Değişken kalınlıkta epidermis ve sebace glandlar ile kıl folikülleri içeren dermis
- Değişken kalınlıkta ve nörovasküler yapıları içeren bağ dokusu
- Değişken miktarda yağ dokusu
- Muskulofasyal tabaka, fibromusküler tabaka, derin yağ dokusu ve alttaki osteokartilajinöz yapıya sıkıca yapışan periosteal ve perikondrial tabaka. Bu tabaka için birçok otör SMAS terimini kullanır (12,13,14).

2.1.6. Süperfisyal Musküler Aponörotik Sistem (SMAS)

SMAS; yüzeysel yağ dokusu, fibromusküler doku, derin yağ dokusu, longitudinal fibröz doku ve interkrural ligamentleri içerir.

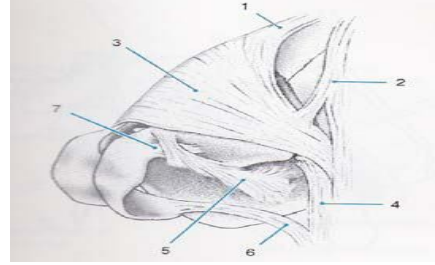
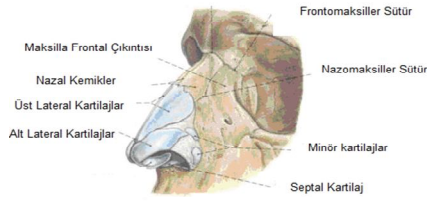
Cilt, nazofrontal çöküntü bölgesinde yaklaşık 12.5 mm kalınlığıyla en kalın iken, rinionda ise yaklaşık 0.6 mm kalınlıkla en incedir. Derin yağ tabakası, gevşek areolar yağ dokusundan oluşmuştur. Fibromusküler tabakayı perikondrium-periostium tabakasından ayırır, burun cildi mobilitesine izin verir ve mimiklere katkı sağlar. Bu doku tabakasından fibröz ağsı yapılar yoktur. Cerrahi diseksiyon bu planda yapılır (12,13).

SMAS, multipl kasların kontraksiyonlarından kaynaklanan kuvvetlerin dağıtımını sağlar. SMAS' ın fibröz komponenti genellikle her nazal kas için süperfisyal ve derin fasya olarak iki tabaka şeklindedir. Böylelikle, nazal kaslar ve ilişkili fasyaları tek bir ünite olarak çalışır. Her nazal kas; ilgili fasyası ve bir nazal SMAS komponenti ile birbiriyle bağlantılıdır ve hareketleri dengelenir(14,15).

2.1.7. Yumuşak Doku Flebinin Diseksiyonu

Flep diseksiyonunun doğru cerrahi planda yapılması peroperatif kanamayı azaltmak ve iyileşme sürecini hızlandırmak için önemlidir. Diseksiyon direk supraparikondrial planda ve hatta domal bölgede subperikondrial planda başlar. Alt lateral kırıkda boyunca laterale doğru devam eder, sefalik yönde rinion bölgesine uzanır. Bu teknik hem avasküler bir plan sağlayacak, hem de minor kemik ve kırıkda düzensizlikleri üzerinde kamuflaj etkisi ile daha düzenli kontur oluşumuna katkı sağlayacaktır.

Kırıkda iskeleti serbestleştirirken yanlışlıkla SMAS tabakasına girilebilir. Kaudalde orta hatta kırıkda iskelet üzerinde perikondriumu insize edip diseksiyona subperikondrial planda devam etmek bu hasarı önler (16).



Şekil 1: Nazal piramidi oluşturan yapılar (Sol)

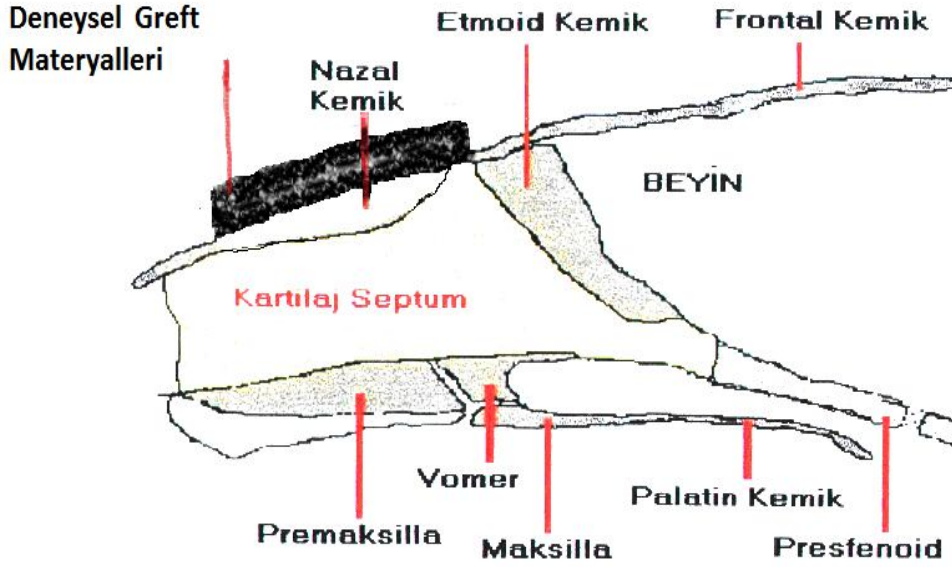
Şekil 2: SMAS (Sağ)

2.2. Rat Burun Anatomisi

Anatomik olarak ratların burnu lateral nazal duvar haricinde insan burnuna benzer. Nostril içe doğru kavislenerek vestibülün dış ve vertikal kısmını içine alır.

Lateral vestibül duvarı dorsal ve ventral pariyetal kartilaj ile desteklenir. Her iki nazal kavite lateralinde üstte nazal konka ve altta maksiller konka olmak üzere iki adet konka mevcuttur. Medial nazal duvar tamamıyla ventral planda burun dorsumuna kadar uzanan septal kartilaj tarafından oluşturulur (17).

Coprav tarafından 1986 yılında yapılan çalışmasında rat nazal anatomisini insan nazal anatomisine benzer şekilde kartilaj septum, etmoid kemik, vomer, premaksilla ve maksillaya ayırarak şematize etmiştir (17,18).



Şekil 3: Copray tarafından rat nazal anatomisinin insan nazal anatomisine benzer şekilde şematize edilmesi

2.3. Kartilaj Doku Özellikleri

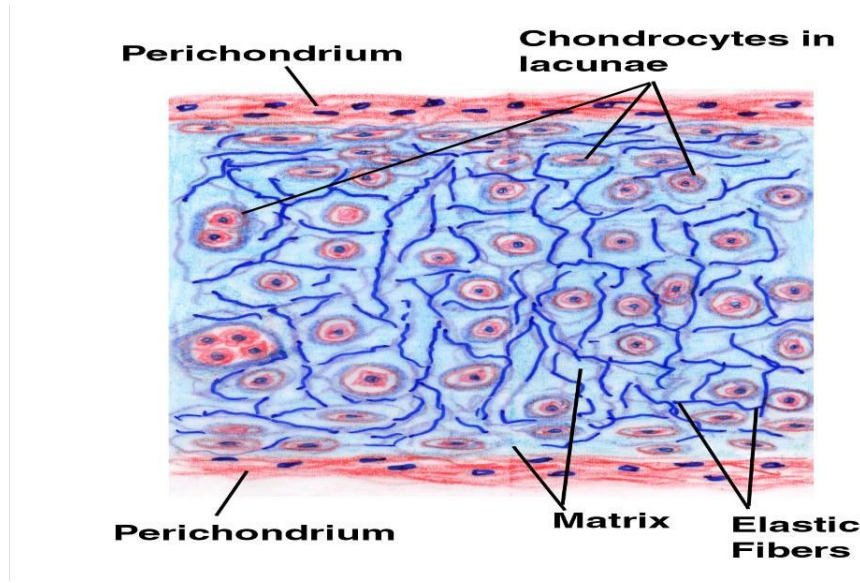
Kartilaj dokusunun ana görevi, bağ dokusunun özelleşmiş bir şekli olarak yumuşak dokuyu desteklemektir. Kartilaj; hücre ve matriksten oluşmaktadır. Mekanik zorlamalar sonucunda kartilaj dokusunda kalıcı şekil bozuklukları oluşabilir (19).

Kartilaj doku matriksi, kondrositler tarafından sentez edilip salgılanan esas madde (ground substance) ve fibrillerden yapılmıştır. Kartilaj matriksinde bulunan esas makromoleküller kollajen, hyaluronik asit, proteoglikanlar ve az miktarda değişik yapıdaki kondronektin glikoproteinlerdir. Karakteristik özelliği, eğilip bükülebilme olan elastik kartilajın matriksinde çok miktarda elastin vardır.

Kartilaj doku % 70 oranında su içeriğine sahiptir. Dehidrate edildiğinde ağırlığının % 40-70'i kollajen, %15-40'ı proteoglikan ve % 5'i kondrositten oluşur. Beslenmesi komşu perikondrium dokusundaki kapillerler yoluyla veya sinoviyal sıvıdan difüzyonla olur. Kartilaj doku avaskülerdir, lenfatik damar ve sinirleri yoktur (20).

Perikondrium, eklem kartilajı dışındaki tüm hyalen kartilajlarda bulunan ve kartilajın büyümesi ve beslenmesi için gerekli olan, yoğun bağ dokusundan oluşan bir örtü tabakasıdır. Perikondrium tip-1 kollajen ve çok sayıda fibroblasttan oluşan iki tabaka halindedir. Dış tabakada kalın kollajen demetler, amniyon zar miktarında elastik lifler ve fibrositler vardır. Zengin kan damarları bulunur. İç tabaka kondroblast adı verilen bağ doku hücrelerden zengindir. Bu hücreler kolaylıkla farklılaşarak kondrositleri oluşturur. Perikondrium kartilaj dokusunun beslenmesi, rejenerasyonu ve korunmasını sağlar(19,20,21).

Matriks içindeki fibrillerin çeşidi, düzeni ve miktarına göre kartilaj; hyalen, elastik ve fibröz olmak üzere üç tipte incelenir.



Şekil 4: Kartilaj Doku Histolojisi

2.3.1. Hyalen Kartilaj: Hareketli eklem yüzeylerinde büyük solunum yolu duvarlarında (burun, larinks, trakea, bronş) ve kotların sternuma bağlandığı bölgelerde bulunur.

Hyalen kartilajın kalsifikasyonu, ossifikasyon için gerekli olan bir evredir. Fakat hyalen kartilajın kalsifikasyonu yaşa bağlı olarak kartilaj hücrelerinin dejenere olduğu bölgelerde de olabilir. Burada ilk önce kartilaj hücrelerinin hacimlerinde artış olur, bunu takiben hücreler ölür.

2.3.2. Elastik Kartilaj : Dış kulak yolu, kulak sayvanı, östaki tüpü, epiglot ve aritenoid kartilajların vokal çıkıntılarında bulunur. Diğer

kartilajlardan farkı, matriks içinde bol miktarda elastik fibrillerin bulunmasıdır. Hiyalen kartilaj kadar dirençli değildir ama daha amniyon zarla eğilip bükülebilir. Elastik kartilajda ossifikasyon olmamniyon zar, dejenerasyon ise daha amniyon zar görülür.

2.3.3. Fibröz Kartilaj : İntervertebral disk, amniyon zarı ligamanların kemik yüzeyine bağlandıkları yerlerde ve simfizis pubiste bulunur. Hücreler arası matrikste bol miktarda kaba kollajen demetler vardır. Kondrositler küçük boyutlu ve seyrekler. Bu yapısı ile fibröz bağ dokusuna benzer. Fibröz kartilaj her zaman yoğun bağ dokusu ile ilişkidir ve bu iki doku arasındaki sınır kesin değildir (19,20).

2.4. Greft Etkisi

Greft ve doku ilişkisini anlamak için yara iyileşmesinin evrelerini incelemek gereklidir. Transplante edilen dokuda, yumuşak doku iyileşmesi ya normal onarım ya da kronik inflamasyonla sonuçlanır. Yerleştirilen greft çevresindeki dokularda kronik inflamasyonun devamlılığı, greftin harabiyetine ya da implantın atılmasına yol açabilir(22).

Doku greftinin, transplantasyon alanındaki uyumunu etkileyen faktörler şunlardır;

- Greftin beslenmesi,
- Greftin metabolik ürünlerinin dışarı atılması,
- Greftin konak alana immünolojik uyumu,
- Greftin konak alana anatomik benzerliği.

Yara; deri, mukoza ve organların doku bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanır. Yaralanma sonrası meydana gelen farklı mekanizmaların tek amacı tamirdir. Tamir, oldukça kompleks ve dinamik yollarla dokunun yıkılması ve yeniden senteziyle sağlanır (23).

2.4.1. Greftlerde Yara İyileşme Mekanizması

Meydana gelen doku hasarı ile birçok mediatörün ve hücreler arası haberci maddeler olan sitokinlerin salınması ile başlayan bu faz yaklaşık 72 saat sürer. Doku hasarı olan bölgede ilk önce vazokonstriksiyon başlar ve

koagülasyon sistemi aktivite olur. Trombositlerden salınan vazoaktif mediatörlerin etkisi ile vazokonstrüksiyon evresini kısa bir süre içinde vazodilatasyon ve damarlarda permeabilite artışı takip eder. Enfekte yarada kontaminasyon sonucunda granülositik hareketlerin devam etmesi tamirin birinci fazını uzatarak, yara iyileşmesinde gecikmeye yol açar(22).

Kronik inflamasyonda, akut inflamasyonun tersine haftalar ve aylarca devam eden zedeleyeci uyarı ve bunun sonunda hücre infiltrasyonu ile fibroblast proliferasyonu ortaya çıkar. Kronik inflamatuvar yanıtta makrofajların birleşmesi ile meydana gelen dev hücrelerin oluşturduğu yabancı cisim reaksiyonu da meydana gelebilir.

Homogreftler hücrel uyarı nedeniyle yara iyileşmesinin inflamatuvar ve proliferatif evrelerini belirgin olarak uzatırlar. Greft çevresinde ve konak doku ile greft arasında nötrofiller toplanarak immün sistemi aktive eder. Yara ile greft çevresindeki dokularda konnektif yapılardan bir duvar oluşur ve fibrozise yol açarak kronik inflamasyon gelişir. Konakçı dokunun antijenlerine karşı homogreft kartilajın etrafında oluşan kapsül koruyucu rol oynar. Homogreft, çok yavaş bir şekilde fibröz doku ile istila edilir ve onarılır. Bu çoğunlukla homogreft kartilajın şeklini ve yapısını destekler.

Sonuç olarak; homolog kartilaja karşı gelişen inflamatuvar reaksiyon geç ve yavaş oluşmakta, reaksiyon sonucunda meydana gelen fibrotik kapsül transplantı bir süre daha korumaktadır(22,23).

2.5.Greft Başarısını Etkileyen Faktörler

2.5.1. İnfeksiyon :

Yapılacak implantasyondan önce infeksiyon olmamalı veya varsa ortadan kaldırılmalıdır. Akut infeksiyon varlığında hem doğal hem de sentetik materyal kullanımından kaçınılmalıdır. İnfeksiyon doku iyileşmesini geciktirir ve implant vücuttan atılabilir. Eğer implant enfekte olursa infeksiyonun temizlenebilmesi için implant çıkarılmalıdır(24).

2.5.2. Doku Mobilitesi :

Vücutta mobilitesi fazla olan alanlara implant uygulandığında yara iyileşmesi zayıf olur. İmplantasyon alanında fazla mobilite varlığı, kemik greft ve sentetik alloplastların kullanıldığı durumlarda implantın üzerini örten doku ince olabilir, implant yer değiştirebilir veya vücuttan atılabilir.

2.5.3. Yumuşak Doku İle Kaplanması :

Biyomateryalin üzerini örten dokunun yeterli kalınlıkta olması gerekir. Sentetik implantlar ve kemik greftler gibi sert biyomateryallerin başarısını etkileyen en önemli faktördür. Sert yapıda implant uygulamalarında, implantın kas ve yağ dokuların altına saklanması greft başarısını artırır. Cilt altı dokusu ince olan burun sırtı gibi bölgelerde sert materyal kullanılması greft başarısını azaltır. Bu durumda dokudaki incelmeyi önlemek ve implantın yer değiştirmesini azaltmak için çevre doku ile uyumlu implantlar seçilmelidir(25).

2.5.4. Yara Gerginliği :

Yara kapatılması esnasında dokuda meydana gelecek gerilmelerden kaçınılmalıdır. Gerginliğin fazla olması durumunda dokuda açılma ve infeksiyon gelişimi, yara kenarlarının perfüzyonunun bozulması sonucu iskemi ve nekroz meydana gelebilir. Aşırı yara gerginliği durumunda sentetik implantın üzerindeki yumuşak dokularda incelmeye, sonuçta implantın ekspozisyonuna ve infeksiyonla kaybedilmesine neden olabilir(26).

2.5.5. Postoperatif yara drenajının yetersizliği :

Doku ile greft yatağı arasında kan veya vücut sıvısı birikimi sonucunda greftin beslenmesi bozulur, revaskülarizasyonu gecikir. Yetersiz drenaj varlığı alloplastik materyal kullanıldığında infeksiyona yol açar(25,26).

2.6. Nazal Transplantlar

Transplantlar; alıcı fonksiyonlarını destekleyen canlı veya cansız doku olabildiği gibi alloplastik maddeler de olabilir(27).

Transplantlar, orijinlerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılır:

- Otolog** : Aynı bireyden köken alır.
Homolog : Aynı türden bir bireyden köken alır.
İzojen : Genetik yapısı aynı olan bireylerden köken alır.
Heterolog : Farklı türlerden köken alır.
Alloplastik: Vucuda yabancı inorganik materyaldir.

İdeal bir transplant aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır:

1. Karsinojenik olmamalı
2. İnflamasyon ve yabancı cisim reaksiyonu yapmamalı
3. Allerjik reaksiyonu provoke etmemeli
4. Doku sıvıları ile karşılaştığında veya zamanla fiziksel değişikliğe uğramamalı
5. Kullanıldığı alanın yapısına uygun olmalı ve istenilen şekle getirilebilmeli
6. Fiziksel gerilmelere dirençli yapıda olmalı
7. Maliyeti düşük olmalı ve kolay elde edilebilmeli

Tüm bu özelliklere sahip biyomateryal oldukça nadirdir. Greft materyallerinin başarısı, greftin kendi özellikleri dışında, yerleştirildiği ortama da bağlıdır(28).

2.6.1. Biyolojik Maddeler

Biyouyumluluğu yüksek ve karsinojenik yapıda olmayan biyolojik materyallere greft de denilmektedir. En avantajlı olanı, bireyin kendi genetik materyalini taşıyan kendi dokularından elde edilen otogreftlerdir. Otogreftlerin en büyük dezavantajı ise sınırlı miktarda elde edilebilmesi ve donör alan için de uygulama gerektirmesidir.

Aynı türün farklı bireyleri arasında transfer edilen biyolojik materyaller ise homogreftlerdir. Ototreftlere yakın derecede biyouyumluluk gösteren homogreftlerin en büyük avantajı; fazla miktarda elde edilebilmesi ve depolanabilmesidir. Dezavantajları ise; daha fazla immünojenik olması, skar dokusu oluşturması, enfeksiyon bulaştırma riski ve depolanmadan dolayı nozokomiyal enfeksiyon riskinin olmasıdır.

Farklı türdeki bireyler arasında taşınan biyolojik maddelere ise ksenogreft denir. Karsinojenik olmamaları ve enfeksiyona dirençli olmaları sayesinde avantajlı olup, alerjik veya sistemik immün yanıtı sebep olmaları, rezorbe olmaları ve skar dokusu oluşturmaları nedeniyle günümüzde nadiren kullanılmaktadır (27,28).

Nazal rekonstruksiyonda ilk tercih edilecek materyal otolog kartilaj olmakla birlikte en iyi alternatif ise homolog kartilaj dokulardır.

Sıklıkla kullanılan greft materyalleri şunlardır:

2.6.1.1. Kartilaj :

Burun sırtı augmentasyonda en sık kullanılan greft materyalidir(29). Operasyon esnasında septumun kartilaj kısmından, aurikula konkal kartilajından veya alar kartilaj lateral kruslarından elde edilebilir. Başka bir hasta veya kadavradan alınarak çeşitli yöntemlerle antijenik özelliği ortadan kaldırılan ve saklanan homogreft kartilajlar da kullanılabilir. Kartilaj dokusu difüzyonla etrafından beslendiği için kemik veya kartilaj ile temas etme zorunluluğu yoktur. Kolay şekil verilebilir ve elde edilmesi kolaydır. Ancak septumdan veya aurikuladan sınırlı miktarda elde edilebilen kartilaj dokusunun yetersiz olması ve bu durumda kullanılan kostal kartilaj greftlerin eğrilme ve deforme olma riskinin yüksek olması ise en önemli dezavantajlarıdır. Kartilaj doku, esnek ve sağlam yapısı nedeniyle burun için hem destek dokusu hem de küçük defekt ve kenar düzensizliklerinde dolgu materyali olarak kullanılabilir (27,28,29).

2.6.1.2. Kemik :

Burun sırtı rekonstruksiyonunda otolog ve heterolog kemik greftler kullanılmıştır. Ototolog kemik greftler kemik doku yerine yumuşak doku ile temas ettiğinde rezorbe olarak yerini fibröz dokuya bıraktığından, uzun süreli dokuda kalabilmesi için kemikle temas etmelidir. Çoğunlukla otolog

kemik greftler kullanılmakta ve en sık krista iliaka, kosta ve kalvaryal kemiklerden hazırlanmaktadır(29,31).

2.6.1.3. Dermis Ve Yağ Dokusu :

Otogreft dermisin rezorbsiyon oranının yüksek olması nedeniyle fazla kullanılmamaktadır. Epitel katlantılarına bağlı kist oluşumu ve ikinci operasyon sahasına ihtiyaç göstermesi diğer dezavantajlarıdır. Yağ greftlerin % 30-50 oranında rezorbsiyon göstermesi nedeniyle kalıcı düzelme sağlanamaması ise diğer dezavantajlarıdır(29,32).

2.6.1.4. Ksenogreftler :

‘Zyderm‘ denilen önceleri hemostatik alan olarak kullanılmış enjektabl non-antijenik sığır kollajeni son 20 yılda greft dünyasına giren biyolojik materyaldir. Özellikle cilt ve diğer kozmetik deformitelerin onarımında kullanılmıştır. 1986 yılında Sachs tarafından nazal dorsal augmentasyonda kullanılmıştır. Ksenogreft olmaları ve % 16 oranında rezorbe olmaları nedeniyle pek tercih edilmemektedir(27,28,29).

2.6.1.5. Doku Mühendisliğinden Elde Edilen Otolog Kartilaj :

İnsan septal kartilajından alınan biyopsi materyalindeki kondrositler izole edilerek DMEM (Dulbecco’s Modified Eagle Medium) kültür ortamına ekilerek tek tabaka halinde kartilaj elde edilir. İn vitro ortamda absorpsiyon yeteneğindeki poliglikolik asit ve poliglaktinin polimer iplikçiklerden meydana gelen köpük şeklindeki porlu yapıya kondrositler ekilerek üç boyutlu kartilaj yapısı elde edilir. Kartilaj yapı deney hayvanlarına implante edildikten sonra doku reaksiyonun aşırı olmadığı ve bu yüzden başlangıçtaki durumuna göre fazlaca farklılaşmadığı, kondrositler tarafından ekstraselüler matriks yapılarının sentezlendiği ve matriksteki artışa bağlı olarak zamanla hyalin kartilaja benzediği gösterilmiştir. Ancak bu yöntem pahalılığı nedeniyle pratikte kullanılmamaktadır(30).

2.6.2. Sentetik / Semisentetik Maddeler

Burunda kullanılan alloplastik implantlar polimerler, metaller, seramikler ve enjekte edilebilenler olarak dört gruba ayrılabilir. Sentetik organopolimerler alıcı tarafından iyi tolere edilen en büyük gruptur. İmplantlar vücuttaki bir çok kimyasal elementi içerir. İmplantların

dayanıklılığı; öncelikle kimyasal yapılarına ayrıca biyostabilitelerine, fiziksel ve mekanik özelliklerine, implantasyon alanı ve kullanılacak maddenin saflığına bağlıdır. Ayrıca biyouyumlu implant kimyasal olarak kusursuz olsa bile şeklinden dolayı uygun olmayabilir. Bu iki faktör uyumlu olduğunda materyal uygun şekilde implante edilmezse sonuç yine başarısız olur(28,31).

2.6.2.1. Silikon Lastik (Silastik) :

Kozmetik cerrahide 1950'lerden beri destek amacıyla kullanılmaktadır. Tamamıyla toksik olmayan, yabancı cisim reaksiyonu minimal olan organosilikon polimerlerdir. Burun sırtı, çene, kolumellanın düzeltilmesi gibi durumlarda başarılı bir şekilde kullanılır. Burun sırtındaki ince deri cebine yerleştirildiğinde, deriden dışarı atılabilir ve deri reaksiyonlarına yol açarlar (32).

Sıvı Silikon : Sıvı silikon, silastik gibi organosilikon polimeridir. "Silikonoma" olarak adlandırılan granülomatöz reaksiyonlara yol açmaktadır. Doğru cerrahi planda kullanıldıklarında rinoplasti operasyonlarında iyi sonuçlar alınabilir.

2.6.2.2. Polytetraflouretilen (PTFE) :

Florokarbon polimerleri içeren teflon, proplast ve Gore-Tex bu kategoride yer alır. Teflon pasta, %50'lik gliserin solüsyonu içinde 50-100 nanometrelik pür teflon parçacıklarından oluşmuş visköz, enjektabl bir implanttır. Karsinojenik olmayan, stabil, inert ve bir materyaldir. Uygulama sonrası enjeksiyon sonrasındaki pozisyonunda kalır ve daha sonra fibröz enkapsülasyon oluşur.

2.6.2.3. Proplast:

Proplast, siyah rengini oluşturan süngerimsi grafit (elementer karbon) ve teflonun birleşmesinden oluşan porlu implanttır. Elde edilen koyu siyah implanta proplast-I adı verilmiş, beyaz renkli teflon ve alüminyum oksit karışımından elde edilen proplast-II ise daha sonra ortaya çıkmıştır. İmplantın % 70-90'ını porlar oluşturur. Bu porlar fibrovasküler yapıların implantın içine doğru büyümesine imkan sağlayarak implantın fibröz kapsül oluşturmadan çevre dokulara fiske olmasını sağlar. Proplast mekanik olarak

basınca maruz kalmadığı, yumuşak doku augmentasyonunda kullanıldığı zaman oldukça güvenilir ve stabil bir materyaldir(33).

2.6.2.4. Gore-Tex :

Politetrafloretülenin ince mikrofibillerle birbirine bağlanmasından oluşan solid yapılı, mikroporlar içeren bir materyaldir. Porların boyutları 10-30 mikron çapındadır. Yapılan hayvan çalışmalarında biyouyumu en yüksek materyal olarak bulunmuştur (27,32).

2.6.2.5. Yüksek Dansiteli Polietilen (Medpor):

Yüksek basınç ve ısıda polimerize edilen etilenden elde edilir. Yüksek molekül ağırlıklı polietilen katı yapılı ve serttir. Üzerindeki porlar 100 ile 250 mikrometre arasında olup tüm hacmin %50'sini oluşturur. Polietilenin kimyasal olarak dokuya etkisi yoktur. Porlar aracılığı ile fibröz dokuların içeri girmesine izin verir ve böylece gelişen doku reaksiyonu ile sabitleşir. Orta derecede doku reaksiyonuna neden olup implant etrafında fibröz doku oluşur, yabancı cisim dev hücre reaksiyonu da meydana gelir

2.6.2.6. Akrilik (Metil metakrilat) :

Metakrilik asit esterinin veya akrilik asit polimerizasyonundan elde edilir. Baş ve boyun bölgesinde yapılan operasyonlarda görülen allerjik reaksiyon, hipotansiyon ve kardiyak arrest gibi komplikasyonlar bildirilmiştir. Burun sırtı, çene ve alında kullanıldığında daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Doku reaksiyonu minimaldir, başlangıçta cisim dev hücre reaksiyonu oluşur. Daha sonra bu reaksiyon, implantın etrafını saran ince fibröz bir kapsüle dönüşür.

2.6.2.7. Metaller :

İmplant olarak en sık titanyum kullanılır. Ayrıca paslanmaz çelik, alüminyum, kobalt, bakır, tantalum, krom, nikel ve tungsten içeren alaşımlar da kullanılır. Titanyum hafif, aşınmaya dirençli ve uzun dönem implantasyonda doku tarafından yüksek derecede kabul edilen bir maddedir. Bu nedenle titanyum ve alaşımları günümüzde en sık kullanılan metallerdir. Metalik implantlar baş boyun bölgesinde nazal fraktür onarımı ve mandibuler rekonstrüksiyonda kullanılır.

2.6.2.8. Seramik Hidroksiapatit :

Kemiğin temel mineral içeriği hidroksiapatitten oluşur ve %60-70 kalsifiye iskelet içerir. Kalsiyum fosfattan yapılmış implantların büyük kısmı hidroksiapatit şeklinde kullanılmaktadır. Kristal formda üretildikten sonra 800-1330 derecede ısıtılarak katı hale getirilir. Porlu ve solid tipte olmak üzere iki çeşittir. Gerek zorlukla şekil verilebilmesi gerek fibroosseöz doku gelişimini önlemesi nedeniyle solid formu sınırlı olarak kullanılmaktadır. Porlu form deniz mercanlarından üretilir. Porlu hidroksiapatit, yumuşak doku içine yerleştirildiğinde birkaç hafta içerisinde çevre dokuya fikse olur ve rezorbe olmamniyon zar (27,31,34).

2.7. Amniyon Zar Greft

2.7.1. Amniyon Zar Histolojisi

İnsan amniyon zarı, fetal zarlardan köken alan plasentanın en iç katmanıdır. Yaklaşık olarak 0,02 mm ile 0,5 mm kalınlığındadır. Tek katlı kübik epitel, bazal membran ve avasküler hiposellüler stromal matris olmak üzere başlıca üç tabakadan oluşur. Makroskopik olarak zarın; pürüzsüz, parlak, saydam, yapışkan olmayan epitel yüzü ve mat, yapışkan olan stromal yüz olmak üzere iki farklı yüzü vardır. Epitel ve stromal yüzünün belirlenmesinde üçgen sünger kullanılabilir. Sünger zara dokundurulduğunda yapışan tarafı stroma yüzü, diğer tarafı ise epitelial yüzüdür. Amniyon zar epitelinin amniyon sıvısı ile temas eden yüzeyinde çok sayıda mikrovillus bulunur. Bu mikrovilluslar, yüzey alanını genişletmekle birlikte; amniyon sıvısına besin, mineral ve düzenleyici proteinlerin dengeli bir şekilde geçişini sağlarlar(35,36).

Epitel hücreleri çok sayıda hormon ve inflamasyon mediyatörü salgılayarak fetusun gelişimine katkıda bulunur. Stroma tabakası; yoğun bağ tabakası, fibroblast ve sünger tabakaları olmak üzere kendi içinde başlıca üç tabakadan oluşur. Yoğun bağ tabakası sıkı retiküler liflerden meydana gelen amniyon zarının en güçlü destek tabakasıdır. Fibroblast tabakası yoğun fibroblast ağı içeren amniyon zarının en kalın tabakasıdır. Sünger tabaka ise zarın en dış tabakasıdır(35,37).

İnsan vücudundaki en kalın bazal membran amniyon zarında bulunmaktadır. Bu özelliği sayesinde, klinikte -80° C’de dondurulup saklanmasına ve böylece epitel hücrelerinin uzun süre düzenli bir şekilde korunmasına ve canlı kalmasına olanak sağlar. Stroma; damarsız, düşük hücre yoğunluklu matriksten meydana gelmektedir. Tip 3 ve tip 5 kollajenin yanı sıra, tip 4 ve tip 7 kollajen, fibronektin, laminin 1 ve 5, fibroblast ve fibroblast dışı diğer büyüme faktörlerini de içermektedir. Elektron mikroskopik incelemede; epitelyal hücrelerin hemidesmosomal bağlantılar ile bazal laminaya yapıştığı gözlenmektedir (36).

2.7.2. Amniyon Zar Biyokimyasal Özellikleri

Amniyon zar stromasında; çeşitli büyüme faktörleri, antianjiyojenik ve antiinflamasyon proteinleri, çeşitli proteaz inhibitörleri, steroid hormonları, hidrolitik enzimleri, oksidasyon-redüksiyon enzimleri içeren fetüsü koruyucu bir yapıdır.

Epitelizasyonu hızlandıran, kollajen sentezini arttırıcı, adezyonu, yeni damar oluşumunu, skar gelişimini ve enflamasyonu azaltıcı, yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önleyici, antibakteriyel etkileri vardır(37).

Aşağıdaki hormon ve mediatörleri barındırır:

- *Transforming growth factor B (TGFB1-2-3)*
- *Basic fibroblast growth factor (bFGF)*
- *Epidermal growth factor (EGF)*
- *Nerve growth factör (NGF)*
- *Growth factör mRNA (GF mRNA)*
- *Triotropik hormon (TSH)*
- *Human chorionic gonadotropin (HCG)*
- *Equine gonadotrophic hormone (PMSG)*
- *Keratocyte growth factor (KGF)*
- *Hepatocyte growth factor (HGF)*
- *Brain natriuretic peptide (BNP)*
- *Steroid hormonlar (Östrojen, Progesteron)*
- *Hidrolitik enzimler*
- *Oksidasyon ve redüksiyon enzimleri*
- *Sekonder enzimler*

2.8. Amniyon Zar Greft Etkileri

2.8.1. Epitelizasyona Etkisi :

Amniyon zarı baal membran gibi etki göstererek epitel hücrelerinin migrasyonunu kolaylaştırır, bazal epitel hücrelerinin adezyonunu kuvvetlendirir, epitel hücrelerinin ayrışmasını destekler ve epitel apoptozunu önler. Bu etkileri epitelyal hücrelerin büyümesinde rol oynayan Growth Faktör üretimine bağlıdır. Böylece yara iyileşmesini hızlandırıcı etki gösterir.

Amniyon zarı, iyileşmeye olan katkıları nedeniyle kullanıldığı gibi göz yüzey hastalıklarında hastaların ağrı ve rahatsızlık hissini dramatik olarak azalttığı için de kullanılır. Yapılan uygulamalar sonucunda elde edilen deneyimlere göre, oküler yüzeyin açık alanları, özellikle de kornea, amniyon zarla kaplandığında ağrı şiddeti azalmaktadır (35,37,38).

2.8.2. Antiskar Etkisi :

Fibroblastlar; Transforming Growth Faktör β tarafından aktive edilen yara iyileşmesinde skar oluşumundan sorumlu hücrelerdir. Amniyotik membran; TGF- β 'nın down-regülasyonu ve fibroblast salgılarının amniyon zaraltılması sayesinde, fibroblastların ayrılaşmasını baskılar. İstenmeyen keratosit apoptozunu azaltır ve sentezlenen hücre dışı matriksi azaltır. Dolayısıyla, inflamasyonu baskılayıcı etkisinin yanı sıra doğrudan nedbeleşmeyi önleyici etkisi de mevcuttur.

Tseng ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, insan kornea ve konjonktiva fibroblastları amniyon matriksine yerleştirilmiş ve TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 izoformları, TGF- β tip 2 reseptörleri ve miyofibroblast farklılaşmasının baskılandığı gösterilmiştir (35,37,39,40).

2.8.3. Nörotrofik Etkisi :

Amniyon zarı, çeşitli nörotansmitterlerin, nöropeptidlerin, nörotrofik faktörlerin sentezini destekler. Fetüsün sinir sisteminin gelişimine yardımcı olarak ve intrauterin skarsız yara iyileşmesini sağlaması nörotrofik etki mekanizmasını açıklamaktadır.

Bu konuda Koizumi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada reverse transkriptaz, polimeraz zincir reaksiyonu metodu kullanarak büyüme faktörlerinin mRNA'ları araştırılmış ve amniyon zarında bol miktarda keratinosit, hepatosit, epidermal ve fibroblast büyüme faktörleri bulunduğunu göstermişlerdir(37,38).

2.8.4. Antienflamatuar Etkisi :

Amniyon zarının antienflamatuar etkisi birkaç farklı mekanizma ile oluşmaktadır. Bu mekanizmalardan biri aktivin üretiminin düzenlenmesiyle meydana gelir. Diğer mekanizma ise membran üzerinde bulunan laktoferrin ve IL-1 reseptör antagonistleridir. Amniyotik membran; TIMPS (Tissue inhibitors of metalloproteinase inhibitors) 1,2,3,4, IL (İnterleukin)-10, IL-1 reseptör antagonisti ve epitelyal hücre çoğalması, damar oluşumu ve tümör büyümesini inhibe eden endostatin IL-1a ve IL-1b üretimini de suprese eder. Amniyotik epitel hücreleri, uygulama yerinde yarı geçirgen bir bariyer oluşturarak oksijen geçişine izin vermekte ancak enflamatuar hücrelerin, mediatörlerin geçişine engel olmaktadır.

Higa ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; hyaluronik asidin inflammatuar hücrelerde bulunan CD44 için ligand görevi yaptığı ve inflammatuar hücrelerin amniyon zar stromasına yapışmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (37,38).

2.8.5. Antimikrobiyal Özellikleri :

Amniyon zarı, vajinal doğumdan 6 saat önce yırtılmaktadır. Bu dokunun, vajinanın üst bölgesindeki bakterilerin kolonizasyonunu engellemesi nedeniyle antimikrobiyal özellik taşıdığı düşünülmektedir. Amniyon zarı, operasyon sonrası dönemde enfeksiyon riskini azaltacak antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Antienfektif özelliğin, antienflamatuar özelliklere sekonder olarak da geliştiği düşünülmektedir. Membran, enfeksiyöz ajanların yarattığı güçlü enflamatuar reaksiyonları engellemekte, bu şekilde kullanılan antibiyoterapinin etkinliğini artırmaktadır(39).

Talmi ve arkadaşları tarafından yapılan in vitro çalışmada; amniyon zarının mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Stock ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise; inflamasyonda salınan IL-1'in amniyon epitel hücrelerinden $\beta 2$ defensin salınımına neden olduğunu ve

bunun gram negatif bakteriler ve kandidalara karşı güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiğini bildirmişlerdir(38,39).

2.8.6. Yüksek Hidrolik Geçirgenlik Etkisi :

İdeal bir doku örtü materyalinde olması gereken özellikler amniyon zarında mevcuttur. Yerleştirildiği bölgede yapışma potansiyeli olan dokular arasında anatomik bir bariyer oluşturur. Yüksek hidrolik geçirgenliği sayesinde yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önleyici etki gösterir(40).

2.8.7. Non- İmmünojen Yapısı :

Avasküler stromal matrikse sahip amniyotik membranda HLA-A, HLA-B ve HLA-DR antijeni mevcut değildir ve transplantasyondan sonra rejeksiyon izlenmemektedir. Bu nedenle de transplante edildikten sonra immünsüpresan tedaviye ihtiyaç yoktur. Amniyon zarının akut ve kronik inflamasyonu azalttığı hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir(41).

2.8.8. Anjiyogenez Baskılayıcı Etkisi :

Amniyon zarın kan damarından yoksun olması nedeniyle anjiyogenezisi baskılayıcı etkisi olduğu hipotezi ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmalarda amniyon zarında da diğer vaskülarize dokulara benzer şekilde, vasküler endotelial büyüme faktörü olduğu gösterilmiş ve güçlü bir endotel büyüme faktörü inhibitörü olan endostatin ve anjiyogenezisi baskılayıcı doku metalloproteinamniyon zarları tip 1, 2, 3, 4 sentezlemektedir. Ayrıca güçlü anjiyogenezisi baskılayıcı etkisi olan trombospondin-1 de amniyon epitel hücreleri tarafından sentezlenmektedir.

Kobayashi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; amniyon zarın hücre kültürünün güçlü bir şekilde yeni damar oluşumunu baskıladığını göstermişlerdir. Bunun, amniyon zar hücrelerinin vasküler endotel hücrelerinde, büyüme ve migrasyonu inhibe etmelerine bağlı olduğunu rapor etmişlerdir. Amniyon zarın inflamasyon baskılayıcı etkisi de yine anjiyogenezisin önlenmesinde rol oynamaktadır (40,41,42).

2.9. Amniyon Zarın Elde Edilmesi ve Hazırlanması

Amniyon zarı, taze olarak hazırlanarak veya göz bankalarından dondurulmuş olarak hazır temin edilerek kullanılabilir. Tedavi edici etkinliği açısından bakıldığında, taze ve dondurulmuş amniyon zarı arasında herhangi bir fark bulunmamıştır.

HIV, Hepatit B, C ve Sifiliz açısından seronegatif olup hastalık taşıma ve kanser riski bulunmayan gebelerden elektif sezaryen operasyonu sırasında steril şartlar altında alınır. Bunların dışında donörlerin tüberküloz, bruselloz, karaciğer hastalığı, otoimmün hastalıklar, steroid tedavisi, duramater gibi nörolojik doku nakli, merkezi sinir sistemi hastalıkları ve multiple skleroz gibi hastalıkları taşımamaları gerekmektedir(36,39,40,43).

2.9.1. Klinikte Taze Olarak Kullanım İçin Amniyon Zarının Hazırlanması:

Amniyon zarı, steril şartlar altında, uygun vericilerden alınan plasentada künt diseksiyonla koryon dokusundan ayırdıktan sonra laminar akım altında kan pıhtıları ve doku artıklarından temizlenir. Daha sonra; penisilin 50 µg/ml; streptomisin 50 µg/ml; neomisin 100 µg/ml; amfoterisin B 2,5 µg/ml içeren fosfat tamponlu steril fizyolojik tuzlu su solusyonuna konur. HIV bulaşma riskini elimine etmek için ek olarak %0.025'lik sodyum hipoklorit solüsyonu ile yıkanabilir. +4 C' de 12-24 saat bekledikten sonra kullanıma hamniyon zarır hale gelir. Zar, bu şekilde +4 C'de bir hafta süre ile saklanabilir. Bu süreçte ya da bir haftadan sonra doğal rengini kaybedip kahverengi-mor renk alan amniyon zarları kullanılmamalıdır.

Kolay elde edilmesi ve hazırlanması, göz bankalarına uzak olan merkezlerin bu şekilde amniyon zarını kullanabilmesi, bozulmuş amniyon zarı kullanma ihtimalinin dondurulmuş olana göre daha düşük olması ise üstünlükleri arasında sayılabilir(39,40,44).

2.9.2. Dondurularak Saklanması İçin Amniyon Zarının Hazırlanması:

Steril şartlar altında uygun donörlerden alınan plasentadan küt diseksiyonla ayrılan amniyon zarı taze kullanımda olduğu gibi hazırlandıktan sonra bir nitrosellülöz kağıt üzerine, epitel bazal membran yüzeyi kağıt yüzeyine gelmeyecek şekilde yayılır. Nitrosellülöz kağıt ve üzerine yapışan amniyon zarı, istenilen boyutta kesilerek transplantasyon yapılana kadar -80°C 'de hacim olarak 1:1 oranında Dulbecco modifiye Eagle solusyonu ve gliserol içeren şişelerde muhafaza edilir. Ameliyat öncesi oda ısısında bekletildikten sonra, steril serum fizyolojik ile yıkanarak 24 saat içinde kullanılabilir. Zar bu şekilde şekilde saklanarak kullanıldığında 6 aya kadar canlılığını koruyabilmektedir(40,45).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, ağırlıkları 150 ve 300 gr arasında değişen 30 adet dişi Wistar Albino rat kullanılarak gerçekleştirildi. Ratlar her biri 6 taneden oluşan 5 gruba ayrıldı.

Çeşitli branşlardaki mevcut yaygın kullanımı nedeniyle, amniyon zarı taze olarak hazırlanarak kullanıldı. Hepatit B (HbsAg), Hepatit C (Anti-HCV), Sifiliz (RPR/ TPHA) ve HIV virüsleri için seronegatif olan hamilelerin, elektif sezeryan operasyonlarından steril şartlar altında elde edilerek hazırlandı. Litrede 1.000.000 İÜ penisilin ve 50 microgram/ ml gentamisin bulunan steril serum fizyolojik içerisinde +4 derecede 24 saat bekletildikten sonra kullanıldı.

Operasyon için ratlara; eter kamerasında soluma sonrasında 60 mg/kg dozunda Ketamine hydrochloride (Ketalar ®) + 10 mg/kg dozunda Xylamniyon zarine hydrochloride (Rompun ®) intramüsküler olarak yapıldı. Bu şekilde solunum depresyonu yapmadan yaklaşık olarak 30-40 dakika süren entübasyonsuz genel anestezi sağlandı. Rat, operasyon masasına tesbitlendikten sonra operasyon sahası povidone iodine solüsyonu ile boyanarak dezenfeksiyon sağlandı. Operasyon sahası steril örtüler ile kapatıldı.

Grup 1 : Amniyon zarı bir bölümü epiteliyal yüzü dışta kalacak şekilde kendi üzerine katlanıp kesildi. Her bir greft tek tek ölçülerek yaklaşık 10 x 5 mm boyutuna getirildi. Ratların burun kökü hizasında horizontal planda 10 mm'lik insizyon yapılarak, hazırlanan greft materyalleri vertikal planda SMAS altına yerleştirildi. Yapılan cilt insizyonları 4/0 vicryl ile sütüre edildi.

Grup 2 : Keskin ve künt diseksiyon ile ratın kulak kepçesinden yaklaşık 10x5 mm boyutlarında otolog tek parça kıkırdak greft alındı. Her iki taraftaki perikondrium sıyrılarak elde edilen kıkırdak greft steril serum fizyolojik içinde yıkandıktan sonra yaklaşık 10 x 5 mm boyutunda ve 1 mm kalınlığında olacak şekilde hazırlandı. Böylece amniyon zarına sarılmadan tek parça kıkırdak greft transplantasyona hazır hale getirildi. Ratların burun kökü hizasında horizontal planda 10 mm'lik insizyon yapılarak, hazırlanan greft materyalleri vertikal planda SMAS altına yerleştirildi. Yapılan cilt

insizyonları 4/0 vicryl ile suture edildi. Kulaktaki donör alan da 4/0 vicryl ile suture edildikten sonra yara yerleri povidon-iodin ile temizlendi.

Grup 3 : Keskin ve küt diseksiyon ile ratın kulak kepçesinden yaklaşık olarak 10x5 mm boyutlarında otolog tek parça kıkırdak greft alındı. Her iki taraftaki perikondrium sıyrılarak steril serum fizyolojik içinde yıkandıktan sonra tek tek ölçülerek yaklaşık 10 x 5 mm boyutta ve 1 mm kalınlıkta olacak şekilde hazırlandı. Daha önce hazırlanmış olan 10 x10 mm boyutlarındaki amniyon zarının üzerine konuldu. Tek parça kıkırdak amniyon zarının epitelial yüzü dışta kalacak şekilde sarılarak yaklaşık 10 x 5 mm lik boyutta ve 1 mm kalınlıkta olacak şekilde hazırlandı. Böylece greft transplantasyona hazır hale getirildi. Ratların burun kökü hizasında horizontal planda 10 mm'lik insizyon yapılarak, hazırlanan greft materyalleri vertikal planda SMAS altına yerleştirildi. Yapılan cilt insizyonları 4/0 vicryl ile suture edildi. Kulaktaki donör alan da 4/0 vicryl ile suture edildikten sonra yara yerleri povidon-iodin ile temizlendi.

Grup 4 : Hazırlanan amniyon zar grefti, doğranmış kıkırdak greftleri sarmak için ayrı olarak 10 x 10 mm boyutlarında kesilerek hazırlandı. Anesteziyi takiben ratların kulak kepçesi povidin-iodin ile temizlendi. Keskin ve küt diseksiyon ile ratın kulak kepçesinden yaklaşık olarak 10x5 mm boyutlarında otolog tek parça kıkırdak greft alındı. Her iki taraftaki perikondrium sıyrılarak steril serum fizyolojik içinde yıkandıktan sonra cam üzerinde 0.5- 1 mm³ boyutlarındaki küçük parçalara bölündü. Bu kıkırdak parçacıkları daha önce hazırlanmış olan 10 x10 mm boyutlarındaki amniyon zarının üzerine konuldu. Doğranmış kıkırdak parçaları amniyon zarının epitelial yüzü dışta kalacak şekilde sarılarak tek tek ölçülerek yaklaşık 10 x 5 mm lik boyutta ve 1 mm kalınlıkta olacak şekilde hazırlandı. Böylece greft transplantasyona hazır hale getirildi. Ratların burun kökü hizasında horizontal planda 10 mm'lik insizyon yapılarak, hazırlanan greft materyalleri vertikal planda SMAS altına yerleştirildi. Yapılan cilt insizyonları 4/0 vicryl ile suture edildi. Kulaktaki donör alan da 4/0 vicryl ile suture edildikten sonra yara yerleri povidon-iodin ile temizlendi.

Grup 5 : Kontrol grubunda burun sırtında burun köküne gelen hizada horizontal planda 10 mmlik inzisyon yapılarak cilt altında SMAS keskin diseksiyonla ayrıldıktan sonra, hiçbir greft materyalleri yerleştirilmeden yapılan cilt insizyonları 4/0 vicryl ile suture edildi.

Üç ay sonra deney hayvanları derin eter anestezisi altında intrakardiyak lidokain enjeksiyonu ile sakrifiye edildi. Histopatolojik değerlendirme için materyallerin yerleştirildiği burun sırtı bölgeleri cilt ve cilt altı ile birlikte tam kat çıkarılarak ve %10 luk formaldehit çözeltisinde 3 gün bekletilerek fikse edildi. Rutin doku takibi sonrası parafine gömülen bloklardan transplantasyon materyallerini içerecek şekilde 5 mikrometre'lik koronal kesitler alındı.

Grup 1: Sadece Katlanmış Amniyon Zar Greft İçeren Grup

Sadece katlanmış amniyon zar greft içeren grup için yapılan histopatolojik değerlendirmede; amniyon zar viabilitesi, yangısal infiltrasyon, vaskülarizasyon, yabancı cisim reaksiyonu, nekroz, fibrokollagenöz doku gelişimi, kemik metaplazi, kalsifikasyon oluşumuna bakılarak tek başına amniyon zar greft etkileri araştırılmıştır.

- 1- Amniyon zar viabilitesi
- 2- Yangısal infiltrasyon
- 2- Vaskülarizasyon
- 4- Yabancı cisim reaksiyonu
- 5- Fibrokollagenöz doku gelişimi
- 6- Kemik metaplazi
- 7- Kalsifikasyon oluşumu incelendi.

Grup 2: Sadece Tek Parça Kartilaj Greft İçeren Grup

- 1- Kalınlık – genişlik- uzunluk parametreleri
- 2- Tek parça kartilaj viabilitesi
- 3- Yangısal infiltrasyon
- 4- Vaskülarizasyon
- 5- Yabancı cisim reaksiyonu
- 6- Yeni periferik kondroid hücre proliferasyonu
- 7- Fibrokollagenöz doku gelişimi
- 8- Kemik metaplazi

- 9- Kalsifikasyon oluşumu
- 10- Postoperatif direk bakı ile greftin gözlenmesi incelendi.

Grup 3 : Amniyon Zara Sarılı Tek Parça Kartilaj Greft İçeren Grup

- 1- Kalınlık – genişlik- uzunluk parametreleri
- 2- Tek parça kartilaj viabilitesi
- 3- Yangısal infiltrasyon
- 4- Vaskülarizasyon
- 5- Yabancı cisim reaksiyonu
- 6- Yeni periferel kondroid hücresi proliferasyonu
- 7- Fibrokollagenöz doku gelişimi
- 8- Kemik metaplazi
- 9- Kalsifikasyon oluşumu
- 10- Postoperatif direk bakı ile greftin gözlenmesi
- 11- Amniyon zar viabilitesi incelendi.

GRUP 4 : Amniyon Zara Sarılı Doğranmış Kartilaj Greft İçeren Grup

- 1- Kalınlık – genişlik- uzunluk parametreleri
- 2- Tek parça kartilaj viabilitesi
- 3- Yangısal infiltrasyon
- 4- Vaskülarizasyon
- 5- Yabancı cisim reaksiyonu
- 6- Yeni periferel kondroid hücresi proliferasyonu
- 7- Fibrokollagenöz doku gelişimi
- 8- Kemik metaplazi
- 9- Kalsifikasyon oluşumu
- 10- Direk bakı ile greftin gözlenmesi
- 11- Postoperatif direk bakı ile greftin gözlenmesi
12. Amniyon zar viabilitesi incelendi.

Grup 5 : Sham Opere Grup

- 1- Yangısal infiltrasyon
- 2- Vaskülarizasyon
- 3- Yabancı cisim reaksiyonu
- 4- Fibrokollagenöz doku gelişimi
- 5- Kemik metaplazi
- 6- Kalsifikasyon oluşumu incelendi.

Greftlerin genişlik, uzunluk, kalınlık parametreleri digital kumpas kullanılarak santimetre cinsinden ölçülerek objektif olarak değerlendirildi.

Amniyon zar viabilitesi için yapılan histopatolojik derecelendirmede; subjektif olarak dört dereceye ayrılarak skorelama değerlendirildi.

- 0= Amniyon zar izlenemedi
- 1= Amniyon zar belli belirsiz izlenebiliyor
- 2= Amniyon zar izleniyor
- 3= Amniyon zar belirgin olarak izleniyor

Yangısal infiltrasyon için yapılan histopatolojik derecelendirmede; subjektif olarak dört dereceye ayrılarak skorelama değerlendirildi.

- 0= Yangısal infiltrasyon saptanamadı
- 1= Yangısal infiltrasyon minimal derecede izleniyor
- 2= Yangısal infiltrasyon orta derecede izleniyor
- 3= Yangısal infiltrasyon şiddetli derecede izleniyor

Vaskülarizasyon için yapılan histopatolojik derecelendirmede; subjektif olarak dört dereceye ayrılarak skorelama değerlendirildi.

- 0= Vaskülarizasyon saptanamadı
- 1= Vaskülarizasyon minimal derecede izleniyor
- 2= Vaskülarizasyon orta derecede izleniyor
- 3= Vaskülarizasyon yaygın olarak izleniyor

Kalsifikasyon için yapılan histopatolojik derecelendirmede; subjektif olarak dört dereceye ayrılarak skorelama değerlendirildi.

- 0= Kalsifikasyon saptanamadı
- 1= Kalsifikasyon minimal derecede izleniyor
- 2= Kalsifikasyon orta derecede izleniyor
- 3= Kalsifikasyon yaygın olarak izleniyor

Yabancı cisim reaksiyonu oluşumu için yapılan histopatolojik derecelendirmede;

subjektif olarak dört dereceye ayrılarak skorelama değerlendirildi.

- 0= Yabancı cisim reaksiyonu saptanamadı
- 1= Yabancı cisim reaksiyonu minimal derecede izleniyor
- 2= Yabancı cisim reaksiyonu orta derecede izleniyor
- 3= Yabancı cisim reaksiyonu yaygın olarak izleniyor

Fibrokolajenöz doku gelişimi için yapılan histopatolojik derecelendirmede;

subjektif olarak dört dereceye ayrılarak skarlama değerdendirme yapıldı.

0= Fibrokolajenöz doku gelişimi saptanamadı

1= Fibrokolajenöz doku gelişimi minimal derecede izleniyor

2= Fibrokolajenöz doku gelişimi orta derecede izleniyor

3= Fibrokolajenöz doku gelişimi belirgin olarak izleniyor

Yeni periferel kondrosit hücre proliferasyonu için yapılan histopatolojik derecelendirmede;

subjektif olarak dört dereceye ayrılarak skarlama değerdendirme yapıldı.

0= Yeni periferel kondrosit hücre proliferasyonu saptanamadı

1= Yeni periferel kondrosit hücre proliferasyonu minimal derecede izleniyor

2= Yeni periferel kondrosit hücre proliferasyonu orta derecede izleniyor

3= Yeni periferel kondrosit hücre proliferasyonu belirgin olarak izleniyor

Kemik metaplazi için yapılan histopatolojik derecelendirmede;

subjektif olarak iki dereceye ayrılarak skarlama değerdendirme yapıldı.

0= Kemik metaplazi saptanamadı

1= Kemik metaplazi minimal derecede izleniyor

2= Kemik metaplazi orta derecede izleniyor

3= Kemik metaplazi belirgin olarak izleniyor

Direk bakı ile greftin gözlenmesi için yapılan derecelendirmede;

subjektif olarak dört dereceye ayrılarak skarlama değerdendirme yapıldı.

0= Greft gözlenemedi

1= Greft belli belirsiz izlenebiliyor

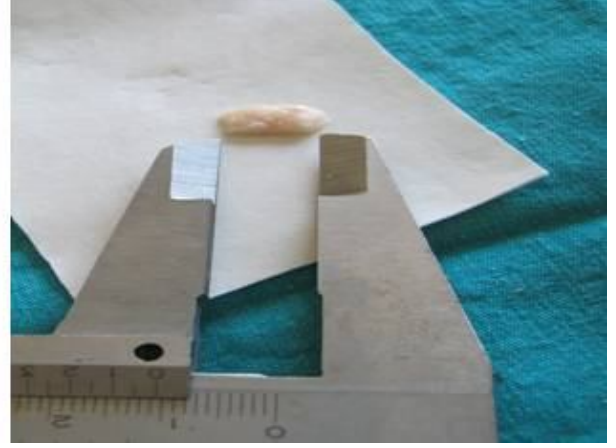
2= Greft izleniyor

3= Greft belirgin olarak izleniyor



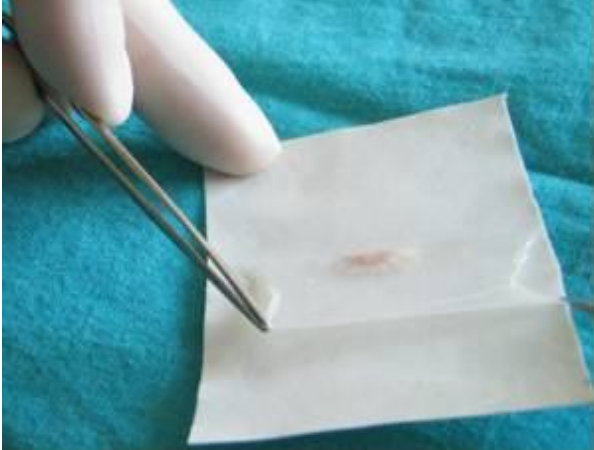
Resim 1: Tek kat yayılmış amniyon zarı (sol)

Resim 2: Amniyon zarı üzerinde doğranmış kıkırdak parçacıkları (sağ)



Resim 3: Amniyon zara sarılı doğranmış kıkırdak parçacıkları içeren greft (sol)

Resim 4: Amniyon zara sarılı doğranmış kıkırdak parçacıkları içeren greft (sağ)



Resim 5: Amniyon zarının katlanması (sol)

Resim 6: Amniyon zara sarılı doğranmış kıkırdak parçacıkları içeren greft (sağ)

4. BULGULAR

Yapılan histopatolojik değerlendirme sonucunda elde edilen bulgular aşağıdaki 5 adet tablo özetlenmiştir.

| GRUP 1: Sadece Katlanmış Amniyon Zar Greft İçeren Grup | BULGULAR | | | | | |
|---|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Amniyon zar viabilitesi | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| Yangısal infiltrasyon | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Vaskülarizasyon | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Yabancı cisim reaksiyonu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fibrokollagenöz doku gelişimi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kemik metaplamniyon zari | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kalsifikasyon oluşumu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tablo 1 : Sadece Katlanmış Amniyon Zar Greft İçeren Grup Bulguları

| GRUP 2 : Sadece Tek Parça Greft İçeren Grup | BULGULAR | | | | | |
|--|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| A-Uzunluk (pre-postoperatif) | 11-8 | 9-7 | 9-7 | 9-8 | 10-8 | 13-10 |
| B-Genişlik (pre-postoperatif) | 6-4 | 7-3 | 4-3 | 4-3 | 5-3 | 4-3 |
| C-Kalınlık (pre-postoperatif) | 0.6-0.5 | 0.5-0.3 | 0.7-0.4 | 0.3-0.2 | 0.4-0.2 | 0.3-0.2 |
| D-Tek parça kartilaj viabilitesi | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| E-Yangısal infiltrasyon | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| F-Vaskülarizasyon | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| G-Yabancı cisim reaksiyonu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| H-Yeni periferel kondroid hücresi proliferasyonu | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| I-Fibrokollagenöz doku gelişimi | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| J- Kemik metaplazi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| K-Kalsifikasyon oluşumu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| L-Postoperatif direk bakı ile greftin gözlenmesi | 2 | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 |

Tablo 2 : Sadece Tek Parça Greft İçeren Grup Bulguları

| GRUP 3: Amniyon Zara Sarılı Tek Parça Greft İçeren Grup | BULGULAR | | | | | |
|--|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| A-Uzunluk (pre-postoperatif) | 12-10 | 10-8 | 8-7 | 9-7 | 9-8 | 8-7 |
| B-Genişlik (pre-postoperatif) | 6-3 | 4-2 | 5-4 | 4-3 | 5-4 | 4-2 |
| C-Kalınlık (pre-postoperatif) | 1.1-0.9 | 0.6-0.3 | 0.5-0.3 | 0.7-0.5 | 0.6-0.5 | 0.3-0.2 |
| D-Tek parça kartilaj viabilitesi | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| E-Yangısal infiltrasyon | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| F-Vaskülarizasyon | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| G-Yabancı cisim reaksiyonu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| H-Yeni periferel kondroid hücresi proliferasyonu | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 |
| I-Fibrokollagenöz doku gelişimi | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 2 |
| J- Kemik metaplazi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| K-Kalsifikasyon oluşumu | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| L-Postoperatif direk bakı ile greftin gözlenmesi | 3 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| M-Amniyon zar viabilitesi | 2 | 2 | 1 | 3 | 2 | 2 |

Tablo 3 : Amniyon Zara Sarılı Tek Parça Greft İçeren Grup Bulguları

| GRUP 4: Amniyon Zara Sarılı Doğranmış Greft İçeren Grup | BULGULAR | | | | | |
|--|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| A-Uzunluk (pre-postoperatif) | 11-9 | 12-11 | 10-9 | 13-12 | 9-8 | 11-10 |
| B-Genişlik (pre-postoperatif) | 6-5 | 5-4 | 6-6 | 7-6 | 5-4 | 6-5 |
| C-Kalınlık (pre-postoperatif) | 0.7-0.7 | 0.6-0.5 | 0.5-0.5 | 0.6-0.5 | 0.6-0.5 | 0.5-0.5 |
| D-Doğranmış kartilaj viabilitesi | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 |
| E-Yangısal infiltrasyon | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| F-Vaskülarizasyon | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| G-Yabancı cisim reaksiyonu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| H-Yeni periferel kondroid hücresi proliferasyonu | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 |
| I-Fibrokollagenöz doku gelişimi | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| J- Kemik metaplazi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| K-Kalsifikasyon oluşumu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| L-Postoperatif direk bakı ile greftin gözlenmesi | 3 | 3 | 2 | 3 | 1 | 2 |
| M-Amniyon zar viabilitesi | 3 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 |

Tablo 4 : Amniyon Zara Sarılı Doğranmış Greft İçeren Grup Bulguları

| GRUP 5 : Sham Opere Grup | | | | | | |
|---------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Yangısal infiltrasyon | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Vaskülarizasyon | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Yabancı cisim reaksiyonu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fibrokollagenöz doku gelişimi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kemik metaplazi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kalsifikasyon oluşumu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tablo 5 : Sham Opere Grup Bulguları

Bu çalışmadaki istatistiksel inceleme; grup 2 ile grup 3 ve grup 3 ile grup 4 arasında elde edilen patolojik parametreler karşılaştırıldı. Çalışma toplamda 5 farklı gruptan oluşmaktadır. Her grupta 6 adet rat bulunmaktadır.

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Ortalama, Standart sapma, Frekans sayımı, yüzde) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında; ikili karşılamalarda Mann-Whitney U testi, niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi ve Fisher's Exact test kullanılmıştır. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

Grup 2-3-4 için uzunluk, genişlik ve kalınlık açısından preoperatif ile postoperatif grup farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

| | | Grup 2 | Grup 3 | Grup 4 |
|-----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| Uzunluk | Preoperatif | 10,17±1,6 | 9,33±1,51 | 11±1,41 |
| | Postoperatif | 8±1,1 | 7,83±1,17 | 9,83±1,47 |
| | p | 0,026 | 0,024 | 0,02 |
| Genişlik | Preoperatif | 5±1,26 | 4,67±0,82 | 0,58±0,08 |
| | Postoperatif | 3,17±0,41 | 3±0,89 | 5,83±0,75 |
| | p | 0,026 | 0,026 | 0,025 |
| Kalınlık | Preoperatif | 0,47±0,16 | 0,63±0,27 | 0,58±0,08 |
| | Postoperatif | 0,3±0,13 | 0,45±0,25 | 0,53±0,08 |
| | p | 0,026 | 0,026 | 0,083 |

Tablo 6: Grup 2-3-4 için preoperatif ile postoperatif uzunluk, genişlik ve kalınlık parametrelerinin istatistiksel analizi

Grup 2 ile Grup 3 arasında kartilaj viabilitesine göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,013$).

Grup 2 ile Grup 3 arasında yangısal infiltrasyona göre ($p=0,99$), vaskülarizasyona göre ($p=0,19$), fibrokollagenöz doku gelişimine göre ($p=0,51$), kalsifikasyon oluşumuna göre ($p=0,18$), postoperatif direk bakı ile greftin gözlenmesine göre ($p=0,81$) farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Grup 2 ile Grup 3 arasında yeni periferel kondroid hücre proliferasyonuna göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,036$).

Grup 3 ile Grup 4 arasında tek parça viabilitesine göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,043$).

Grup 3 ile Grup 4 arasında yangısal infiltrasyona göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,036$).

Grup 3 ile Grup 4 arasında vaskülarizasyona göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,049$).

Grup 3 ile Grup 4 arasında yabancı cisim reaksiyonuna göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,99$).

Grup 3 ile Grup 4 arasında yeni periferel kondroid hücresi proliferasyonuna göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,046$).

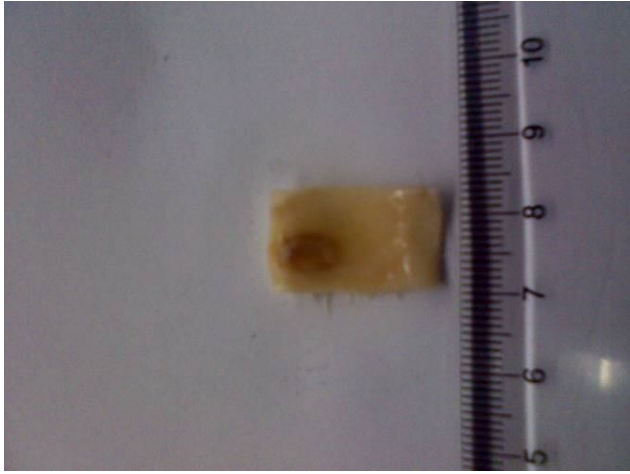
Grup 3 ile Grup 4 arasında fibrokollagenöz doku gelişimine göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,76$).

Grup 3 ile Grup 4 arasında kalsifikasyon oluşumu göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,18$).

Grup 3 ile Grup 4 arasında postoperatif direk bakı ile greftin gözlenmesine göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,368$).

Grup 3 ile Grup 4 arasında amniyon zar viabilitesi göre farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,24$).

Sadece amniyon zar greft içeren grup için yapılan histopatolojik değerlendirme sonucunda; amniyon zar viabilitesi, vaskülarizasyon, yabancı cisim reaksiyonu, nekroz, fibrokollagenöz doku gelişimi, kemik metaplazi, kalsifikasyon oluşumu saptanmamış olup sadece bir denekte belli belirsiz miktarda yangısal infiltrasyon izlenmiştir. Elde edilen bulgular neticesinde amniyon zarın kartilaj dokusunu sarmak için uygun bir biyomateryal olduğu saptanmıştır.



Resim 7: Postoperatif 3. ayda Grup 3 greft morfolojisi (sol)

Resim 8: Postoperatif 3. ayda Grup 3 greft morfolojisi (sağ)



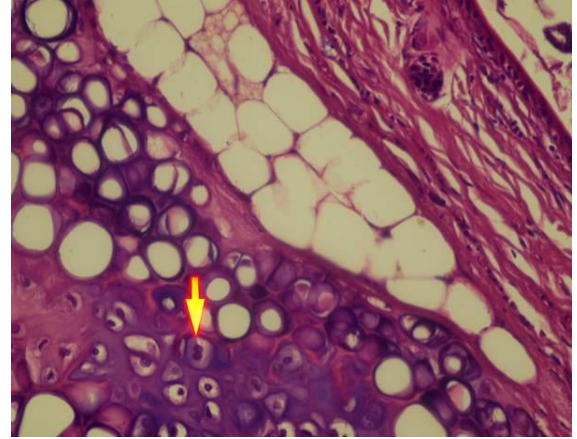
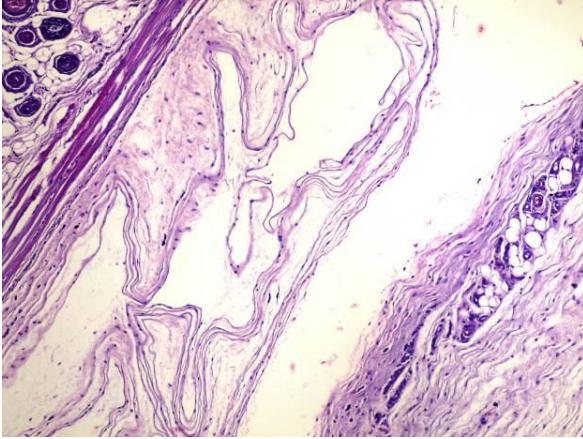
Resim 9: Postoperatif 3. ayda Grup 4 greft morfolojisi (sol)

Resim 10: Postoperatif 3. ayda Grup 4 greft morfolojisi (sağ)



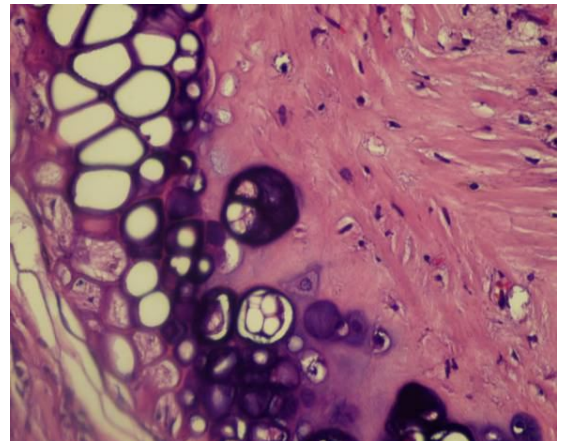
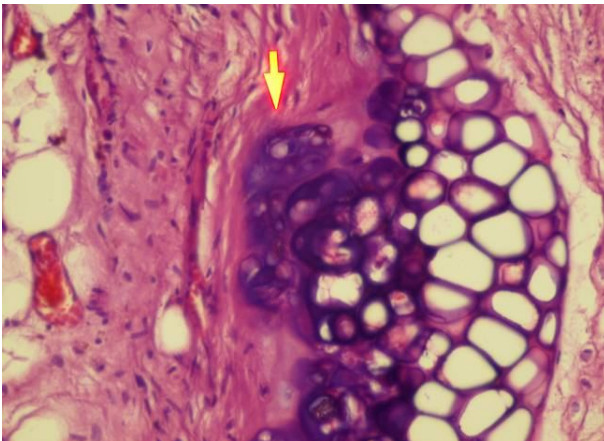
Resim 11: Postoperatif 3. ayda Grup 4 greft morfolojisi (sol)

Resim 12: Postoperatif 3. ayda Grup 4 greft morfolojisi (sağ)



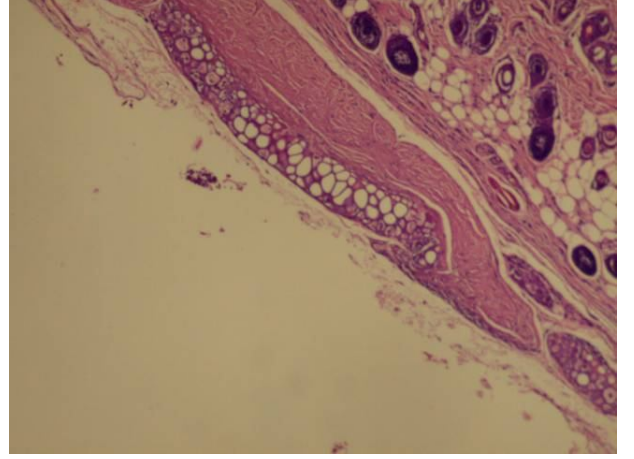
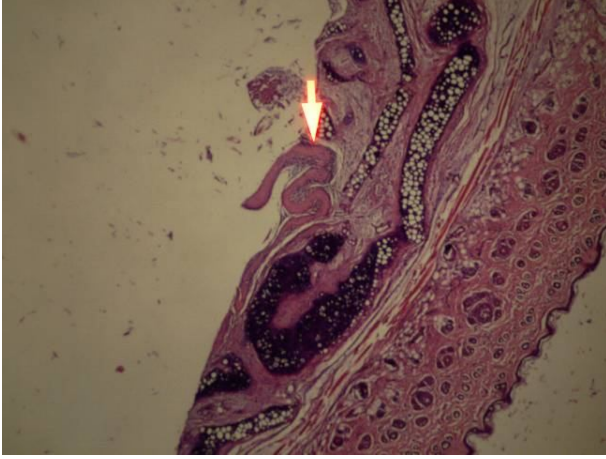
Resim 13: SMAS altında katlanmış amnion zar görünümü (H&E X200)

Resim 14: Nükleusları izlenen viable kartilaj hücreleri (H&E X400)



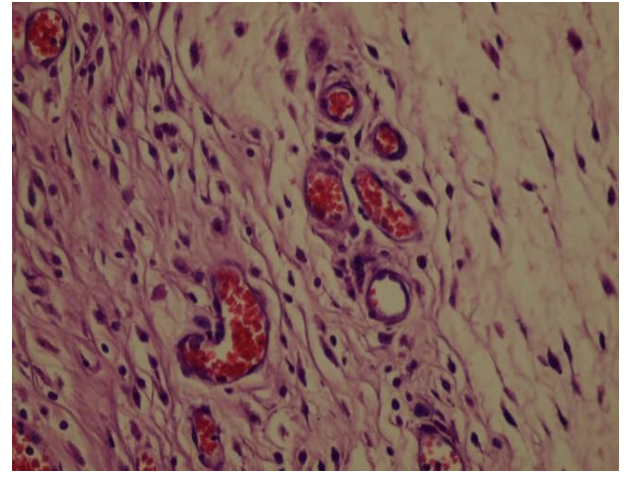
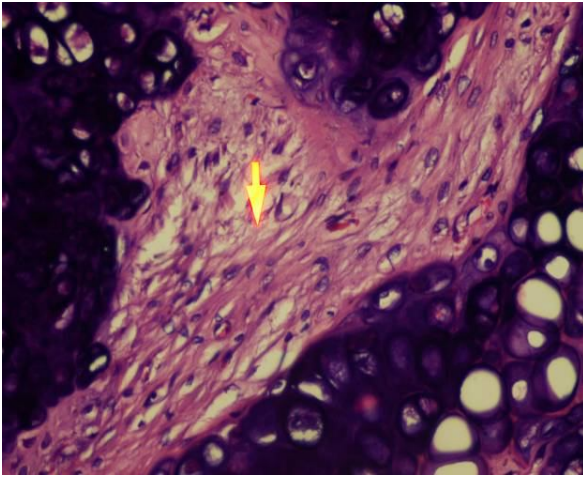
Resim 15: Yeni periferel kondrosit proliferasyonu (H&E X400)

Resim 16: Tek tek veya 2-5 hücreli gruplar halinde yeni periferel kondrosit proliferasyonu (H&E X400)



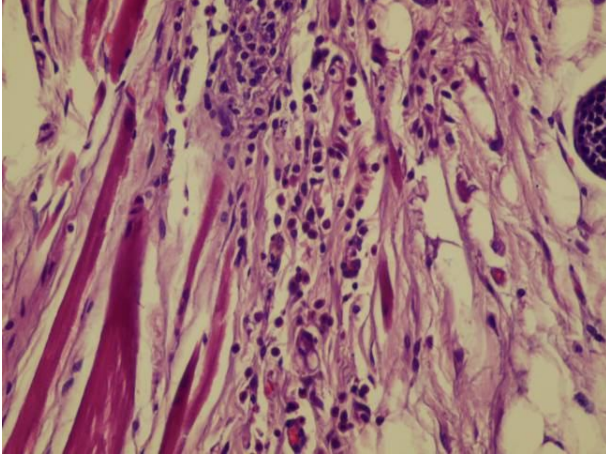
Resim 17: Postoperatif 3. ayda doğranmış kırıkta parçaları ve amnion zarı (H&E X40)

Resim 18: Postoperatif 3. ayda SMAS altında amnion zarı kaybolmuş tek parça intakt kartilaj dokusu (H&E X40)

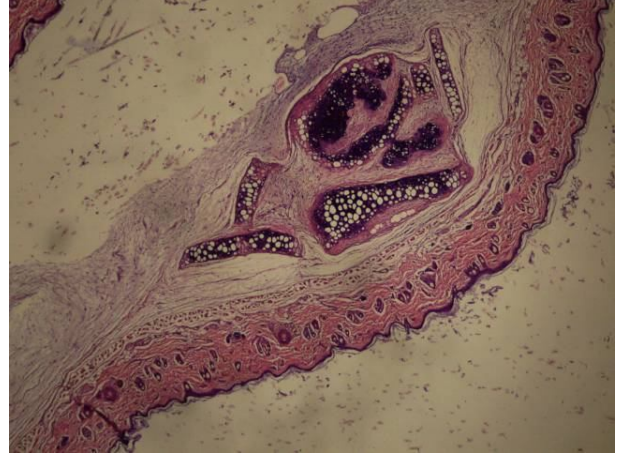


Resim 19: Kartilaj doku yapıları arasında fibrokollajenize bağ dokusu (H&E X400)

Resim 20: Kronik iltihabi hücre infiltrasyonu ve vasküler yapılar (H&E X400)



Resim 21: Kartilaj dokusunun kaybolduğu alanda yoğun kronik iltihabi hücre infiltrasyonu (H&E X100)



Resim 22: Sağlam kartilaj dokuları (H&E X40)

5. TARTIŞMA

Burun sırtı augmentasyonu ve septorinoplasti operasyonları sonrası gelişen burun sırtı düzensizlikleri onarımında estetik açıdan kabul edilebilir bir burun sırtı elde edilmesi oldukça karmaşık ve güç olabilmektedir.

Rinoplasti operasyonu sırasında yapılan osteotomiler ve hump rezeksiyonu sonrası palpasyonda daha yumuşak ve daha düzenli kontüre sahip burun sırtı elde etmek için çeşitli greft veya implant materyalleri kullanılması gerekmektedir. Özellikle travma sonrası gelişen deformiteler ve revizyon rinoplasti olgularında simetrik ve düzgün bir burun sırtı elde edilmesi daha da güçleşmektedir(1,2,5,24,28,29,30).

Değişik cerrahi uygulamalarda yaygın kullanım alanı bulan amniyon zarı, ilk kez 1910 yılında Davis tarafından deri transplantasyonunda kullanılmıştır. Daha sonra ise yanık tedavisinde, cerrahi pansumanlarda, artroplastisi, mesane, vajina rekonstrüksiyonunda, pelvik, abdominal yapışkanlıklarının önlenmesi ve omfalosel gibi değişik cerrahilerde kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde oftalmoloji alanındaki yaygın kullanımı başka uygulamalardaki yeni kullanım alanları için yol gösterici olmaya devam etmektedir. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi alanında ise timpanoplasti operasyonu, oral kavite rekonstrüksiyonu, trakeal epitelizasyonun sağlanması, ameliyat sonrası yüzeylerin kapatılması ve baş-boyunda yer alan yanıkların tedavisi için kullanılmış ancak yaygın kullanım alanı bulamamıştır (36,37,38).

Fetal ektodermden köken alan insan amniyon zarı, embriyo gelişiminin 7-8. günlerinde ilk olarak görülür. Histolojik olarak 0.02-0.05 mm kalınlığındadır. Fetal zarların en iç tabakası, koryonun en dış tabakasını oluştururlar. Amniyotik sıvıyla temas halinde olan amniyon zarı fetüs beslenmesinde önemli role sahiptir. Koryon tabakasından ayrılan insan amniyon zarında düz kas hücreleri, sinir, lenf ve kan damarları yoktur. Tek katlı kübik epitel, bazal membran ve en içte avasküler stromal matriksten oluşan bir yapısı vardır(40). Stromal iç yüzeyinin mat ve pürüklü yapısı nedeniyle yapışkan özellikte olması, amniyon zarının uygulandığı bölgeye iyi uyum sağlamasını sağlar. Yapışkan özellikte olması nedeniyle göz yüzey patolojileri uygulamalarında yaygın kullanım alanı bulmuştur. Ayrıca daha parlak olan ve yapışmayan epitelial dış yüzey, dokular arasında biyolojik bir

bariyer görevi yaparak bir adezyon oluşumunu engelleyebilmektedir. Çalışmamızda amniyon zar dış yüzeyinde kalan epitelial yüzü sayesinde içerisindeki kartilaj dokular için korucu bir bariyer olarak fonksiyon görmüştür.

Zarın stromal yüzünün tespiti için; bir spanç ile dokunulduğunda belirginleştirilebilen fibrillerin varlığı, stromal yüzün tanınmasına olanak sağlar. Stromal yüz ve bazal membrandaki kollojen varlığı, içindeki kartilaj dokuların viabilitesine katkı sağlayabilmektedir (40,41).

Amniyon zarının; epitelizasyonu başlatıcı, antiinflamatuvar, antiskar, antiadeziv, antimikrobiyal, nörotrofik özellikleri, anjiogenezisi inhibe edici, ağrıyı azaltıcı, hidrolik geçirgen ve non-immünojen özellikleri mevcut olup bu nedenle değişik cerrahi uygulamalarda greft materyali olarak kullanımı konusundaki çalışmalar halen devam etmektedir (36,40,41,42).

Amniyon zarı; kolay ve çabuk elde edilebilmesi ve biyolojik greft olarak kullanılması konusundaki tüm özellikleri ile değeri gittikçe artan bir biyolojik örtüdür (36,40,43,44).

Amniyon zarı özellikle oftalmoloji alanında uzun zamandır ilgi alanı bulmuş ve klinik tedavide büllöz keratit, termal ve kimyasal yaralanmalar gibi birçok patolojide amniyon zarı transplantasyonu uygulamaları şeklinde kendine yer edinmiştir. İnsan amniyon zarının, farklı alanlarda oldukça başarılı sonuçlarının bildirilmesi, içerdiği vazoaktif peptidler, büyüme faktörleri ve sitokinler nedeniyle multifonksiyonel olduğu ve taşıyıcı bir matriks olabileceği belirtilmiştir. Genelde yüzeyi mekanik bariyer şeklinde örtterek altındaki dokuyu çevreden izole edip rejenerasyonunu sağladığı veya inflamasyonu çeşitli mekanizmalarla engelleyerek sonrasındaki fibrozis ve adhezyonları önlediği görülmüştür(37,38,41,42). Çalışmamızda ise amniyon zara sarılı kartilaj dokularda amniyon zara bağlı inflamasyon engellenmiş ve kartilaj dokularda periferel kondrosit proliferasyonu gelişmesine katkı sağlanmıştır.

Ayrıca amniyon zarı gliserol ve kriyo ile muamele edildiğinde hücresel kayıp olduğundan antijenik potansiyeli iyice azalmakta ve vaskülarizasyonu daha az olmaktadır. Hem insan çalışmalarında hem de hayvan deneylerinde, immünolojik reaksiyonlara sebep olmaksızın kullanılabilmesinin, amniyon zarının düşük immünitesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca amniyon zarı HLA antijenlerinden A, B ve DR

taşımadığı için immünojenik değildir. Doku antijenleri içermediğinden dolayı allerjik reaksiyonlara neden olmaz. Ayrıca hapten gibi davranmadığından antikör oluşumuna neden olmaz. Vücudun immünojen ajanlara verdiği yanıtta antikörler, sitotoksik lenfositler, eozinofiller, plazma hücreleri ve sonradan epiteloid dev hücrelere dönüşen monositlerin yer aldığı ciddi bir reaksiyon gelişir. Ancak amniyon zarının özellikleri nedeniyle bu tür lokal ve sistemik reaksiyonlara yol açma potansiyeli yoktur(35,43,45). Çalışmamızda yapılan mikroskopik incelemede immünojen ajanlara bağlı gelişen hücresel reaksiyon izlenmemiştir

Geniş alanlardaki defektlerin onarımında epitelizasyonun sağlanması için geniş yüzey alanı içeren amniyon zar greftlere ihtiyaç vardır. Singh ve arkadaşları tarafından yapılan yirmi iki vakalık çalışmada; elektrik yanığı nedeniyle oluşan defekti kapatmak için, 2 ila 5 yıllık kurutulmuş ve radyasyona maruz bırakılmış amniyon zar kullanılmış ve 19 hastada 15-25 günlerde komplet epitelizasyon sağlanmıştır(44). Böylece amniyon zarının depo halinde bulundurulması kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu sayede kurutulmuş ve radyasyona maruz bırakılmış amniyon zar greftlerde, enfeksiyonların bulaşma risklerinin de minimale indirilebileceğini ifade etmişlerdir(39,41,43).

Yanık tedavisinde amniyon zar kullanımı ile ağrısız reepitelizasyonun sağlandığı, hipertrofik skar ve kontraktür gelişiminin engellendiği belirtilmiştir (45). Çalışmamızda amniyon zarı kullanımı olan gruplarda hipertrofik skar ve kontraktür gelişimi izlenmemiştir.

Epitelizasyonun kısa sürede sağlanması nedeniyle Safawi ve arkadaşları tarafından 33 hasta üzerinde yapılan çalışmada; yüz bölgesinde yanığı olan hiçbir hastada enfeksiyon gelişmemiş ve % 85 hastada 5 günde epitelizasyon sağlanmıştır. Ayrıca 2 hastada hipopigmentasyon ve bir hastada ise hipertrofik skar geliştiğini bildirmişlerdir(45). Singh ve arkadaşlarının ratlarda tam kat deri defektlerinde amniyon zar etkisini göstermek üzere yaptıkları çalışmada; 25 günde biyopsiler yapılarak yaradaki maturasyonlar mikroskopik olarak belirlenmiştir. Amniyon zar kullanılmayan gruplarda epidermin incelmiş olduğu, fibroblast proliferasyonunun aşırı olduğu ve epidermal eklerin kısmi iyileştiği görülmüştür(42, 44) .

Singh ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, diabet ve gebeliğe bağlı olarak gelişen kronik bacak ülserlerinde amniyon zar kullanımı ile

eksuda ve endürasyonun azalarak 2-6 hafta içinde ülserlerin iyileştiği bildirilmiştir (46).

Schimidth ve arkadaşlarının duodenal ülserlerde dehissans, fistül oluşumu ve intestinal obstrüksiyonu engellemek için amniyon zarı kullanarak ratlarda yaptıkları çalışmada; amniyon zarının kolay ulaşılabilir, allerjenik potansiyeli az olan, anti-bakteriyel etkinliği bulunan ve sindirim kanalındaki epitelyal büyümeyi arttıran bir faktör olduğunu rapor etmişlerdir(47). Sahip olduğu kompakt tabaka nedeniyle yapılan onarımlarda yeterli direnç kuvveti sağlanmıştır. Hiçbir ratta antijenik reaksiyon gelişmemiştir. Bağırsaktaki iyileşme sentripedal olarak gerçekleşmiş ve gelişen hücreler başlangıçta labil iken daha sonra normal hale dönüşmektedir. Bu çalışmada da görüldüğü üzere amniyon zar iyileşmeyi arttırıcı etkide bulunmuş ve doku iyileşmesi boyunca direnç kuvvetini koruyarak emilebilir bir sütün olarak kullanılma potansiyeli ortaya konulmuştur(39,40). Çalışmamızda, kartilaj doku etrafındaki amniyon zar tamamen kaybolana kadar direnç kuvveti sayesinde kartilaj parçaları korunmuştur.

Amniyon zarı kullanarak yaptığımız çalışmamızda; hiçbir denekte implantasyon yapılan bölgede endürasyon, morluk, cilt nekrozu veya allerjik reaksiyon görülmemiştir. Amniyon zarının, cilt altı ve kas dokusunda erken dönemde varlığını sürdürdüğünü ve 3 aylık süreçte kısmen absorbe edildiğini gözlemledik.

Nazal rekonstrüksiyonlarda kartilaj greft kullanımı yaklaşık yüzyıldan beri devam etmektedir. Bu greftlerin vücutta davranışları, canlılıkları, immünolojik özellikleri, büyümeleri konusunda birçok klinik ve deneysel çalışma halen devam etmektedir (1,2,48,50,51).

Nazal rekonstrüksiyon alanındaki ilk yazılar, milattan önce 600 yıllarında yazılan Susrutas Samhita adlı klasik cerrahi tıp kitabında tanımlanmıştır. Otolog kartilajın hayvanlara implantasyonu, ilk defa Bert tarafından 1865 yılında tanımlanmıştır. İnsan cerrahi uygulamalarında ilk defa 1896 yılında Konik tarafından tanımlanarak, 1901 yılında Goordale tarafından uygulanmıştır. Daha sonra ise Peer ve arkadaşları tarafından, doğranmış kıkırdak parçalarının total kulak rekonstrüksiyonunda kullanımı tanımlanmıştır (1).

Nazal rekonstrüksiyonlarda kullanılan güncel materyaller canlı veya cansız doku olabildiği gibi alloplastik maddeler de olabilmektedir. Greft olarak adlandırılan kemik, kıkırdak, deri, yağ gibi biyolojik materyaller yanında; implant olarak adlandırılan silikon, teflon, silastik, Gore-Tex gibi alloplastik materyaller de kullanılmaktadır. Alloplastik materyal kullanımında ayrı insizyon veya müdahale uygulama gereksinimi olmamakta fakat kullanım konusundaki dezavantajları nedeniyle kullanımdan kaçınılmaktadır (4,32,33).

Alloplastik materyaller hazır olarak bulunur ve şekillendirilmeleri kolaydır. Ancak bu maddeler genellikle rezorbe olmazlar. Altındaki kemiği aşındırırlar, yumuşak dokudan dışarı çıkabilir ve tespitlerindeki güçlükler nedeniyle sınırlı alanda kullanılırlar. Bu maddelerin kullanımları yabancı cisim reaksiyonuna neden olmaları, enfeksiyona yol açmaları, instabiliteye ve ekstrüzyona neden olabilmeleri nedeniyle sınırlıdır (4,32).

Bu materyaller içinde otolog kıkırdaklar, operasyon sahasında bulunması, kolay şekillendirilebilen esnek yapısı, kalıp şeklinde yada parçalanarak kullanılabilmesi nedeniyle, hem destek sağlamak hemde değişik defekt ve kontür düzensizliklerinin rekonstrüksiyonu amacı ile birçok cerrah tarafından en sık tercih edilen dolgu materyalidir (18,19,29,30).

Kemik greftler için direk kemik teması olması gerekmekte; ancak kıkırdaklar için böyle bir gereklilik yoktur. Kemik greftler; zor alınmaları, kalın olmaları, şekillendirilmelerinin zor olmaları, yerleştirildiklerinde sertlikleri nedeniyle sorun yaratmaları gibi nedenlerle çoğu zaman nazal rekonstrüksiyonda tercih edilmemektedir (9,24,29,34).

Burun sırtı defektleri için yapılan rekonstrüktif cerrahide otolog kartilaj transplantlara talep artmaktadır. Doku mühendisliği, otolog kartilaj transplant üretilmesinde en modern ve umut verici yol olmakla birlikte biyopsi ile alınan kondrositlerden elde edilen üç boyutlu kartilajın sertlik ve diğer birçok özelliğinin artırılması konusunda yapılacak yeni çalışmalara gerek vardır (30).

Literatürdeki değişik çalışmalarda, kıkırdak greftlerin burun sırtında kullanıldığında bir süre sonra eski şeklini almaya meyilli olduğu, farklı oranlarda rezorbe olduğu ve bunun da uzun dönemde burun şeklinde bozulmalara ve düzensizliklere yol açabildiği bildirilmiştir. Bu amaçla

kıkırdaklar küçük parçalara bölünerek kullanılmaya başlanmış, fakat ezilmiş ya da parçalanmış kıkırdak parçaları bir arada tutmak için değişik biyolojik materyallere sarılmıştır (1,47,48,49,50).

Biyolojik materyal olarak oksidize rejenere selüloze (Surgicel®) sarılan kıkırdak parçaları içeren Türk lokumu olarak adlandırılan teknikte 0.5-1 milimetre boyutlarında kıkırdak parçaları kullanılmış ve bu yöntemi tanıtan Erol tarafından kıkırdak parçaların klinik olarak uzun süre stabil kaldığı bildirilmiştir(48). Bu teknik 2000 yılında tanımlandıktan sonra yapılan diğer deneysel çalışmalar ise; cerrahiden dört ay sonra kıkırdağın erimeye başladığını göstermiştir (48,49,50).

Daniel ve Calvert tarafından 2004 yılında yapılan seri klinik çalışmalarda ise oksidize rejenere selüloz içeren Surgicel® (Ethicon,Somerville,NJ) ile sarılmış kıkırdak parçaları içeren grupta kliniksel başarısızlıklar rapor edilmiştir. Çalışmamızda ise amniyon zarın tek katlı epitel tabakası ve stroması sayesinde, içindeki kıkırdak parçaları için nekroz ve iltihabi süreçten koruyucu olduğu, yangısal infiltrasyona daha az neden olduğu izlenmiştir.

‘Turkish delight’ terminolojisiyle çok sayıda literatür çalışmasına konu olan teknikte; otolog kıkırdak greftler 0.5-1 milimetrelik parçalara bölünerek hazırlanır. Parçaların birbirine tutunmasını sağlamak amacıyla bir damla kan damlatılarak surgicel üzerine konulduktan sonra katlanarak kıkırdak parçalarının etrafı sarılmış olur. Bu şekilde hazırlanarak üzerine bir damla kan damlatılır ve rifampin içeren antibiyotikli solüsyonda yıkandıktan sonra istenilen şekil verilerek burun sırtına yerleştirilir. Bu teknikte kartilaj parçalarını sarmak için kullanılan Surgicel®’in dokuda yabancı cisim reaksiyonu şeklinde bir enflamatuvar yanıtı yol açtığı ve bununda kıkırdakların canlılığını, uzun süre kalıcılığını azalttığı saptanmıştır (48,49,50,51). Surgicel® ile sarılmış kıkırdak greftlerde gelişen aktif nekrobiyotik süreç kartilaj hücrelerde nükleus destruksyonuna neden olmaktadır. Çalışmamızdaki amniyon zara sarılı kıkırdak greftlerde kondrosit hücreleri etrafında aktif nekrobiyotik süreç izlenmediğinden; kıkırdak dokusunda belirgin hacimsel kayıp izlenmemiştir.

İnsanlar, Türk lokumu tekniğinde kullanılan Surgicel® içindeki selülozu metabolize edebilecek enzimlere sahip değildir. Bu nedenle yerleştirildikten sonra yabancı cisim reaksiyonu meydana gelmektedir. Surgicel® içindeki üronik asit komponenti, dokuda ilk 18 saat içinde rezorbe

olduğundan dolayı bu süreden sonra kıkırdak parçaları için fiziksel bariyer fonksiyonu özelliğini kaybetmektedir (49,50,51). Bu amaçla Surgicel® yerine değişik biyolojik materyaller araştırılmış ve Kazıkdaş ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada surgicel yerine esterifiye hyaluronik asit kullanılmıştır. Bu tekniğin kondrosit rejenerasyonu ve fibrozis gelişimi konusunda anlamlı faydaları olduğu bildirilmiştir(49).

Doğranmış kartilaj parçalarını sarmak için araştırılan biyolojik materyaller konusundaki gelişmeler sayesinde kıkırdak parçalarının fasya ile sarılarak kullanımı konusunda yaygın uygulama alanı oluşmuştur. Daniel ve Calvert tarafından yapılan çalışmalarda ise derin temporal fasya kullanılan teknikte; sarılmış kıkırdak viabilitesinin normal kıkırdak doku viabilitesi ile aynı olduğu rapor edilmiştir. Çalışmanın devamında ise 2006 yılında otolog fasya kullanımının daha başarılı sonuçlar verdiği değerlendirilmiştir(1,47,49,50).

Kondrosit rejenerasyonu konusunda Coşkun ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel çalışmada; surgicel ile sarılmış kıkırdak greftlerde histopatolojik olarak rejenerasyonu göstermek amacıyla Glial Fibriler Asidik Protein açısından negatif bulunmuş, fasya ile sarılmış kıkırdak greftlerde ise Glial Fibriler Asidik Protein açısından pozitif bulunmuş ve rejenerasyonun varlığı rapor edilmiştir. Kıkırdak parçaların fasya ile sarıldığında absorbe olmadığını ve bu nedenle nazal augmentasyonda kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (52). Çalışmamızda ise amniyon zarına sarılmış kıkırdak greftlerde periferik kondrosit hücre proliferasyonunun arttığı izlenmiştir.

Kıkırdak parçaların fasya ile sarıldıktan sonra istenilen hacminin sağlanması için değişik cerrahi teknikler tanımlanmıştır. Bu amaçla hazırlanan kıkırdak parçaları kolayca elde edilebilen 1-cc tuberkülin enjektör içine yerleştirilir. Hazırlanan fasya enjektör etrafına sarıldıktan sonra 4-0 katgüt materyal ile sefalik uçta sütürlenir. Sucuk şeklinde hazırlanıp etrafı sütüre edilen fasya içerisindeki enjektör çekilerek greft materyaline istenilen şekil verilebilir. Hazırlanan materyal kaudal uçta kıkırdakların dağılmaması için sütüre edilebilir. Greft sefalik yönde glabella tarafında sütür ucu cilt üzerinde olacak şekilde Steri-Strips® (3M, St. Paul, MN) yardımıyla tespit edilir. Greftin distal ucu supratip bölgesine uzatılarak gereğinde katgüt ile sütüre edilebilir. Bu sayede kıkırdak parçalarının fasya içindeki konumu korunmuştur(1,2,52,54). Greft materyallerinin postoperatif 6 yıllık takiplerinde absorpsiyon izlenmemiştir. Primer ve sekonder rinoplastilerdeki zor dorsal nazal defektlerin onarımı konusunda Kelly ve arkadaşları

tarafından yapılan klinik çalışmada; fasyaya sarılmış kıkırdak parçaları kullanılmış ve 3-5 mm lik dorsal nazal defekt onarımında başarılı sonuçlar rapor edilmiştir(53, 54).

Yeni periferel kondrosit hücresi proliferasyonu konusunda Yılmaz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; cerrahsel varlığında proliferasyonun olmadığı fakat hiçbir biyolojik materyale sarılmayan kıkırdak dokusunda anlamlı proliferasyon izlendiği rapor edilmiştir(51,52,56,57). Çalışmamızda amniyon zara sarılı greftlerde, kıkırdak doku etrafında iltihabi hücre infiltrasyonu izlenmemesi nedeniyle amniyotik zarın enflamasyondan koruyucu olduğu değerlendirilmiş ve yeni periferel kondrosit proliferasyonuna destek faktör olabileceği değerlendirilmiştir.

Doğranmış kıkırdak parçalarını sarmak için araştırılan biyolojik materyaller konusundaki gelişmelere katkı sağlamak amacıyla yapılan deneysel çalışmamızda fasya alınması gibi ayrı işlem ve komplikasyon riski bulunmayan, hazır olarak elde edilebilen amniyon zar kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda kıkırdak greftlerin değerlendirilmesi için operasyon sonrası 8 haftanın uygun ve yeterli süre olduğu ve en erken 6 hafta sonra değişikliklerin izlendiği bildirilmiştir. Çalışmamızda kıkırdak greftleri daha uzun süre sonunda değerlendirilmek için 12 haftalık süre uygulanmış ve uzun sürede oluşacak değişiklikler daha iyi değerlendirilmiştir.

Kıkırdak greftler etrafındaki amniyon zar varlığı tamamen kaybolana kadar içindeki dokuları stabil olarak yerinde tuttuğu, şeklini ve viabilitesini koruduğu izlenmiştir. Kıkırdak doku beslenmesini sağlayan perikondrium yerine beslenmeyi difüzyon yoluyla sağlayan amniyon zarı, sardığı kıkırdak greftlerin canlılığını değişik derecelerde koruduğu saptanmıştır.

Kıkırdak greftlerin işlem öncesi ve işlem sonrası hacimsel değerlendirilmesi çok güç olduğundan literatürde yayınlanmış olan çalışmalarda genellikle bu değerlendirmeler yapılamamıştır. Ancak çalışmamızda tüm greftlerin işlem öncesi ve işlem sonrası uzunluk, genişlik ve kalınlık ölçüleri kumpas yardımıyla milimetre cinsinden ölçülerek değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda; amniyon zara sarılarak yerleştirilen kıkırdak greftlerin, hiçbirşeye sarılmadan yerleştirilen kıkırdak greftlere göre kalınlık, uzunluk, genişlik parametrelerini daha iyi koruduğu saptanmıştır.

Daha önce belirtildiği gibi yapılan çalışmalar, kıkırdakların fasya ile sarıldığında daha stabil kaldığını göstermiş, fasyanın kıkırdak canlılığını artırıcı ve kolaylaştırıcı olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda ise; kıkırdak greftler tek parça veya doğranmış şekilde amniyon zara sarılmıştır. Çalışmamız sonucunda; amniyon zara sarılı kıkırdak greftlerin çıplak halde yerleştirilen greftlere kıyasla canlılığını daha iyi koruduğu, aktif hücre nekrozonun izlenmediği, yeni periferik kondrosit hücre proliferasyonunun değişik derecelerde kartilaj doku canlılığına katkıda bulunduğu saptanmıştır. Hiçbir denekte kemik metaplazi izlenmemiştir. Kıkırdak greftlerin etrafında değişik derecelerde vaskülarizasyon izlenmesine rağmen, amniyon zar içindeki kıkırdak greftlerde vaskülarizasyon saptanmamıştır. Amniyon zara sarılmış doğranmış kıkırdak greft içeren sadece bir denekte lokalize yabancı cisim reaksiyonu saptanmış ancak bunun muhtemelen kontamine olmuş başka yabancı cisimlere bağlı olduğu düşünülmüştür.

Kıkırdak greftleri sarmak için fasya kullanılması, ayrı bir operasyon gerektirmesi, uygulama sonrası burun sırtında 10-14 günlük süreçte yer değiştirme riskinin yüksek olması, ince ciltli hastalarda fasya uçlarına ait konturların belirginleşmesi nedeniyle sakıncalar içermektedir.

Buna karşın amniyon zarına sarılan doğranmış kıkırdakların uygulama sonrası 9-10 haftalık süreye kadar, küçük parmak hareketleriyle burun sırtındaki küçük defektleri kapatacağı, düzgün kontür oluşturacağı ve fasya kullanımına bağlı ince cilt yapısına sahip hastalarda izlenebilecek kontur düzensizliğinin oluşmayacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak; ucuz ve kolay elde edilebilen amniyon zar greftin, çok daha pahalı olan alloplastik materyaller ve fasyaya göre de daha elverişli olduğu düşünülmektedir. Amniyon zar transplantasyonunda hem donör hem de hasta iyi seçilmeli ve sıkı bir şekilde değerlendirilmelidir. Yeni doku saklama yöntemlerinin gelişmesi sayesinde ortaya çıkarılacak amniyon zar greftler, burun sırtında kullanılacak biyomateryaller arasında iyi bir seçenek olarak öne çıkmaktadır.

6- ÖZET

Amnion zarın epitelizasyonu kolaylaştırdığı, epitel hücresi ömrünü uzattığı, inflamasyon ve nedbe oluşumunu azalttığı için kıkırdak greftlerin amniyon zara sarılarak kullanıldığında daha iyi sonuçların alınacağı öngörülerek yapılan deneysel çalışmamızda; kıkırdak greftlerin histopatolojik bulguları ve hacimsel parametreleri incelenmiştir. Sonuçta; amniyon zarının dokuda immünolojik yanıtı neden olmadığı, içerisine konulan kıkırdak greftlerin yaşamasına ve hacimlerini korumasına yardımcı olduğu görülmüştür.

Deneysel çalışmamız sonucunda; burun sırtı augmentasyonu ve septorinoplasti operasyonları sonrası gelişen hacim kaybı ve burun sırtı düzensizliklerinin onarımında, amniyon zara sarılı tek parça kıkırdak greftlerin ve amniyon zara sarılı doğranmış kıkırdak greftlerin kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Birçok cerrahi branşta farklı amaçlarla yaygın kullanım alanı bulan amniyon zarının, Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi alanında özellikle fasiyal plastik uygulamalarda kendine yer bulacağını düşünüyoruz.

7- KAYNAKLAR

- 1- Jay Calvert and Kevin Brenner. Autogenous Dorsal Reconstruction: Maximizing the Utility of Diced Cartilage and Fascia. Seminars In Plastic Surgery/Volume 22, Number 2 2008
- 2- Rollin K. Daniel. Diced Cartilage Grafts in Rhinoplasty Surgery: Current Techniques and Applications Newport Beach, Calif. Plast. Reconstr. Surg. 113: 2156, 2003
- 3- Alexander Berghaus and Klaus Stelter Curr Opin Otolaryngology Head Neck Surgery 14:270-277. 2006 Lippincott Williams & Wilkins.
- 4- Adams, J.S. Grafts in the Head and Neck. Head and Neck Surgery Otolaryngology, Bailey J.B. Philadelphia 1993; Vol II: 1895-1913
- 5- Rollin K. Daniel. Diced Cartilage Grafts in Rhinoplasty Surgery: Current Techniques and Applications Plast. Reconstr. Surg Volume 122, Number 6
- 6- Martin H. Kelly, Neil W. Bulstrode, Norman Waterhouse. Versatility of Diced Cartilage–Fascia Grafts in Dorsal Nasal Augmentation. Plastic and Reconstructive Surgery. November 2007
- 7- Biologic Graft Materials: Amnion Membrane Graft. Özçelik, A. Yavuz, E. Veteriner Cerrahi Dergisi (2006), 12 (1-2-3-4), 68-72
- 8- Pooja Bhat and C. Stephen Foster. Amniotic Membrane Grafting. Contemporary Ophthalmology January 15, 2008
- 9- Cincik H, Candan H ,Güngör A, Saraç S, Poyramniyon Zaroğlu E. Homograft Cartilage Implantation To The Nasal Septum. K.B.B. Ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi, 2000, 8(1): 6- 10
- 10- Miman M C. Rinoplastide Greftler. T.K.B.B.V. Kitapçıkları Serisi. 5. Konu 8. S 111-120

- 11- Walike JW: Anatomy Of The Nasal Cavities. Otolaryngologic Clinics Of North America. 6: 3:609-621,1973.
- 12- Letourneau A, Daniel RK. The Superficial Musculoaponeurotic System Of The Nose. Plast Reconstr Surg 1988; 82:48-55.
- 13- Smith O, Goodman W. Open Rhinoplasty: Its Past And Future. J Otolaryngol 1993;22:21-5.
- 14- Brintjes TD, Van Olphen AF, Hillen B, Et Al. Electromyography Of The Human Nasal Muscles. Eur Arch Otorhinolaryngol 1996; 253:464-9.
- 15- Pensler JM, Ward JW, Parry SW. The Superficial Muscle Aponeurotic System In The Upper Lip: An Anatomic Study In Cadavers. Plast. Reconstr. Surg. 75:488,1985
- 16- Hoeyberghs JL, Desta K, Matthews RN. The Muscles Of The Nose. Aesth Plast Surg 1996; 20:165-9.
- 17- Hebel Rstromberg M.W. Anatomy Of The Laboratory Rat. Baltimore,1976:5-63
- 18- Copray, J.C.V.M: Growth Of The Nasal Cartilage Of The Rat. J. Anatomy 144:99-111, 1986
- 19- Erkocak A. Kartilaj Dokusu. Genel Histoloji. A.U.T.F. Yayınları 1980,229-236
- 20- Jerqueria C.L. Carreiro J. O.R. Kelley. Cartilage. Basic Histology. Lange 1995,124-130
- 21- Eisemann ML. The Growth Potential Of Autograft Cartilage. Arch Otolaryngol., 109:469-472, 1983.
- 22- Gibson,F.B, Perkins S.W. Dynamics Of Wound Healing. Head And Neck Surgery,Bailey. 1993; Vol I: 187-199.
- 23- Schilling, J.A.:Wound Healing. Surgical Clinics Of North America. 56: 859-874, 1976

- 24- Adams J.S. Grafts In The Head And Neck. Bailey J.B. Lippincott. 1993;Vol II: 1895-1913
- 25- Brent B: Repair And Grafting Of Cartilage And Perichondrium. Plastic Surgery Saunders,1990 Vol I :559-582
- 26- Bujia J, Alsalameh, S, Jerez, Burmester, G: Relevance Of Immunological Reactions Against Cartilage Tissues For The Use Of Cartilage Grafts In Nasal Surgery. Laryngology Rhinology, 71:472-476
- 27- Brunner F. Implant Materials European Archives Of Suppl. Springer. 1:311-336. 1993
- 28- Lovice D.B, Migone, Toriumi: Grafts And Implants In Rhinoplasty And Nasal Reconstruction. North America 32: 113-141
- 29- Wheeler ES, Kavamoto HK, Zarem HA. Bone Grafts For Nasal Reconstruction. Plast Reconst Surg.1982;69:9-18
- 30- Kvinsland, S.: In Vitro Growth Of The Nasal Septal Cartilage Of The Rat. Acta Anat. 131: 231-234, 1998
- 31- Dağlı AŞ, Özdem C, Akalın Y, Ensari S. Rinoplastide Biyomateryaller. KBB Ve Bas Boyun Cerrahisi. 1993;2:97-100
- 32- Godin MS, Waldman S, Johnson CM. Nasal Augmentation Using Gore-Tex. 10 Year Experience. Arch 1999;1:118-121
- 33- Mackay IS, Bull TR. The Fate Of Silastic In The Management Of Saddle Deformity In Nose. J Laryngol Otol 1983;97:43-47
- 34- Endo T, Nakayama, Y. , İto Y.: Augmentation Rhinoplasty . Plast. And Reconst Surgery. 87: 54-59,1991
- 35- Demirkan F, Çolakoglu N, Herek O, Erkula G. Fleksor Tendon Kesilerinde Amniotik Zarın Kullanımı: Tavuklarda Deneysel Model. Artroplasti Artroskopik Cerrahi Vol. 13, No. 1, (34-40), 2002
- 36- Koizumi N, Rigby H, Fullwood NJ, Kawasaki S, Tanioka H, Koizumi K, Kociok N, Jousen AM, Kinoshita S. Comparison of intact and denuded

amniotic membrane as a substrate for cell-suspension culture of human limbal epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2007 Jan;245(1):123-34. Epub 2006 Apr 13.

37- Choi HJ, Kim KB, Kwon YM. Effect of amniotic membrane to reduce postlaminectomy epidural adhesion on a rat model. *J Korean Neurosurg Soc.* 2011 Jun;49(6):323-8. Epub 2011 Jun 30.

38- Dinesh Selva, Celia Chen, Peter-John Wormald. Frontoethmoidal Osteoma: A Stereotactic-Assisted Sino-Orbital Approach *Ophthalmic Plastic And Reconstructive Surgery* Vol. 19, No. 3, Pp 237–251

39- Civi İ, Gurman E, Solüsyonda Saklanmış Veya Kurutulmuş Amniyon Zarlarının Patogen Bakterilere Etkilerinin Araştırılması. *Turkish Journal Of Research In Medtcat Sciences* V.4, N . L - 2 , 1986 67

40- S. C. G. Tseng. Amniotic Membrane Transplantation For Ocular Surface Reconstruction. *Bioscience Reports*, Vol. 21, No. 4, August 2001

41- Barry A. Schechter, MD, William J. Rand, MD, Robert S. Nagler, MD, Irving Estrin, MD, Stephen S. Arnold, OD, Natalia Villate, MD, And Gabriel E. Velamniyon Zarquez, MD. Corneal Melt After Amniotic Membrane Transplant. *Cornea*. Volume 24, Number 1, January 2005

42- Mandeep S. Bajaj, M.D., Neelam Pushker, M.D., Kundan Kumar Singh, M.D., Mahesh Chandra, M.D., And Supriyo Ghose, M.D. Evaluation Of Amniotic Membrane Grafting In The Reconstruction Of Contracted Socket. *Ophthalmic Plastic And Reconstructive Surgery* Vol. 22, No. 2, Pp 116–120

43- Manisha Mehta, Milton Waner, Aaron Fay. Amniotic Membrane Grafting In The Management Of Conjunctival Vascular Malformations. *Ophthal Plast Reconstr Surg*, Vol. 25, No. 5, 2009

44- Singh R, Kumar D, Kumar P, Chacharkar MP. Development and evaluation of silver-impregnated amniotic membrane as an antimicrobial burn dressing. *J Burn Care Res.* 2008 Jan-Feb;29(1):64-72.

45- Bujang-Safawi E, Halim AS, Khoo TL, Dorai AA. Dried irradiated human amniotic membrane as a biological dressing for facial burns--a 7-year case series. *Burns.* 2010 Sep;36(6):876-82. Epub 2010 Mar 16.

46- Singh R, Chouhan US, Purohit S, Gupta P, Kumar P, Kumar A, Chacharkar MP, Kachhawa D, Ghiya BC. Radiation processed amniotic membranes in the treatment of non-healing ulcers of different etiologies. *Cell Tissue Bank*. 2004;5(2):129-34.

47- Schimidt LR, Cardoso EJ, Schimidt RR, Back LA, Schiazawa MB, d'Acampora AJ, Sousa MV. The use of amniotic membrane in the repair of duodenal wounds in Wistar rats. *Acta Cir Bras*. 2010 Feb;25(1):18-23.

48- Erol O. The Turkish Delight: A Pliable Graft For Rhinoplasty. *Plastic And Reconstructive Surgery*, May 2000

49- Kazikdas K C, Ergur B, Tugyan K, Guneli E, Kaya D, Sahan M. Viability Of Crushed And Diced Cartilage Grafts Wrapped In Oxidized Regenerated Cellulose And Esterified Hyaluronic Acid: An Experimental Study. *Laryngoscope* 117: October 2007

50- Yılmaz S, Ercocen A R, Can Z, Yenidünya S, Edalı N, Yormuk E. Viability Of Diced, Crushed Cartilage Grafts And The Effects Of Surgicel (Oxidized Regenerated Cellulose) On Cartilage Grafts. *Plastic And Reconstructive Surgery*, September 15, 2001 Vol. 108, No. 4

51- Cakmak O, Bircan S, Buyuklu F, Tuncer I, Dal T, Ozluoglu N, Viability Of Crushed And Diced Cartilage Grafts. A Study In Rabbits. *Arch Facial Plast Surg/Vol 7*, Jan/Feb 2005

52- Coskun B U, Seven H, Yigit O, Alkan S, Savk H, Basak T, Dadas B. Comparison Of Diced Cartilage Graft Wrapped In Surgicel And Diced Cartilage Graft Wrapped In Fascia: An Experimental Study. *Laryngoscope* 115: April 2005 07

53- Mohammed M. Elahi, Ian T. Jackson, Andrea Moreira-Gonzalez, Dan Yamini. Nasal Augmentation With Surgicel-Wrapped Diced Cartilage: A Review Of 67 Consecutive Cases. *Plastic And Reconstructive Surgery*, March 2003

54- Martin H. Kelly, Neil W. Bulstrode, Norman Waterhouse. Versatility Of Diced Cartilage–Fascia Grafts In Dorsal Nasal Augmentation. Plastic And Reconstructive Surgery. November 20

55- Yilmaz M, Vayvada H, Menderes A, Mola F, Atabey A. Dorsal Nasal Augmentation With Rib Cartilage Graft: Long-Term Results And Patient Satisfaction The Journal Of Craniofacial Surgery / Volume 18, Number 6 November 2007

56- Velidedeoglu H, Demir Z, Sahin U, Kurtay A, Erol O. Block And Surgicel-Wrapped Diced Solvent- Preserved Costal Cartilage Homograft Application For Nasal Augmentation. Plastic And Reconstructive Surgery, June 2005

57- Joon Pio Hong, Ji Young Yoon, Jong Woo Choi. Are Polytetrafluoroethylene (Gore-Tex) Implants An Alternative Material For Nasal Dorsal Augmentation In Asians? The Journal Of Craniofacial Surgery & Volume 21, Number 6, November 2010