



SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
OKMEYDANI SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ

**ÜÇ BOYUTLU YAZICIDA ÜRETİLEN BİYOBOZUNUR
POLİKAPROLAKTON KALIP YARDIMI İLE ŞEKİLLENDİRİLEN
KIYILMIŞ KIKIRDAK GREFTLERİNİN KALICILIK VE
YAŞAYABİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Mert Canlı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL, 2020



SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
OKMEYDANI SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ

ÜÇ BOYUTLU YAZICIDA ÜRETİLEN BİYOBOZUNUR
POLİKAPROLAKTON KALIP YARDIMI İLE ŞEKİLLENDİRİLEN
KIYILMIŞ KIKIRDAK GREFTLERİNİN KALICILIK VE
YAŞAYABİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Mert Canlı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayşin Karasoy Yeşilada

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL, 2020

TEŞEKKÜR

Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği'nde asistanlığa başladığım ilk günden itibaren yetişmemde büyük katkıları olan, cerrahi disiplin ve çalışma azmini kendime hep örnek aldığım değerli hocam Doç. Dr. Özay Özkaya'ya,

Birlikte çalışma şansı bulduğum kısa dönemde beni bilgi ve tecrübesi ile yönlendiren, tezimin her aşamasında karşılaştığım her türlü sorunumda bana büyük destek olmuş tez hocam Doç. Dr. Ayşin Karasoy Yeşilada'ya,

Asistanlığa boyunca hem klinikte hem de iş hayatım dışında desteğine ihtiyaç duyduğum her an yanımda olan, beraber çalışmaktan her zaman çok keyif aldığım, üzerimde büyük emeği olan çok değerli uzmanım Doç. Dr. Özlem Çolak İmren'e,

Hem cerrahi ve hem de ahlaki açıdan her zaman kendime örnek aldığım, eğitimim üzerinde çok büyük emekleri olan, kendisinden öğrendiğim bilgi ve tecrübeleri mesleki hayatım boyunca kullanacağım ve her zorlandığımda kendisini arayabileceğimi bildiğim başasistanım Op. Dr. İlker Üşçetin'e,

Uzun ve yorucu asistanlık hayatım boyunca bana yoldaş olmuş, kliniğimi evim hissetmeme katkı sağlamış tüm asistan ve hemşire arkadaşlarıma,

Uzmanlık tezimin hazırlanması boyunca desteğini esirgemeyen ve büyük yardımları olan Doç. Dr. Oğuzhan Gündüz'e, Doç. Dr. Özben Yalçın'a, Dr. Arzu Dobral'a ve Songül Ulağ'a,

Hayatım boyunca her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan, bugün geldiğim noktada sonsuz emekleri olan çok değerli aileme,

Asistanlık hayatımın en güzel hediyesi olan, hayatımı paylaştığım biricik eşim Uzm. Dr. Melis Tosun Canlı'ya ve kızım İdil Canlı'ya

Sonsuz teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

| | |
|--|-------------|
| I. TEŞEKKÜR..... | i |
| II. İÇİNDEKİLER..... | ii |
| III. SİMGELER VE KISALTMALAR..... | iv |
| IV. TABLO LİSTESİ | vi |
| V. ŞEKİL LİSTESİ | vii |
| VI. ÖZET | viii |
| VII. ABSTRACT | ix |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 7 |
| 2.1. KIKIRDAK DOKUSUNUN YAPISAL VE HİSTOLOJİK ÖZELLİKLERİ..... | 7 |
| 2.1.1. Hyalin Kıkırdak..... | 9 |
| 2.1.2. Elastik Kıkırdak..... | 9 |
| 2.1.3. Fibröz Kıkırdak..... | 10 |
| 2.2. KIKIRDAK İYİLEŞMESİ..... | 10 |
| 2.3. OTOLOG KIKIRDAK GREFTLERİ VE KULLANIM ALANLARI..... | 11 |
| 2.3.1. Auriküler Kıkırdak Greftleri..... | 11 |
| 2.3.2. Nazal Kıkırdak Greftleri..... | 11 |
| 2.3.3. Kostal Kıkırdak Greftleri..... | 12 |
| 2.4. KIKIRDAK MÜHENDİSLİĞİ..... | 12 |
| 2.5. PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİDE ÜÇ BOYUTLU YAZICILARIN KULLANIMI..... | 15 |
| 2.6. TAVŞANDA CERRAHİ BÖLGE ANATOMİSİ..... | 17 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 19 |
| 3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI..... | 20 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2. ÜÇ BOYUTLU YAZICIDA POLİKAPROLAKTON KALIP ÜRETİLMESİ..... | 23 |
| 3.2.1. Kullanılan Malzemeler ve Solüsyonun Hazırlanması..... | 23 |
| 3.2.2. Polikaprolakton Kalıbın Dizaynı ve Üretilmesi..... | 23 |
| 3.2.3. Üç boyutlu Kalıbın Kimyasal, Morfolojik ve Mekanik Karakterizasyonu..... | 23 |
| 3.3. CERRAHİ GİRİŞİM..... | 25 |
| 3.4. DEĞERLENDİRME..... | 30 |
| 3.4.1. Histopatolojik Değerlendirme..... | 30 |
| 3.4.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme..... | 31 |
| 3.4.3. İstatistiksel Değerlendirme..... | 31 |
| 4. BULGULAR | 33 |
| 4.1. POLİKAPROLAKTON KALIBA YÖNELİK BULGULAR..... | 33 |
| 4.2. GREFTLERİN MAKROSKOPİK ANALİZ BULGULARI..... | 35 |
| 4.3. GREFTLERİN HACİM DEĞİŞİMLERİNE YÖNELİK BULGULAR..... | 36 |
| 4.4. HİSTOPATOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR.... | 37 |
| 5. TARTIŞMA | 47 |
| 6. SONUÇLAR | 57 |
| 7. KAYNAKLAR..... | 58 |
| 8. ÖZGEÇMİŞ | 69 |

I. SİMGELER VE KISALTMALAR

3B: Üç boyutlu

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

CAD: Computer-aided design (bilgisayar yardımcı tasarım)

FDA: US Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)

FTIR: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi

GelMA: Jelatin metakrilol

GFAP: Glial fibriller asidik protein

H&E: Hematoksilen & Eozin

HEPA: High Efficiency Particulate Arresting (Yüksek Etkinlikte Partikül Yakalayıcı)

IM: İntramusküler

MHC: Major histokompabilite kompleksi

PEEK: Polietereterketon

PEG: Polietilenglikol

PGA: Poliglikolik asit

PKL: Polikaprolakton

PKL/BAG: Polikaprolakton/biyoaktif cam

PLA: Polilaktik asit

PLGA: Polilaktik-ko-glikolik asit

PLLA: Poli-L laktik asit

PPF: Propilen fumarate

PVA: Polivinil asetat

SEM: Scanning electron microscope (Tarayıcı electron mikroskopu)

TGF-B: Transforming growth factor -beta (Transforme edici büyüme faktörü beta)

UV: Ultraviyole



II. TABLO LİSTESİ

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Tablo 1: Greftlerdeki hacim değişimleri..... | 36 |
| Tablo 2: Greftler arasındaki hacim değişim miktarlarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 37 |
| Tablo 3: Greftler arasında nükleus kaybı miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 40 |
| Tablo 4: Greftler arasında periferik proliferasyon miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 41 |
| Tablo 5: Greftler arasında GFAP ile boyanma miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 41 |
| Tablo 6: Greftler arasında kollajen miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 42 |
| Tablo 7: Greftler arasında elastik lif miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 42 |
| Tablo 8: Greftler arasında metakromazi miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 43 |
| Tablo 9: Greftler arasında fibrozis miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 44 |
| Tablo 10: Greftler arasında inflamasyon miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 45 |
| Tablo 11: Greftler arasında vaskülarizasyon artış miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 45 |
| Tablo 12: Greftler arasında metaplastik kemik oluşum miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması..... | 46 |

III. ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

| | |
|---|----|
| Şekil 1: Kıkırdağın genel yapısı..... | 7 |
| Şekil 2: Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda çalışma için ayrılan tavşanların barınma koşulları..... | 20 |
| Şekil 3: Kontrol ve deney gruplarının hazırlanmasının şematik planı..... | 22 |
| Şekil 4: Polikaprolakton kalıbın tasarım ve üretim aşamaları | 24 |
| Şekil 5: Tavşan kulak donör alanından kıkırdak elde edilmesi | 26 |
| Şekil 6: PKL kalıp ile kıyılmış kıkırdak greftlerinin şekillendirilmesi | 27 |
| Şekil 7: Deneklerin frontal bölgesi üzerinde greftlerin yerleştirileceği alanların planlanması..... | 28 |
| Şekil 8: 12 haftalık takip süresi sonunda, deneklerin sakrifiye edilmesi ardından frontal bölgeden greftlerin eksize edilmesi..... | 29 |
| Şekil 9: Hazırlanan greftlerin 12 haftalık takip sonrası makroskopik görünümleri | 29 |
| Şekil 10: Cam mezür yardımı ile greftlerin hacminin ölçülmesi..... | 30 |
| Şekil 11: Polikaprolakton kalıbın SEM ile değerlendirilmesi..... | 33 |
| Şekil 12: A) PKL kalıba ait FTIR spektrumu ve B) Dayanım-uzama grafiği..... | 34 |
| Şekil 13: Greftlerin H&E ve GFAP boyama ile incelenmesi..... | 38 |
| Şekil 14: Greftlerin masson-trikrom ve evans van gieson boyama ile incelenmesi..... | 39 |
| Şekil 15: Greftlerin toluidin mavisi boyama ile incelenmesi..... | 40 |

IV. ÖZET

ÜÇ BOYUTLU YAZICIDA ÜRETİLEN BİYOBOZUNUR POLİKAPROLAKTON KALIP YARDIMI İLE ŞEKİLLENDİRİLEN KİYILMIŞ KIKIRDAK GREFTLERİNİN KALICILIK VE YAŞAYABİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Kıkırdak greftlerinin kullanımında görülen temel problem, greftin şekillendirilmesinde ve bu şeklin uzun süre bozulmadan muhafaza edilmesinde karşılaşılan zorluklar ile ilişkilidir. Kıyılmış kıkırdak greftlerinin 3B yazıcılarda üretilmiş PKL kalıplar ile şekillendirilerek kullanılması; materyalin mekanik yapısı ve yavaş biyobozunur özelliği nedeniyle iyileşme sürecinde görülebilecek şekil bozukluklarını tolere ederken fiziksel destek sağlayarak planlanan şekil ve nitelikte bir greft elde edilmesini sağlayacaktır. Yapılan çalışma ile, 3Byazıcıda üretilen biyobozunur PKL kalıp yardımıyla şekillendirilen kıyılmış kıkırdak greftlerinin kalıcılık ve yaşayabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Yapılan çalışmada, 8 adet tavşanın her birinde tavşanların sağ kulağının amputasyonu ile elde edilen kıkırdaklar blok kıkırdak (grup 1), dilimlenmiş kıkırdak (grup 2) ve PKL kalıp yardımı ile şekillendirilen kıyılmış kıkırdak (grup 3) olmak üzere 3 gruba ayrıldı ve deneklerin frontal bölgesine yerleştirilerek 12 hafta boyunca takip edildi. Takip süresi sonunda elde edilen toplam 24 kıkırdak grefti makroskobik olarak analiz edildi, hacim değişimleri incelendi. Greftlerden elde edilen piyesler histopatolojik/immünohistokimyasal yöntemlerle incelendi ve sonuçlar karşılaştırıldı.

Bulgular: Sekiz tavşanın tümü 12 haftalık deney süreci sonuna kadar herhangi bir sorun gözlenmeden hayatta kaldı. Tüm greftlerin yerleştirildikleri ceplerde kaldıkları, migrasyona uğramadıkları, kıyılmış kıkırdakların iyileşerek silindirik şeklinde tek bir kıkırdak halini aldığı gözlemlendi. Grup 3'te PKL'nin büyük oranda

rezorbe olurken kıkırdakla tamamen kaynaştığı ve kıkırdağa istenilen şekli verdiği gözlemlendi. Grup 2 ve grup 3'teki hacim artışının grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. Yapılan histolojik değerlendirmede grup 1 ile grup 3'te kollajen miktarı ve kondrosit rejenerasyon kapasitesinin grup 2'ye göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüş olup metakromazi, fibrozis, inflamasyon ve metaplastik kemik oluşumu açısından grup 2 ve grup 3 arasında anlamlı bir fark izlenmedi. Grup 3'te vaskülarizasyon miktarının tüm gruplardan anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü.

Sonuç: Yapılan çalışma ile, kıyılmış kıkırdak greftlerinin şekillendirilmesinde 3B yazıcılarda üretilen PKL kalıpların güvenle kullanılabilceği gösterilmiştir. Bu çalışmanın ışığında, daha kompleks şekillerde üretilmiş kalıplar yardımı ile amaca yönelik tasarlanabilecek greftler oluşturularak başta rinoplasti olmak üzere burun rekonstrüksiyonu, kulak kepçesi rekonstrüksiyonu, orbita taban fraktürlerinin onarımı gibi birçok cerrahide güvenle kullanılacak hibrid greftler üretilmesi mümkün olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Dilimlenmiş kıkırdak grefti, polikaprolakton kalıp, üç boyutlu yazıcı

V. ABSTRACT

EVALUATION OF THE VIABILITY AND SURVIVAL OF DICED CARTILAGE GRAFTS SHAPED WITH 3D PRINTED BIORESORBABLE POLYCAPROLACTONE MOLDS

Aim: The main problem with the use of diced cartilage grafts is related to the difficulties encountered in shaping the graft and keeping it intact for a long time. Due to the mechanical structure and its slow biodegradability, 3D printed PCL molds will provide physical support to diced cartilages to obtain planned shape while tolerating deformities that can be seen in the healing process. Aim of this study is to evaluate the permanence and viability of diced cartilage grafts formed with the help of biodegradable 3D printed PCL molds.

Material and Method: In the study, 3 groups were studied in the each of the 8 rabbits' frontal region as block cartilage (group 1), diced cartilage (group 2) and diced cartilage shaped with PCL mold (group 3). A total of 24 cartilage grafts obtained at the end of the 12 week follow-up period were analyzed macroscopically and volume changes were examined. Patterns obtained from grafts were examined by histopathological / immunohistochemical methods and the results were compared.

Results: All eight rabbits survived until the end of the 12-week period without any problems. It was observed that all the grafts remained in the pockets where they were placed, did not migrate, and the diced cartilages recovered properly with forming a single, cylindrical shaped cartilage. In group 3, it was observed that PCL mold was completely fused with cartilage and gave the cartilage the desired shape, while it was largely resorbed. The volume increase in group 2 and 3 were statistically significantly higher than group 1. In histological evaluation, it was observed that the amount of collagen and chondrocyte regeneration capacity in group 1 and group 3 were significantly higher than that of group 2, and there was no significant difference between group 2 and group 3 in terms of metachromasia, fibrosis, inflammation and

metaplastic bone formation. The amount of vascularization in group 3 was significantly higher than all groups.

Conclusion: In the study, it has been shown that 3D printed PCL molds can be used safely in shaping diced cartilage grafts. In the light of this study, it will be possible to produce hybrid grafts that can be used safely in many surgeries such as nasal reconstruction, rhinoplasty, auricle reconstruction and repair of orbital floor fractures with the help of molds produced in more complex ways.

Key words: Diced cartilage grafts, polycaprolactone mold, 3D printing



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Rekonstrüktif ve estetik cerrahinin birçok alanında, çok çeşitli dolgu ve implant materyalleri kullanılmaktadır. Kullanılan bu materyaller temel olarak alloplastik, heterojenik (allogreft) ve otojenik özelliklerde olabilmektedir (1-3). Kullanılan tüm bu materyallerin çeşitli avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Yapılacak cerrahi işlem, işlemin yapılacağı anatomik bölge ve cerrahın kişisel deneyim ve tecrübesine göre en uygun materyal kullanılmaktadır.

Alloplastik materyallerin en büyük avantajı, herhangi bir donör alana ihtiyaç duymadan sınırsız bir kaynağa sahip olmalarıdır. En yaygın kullanılan implantlar silikon, gözenekli yüksek yoğunluklu polietilen (MedPor) veya genişletilmiş politetrafloroetilen (Gore-Tex) 'dir. Alloplastik materyallerin diğer avantajları; kolay şekil verilebilmeleri, cerrahi süreyi azaltabilmeleri, kolay elde edilmeleri ve ek cerrahi morbiditeyi ortadan kaldırmalarıdır (4). Alloplastik materyallerin kullanımına bağlı olarak görülebilen yabancı cisim reaksiyonları, enfeksiyon ve özellikle fiksasyon uygulanmadan kullanılmaları durumunda görülebilen migrasyon riski kullanım alanlarını kısıtlamaktadır (2,5). Silikon, MedPor ve Gore-Tex implantların kullanımı ile ilgili enfeksiyon görülme oranları sırasıyla %3,9, %20 ve %5,3 olup, alloplastik materyal kullanılan hastalar için herhangi bir dönemde görülen ciltten ekspozite olma oranının %12 olduğu bildirilmiştir (6).

Allogreftler (homogreftler), plastik cerrahide kullanılabilen diğer bir greft çeşidi olup hastada yeterli otolog doku bulunmaması durumunda kullanılmakta ve bu sayede donör alan ihtiyacını ortadan kaldırmaktadır (7,8). Allojenik kıkırdak greftlerinin kullanımını kısıtlayan temel faktör, otolog kıkırdak greftlerine göre daha yüksek oranlarda görülen kıkırdak rezorpsiyonudur (9). Bu duruma ek olarak görülebilen immün reaksiyon ve hastalık bulaşma riskleri de mevcuttur (10, 11). Bu riskleri en düşük düzeyde tutmak amacıyla, kadavradan elde edilen homolog kosta greftleri gama ışınları ile işlem görmekte, bu durum ise işlem maliyetini oldukça

yükseltirken (8) bazı yayınlara göre antijenik reaksiyona sebep olacak faktörleri tamamiyle ortadan kaldırmamaktadır (12).

Otolog kıkırdak greftleri, destekleyici bir materyal olarak rekonstrüktif ve estetik cerrahinin birçok operasyonunda sıklıkla tercih edilmektedir. Otolog kıkırdak greftlerinin benzer amaçlarla kullanılmakta olan allogreftlere göre en büyük avantajı biyouyumlu olmaları ve bu sayede doku reddi, enfeksiyon ve ciltten ekspozisyon gibi komplikasyonlara çok daha az sebep olmalarıdır. Kıkırdak greftlerinin kullanımında en sık karşılaşılan problemler greftte görülebilen bükülme, cilt altından görünür hale gelme, yayılma, ciltten ekspoze olma ve enfeksiyonlardır. Bunlara ek olarak donör alanın kısıtlı olması ve donör alanda karşılaşılan problemler, greftin ne kadar resorbe olacağına öngörülememesi, greftin şekillendirilmesinde karşılaşılan zorluklar ve blok kıkırdak greft kullanıldığında görülebilecek bükülmelere bağlı olarak revizyon ihtiyacı kıkırdak greftlerinin kullanımını sınırlandırmaktadır (13, 14, 15, 16, 17). Kıkırdak greftlerinin kullanıldığı çeşitli operasyonlarda, özellikle fazla miktarda kıkırdak gerektiğinde sıklıkla kosta kıkırdağı tercih edilmektedir. Kıkırdak bloğunun oyularak şekillendirilmesi, doğal olarak dengelenmiş kıkırdağın iç kuvvet vektörlerini bozarak uzun dönemde greftin deforme olmasına yol açmaktadır (18). Kosta kıkırdağının blok olarak şekillendirilmesi durumunda karşılaşılan öngörülemeyen bükülme, şekil değiştirme ve rezorbsiyon gibi sebepler blok kıkırdak greftlerinin kullanımını kısıtlamakta ve araştırmacıları greftlerin yeni kullanım şekilleri üzerinde çalışmaya yönlendirmektedir (19).

Bu sorunların önüne geçmek amacıyla kıkırdak greftlerinin blok olarak kullanımını yerine kıyılarak veya ezilerek ufaltılması denenmiş ve büyük oranda başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Kıyılmış kıkırdak grefti kullanımının, blok kıkırdak greftine göre avantajları:

1. Kolay hazırlanması
2. Operasyonda elde edilen farklı karakter ve şekildeki kıkırdakların, bir arada kullanılabilmesi
3. Kullanılacak alana göre birçok farklı şekilde biçimlendirilebilmesi

4. Greftlerin operasyon sırasında ve sonrası 10 güne kadar ufak düzeltmelerin yapılabilmesine olanak tanınması
5. Bükülme ve eğilme gibi sorunlarla karşılaşılması
6. İnce ciltlerde bile cilt altından görünür hale gelmemesi
7. Revizyon gerekmesi durumunda minör revizyonların yeterli olması
8. Greftin yerleştirilmesi için daha ufak insizyonların yeterli olması
9. Greftin enfeksiyona daha duyarlı olması olarak özetlenebilir (20)

Kıyılmış kıkırdak greftlerinin deneysel olarak kullanımı ile ilgili yapılan ilk çalışma Young'a aittir (21). Peer ve arkadaşları, 1943 yılında kıyılmış kıkırdak greftlerinin klinik kullanımı ile ilgili literatürdeki ilk çalışmayı yayınlamışlardır (22). Yapılan bir diğer çalışmada ise Peer ve arkadaşları ilk kez kıyılmış kıkırdak greftini, üzerinde porlar oluşturulmuş vitalyum bir kulak kalıbının içinde şekillendirerek mikrotia tedavisinde kullanmayı denemiştir (23). Literatüre bu kadar erken dönemde giren kıyılmış kıkırdak greftlerinin tekrar gündeme gelmesi ise rinoplasti operasyonlarında burun dorsum augmentasyonunu sağlamak amacıyla kullanılması ile gerçekleşmiştir. Erol (24) kıyılmış kıkırdak greftlerini Surgicel'e sararak burun dorsumu deformitelerinin onarımında "Türk lokumu" olarak meşhur ettiği yöntemi kullanmış ve burun estetiğinde kıyılmış kıkırdak grefti kullanımını dünya çapında popüler hale getirmiştir. Bu yöntemde grefti şekillendirmek için ek bir donör alana ihtiyaç duyulmuyor olması, tekniğin hızla popüler hale gelmesini sağlamışsa da uzun dönemde kıkırdaklarda görülen erime ve Surgicel'e bağlı olarak gelişen yabancı cisim reaksiyonları nedeniyle kullanımı azalmıştır (25, 26). Daniel bu yöntemi, hastalarda ortaya çıkan kronik inflamasyona bağlı sorunları çözmek amacıyla Surgicel yerine derin temporal fasya grefti kullanarak uygulamıştır (27). Brenner ve arkadaşları, kıyılmış kıkırdak greftlerine yönelik olarak yaptıkları deneysel çalışmada otojen fasyanın kıkırdak viabilitesi ve rejenerasyonuna negatif etki göstermediğini belirtmişlerdir (28). Burun dorsumunda kontür düzensizliklerinin düzeltilmesi ve tip desteğinin artırılmasında kıkırdak greftlerinin fasya greftleri ile beraber kullanılması, resorbsiyon ve inflamasyonun çok daha az görülmesi ve fasyanın tamamen neovaskülarize olabilmesi sayesinde başarılı sonuçlar ortaya çıkarmaktadır (29, 30).

Otolog fasya kullanımı, kıkırdak yaşayabilirliğine katkı sağlasa da donör alanda skara neden olması, fasya greftinin alınması sırasında operasyon süresinin uzaması ve kullanılacak fasya miktarının kısıtlı olması gibi birtakım dezavantajlara sahiptir. Bu nedenle kıyılmış kıkırdakların şekillendirilmesi için alternatif bir materyal arayışı devam etmiş ve farklı alloplastik materyaller denenmiştir. Kim ve arkadaşları, kıyılmış kıkırdak greftlerini kozmetik ve rekonstrüktif cerrahide bir dermis yedeği olarak kullanılan Alloderm ile beraber burun tipi ve dorsumda görülen düzensizlikleri gidermek amacıyla kullanmışlardır. İnsan kadavra cildinden elde edilen ve MHC 1 ve 2 antijenlerinden yoksun olan Alloderm, herhangi bir immünolojik veya yabancı cisim reaksiyonuna sebep olmaması nedeniyle başarı ile kullanılmaktadır (31). Bracaglia, rinoplasti sonrası dorsal düzensizlikleri düzeltmek amacıyla dilimlenmiş kıkırdak greftlerini fibrin yapıştırıcı (Tissucol/Tisseel; Baxter Healthcare) kullanarak şekillendirmiş ve greftin uzun dönemde hacim kaybı göstermediğini belirtmiştir (32). Bullock ve arkadaşları ise kıyılmış kıkırdak greftlerini, hastanın kanından elde edilen plateletten zayıf plazma ve plateletten zengin plazma karışımını thrombin-kalsiyum solüsyonu ile karıştırarak elde ettikleri otolog doku yapıştırıcısı ile bir araya getirmiş ve nazal dorsum augmentasyonu sağlamak amacıyla kullanmışlardır (33).

Kıyılmış kıkırdak grefti kullanımının en büyük problemi, uzun dönemde ortaya çıkan öngörülemez kıkırdak erimesidir. Birçok çalışmada, bu durumun kıkırdağı şekillendirmekte kullanılan alloplastik materyale bağlı gelişen lokal inflamatuvar yanıtla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Benzer problemlerle otolog fasya kullanımı veya aselüler dermal matriks kullanımında da karşılaşılmaması ise daha çok greftin kanlanmasında görülen kısıtlılıkla ilişkilendirilmiştir (25).

Kıyılmış kıkırdak greftleri ile ilgili sık görülen problemlerden bir diğeri ise, kıkırdakların otolog veya alloplastik bir fasya ile şekillendirilmesi durumunda greftin yeterli mekanik güç ve sertlikte olmaması nedeniyle verilmek istenen üç boyutlu şekli koruyamamasıdır. Burun estetiğinde dorsumda görülen düzensizlikleri gizlemek amacıyla kullanıldığında bu durum bir sorun yaratmazken, dorsal augmentasyonda

kullanılan kıkırdak greftlerinin şeklini koruyamaması, uzun dönemde istenilen estetik sonuçların elde edilmesini zorlaştırmaktadır.

Kulak rekonstrüksiyonu, kıkırdak grefti kullanımının oldukça popüler olduğu, zorlu plastik cerrahi operasyonlarından bir diğeridir. Bu alanda oldukça tecrübeli cerrahların otolog kıkırdak greftleri kullanarak elde ettikleri başarılar göz ardı edilemese de, otolog kıkırdak kullanmanın birçok donör alan morbiditesine ek olarak bazı cerrahi komplikasyonları mevcuttur. Yapılan çalışmalarda, oyularak şekillendirilmiş blok kıkırdakların operasyon sırasında verilen şekli uzun dönemde koruyamadığı, resorbe olarak deformasyona uğradığı gözlenmiştir (34). Blok kıkırdak greftlerinin oyularak veya çeşitli sütürler ile şekillendirildiği operasyonlarda greftlerde görülen eğilme, bükülme, erime gibi sorunlar operasyonların uzun dönem başarısına gölge düşürebilmektedir.

Kıyılmış kıkırdak greftlerinin yaşayabilirliği blok kıkırdak greftlerinden çok daha yüksek olup, operasyonda kullanımına bağlı komplikasyon oranları çok daha düşüktür. Bu sebeple blok kıkırdak greftlerinin kullanıldığı diğer operasyonlarda da kıyılmış kıkırdak grefti kullanmak amacıyla istenilen şekil ve formda kalıpların grefti şekillendirmek amacıyla kullanılması fikri, bu çalışmanın çıkış noktası olmuştur. Kıyılmış kıkırdak greftlerinin 3 boyutlu yazıcıda ameliyat öncesi dönemde tasarlanarak üretilmiş polikaprolakton (PKL) kalıplar yardımı ile şekillendirilerek kullanılması, polikaprolaktonun mekanik yapısı ve yavaş biyobozunur özelliği nedeniyle kıkırdak greftinin istenilen şekli uzun süre korumasını sağlayacak ve iyileşme sürecinde görülebilecek şekil bozukluklarını tolere ederek planlanan şekil ve nitelikte bir greft elde edilmesini sağlayacaktır (35).

PKL canlıda 2-4 sene arasında hidrolizle degrede olan biyobozunur bir maddedir (36). Yavaş bozunması, şekillendirilmiş kıkırdak greftinin olgunlaşarak mekanik yapısını oluşturması sırasında ona bir çatı görevi üstlenerek cilt ve skar dokusundaki kontraksiyonlara bağlı greftte gelişebilecek şekil bozukluklarının önüne geçecek, ancak uzun dönemde eriyebilir olması ile de aşırı lokal mekanik basıya bağlı

cilt incilmesi ve ülserasyonlar gibi sık görülen implant komplikasyonlarının gelişmesini de engelleyecektir (37, 38, 39, 40).

PKL implantların kullanımı, son dönemde gelişen üç boyutlu (3B) yazıcı teknolojisi sayesinde popülerlik kazanmış ve birçok deneysel çalışmada alloplastik materyal olarak veya otolog doku mühendisliğinde doku iskelesi olarak denenmiştir. Doku mühendislik ürünü greftlerin insanda kullanımı, plastik ve rekonstrüktif cerrahi başta olmak üzere birçok cerrahi alanda büyük bir potansiyele sahiptir. Gelişen teknolojiyle birlikte, istenen özellikte dokunun herhangi bir donör alana gerek kalmaksızın laboratuvar ortamında üretilebilmesi bir noktada mümkün olacaktır. Ancak günümüzde bu çalışmalar, daha çok *in vitro* alanda yapılmakta olup *in vivo* çalışmalar yapılan birkaç hayvan deneyi ile sınırlıdır. Doku mühendislik ürünü kıkırdakların kullanılabilmesi için öncelikle canlıdan izole edilen kondrositlerin kültüre edilerek *in vitro* ortamda çoğaltılması, ardından uygun hidrojellerle birleştirilerek biyolojik doku “mürekkebinin” hazırlanması, istenilen şekil ve mekanik özelliklere sahip doku iskelesinin 3B yazıcı tarafından üretilmesi ve hazırlanan biyo-mürekkep ile birleştirilmesi ve oluşturulan neo-dokunun yapılan testler sonucu uygunluğunun gösterilmesi ardından canlıya transferi mümkün olmaktadır. Bu kadar kompleks bir uygulamanın yaygınlaşarak rutin kullanıma girebilmesi yıllar alacaktır.

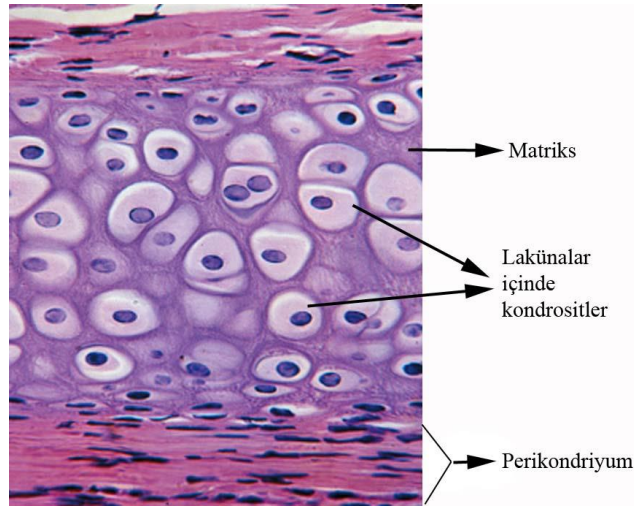
Yapılan çalışma ile, implant materyali olarak veya doku mühendislik ürünü kıkırdakların üretilmesi sırasında doku iskelesi olarak başarıyla kullanılan PKL'nin, otolog kıyılmış kıkırdak greftlerini şekillendirmek amacıyla kullanımının greft kalıcılık ve yaşayabilirliği üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.KIKIRDAK DOKUSUNUN YAPISAL VE HİSTOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Kıkırdak rölatif olarak sade görünen ancak yüksek derecede özelleşmiş bir bağ dokusudur (41). Kıkırdak dokusunun ana görevi, yumuşak dokuyu desteklemektir. Gelişmekte olan embriyoda kıkırdak mezodermden köken alır. Esas olarak kondrositler ve ekstraselüler matriksten (glikozaminoglikan ve proteoglikanlar) oluşur. Koyu kıvamdaki matriks, kollajen ve elastik liflerle birlikte esnekliği sağlayarak mekanik zorlanmalar karşısında kalıcı şekil bozukluklarının meydana gelmesine engel olur. Benzer dokular gibi görünmelerine rağmen kemik dokunun aksine kıkırdak dokunun onarım kapasitesi oldukça sınırlıdır (42).

Kıkırdak hücreleri, kondrosit adı verilen tek tip hücrelerdir. Kendi sentezledikleri matriks içinde birbirine değmeyecek şekilde kendilerine ait lakünelarda tek tek veya gruplar halinde bulunurlar. Kıkırdağın periferinde ovoid daha derin bölgedekiler ise yuvarlaktır (43) (Şekil 1).



Şekil 1: Kıkırdağın genel yapısı

Matriks, kondrositler tarafından sentez edilir. Kıkırdağın %70'i sudur. Dehidrate edildiğinde ağırlığının %40-70'i kollajen, %15-40'ı proteoglikan ve %5'i

kondrosittir. Kıkırdak matriksi proteoglikan agregatlarınca zengindir. Bir proteoglikan monomeri, bir merkez (kor) proteininden ve buna kovalent olarak bağlanmış bol miktardaki glikozaminoglikan (kondroitin-4 sülfat, kondroitin-6 sülfat ve heparan sülfat) oluşur. 100-200 kadar monomer hiyalüronik aside nonkovalent olarak bağlanarak 3-4 um uzunluğunda dev agregatları oluşturur (43). Bu proteoglikan molekülleri ile ilişkili bol miktarda negatif yüklerin bulunması başta sodyum olmak üzere temel olarak katyonlar için çekici olur, buna bağlı olarak da bol miktarda su tutulur. Bu nedenle kıkırdak matriksinin tüm ağırlığının %70'i sudur. Bu durum kıkırdağın sıkılaştırma ve zorlamalara karşı neden dirençli olduğunu ortaya koyar (43-45).

İnterstisyel sıvı içerisindeki su ve elektrolitlerin serbest şekilde akışı kıkırdak dokuya has bir özelliktir. Böylece viskolelastisite sağlanır ve kondrositlerin beslenmesi için uygun bir ortam oluşturulur. Kıkırdak dokunun çok az bir kısmını meydana getiren hücreler (%1-12) ekstraselüler matriks içerisinde gömülü bir haldedir (42). Kıkırdak dokusu kan damarı içermez, lenfatik damar ve sinirleri yoktur (43).

Eklem kıkırdağı dışındaki bütün hyalin kıkırdaklar, perikondrium adı verilen kıkırdak büyümesi ve bakımı için gerekli olan, yoğun bağ dokusundan oluşmuş bir tabaka ile örtülüdür. Fibriler bir dış tabaka ile matriksi sentezleme kapasitesindeki daha hücreli bir iç tabakadan oluşur. İç tabaka kondroblast adı verilen bağ doku hücrelerinden zengindir. Bu hücreler ihtiyaç halinde farklılaşarak kondrositleri oluşturabilirler. Perikondrium vasküler yapılardan zengin bir tabakadır. Kıkırdak dokusunun beslenmesi perikondriumdan difüzyon yolu ile gerçekleşir. Kıkırdağın perikondriyuma sahip olmadığı alanlarda (kemiğin eklem yüzeyi) kıkırdak hücreleri eklem yüzeyini yıkayan sinovyal sıvıdan beslenir. Bütün avasküler dokuların hücrelerinde olduğu gibi kondrositler de düşük metabolik aktivite gösterirler (43). Beslenmenin vasküler bir ağ yerine difüzyonla olmasından dolayı kolaylıkla farklı anatomik bölgelere çeşitli şekillerde transfer edilebilir.

Ekstraselüler matriksin içeriği yaş, travma veya metabolik hastalık gibi durumlarda değişim gösterebilir. Örneğin kıkırdak dokudaki kollajen miktarı yaşla

birlikte artarken, proteoglikan miktarı azalır. Bu değişikliklerin sonucu olarak kıkırdak doku sertleşir ve bazı kişilerde kalsifiye olabilir. Özellikle yaşlı hastalarda kostal kıkırdak, greft materyali olarak kullanılmak istendiğinde kalsifiye bir kıkırdakla karşı karşıya kalınabilir (43-45).

Değişik fonksiyonel ihtiyaçlar nedeniyle, kıkırdak doku matriks kompozisyonlarında görülen farklılığa göre 3 tür olarak kategorize edilir (45):

2.1.1 Hyalin kıkırdak

Taze hyalin kıkırdak mavimsi beyaz ve translüsendir. En sık rastlanan türdür ve matriksindeki kollajenin çoğu tip II kollajendir. Hyalin kıkırdağın kuru ağırlığının %40'ını hücrelerarası amorf madde içindeki kollajen oluşturur. Kollajenin, submikroskopik boyutlardaki lifler formunda olması ve bu fibrillerin temel madde ile hemen hemen aynı refraktif indekse sahip olması nedeniyle, rutin histolojik incelemelerde amorf maddeden ayrı seçilemez. Embriyoda ossifikasyon meydana gelene kadar geçici iskelet görevini yapar. Basınca dirençlidir. Yetişkin memelilerde hyalin kıkırdak hareketli eklem yüzeylerinde, büyük solunum yolları duvarlarında (burun, larenks, trakea gibi) ve kostaların sternuma bağlandığı uçlarda bulunur. İspirasyonda solunum yollarının kollabe olmasını engeller.

2.1.2 Elastik kıkırdak

Taze elastik kıkırdağın sarımsı rengi vardır. Daha esnek ve bükülebilir olan elastik kıkırdağın matriksinde tip II kollajene ek olarak bol miktarda elastik lif vardır. Hyalin kıkırdak gibi perikondriyumu bulunur. Kulak kepçesi, östaki tüpü, epiglot ve aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntılarında bulunur. Elastik kıkırdakta kemikleşme olmaz, dejenerasyon da daha az görülür.

2.1.3 Fibröz kıkırdak

Vücudun zorlanmalarla karşı karşıya kaldığı ve ağırlık taşıyan bölgelerde, yoğun bir ağ şeklinde örtülmüş tip I kollajen lifleri içeren matrikse sahip tipteki kıkırdaktır. İntervertebral diskte, bazı ligamentlerin kıkırdakla kaplı kemik yüzeyine bağlandıkları yerlerde ve simfisis pubisde bulunur.

Kıkırdak, avasküler yapısı ve hücre popülasyonunun seyrekliği sayesinde düşük metabolik ihtiyacı olan bir dokudur. Kıkırdak dokusunun glikolitik aktivitesi ve oksijen tüketimi anaerobik duruma yaklaşır ve doku sıvı diffüzyonu ile beslenir. Bu özel durumu sayesinde kıkırdak greftleri, kullanıldığı alanda diğer greftlere göre kısmen daha kolay bir şekilde hayatta kalabilmektedir.

2.2 KIKIRDAK İYİLEŞMESİ

Kıkırdak dokusunun iyileşmesi için 2 olası mekanizma mevcuttur: defekt alanına komşu kondrositlerin rejenerasyonu ile gerçekleşebilecek intirnsik onarım ve diğer bağ dokularında bulunan kök hücrelerin metaplazisi ile farklılaşması sonucu yeni kıkırdak oluşu olarak adlandırılacak ekstrinsik onarım (46).

Kıkırdakların onarım kapasiteleri kısıtlıdır. Bunun temel sebebi, lakunalarda bulunan kondrositlerin zarar gören alanlara migrasyon gösterememesidir. Kıkırdak dokusu genel olarak hiposelüler olup kondrositler sitoplazmik olarak birbirinden izole bir halde, lakünalar içinde yaşarlar. Etkileşimleri otokrin ve/veya parakrin yolla olmaktadır. Kıkırdak iyileşmesinin oldukça kısıtlı olmasının bir diğer sebebi de, kan damarı içermemeleri nedeniyle yeni matriks üretimi ve depolanmasının kısıtlı olmasıdır (47, 48).

Genellikle hasarlanan kıkırdak dokusu, yerini fibrokartilaj skar dokusuna bırakır. Fibrokartilaj dokusu, içerisinde değişik miktarlarda kıkırdaksı doku içeren beyaz renkli fibröz dokudur. Kıkırdağın fibröz doku ile yer değiştirmesi, elastikiyetinde azalmaya ve sertleşmeye sebep olur. Fibrokartilaj dokusu, tip 2 kollajen içeren sağlıklı kıkırdak dokusuna göre artmış miktarda tip 1 kollajen içermektedir.

2.3 OTOLOG KIKIRDAK GREFTLERİ VE KLİNİK KULLANIMLARI

Kıkırdak greftleri, nazal ve auriküler defektlerin onarımı başta olmak üzere birçok rekonstrüktif prosedürde saf kıkırdak grefti veya kompozit greft olarak kullanılmaktadır. Genel olarak kıkırdak greftleri, kullanıldıkları alanda metaplastik değişikliklere uğramazlar (49).

Her ne kadar kıkırdak dokusu immünolojik olarak ayrıcalıklı olarak kabul ediliyor ve bu sayede allojenik kıkırdak greftleri potansiyel bir greft kaynağı olarak görülüyor olsa da, en sık uygulanan kıkırdak greftleri otolog kıkırdak greftleridir. En sık kullanılan otolog kıkırdak kaynakları, auriküler, nazal ve kostal kıkırdaklardır (50).

2.3.1 Auriküler kıkırdak greftleri

Elastik kıkırdak greftleri, kolay şekillendirilebilir olmaları sayesinde en kullanışlı kıkırdak greftleridir. Donör alan morbiditesine sebep olmadan, lokal anestezi altında bile konkanın büyük bir kısmı donör alan olarak kullanılabilir (49). Kulak rekonstrüksiyonu ve auriküler defektlerin onarımında kullanımının yanı sıra (51, 52, 53) nazal, tarsal ve meme ucu defektlerinin onarımında da sıklıkla kullanılmaktadır (49). Cerrahi teknik olarak septumdan veya kostadan kıkırdak grefti elde etmeye nazaran çok daha kolay olsa da kulak kıkırdağının kavisli ve nispeten ince olması nedeniyle düz ve güçlü bir kıkırdak grefti gereken durumlarda kullanımı kısıtlıdır (54).

2.3.2 Nazal kıkırdak greftleri

Septal kıkırdak, nazal kıkırdak greftleri için iyi bir donör alanıdır. Sert, düz ve kolay erişilebilir olması nedeniyle özellikle rinoplasti operasyonlarında en sık tercih edilen kıkırdak greftidir. Septal kıkırdağa, yapılan hemitransfiksiyon insizyonu ardından septum kaudalinde kıkırdağa yapılan submukoperikondreal diseksiyon ardından ulaşılabilir (55). Septum kıkırdağının donör alan olarak kullanılması durumunda, nazal desteğin devamlılığını sağlamak adına L şeklinde strut kıkırdak korunmalıdır (49, 55). Burnun yapısal bütünlüğünü bozmadan çıkartılabilecek septal kıkırdak miktarı kısıtlı olup, özellikle revizyon gerektiren rinoplasti operasyonlarında muhtemelen geride yeterli miktarda greft kalmayacaktır.

2.3.3 Kostal kıkırdak greftleri

Elde edilebilecek greft miktarı ve greftin mekanik sağlamlığı göz önüne alındığında, kosta en iyi kıkırdak greft donör alanı sayılabilir. Kostal kıkırdak greftleri, sıklıkla total kulak rekonstrüksiyonlarında çerçeve olarak kullanılmaktadır.

Tanzer(56), Thomson (57) ve Brent (58), kulak çerçevesinin oluşturulmasında kostal kıkırdak greftlerinin kullanımını tanımlamışlardır. Bu prosedüre göre, altıncı ve yedinci-ihityaca göre sekizinci kostal kıkırdakların birleşim hattı donör alan olarak kullanılmaktadır.

Kostal kıkırdak kullanımı, bazı donör alan morbiditelerine neden olabilmektedir. En sık görülen problemler ağrı, göğüste insizyon skarı, görülebilecek göğüs duvar deformiteleri ve pnömotoraks riskidir (59). Bu riskleri azaltmak için, kostal kıkırdak greftinin elde edilme yöntemlerinde birçok revizyon yapılmıştır.

Kostal kıkırdak greftleri, kulak rekonstrüksiyonu dışında semer burun deformitelerinde (60), maksillonazal displasi (Binder sendromu) tedavisinde (61), septorinoplasti operasyonlarında (62) ve trakea rekonstrüksiyonunda (63) sıklıkla kullanılmaktadır.

2.4 KIKIRDAK MÜHENDİSLİĞİ

Kıkırdak greftleri, plastik cerrahi operasyonlarında en sık kullanılan doku greftlerinden olup çok çeşitli operasyonlarda değişik amaçlarla kullanılmaktadır. Ancak vücutta sınırsız miktarda olmaması ve kullanımına bağlı olarak donör alanda sebep olabileceği ek sorunlar, otolog kıkırdak greftlerinin kullanımını kısıtlamaktadır. Rekonstrüktif amaçla kullanılan kıkırdak greftleri veya alloplastik materyallerle ilgili karşılaşılan problemler, doku mühendislik ürünü otolog kıkırdakların kullanımı ile ilgili çalışmaların hızlanmasına neden olmuştur (64, 65).

Doku mühendisliği, 1980'lerin sonu ile 1990'ların başında gelişmeye başlayan, mühendislik yolu ile insan dokularının onarılması ve rejenere edilmesini amaçlayan bir biyoteknoloji alanıdır (66). Doku mühendisliği alanında yapılan çalışmalarda temel amaçlardan birisi de, temel prensiplerin kolaylıkla uygulanabilmesi sebebiyle kıkırdak dokusunun üretimi olmuştur (67, 68). Son dönemde deneysel olarak yapılan birçok çalışma ile, çeşitli rekonstrüksiyon operasyonlarında kullanılmak üzere otolog kıkırdak doku alternatifini olarak doku mühendislik ürünlerinin kullanımı denenmektedir. Bu alanda yapılan çalışmalar, daha

çok kulak rekonstrüksiyonunda kullanılacak otogreft alternatifi üretmeye yoğunlaşmıştır (69,70). Atimik farelerin sırtında insan kulağı şeklinde kıkırdak üretilmesine yönelik yapılan çalışmalar, plastik cerrahide yapılan doku onarımı ve rekonstrüksiyon ameliyatlarında doku mühendislik ürünleri kullanımının müthiş bir potansiyel olduğunu ortaya koymuştur (71).

Genel olarak, doku mühendisliği üç temel basamaktan oluşmaktadır: 1) hücre ekimi: matriks üretimi, depolanması ve doku formasyonu için esansiyel hücrelerin kültüre edilerek çoğaltılması 2) doku iskelesi: hücrelerin fonksiyon gösterebilmesi için üç boyutlu bir destek yapısı 3) doku üretimi için uygun çevre: hücrelerin doku iskelesine ekilmesi ardından çoğalarak matriks üretmesi, uygun dokuya şekillenmesi ve mühendislikle oluşturulan dokunun aşama aşama dönüşerek olgunlaşması (73).

Stock ve Vacanti'nin özetlediği şekliyle, doku mühendisliği temel olarak ekilen hücrelerin organize olarak hedef dokuya dönüşebilecekleri bir doku iskelesi üretilmesini amaçlar (73). Doku iskelesi, hücrelerin yeterli ekstraselüler matriksi sentezlemesine yetecek süre boyunca hücreler için temel bir biyomekanik destek oluşturmaktadır. Yeni üretilen matriksin formasyonu, depozisyonu ve organizasyonu boyunca doku iskelesi, ya degrade olarak ya da metabolize olarak yerini üretilmesi amaçlanan doku veya organa bırakılmaktadır.

Doku mühendislik ürünü kıkırdak greftlerinin üretilmesi ile ilgili yapılan ilk çalışmalar, daha çok bir hidrojel kullanılarak uygun ortamda kondrositlerin çoğalmasını ve bu sayede bir kıkırdak oluşturulmasını amaçlamıştır. Yalnızca hidrojel kullanılarak üretilen yapay kıkırdak dokularının temel sorunu, yeterli mekanik güç ve sertlikten uzak olmaları nedeniyle canlıda üç boyutlu şekillerinin devamlılığını sağlayamamalarıdır. 3B yazıcı teknolojisinin gelişmesi ile birlikte, istenilen şekil ve formda kıkırdak greftleri üretmek amacıyla uygun doku iskelesinin üretilmesine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (64,65,74). Bu yöntemde, yazıcıda üretilen sentetik polimer kalıp, kondrositlerin çoğalmasını ve sağlayabilecek uygun hidrojeller ile birlikte kullanılabilir (75, 76, 77). Kundu ve arkadaşları, kıkırdak üretimi sırasında sıklıkla kullanılan aljinat sayesinde kondrositleri TGF-B gibi bir büyüme

faktörü ile bir arada tutarken, PKL doku iskelesinin porlu yüzeyinin hücrelerin tutunmasına yardımcı olduğunu ve bu sayede kırık rejenerasyonu sırasında gerekli mikrosistemin oluşturulduğunu göstermişlerdir (78). Bir başka çalışmada, porozitesi yüksek polilaktik-ko-glikolid asit (PLGA) doku iskelelerinin tip 2 kollajen ile modifiye edildiği yapıların, domuz modelinde iyi dağılmış kondrosit ve neokartilaj oluşumu ile doğal eklem kırıkdağını taklit edebilir bir doku üretimi sağlanabilmiştir (79). Tavşan kemik iliğinden elde edilen kök hücrelerin TGF-B1 ile çoğaltıldığı ve poli-laktik asit (PLA) doku iskelesine ekilerek atimik farelerin dorsum augmentasyonu için kullanıldığı bir çalışmada, 4 haftalık takipte pozitif kırık belirteçleri izlenmiştir (80).

Günümüzde uygun mekanik güce sahip çok daha kompleks dokuların üretilmesi için hibrid biyoyazıcı teknolojileri geliştirilmektedir. Kırık dokusu üretimi ile ilgili 3B hücre yazdırma teknolojisindeki güncel başarılar, bir sentetik polimerin hidrojel ile kombine edildiği bu hibrid sistemler ile mümkün olmuştur (76, 77). Hibrid yazıcılar, en az iki kartuşla eş zamanlı yazma işlemi yapmaktadırlar. Bu kartuşların birisi termoplastik polimerle, diğeri ise canlı hücrelerle beraber farklı hidrojel içerir ve uygun şekilde, istenen mekanik güce sahip kalıpların yaşayan hücreler ile beraber yazdırılmasını sağlar (81). Bu biyoyazıcı sistemleri ile kulak gibi oldukça kompleks yapıların başarıyla üretilmesi sağlanmış ve canlı yapıları deneylerde kullanılmışlardır (76, 81).

2.5 PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİDE ÜÇ BOYUTLU YAZICILARIN KULLANIMI

3B yazıcı teknolojisi, son 10 yılda hızla gelişerek endüstriyel ürün tasarımı alanında en büyük atımlardan birine imza atmıştır. Günümüzde biyoloji ve tıbbın birçok alanında kullanılan üç boyutlu yazıcı sistemleri, özellikle doku mühendisliği ve implant teknolojisinde şimdiden kendine hatırı sayılır bir yer edinmiş olup geleceğe yönelik olarak büyük bir potansiyel barındırmaktadır. Hızla gelişen bu sektöre ayrılan bütçenin ABD’de 2021 yılı itibarıyla 10.8 milyar doları aşması beklenmektedir (82).

3B yazıcı sistemleri; istenilen şekil ve formda bir ürün üretmek amacıyla bilgisayar yardımlı tasarımların (computer aided design (CAD)), malzemenin ardışık olarak katman katman biriktirildiği veya oyularak şekillendirildiği hassas süreçlerden oluşmaktadır. Bu yöntemle titanyum alaşımlarından kollajene kadar çok sayıda malzeme kullanılabilir. Giderek daha uygun fiyatlı 3B tarama teknolojilerinin geliştirilmesi ve buna paralel olarak uygun yazılımların eklenmesi ile, doktorların ve cerrahların son derece özelleştirilebilir ürünler yaratması mümkün olmaktadır. Enjeksiyon kalıplama gibi geleneksel üretim proseslerine kıyasla 3B yazıcılar, tasarım özgürlüğü ve kompleks geometriye sahip tasarımların bile kolaylıkla hızlı bir şekilde üretilmesine olanak sağlamaktadır (83).

Son zamanlarda kullanımı birçok alanda olduğu gibi medikal amaçlarla da artan 3B yazıcı teknolojileri ile, dijital ortamda hazırlanan herhangi bir 3B tasarımın istenilen materyal ile kalıbı çıkartılabilmekte olup bu son ürünler birçok klinik problemin çözümü için kullanılabilir (76, 84, 85). Günümüzde 3B yazıcılar tıp alanında rutin olarak cerrahi planlama ve zor operasyonlar öncesi eğitim (35, 86), asistan eğitimi (37), hasta eğitimi, el ve ayak protezlerinin üretilmesi (86), biyolojik ve sentetik implantların üretimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (87, 88, 89, 90).

Henüz deneysel aşamada olsa da, bu sistemlerin yapay ve biyolojik implantlardan, yara iyileşmesi için rejeneratif iskelelerden, hücreye özgü replasman doku ve organlara kadar birçok ürünü geliştirmek adına müthiş bir potansiyeli mevcuttur (91).

Günümüzde; farklı teknolojiler ve materyaller kullanan, farklı üretim hızlarına sahip birçok 3B yazıcı bulunmaktadır. Bu yazıcılar temel olarak stereolitografi, multijet modelleme, selektif lazer sinterleme, binder jet tekniği ve katmanlı üretim teknolojilerinden birini kullanmaktadır:

2.5.1 Stereolitografi

Geliştirilen ilk 3B yazdırma tekniğidir. Bu teknikte fotopolimerizasyon adı verilen bir süreç kullanılmaktadır. Fotopolimerler, türüne göre ışığın farklı dalga

boylarına maruz kaldığında fiziksel ve kimyasal yapısında değişim görülen maddelerdir. Bir tür reçine olan sıvı polimerler, ışığa maruz kaldığında katılaşmaktadır. Bilgisayar kontrollü tarama ile sıvı reçine yüzeyinde daha önceden yazılımla dilimlenmiş kesitlere karşılık gelen kısımlar, UV lazer ile katılır (92, 93). Sonraki katman, bir önceki katmanın üzerine oluşturularak tamamlanır ve malzeme yapışkanlığı sayesinde katmanlar birbirine yapışır. Bu teknikte sık kullanılan ışın ile çapraz bağ oluşturan makromolekülerden bazıları polipropilen fumarat (PPF), polietilen glikol/poli (D, L-laktid) (PEG-PL) hidrojel polimerleri ve jelatin methacrylate (GelMA).

2.5.2 Multijet modelleme

Modern mürekkep püskürtmeli yazıcılarla benzer özellikler taşır. Stereolitografi yöntemine benzer olarak, UV ışık fotopolimer maddeyi kürelemektedir. Fakat stereolitografiden farklı olarak, her katmanın lazerle dondurulması yerine 3B yazıcının kafası küçük damlacıklar halinde fotopolimer maddeyi bırakmakta, bırakılan bu madde ise UV ışık ile dondurulmaktadır (94).

2.5.3 Seçici lazer sinterleme

Yüksek güçlü bir lazer, toz halindeki malzemeyi birbirine yapıştırmak amacıyla kullanılır. Bu yöntemle termoplastik, metal, cam veya seramik gibi farklı materyaller kullanılabilir (95, 96). Doku mühendisliğinde iskele üretimi amacıyla kullanılacaksa, sıklıkla PKL polimeri, polieter keton, hidroksiapatit, polietereterketon (PEEK), polivinilalkol (PVA) ve poli-l-laktik asit (PLLA) kullanılır (97, 98).

2.5.4 Bağlayıcı püskürtme

Seçici lazer sinterleme yönteminde olduğu gibi, bir katman toz materyal serildikten sonra 3B yazıcının kafası tozun üzerinden geçer ve bu esnada istenilen renkte yapıştırıcı püskürtür. İşlem katman katman devam eder. Bu yöntemde başta kalsiyum polifosfat, PVA, HA ve trikalsiyum fosfat olmak üzere birçok materyal kullanılabilir (99, 100). Seramikler de bu tarz yazıcılarda sıklıkla kullanılmaktadır (101).

2.5.5 Eriyik yığıma modelleme

Isıtılmış bir enjektör içerisinde malzeme erimiş halde çıkararak modeli oluşturur. Bu enjektör hem yatay hem de dikey olarak bilgisayar yardımı ile hareket ettirilir. Malzeme, enjektörden çıkar çıkmaz katılaşır. Bu yöntemle, erime noktası düşük olan, biyouyumlu termoplastik materyaller biyoiskele oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılır (85). Bu yöntemle tereolitografi yöntemine göre çok daha hızlı ve istenilenle birebir ürün, çok daha düşük maliyetlerle üretilebilmektedir. Eriyik yığıma modelleme, yüksek porozite sağlayarak güçlü ve stabil bir mekanik güç oluşumuna katkı sağlar. Bu yöntemle biyoiskele üretmek üzere sıklıkla kullanılan materyaller, poli L-laktid/E-kaprolakton (PLC) ve poli E-kaprolakton /bioaktif cam (PCL/BAG) gibi fibroblastlarla oldukça yüksek uyum gösteren biyouyumlu polimerlerdir (102). PKL-trikalsiyum fosfat (TCP) meşler, gentamisinin lokal dağılımında kullanılmaktadır (103). İn vivo deneylerde, PLGA ve TCP doku iskelelerinin hyalüronik asit ile kaplandığı ve tavşan femur unikortikal defektlerinde, doku iskelesinin alıcı alan kemik defektine birebir entegre olduğu gösterilmiştir (104).

2.6 TAVŞANDA CERRAHİ BÖLGE ANATOMİSİ

Çalışmada kullanılan *Oryctolagus cuniculus* (Yeni Zelanda) cinsi evcil tavşanların en önemli özellikleri geniş kulaklara sahip olmasıdır. Bu canlılarda vücut yüzeyinin toplam %12'sini kulaklar oluşturur. Dış kulak; kulak kepçesi, işitme kanalı ve timpanik membrandan oluşur. Tavşanların kulakları aşırı derecede vaskülarize organlardır. Anterior ve posterior auriküler arter ve venler çok sayıda arteriovenöz anastomozlar yapar (105). Isı regülasyonu, sesin toplanması gibi görevlerin yanında intravenöz enjeksiyon ve kan alımı için uygun bölgelerdir (106). Son derece sensitif ve fragil bir dokudur.

Tavşanların son derece gür ve ince kılları vardır. Cilt dokusu da incedir, kolayca zedelenebilir. Tavşanın kafa bölgesinde insizyon sırasında cilt ve ciltaltı dokular geçildikten sonra pannikulus karnozus bulunur. İnsanda yüzeysel fasyaya denk gelen bu fasyal yapı cilt-ciltaltı dokulara yapışık bulunur ve altındaki kas dokulardan kaygan fasyası ile ayrılır (107).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılacak denekler için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na yapılan başvuru sonucunda 25.04.2019 tarihli karar ile etik kurul onayı alındı. Deneysel hayvanlarının kullanımında Helsinki Deklarasyonu'na ve Avrupa Konseyi'nin önerdiği şartlara (ETS123) uyuldu.

Deneysel hayvanlarının temini, bakımı ve çalışmanın cerrahi bölümü Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı (BEDEHAL)'da yapıldı (şekil 2). 3B yazıcıda biyoyumlu PKL kalıp üretilmesi, standardizasyonu ve testleri Marmara Üniversitesi Nanoteknoloji ve Biyomalzemeler Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Cerrahi işlemler sonucunda elde edilen piyeslerin histopatolojik değerlendirmesi ise Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı.

Çalışmada kıkırdak grefti elde edilmesinde yeterli donör alan bulunan ve kıkırdak grefti ile ilgili çalışmalarda sıklıkla tercih edilen Yeni Zelanda (New Zealand) *Oryctolagus cuniculus* cinsi beyaz tavşan kullanıldı. Çalışma için toplam 8 adet, 4 aylık, 3000-3500 gr ağırlığında dişi tavşan çalışmaya dahil edildi.

Çalışmada kullanılacak deneysel hayvanları, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı (BEDEHAL)'nda HEPA filtreli, 16-21 derece sıcaklık ve %40-60 nem değerlerine göre düzenlenmiş tavşan odalarında barındırıldı. Işıklandırma periyotları 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Yemleri pelet şeklinde olup fizyolojik gereksinimine göre düzenlendi ve ad libitum tarzında bir beslenme uygulandı. Laboratuvarın havalandırma döngüsü ise saatte 15 devir olacak şekilde ayarlandı. Tavşanların büyüklüklerine uygun kafesler kullanıldı. Suluklar her gün taze su verilmek koşuluyla, tavşanların kafeslerinde ulaşabilecekleri yerlere yerleştirildi. Günlük yem tüketimleri 5 gr/100 gr canlı ağırlık, su tüketimleri ise 5-10 ml/ 100 gr canlı ağırlık olmak üzere hesaplandı. Günlük sağlık kontrolleri laboratuvarında görevli veteriner hekim tarafından yapıldı.



Şekil 2: Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda çalışma için ayrılan tavşanların barınma koşulları.

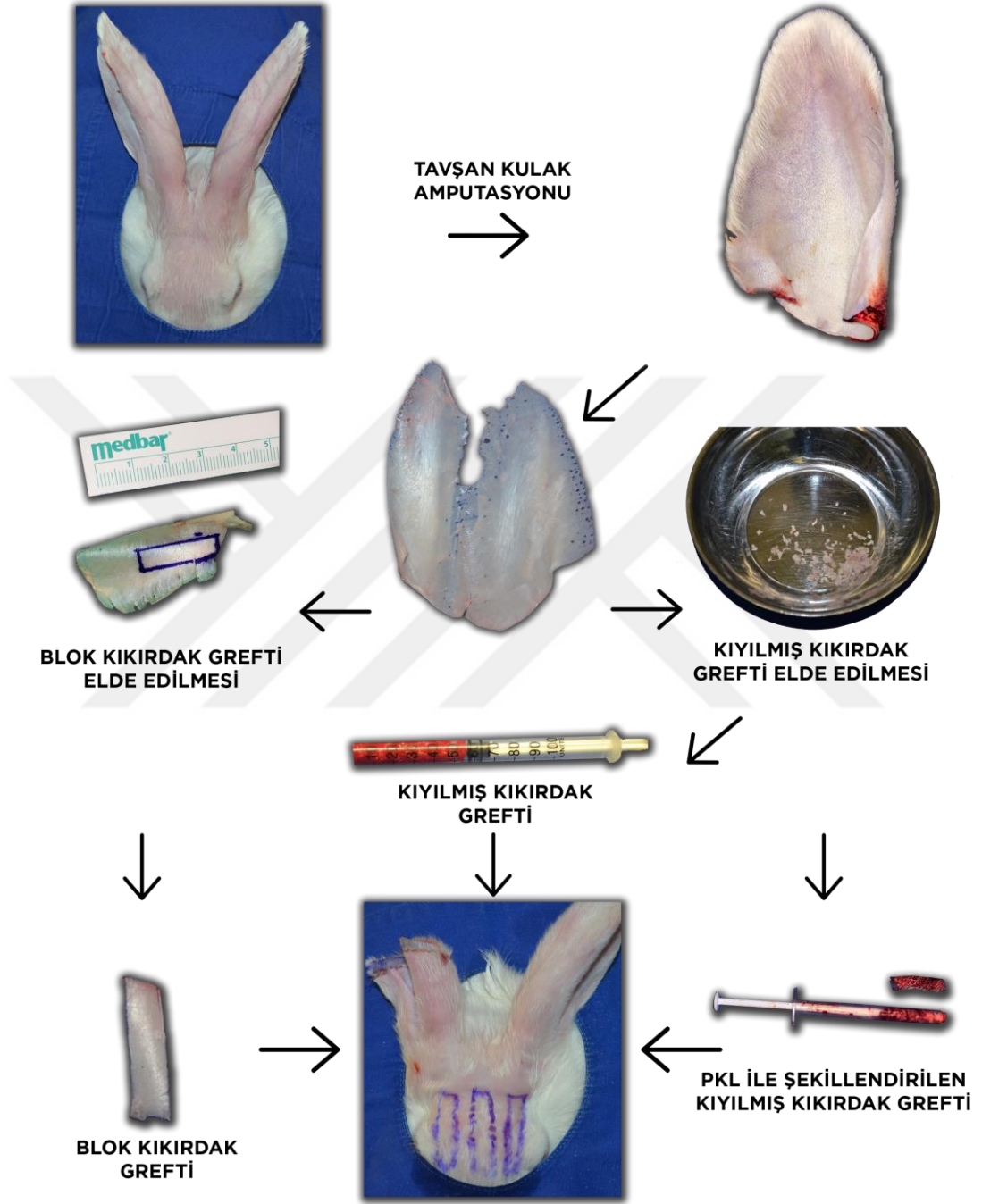
3.1 ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışma grupları, deneklerin kafa bölgesinde oluşturulan ve greftlerin içine yerleştirileceği cep sayısına göre belirlendi. Çalışma sırasında 3 farklı şekilde oluşturulmuş kıkırdak greftinin aynı fizyolojik koşullarda yaşayabilirliğinin kıyaslanması, hareketsiz bir bölge olması ve kıkırdak greftlerinin sıklıkla kullanıldığı rinoplasti ameliyatlarında yerleştirildikleri burun dorsumunu taklit eder tarzda belirli bir cilt gerimi altında olması nedeniyle aynı hayvanın kafa bölgesine yerleştirilmesi

planlandı. Bu durum, aynı zamanda her canlıda 3 grubun da çalışılmasına izin vererek hayvan sayısının minimumda tutulmasına olanak sağladı.

Kontrol ve deney grupları şu şekilde planlandı (şekil 3):

1. Grup: 25x7 mm boyutlarında, 1 mm kalınlığında tek parça kıkırdak grefti, frontal bölge orta hatta oluşturulan cebe yerleştirildi.
2. Grup: Eşit boyutlarda (1x1 mm) dilimlenmiş kıkırdak greftleri enjektör yardımı ile 0,5 ml olacak şekilde ölçülüp deneğin kanı ile yapıştırılarak ve 1 cc insülin enjektörü yardımı ile yaklaşık 25mm uzunluğunda 4 mm yarıçapında bir silindir şekli verilerek frontal bölge sağ lateralde oluşturulan cebe yerleştirildi.
3. Grup: Eşit boyutlarda (1x1 mm) dilimlenmiş kıkırdak greftleri enjektör yardımı ile 0,5 ml olacak şekilde ölçülüp deneğin kendi kanı ile şekillendirilerek, 3B yazıcı yardımı ile oluşturulan ve 5/0 polikaprolakton sütür yardımı ile 25 mm uzunluğunda 4 mm yarıçapında bir silindir şekli verilen PKL kalıba konulup frontal bölge sol lateralde oluşturulan cebe yerleştirildi.



Şekil 3: Kontrol ve deney gruplarının hazırlanmasının şematik planı

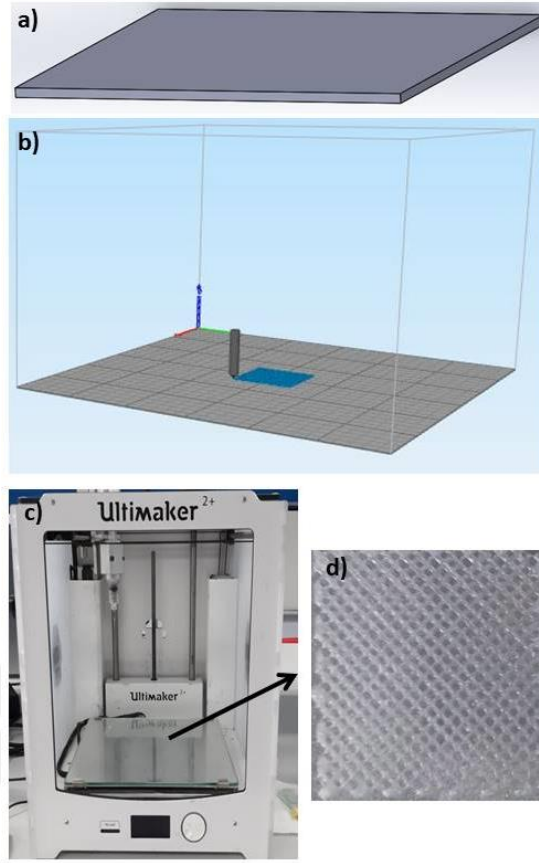
3.2 ÜÇ BOYUTLU YAZICIDA POLİKAPROLAKTON KALIP ÜRETİLMESİ

3.2.1 Kullanılan Malzemeler ve Solüsyonun Hazırlanması

%25 konsantrasyona sahip PKL (Sigma Aldrich, ABD) kalıp üretimi için, PKL (2,5 gr), %25(w/v) konsantrasyonda 10 mL diklorometan (MW: 84.93 g/mol, ISOLAB) çözücüsünde manyetik karıştırıcı vasıtası ile oda sıcaklığında 1 saat süre ile çözülmüştür. Elde edilen homojen karışım, 3B yazıcı sisteminde kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

3.2.2 Polikaprolakton Kalıbın Dizaynı ve Üretilmesi

Çalışmada kullanılacak olan PKL kalıplar, bilgisayar destekli tasarım programı (Solidworks) ve G-kod dönüştürme programı (Simplify) ile çalışmak üzere modifiye edilmiş olup üç eksenli hareketli bir platforma sahip olan 3B yazıcı (Ultimaker 2+, ABD) ile üretilmiştir (Şekil 4). Yazım aşamalarını optimize etmek için değiştirilebilen bazı parametreler iğne çapı, çalışma sıcaklığı, ekstrüzyon (akış) hızı ve yazım hızı olarak sayılabilir. Bu cihaz, çözültüyü pompalamak için ekstrüzyon mekanizmasını kullanmaktadır. İğne çapı 0.4 mm, ekstrüzyon oranı %0.8, varsayılan yazım hızı 1 mm/dk olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılacak olan PKL kalıp modeli (25x25x0.6 mm³) Solidworks ile çizilmiş olup, Simplify programı ile G koda dönüştürülmüştür. Yazıcı, yazdırma parametrelerini doğrudan ayarlamak için bluetooth ile Simplify programına bağlanmıştır.



Şekil 4: Polikaprolakton kalıbın tasarım ve üretim aşamaları A) Solidworks programında çizilen kalıbın katı modeli B) Dilimleme işleminin temsili görünümü C) 3B yazıcı cihazı D) Üretilen PKL kalıp

Kare bir levha şeklinde üretilen PKL kalıp, insülin enjektörü yardımı ile 25 mm boyutunda 4 mm yarıçapında bir silindir formu verilerek 5/0 monokril sütür yardımı ile şekillendirilmiştir.

3.2.3 Üç boyutlu Kalıbın Kimyasal, Morfolojik ve Mekanik Karakterizasyonu

Çalışmada kullanılan kalıpların morfolojik yapısı, deney öncesi ve 12 haftalık takip süresi ardından olmak üzere iki kez tarayıcı elektron mikroskopu (SEM) (Zeiss EVO MA10, Thornwood, NY, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme öncesi kalıplar kaplama makinesi (Emitech SC7620 Sputter Coater, Quorum Technologies, UK) ile 60 saniye süresince altın partikülleri ile kaplanmıştır. %25'lik PKL kalıpların fizikokimyasal analizini yapmak için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, JASCO-4000) kullanılmıştır. Cihaz $4000-400\text{ cm}^{-1}$ tarama

aralığına ve absorbans modunda 4 cm^{-1} çözünürlüğe sahiptir. Üretilen kalıbın mekanik özelliklerini test etmek amacıyla elektronik gerim cihazı (AGS-X, Shimadzu, Japan) kullanılarak çekme testi yapılmıştır. Testin hızı 5 mm/dk olarak belirlenmiş ve ortalama değer elde etmek için üç numune test edilmiştir.

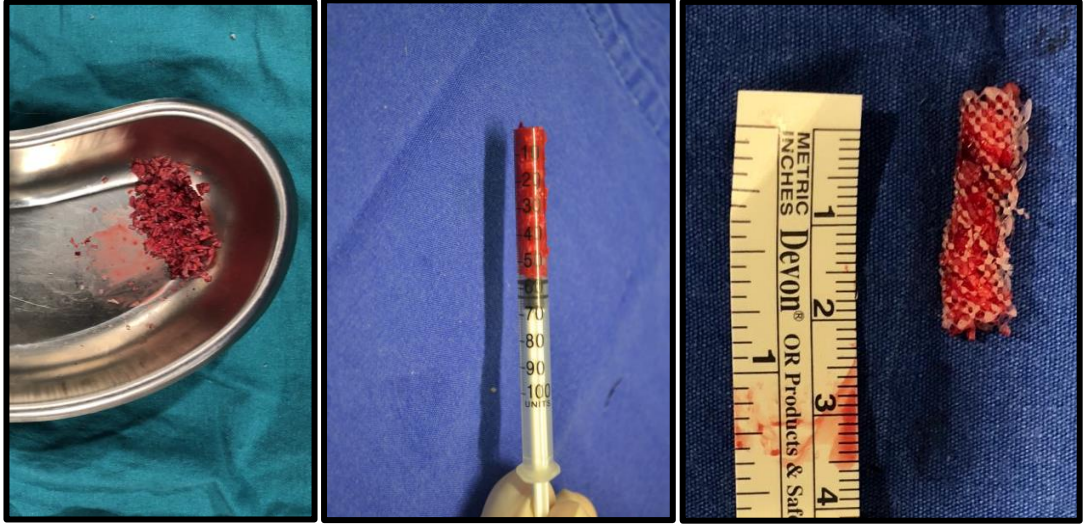
3.3 CERRAHİ GİRİŞİM

Cerrahi girişim öncesi tüm deneklere preanestezik olarak $3\text{-}5 \text{ mg/kg}$ dozunda intramüsküler olarak xylazin ve anestezi olarak $30\text{-}40 \text{ mg/kg}$ dozunda ketamin intramüsküler olarak uygulandı. Anestezi derinliği parmak kısırtma, ekstremitte çekme yanıtı ve kornea refleksi yoluyla kontrol edildi. Uygun anestezi derinliği sağlanması ardından hayvanın her iki kulak ve frontal bölgesi traş edilerek yüzüstü pozisyonda operasyon masasına yatırıldı. Hayvanda ketamin ihtiyacını ve postoperatif ağrı duyusunu azaltmak amacıyla her iki kulak kökünde ciltaltına $5 \text{ ml } \%2$ prilokain sirküler olarak infiltre edildi. Cerrahi alan oktenidin hidroklorür solüsyonu ile silinerek antisepsi sağlanması ve uygun steril örtüm ardından operasyona başlandı. Deneklerin sağ kulak proksimal $1/3$ ile orta $1/3$ kısımları arasındaki sınıra 2 adet düz klemp karşılıklı olarak yerleştirilerek klempin distaline olan kan akışı kesildi ve 15 numara bistüri ile klemplerin distalindeki $2/3$ lük kulak kısmı ampute edildi. Kulak güdüğü 3/0 numara monofilaman polipropilen suture materyali ile tam kat devamlı suture yardımı ile iki kat onarılması ardından klemp açıldı ve bu sayede kanama minimum olacak şekilde kulak güdüğü onarıldı (Şekil 5).



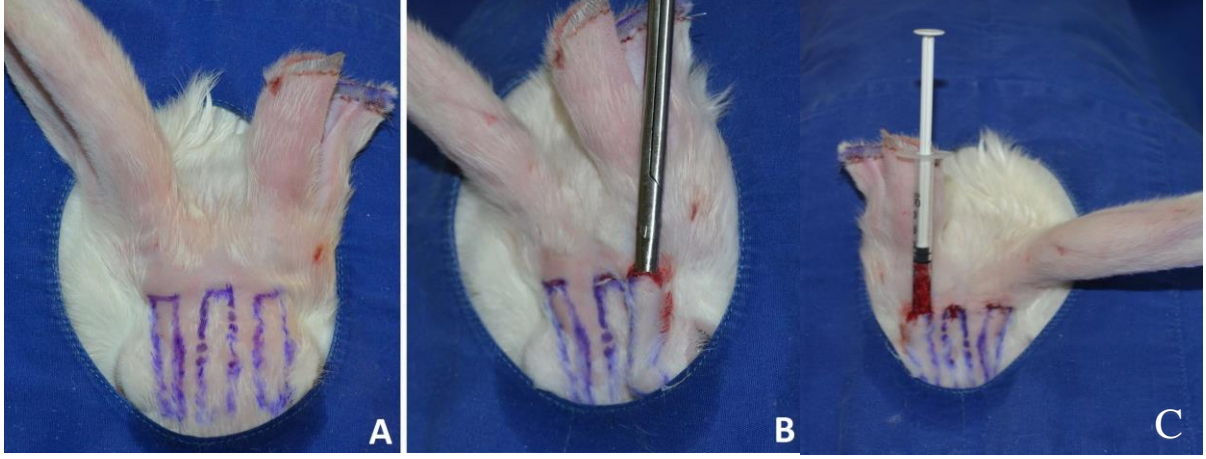
Şekil 5: Tavşan kulak donor alanından kıkırdak elde edilmesi A) Kulak kepçesinin proksimal 1/3 den işaretlenerek klemler yardımıyla dolaşımının durdurularak bistüri ile kesilmesi. B) Ampute edilen sağ kulak 2/3'lük kısmı. C) Subperikondreal diseksiyon ile elde edilen kıkırdak greftleri

Elde edilen kulak amputatı, diseksiyon makası ve periost elevatörü yardımı ile diseke edilerek çıplak kıkırdak dokusu elde edildi. Kıkırdak parçalara ayrılmadan önce kıkırdak kalınlığının en kalın olduğu noktada 1. kontrol grubunda kullanılacak blok 25*7 mm kalınlığında kıkırdak grefti alındı, ardından kalan kulak kıkırdağı 1*1*1 mm³ boyutlarında olacak şekilde kıyılarak eşit parçalara ayrıldı (Şekil 6-A). Elde edilen dilimlenmiş kıkırdak greftleri tamamen rastgele olmak üzere 2 adet 1ml'lik enjektörün içine her enjektörde 0.5 ml hacminde, içerisinde görünür hava boşluğu kalmayacak şekilde yerleştirildi ve ardından bir petri kabında her bir 0.5ml kıkırdak grefti tavşanın kulağından elde edilen yaklaşık 2 ml kan ile karıştırıldı ve kanın pıhtılaşması ile kıkırdak parçalarının birbirine yapışması sağlandı. Ardından bu fibrin-kıkırdak karışımı tekrar 1 ml'lik enjektöre alındı (Şekil 6-B). PKL kalıp ile şekillendirilen grupta, enjektör etrafına sarılarak silindir formu verilen kalıp 3/0 monokril sütür yardımı ile suture edilmesi ardından 0,5 ml kıyılmış kıkırdak bu kalıbın içerisine dolduruldu (Şekil 6-C).



Şekil 6: PKL kalıp ile kıyılmış kıkırdak greftlerinin şekillendirilmesi A) Yaklaşık olarak $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ boyutunda kıyılarak tavşandan elde edilen kan ile birleştirilen kıkırdak greftleri B) Kıyılmış kıkırdak greftlerinin 1 ml'lik enjektöre 0,5 ml olacak şekilde yerleştirilmesi C) Kıyılmış kıkırdak greftinin 25 mm uzunluğunda silindir şeklinde polikaprolakton kalıp ile şekillendirilmesi ile elde edilen greft

Her bir tavşanın kafasının frontal bölgesinde greftlerin yerleştirilmesi için bir adet orta hatta, 2 adet paramedian hatta suprasilyer alanı geçmeyecek şekilde toplamda üç adet cep oluşturuldu. İnsizyonlar planlanan ceplerin superior sınırına yapıldı ve diseksiyon makası yardımı ile ciltaltı planda her birinin eni 1 cm ve boyu 3 cm olan birbiriyle bağlantılı olmayan 3 adet cep oluşturuldu. Tüm deneklerde aynı şekilde olmak üzere sağdaki cebe dilimlenmiş kıkırdak greftleri, ortadaki cebe blok kıkırdak grefti ve soldaki cebe 3B yazıcıda üretilmiş silindir şeklinde PKL kalıp içerisine yerleştirilmiş dilimlenmiş kıkırdak grefti yerleştirildi (Şekil 7). Tüm insizyonlar 3/0 polipropilen suture yardımı ile kapatılması ardından yara pansumanı yapılarak operasyon sonlandırıldı. Tüm deneklere yapılan cerrahi işlem sonrası 50 mg/kg intramüsküler sefazolin enjeksiyonu, günde bir kez olmak üzere üç gün boyunca uygulandı.



Şekil 7: Deneklerin frontal bölgesi üzerinde greftlerin yerleştirileceği alanların planlanması A) Orta hat ile her iki yanında alıcı alanların planlanması B) Ciltaltı diseksiyon yapılarak ceplerin oluşturulması C) Greftlerin hazırlanan ceplere yerleştirilmesi

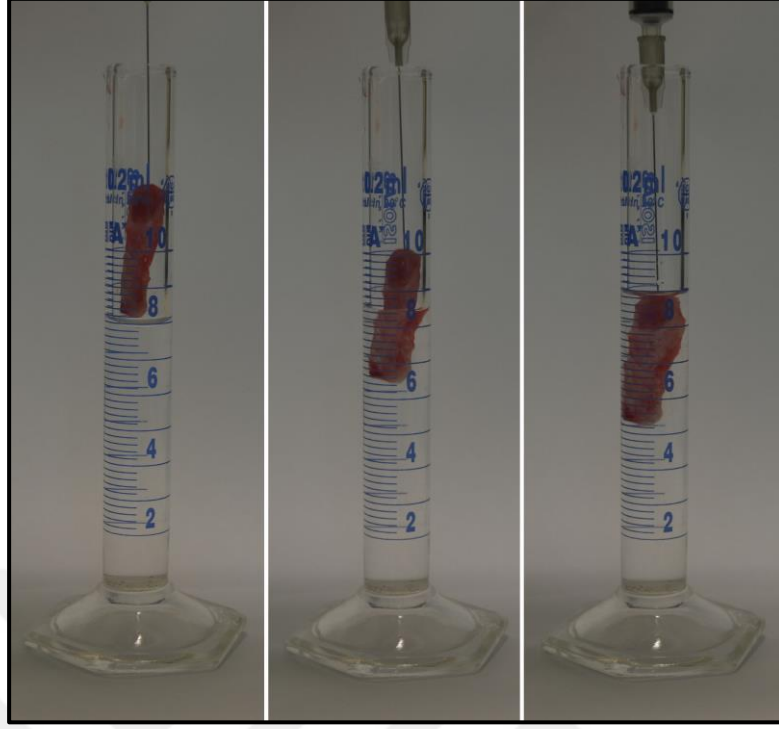
Çalışmanın ikinci aşamasında, ilk operasyon sonrası on iki haftanın sonunda tüm deneklere yüksek doz anestezi madde (ketamin 100 mg/kg i.m.) enjekte edilerek ötenazi uygulandı. Ötenazi işlemi sonrası greftlerin implante edildiği alan klinik olarak inspeksiyon ve palpasyonla değerlendirildi. Ardından greftlerin üzerindeki cilt insize edilerek greftlerin son hali, buldukları alandaki şekil ve yerleşimleri değerlendirildi (Şekil 8). Daha sonra her üç greft, etrafındaki yumuşak dokudan dikkatlice diseke edilerek izole edildi. Greftler makroskopik olarak incelenerek ilk yerleştirildikleri şekli koruyup koruyamadıkları, kıkırdak izlenebilirliği, rezorpsiyon miktarı, elastikiyet, sertlik, alıcı dokuya olan yapışıklık miktarı ve çevre dokulardaki damarlanma değerlendirildi (Şekil 9). İzole edilen kıkırdak greftlerinin, içi su dolu 10 ml'lik ölçülü cam mezür kullanılarak hacim ölçümleri tekrarlandı ve değerlendirildi (Şekil 10).



Şekil 8: 12 haftalık takip süresi sonunda, deneklerin sakrifiye edilmesi ardından frontal bölgeden greftlerin eksize edilmesi



Şekil 9: Hazırlanan greftlerin 12 haftalık takip sonrası makroskopik görünümleri A) Blok kıkırdak grefti B) Kıyılmış kıkırdak grefti C) PKL kalıp ile şekillendirilen kıyılmış kıkırdak grefti



Şekil 10: Cam mezür yardımı ile greftlerin hacminin ölçülmesi

3.4 DEĞERLENDİRME

3.4.1 Histopatolojik Değerlendirme

Ölçümlerin tamamlanması ardından tüm piyesler %10 luk nötral formalin çözeltisi (pH 7.0) içerisine konulup 24 saat süre ile fikse edildi. Fiksasyon tamamlanması ardından her piyes tek tek parafin bloğa gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımı ile beş mikron kalınlığında kesitler alındı. Her parafin bloktan üçer adet preparat hazırlandı. Alınan kesitler; hematoksilin-eozin(h&e), masson-trikrom, evans van gieson ve toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Hematoksilen-eozin boyalı kesitlerde kondrosit canlılığı ve kondroid doku özellikleri değerlendirildi. Kollajen lifler için masson trikrom boyası, elastik lifler için evans van-gieson boyası, kondroid matrikste mevcut metakromazinin değerlendirmesi için toluidin mavisi ile boyama yapılarak değerlendirildi.

Çalışmada; her üç grupta on farklı histopatolojik parametre değerlendirildi: kondrosit nükleus kaybı, periferal proliferasyon, kondrosit rejenerasyon potansiyeli, matriks kollajen içeriği, elastik lif içeriği, fibrozis, inflamasyon, vaskülarizasyon ve metaplastik kemik oluşumu.

Deney grupları arasında, tüm parametrelerin niceliksel analizi yapıldı. GFAP boyama dışında analiz edilen materyellerde parametreler yüzde cinsinden %0=0, %0-%25= 1+, %25-50= 2+, %50-%75= 3+, %75 ve üzeri= 4+ olarak değerlendirildi.

3.4.2 İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Kondrositlerin rejenerasyon potansiyelini görmek amacıyla, hazırlanan preparatlar glial fibriler asidik protein immünohistokimyasal boyası ile boyanması ardından ışık mikroskopu ile incelendi.

İmmünohistokimyasal boyama işlemi, üreticinin prosedürlerine uyularak otomatize immünohistokimyasal sistemi (Ventana Ultra, Ventana Medikal Sistemleri, ABD) kullanılarak yapıldı. Hazırlanan kesitler, glial hücre belirteci olarak anti-GFAP (tavşan monoklonal antikoru, EP672Y) kullanılara inkübe edildi. Ardından tüm kesitlere, hematoksilen boyası ile karşı-boyama uygulandı.

Deney grupları arasında, parametrelerin niceliksel analizi yapıldı. GFAP boyama için yüzde cinsinden %25 ve altı= 0, %25-%50= 1+, %50 ve üzeri= 2+ olarak değerlendirildi.

3.4.3 İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada verilerin karşılaştırılmasında istatistik programı olarak IBM SPSS versiyon 21 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Analytics, Armonk, New York, USA), çalışmanın gücünü belirlemede GPower (Version 3.1.9.4 for Windows, Heinrich Heine Universitat Dusseldorf, Germany) kullanılmıştır. Kategorik değişkenler sıklık ve yüzdeleri, sürekli değişkenler medyan, minimum ve maksimum değerleriyle tanımlanmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi, grupların ikili karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi, kategorik değişkenlerin

karşılaştırılmasında Ki-Kare, Ki-Kare testinin uygun olmadığı durumlarda Fisher's Exact testi uygulanmıştır. P değerinin 0,05 altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

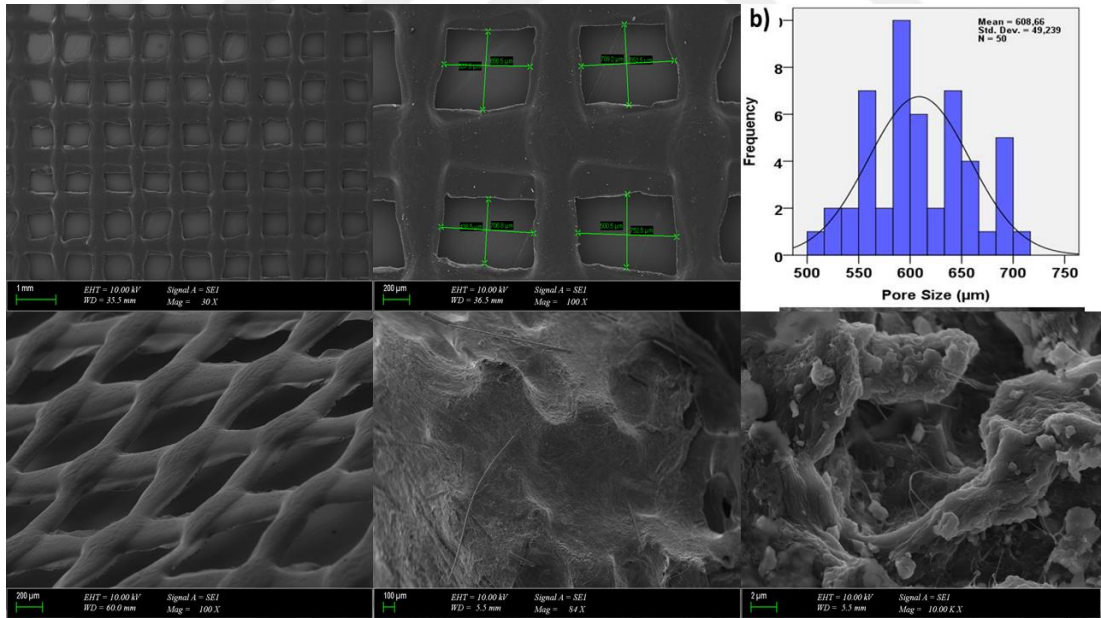
Yapılan literatür taramasında kıkırdak greftleri ile ilgili yapılan benzer çalışmalarda yer alan kıkırdak gruplarının ölçümlerinin ortalamalarından yola çıkılarak etki büyüklüğü ve örneklem hesabı yapılmıştır (13, 14, 108, 109). Yapılacak olan çalışmada istatistiksel değerlendirme yapabilmek ve literatürde yer alan benzer çalışmalarla sağlıklı karşılaştırmalar yapabilmek için yeterli sayıyı karşılamak, bunu yaparken de hayvan sayısını minimumda tutmak amaçlanmıştır.

Grupların ilk ve son ölçümlerinin karşılaştırılmasında kullanılacak olan wilcoxon signed rank testine göre; 1.195 etki büyüklüğünde 0.80 güç tahmini ve $p < 0,05$ düzeyinde gereken örneklem sayısı 8 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada da hayvan sayısını minimumda tutmak, istatistiksel değerlendirme için yeterli sayıyı karşılaştırmak ve literatürdeki benzer çalışmalarla sağlıklı karşılaştırmalar yapabilmek için yapılan power analiz sonrası denek sayısı 8 adet olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1 POLİKAPROLAKTON KALIBA YÖNELİK BULGULAR

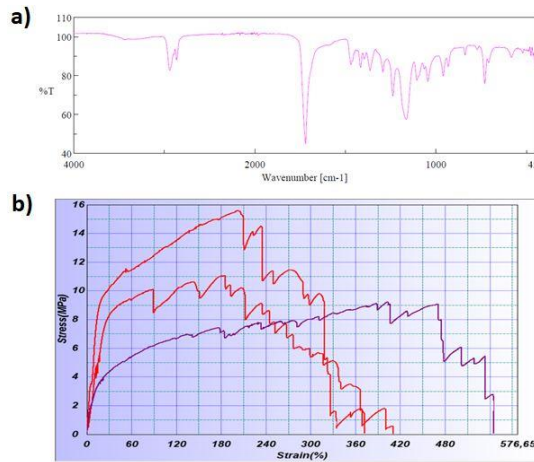
Üretilen PKL kalıbın SEM ile makroskopik inceleme sonrasında CAD ile yapılan tasarımla neredeyse aynı şekilde olduğu görülmüştür (Şekil 11:A). PKL kalıp, homojen ve neredeyse eşit gözenek dağılımı göstermiştir (Şekil 11:D). Daha önce PKL mesh ile yapılan hayvan deneylerinde sıklıkla kullanılan 500 mikrometre por boyutunun hücre büyümesi ve yeterli direnci sağlayacak mekanik özelliği göstermek için yeterli olduğu gösterilmiştir (19, 20). Oluşturulan PKL kalıbın gözenek boyutu SPSS programı hesaplanmış ve ortalama por boyutunun $608,66 \pm 49 \mu\text{m}$ olduğu bulunmuştur (Şekil 11:B,C). Üretilen PKL kalıp, tüm kesitlerden bakıldığında homojen morfoloji göstermiştir. On iki haftalık takip süresinin sonunda hayvanların sakrifiye edilmesi ile elde edilen hibrid kıkırdak grefti, tekrar SEM ile analiz edilmiş ve PKL kalıbın bir miktar eridiği, ancak kıkırdak greft ile tamamen bütünleştiği görülmüştür (Şekil 11:E,F).



Şekil 11: Polikaprolakton kalıbın SEM ile değerlendirilmesi A,D) Hazırlanan PKL kalıbın SEM ile 30x ve 100x büyütmede yapılan görüntülemeleri B) PKL kalıbın por boyutlarının belirlenmesi C) Yapılan istatistiksel analiz sonrası ortalama por boyutunun $608,66 \pm 49 \mu\text{m}$ olarak bulunması E) 12 haftalık takip sonucu, PKL kalıbın kıkırdak ile tamamen bütünleştiği görüldü (84X) F) Por yapısı etrafına tutunan kondrositlerin görüntülenmesi (10.00 KX)

PKL kalıbın kimyasal özellikleri FTIR spektroskopisi ile nitelendirilmiştir. Asimetrik CH₂ gerilmesi, simetrik CH₂ gerilmesi, karbonil gerilmesi, kristalin fazda C–O ve C – C gerilmesi ve simetrik COC gerilmesi için sırasıyla~ 2940 cm⁻¹, ~ 2865 cm⁻¹, 1720 cm⁻¹, ~ 1293 cm⁻¹ ve ~ 1164 cm⁻¹ olmak üzere beş ana absorpsiyon piki gözlenmiştir (110) (Şekil 12-A). Bu sonuçlar ile %25'lik PKL kalıbın saf PKL ile hemen hemen aynı spektruma sahip olduğu söylenebilir.

Yeterli mekanik özelliklere sahip olması, doğal dokuları etkin bir şekilde taklit etmeyi amaçlayan 3D baskılı tasarımlar için kritik parametredir (111). Çalışmada kullanılan PKL kalıpların mekanik özellikleri çekme testi ile değerlendirildi. Gerilme ve şekil değiştirme eğrisinde elastik bölge (doğrusal deformasyon), stabil evre (plato) ve son evre (kalıcı deformasyon) olmak üzere üç evre gözlenmiştir (112) (Şekil 12-). Kalıpların ortalama gerilme mukavemeti değeri ve kopma yüzdesi uzaması sırasıyla 11.95 ± 3.27 MPa ve %263.11 ± 121.21 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada gözlenen gerilme mukavemeti değeri (11.95 MPa), doğal eklem kırırdağı aralığı olan 1-20 MPa arasındadır (113-115). Saf PKL' nin normal gerilme mukavemeti değeri yaklaşık 10.5 ile 16.1 MPa arasındadır (116). Üretilen PKL kalıplar gözenekli bir yapıya sahip olmasına rağmen, gerilme mukavemeti saf PKL'nin mukavemet değerleri arasındadır. Yüksek gerilme değeri (%263) kalıpların yüksek tokluğunu göstermektedir. Kalıpların elastik modülü, elastik bölgenin eğiminden (% 1-5 uzama) belirlenmiş ve üç ölçümün ortalama elastik modülü kullanılarak yaklaşık 3.2 MPa olarak bulunmuştur.



Şekil 12: A) PKL kalıba ait FTIR spektrumu ve B) Dayanım-uzama grafiği

4.2 GREFTLERİN MAKROSKOPİK ANALİZ BULGULARI

Sekiz tavşanın tümü 12 haftalık deney süreci boyunca herhangi bir sorun izlenmeden hayatta kaldı. Hiçbir hayvanda komplikasyon izlenmedi. On iki haftalık süreç sonunda kulak amputatlarının sorunsuz iyileştiği, kıkırdak ekspozisyonu veya herhangi bir yara iyileşme problemi izlenmediği görüldü. Frontal bölge üzerine yerleştirilen greftlerin eksize edilmeden önce yapılan muayenesinde, tüm greftlerin yerleştirildikleri alanda palpe edilebilir oldukları, inspeksiyonla 2. ve 3. grup greftlerin yerleştirildikleri alanda ciltte dışarıdan görülebilecek belirgin kabarıklık oluşturduğu gözlemlendi.

Greftlerin üzerindeki cilt eksize edildiğinde, tüm greftlerin ilk yerleştirildikleri alanda bulunduğu, herhangi bir kıkırdak parçasının migrasyona uğramadığı görüldü. Greftler eksize edilerek izole edildiğinde, 1. grup greftin (blok kıkırdak) yapısını ve keskin hatlarını koruduğu, çevre dokulardan kolaylıkla ayrılabilirdiği, doğal kıkırdak elastikiyetinde olduğu görüldü. 2. grup greftlerin (kıyılmış kıkırdak), 3. gruba göre (PKL+kıyılmış kıkırdak) daha belirgin olmak üzere silindirik yapısının bir miktar deforme olarak köşeli hatlarının silindiği, hafif eliptik bir şekil aldığı ve bu deformasyonların 3. grupta çok daha az olduğu görüldü. Hem 2. hem de 3. grupta greftlerde bir miktar hipertrofi gözlemlendi. 2. ve 3. grupta kıyılmış kıkırdak greftlerinin tamamen kaynaşarak silindir şeklinde tek bir kıkırdak haline geldiği görüldü. 3. grubun yüzeyinin 2. gruba göre daha pürüzsüz olduğu, silindir formunu daha belirgin olarak koruduğu gözlemlendi. Her üç kıkırdak grefti de parlak beyaz renkte idi. 3. grupta kullanılan polikaprolakton kalıbın büyük oranda rezorbe olduğu ancak kıkırdaktan ayrıştırılamayacak kadar kıkırdakla kaynaştığı, poröz yapısının dikkatli inspeksiyonla göze çarptığı izlendi. 2. ve 3. grup greftlerin diseksiyonu, 1. gruba göre daha zor olmakla birlikte 3 grup için hazırlanan cepte de makroskopik olarak belirgin bir skar formasyonu mevcut değildi. Greftlerin yerleştirildiği ceplerde ve bu ceplerde kıkırdak greftlerinin etrafını sarmış olan yumuşak doku kalitesinde gözle görülür bir farklılık izlenmedi.

4.3 GREFTLERİN HACİM DEĞİŞİMLERİNE YÖNELİK BULGULAR

Gruplarda yer alan greftlerin ilk hacimleri ile 12 haftalık takip sonrası hacimleri, milimetrik mezür yardımı ile ölçülmüş ve hacim değişimleri kaydedilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Greftlerdeki hacim değişimleri

| | | Hacim Önce(ml) | Hacim Sonra(ml) | Fark(ml) |
|-------------------------------|-----|-------------------|--------------------|----------|
| Blok Kıkırdak Grefti | 1 | 0,2 | 0,3 | 0,1 |
| | 2 | 0,25 | 0,3 | 0,05 |
| | 3 | 0,2 | 0,4 | 0,2 |
| | 4 | 0,2 | 0,3 | 0,1 |
| | 5 | 0,2 | 0,3 | 0,1 |
| | 6 | 0,2 | 0,3 | 0,1 |
| | 7 | 0,25 | 0,35 | 0,1 |
| | 8 | 0,2 | 0,3 | 0,1 |
| | Ort | 0,2125 | 0,31875 | 0,1062 |
| Kıyılmış Kıkırdak Grefti | 1 | 0,5 | 0,7 | 0,2 |
| | 2 | 0,5 | 0,7 | 0,2 |
| | 3 | 0,5 | 0,75 | 0,25 |
| | 4 | 0,5 | 0,75 | 0,25 |
| | 5 | 0,5 | 0,8 | 0,3 |
| | 6 | 0,5 | 0,7 | 0,2 |
| | 7 | 0,5 | 0,75 | 0,25 |
| | 8 | 0,5 | 0,8 | 0,3 |
| | Ort | 0,5 | 0,74375 | 0,24375 |
| PKL+ Kıyılmış Kıkırdak Grefti | 1 | 0,6 | 0,9 | 0,3 |
| | 2 | 0,6 | 0,9 | 0,3 |
| | 3 | 0,6 | 0,85 | 0,25 |
| | 4 | 0,6 | 0,8 | 0,2 |
| | 5 | 0,6 | 0,85 | 0,25 |
| | 6 | 0,6 | 0,85 | 0,25 |
| | 7 | 0,6 | 0,9 | 0,3 |
| | 8 | 0,6 | 0,9 | 0,3 |
| | Ort | 0,6 | 0,86875 | 0,26875 |

Blok kıkırdak grubunda ortalama hacim değişimi $0,1063 \pm 0,04173$; kıyılmış kıkırdak grefti grubunda $0,2438 \pm 0,04173$, PKL+kıyılmış kıkırdak grefti grubunda ise

0,2688±0,03720 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında hacim değişimi karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür (p<0,001) (Tablo 2).

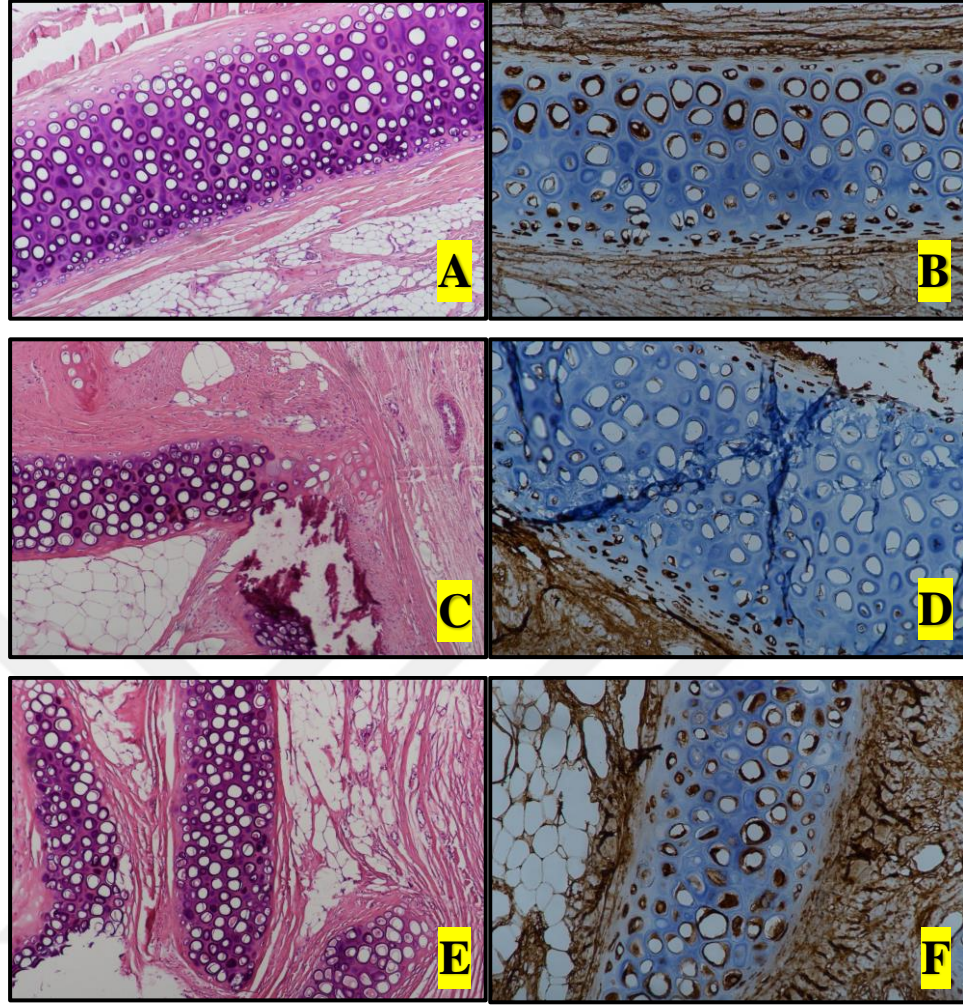
Tablo 2: Greftler arasındaki hacim değişim miktarlarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | Blok kıkırdak Ort±SD | Kıyılmış kıkırdak Ort±SD | PKL+ Kıyılmış kıkırdak Ort±SD | ^a p |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|----------------|
| Hacim değişimi | 0,1063±0,04173 | 0,2438±0,04173 | 0,2688±0,03720 | p=0,000 |
| ^a Kruskal-Wallis testi | | | | p<0,001 |

Gruplar arasındaki hacim değişimleri karşılaştırıldığında; kıyılmış kıkırdak grubunun değişim ortalamasının blok kıkırdak grefti grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (p=0,001). Benzer şekilde PKL+kıyılmış kıkırdak grubu hacim değişim ortalamasının, blok kıkırdak grubuna göre anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir (p=0,001). Kıyılmış kıkırdak grubu ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir hacim değişimi görülmemiştir (p=0,219).

4.4 HİSTOPATOLOJİK VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

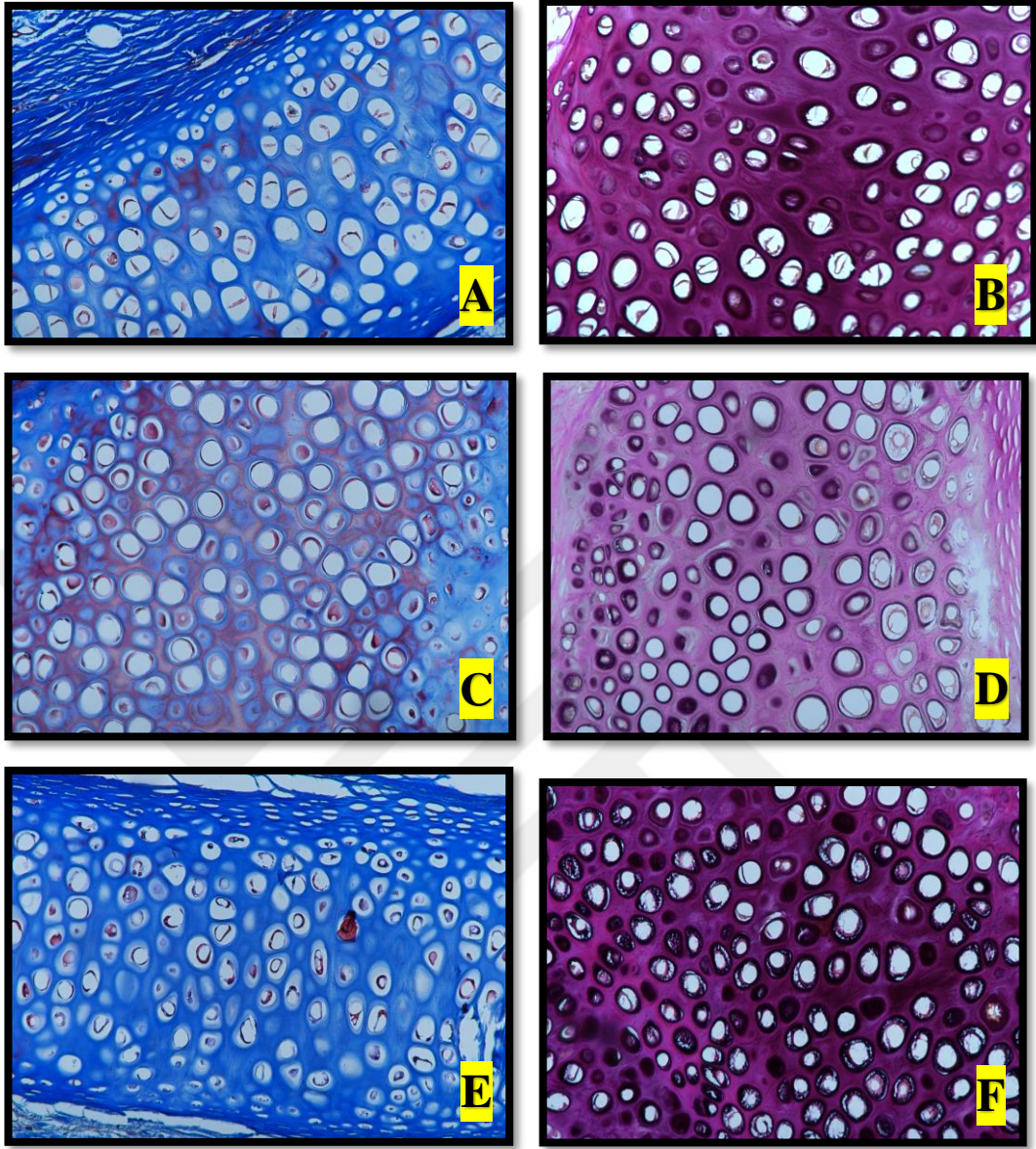
Greftlerdeki nükleus kaybı, periferik proliferasyon, inflamasyon, vaskülarizasyon, fibrosis ve metaplastic kemik oluşumu H&E boyama ile (Şekil 13:A-C-E), kollajen miktarı masson-trikrom boyama ile (Şekil 14: A-C-E), elastik lif dağılımı evans van gieson boyama ile (Şekil 14:B-D-F), metakromazi miktarı toluidin mavisi ile (Şekil 15: A-B-C) ve kondrosit rejenerasyon kapasitesi GFAP boyama ile (Şekil 13:B-D-F) değerlendirilmiş ve sonuçlar her 3 grup için karşılaştırılmıştır.



Şekil 13: Greftlerin H&E ve GFAP boyama ile incelenmesi. Yapılan H&E boyama ile kondrositlerde nükleus kaybı ve periferik proliferasyon, kırıkta greftlerinde ise vaskülarizasyon, fibrosis, inflamasyon ve metaplastik kemik oluşumu değerlendirilmiştir (A, C, E). Glial fibrillar asidik protein ile yapılan boyama ile, kondrositlerin rejenerasyon kapasitesi değerlendirilmiştir. GFAP, kondrositlerde yer alan intermediate filamentleri koyu kahverengiye boyamaktadır (B, D, F) (A-B: Blok kırıkta grefti, C-D: Kıyılmış kırıkta grefti, E-F: PKL ile şekillendirilen kıyılmış kırıkta grefti)

Kontrol ve deney grupları, kondrositlerdeki nükleus kaybı açısından karşılaştırıldığında, 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p= 0,238$) (Tablo 3).

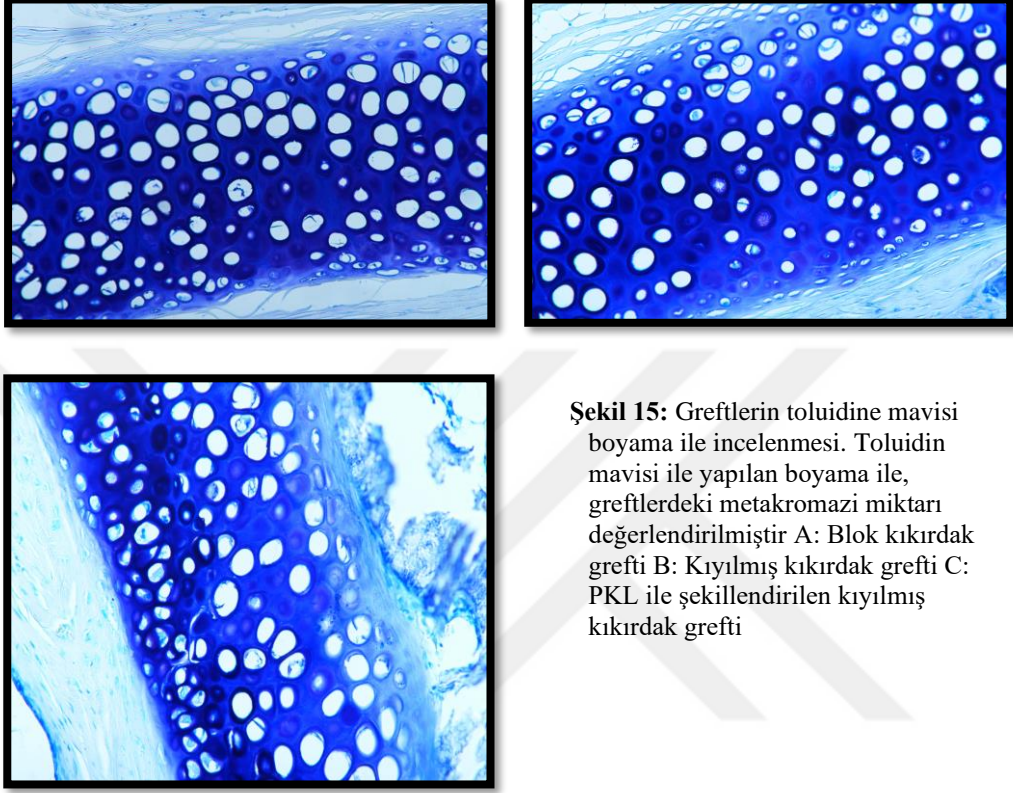
Kontrol ve deney grupları, greftlerdeki periferik proliferasyon açısından karşılaştırıldığında, 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p= 0,187$) (Tablo 4).



Şekil 14: Greftlerin masson-trikrom ve evans van gieson boyama ile incelenmesi. Masson-trikrom boyama ile, matrikste bulunan kollajen içeriği değerlendirilmiştir(sol). Evans van gieson boyası ile, matriks elastik lif içeriği değerlendirilmiştir(sağ). (A-B: Blok kıkırdak grefti, C-D: Kıyılmış kıkırdak grefti, E-F: PKL ile şekillendirilen kıyılmış kıkırdak grefti)

Kontrol ve deney grupları GFAP ile boyanma açısından incelendiğinde; kontrol grubu (median=2, minimum=2, maksimum=3) ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubunda (median=2, min=2, maks=3) GFAP ile boyanan kondrosit sayısının kıyılmış kıkırdak grubuna (median=1, min=1, maks=3) göre anlamlı olarak yüksek olduğu

görülmüştür ($p < 0,024$) (Tablo 5). Kontrol grubu ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubu arasında ise GFAP ile boyanma açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilememiştir ($p = 0,264$).



Şekil 15: Greftlerin toluidine mavisi boyama ile incelenmesi. Toluidin mavisi ile yapılan boyama ile, greftlerdeki metakromazi miktarı değerlendirilmiştir A: Blok kıkırdak grefti B: Kıyılmış kıkırdak grefti C: PKL ile şekillendirilen kıyılmış kıkırdak grefti

Tablo 3: Greftler arasında nükleus kaybı miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | Yok | Kontrol | Kıyılmış | PKL + | Toplam | ap |
|------------------------------|-----|----------|----------|-------------------------|-----------|----------|
| | | n (%) | n (%) | Kıyılmış Kıkırdak n (%) | | |
| Nükleus Kaybı | Yok | 1(12,5%) | 0(0,0%) | 0(0,0%) | 1(4,2%) | |
| | + | 7(87,5%) | 7(87,5%) | 8(100,0%) | 22(91,7%) | |
| | ++ | 0 (0,0%) | 1(12,5%) | 0(0,0%) | 1(4,2%) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24(%100) | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | P= 0,238 |

Tablo 4: Greftler arasında periferik proliferasyon miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol | Kıyılmış | PKL + | Toplam | |
|--------------------------------|-----|----------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------------|
| | | n(%) | Kıkırdak | Kıyılmış | n(%) | ^ap |
| | | | n(%) | Kıkırdak | | |
| | | | | n(%) | | |
| Periferik Proliferasyon | + | 0(%0) | 4(%50) | 2(%25) | 6(%25) | |
| | ++ | 6(%75) | 3(%37,5) | 3(%37,5) | 12(%50) | |
| | +++ | 2(%25) | 1(%12,5) | 3(%37,5) | 6(%25) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | P=0,187 |

Tablo 5: Greftler arasında GFAP ile boyanma miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol | Kıyılmış | PKL + | Toplam | |
|------------------------------|-----|----------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------------|
| | | n(%) | Kıkırdak | Kıyılmış | n(%) | ^ap |
| | | | n(%) | Kıkırdak | | |
| | | | | n(%) | | |
| GFAP | + | 0 (%0) | 5 (%62,5) | 0 (%0) | 5 (%20,8) | |
| | ++ | 5 (%62,5) | 2 (%25) | 7 (%87,5) | 14 (%58,3) | |
| | +++ | 3 (%37,5) | 1 (%12,5) | 1 (%12,5) | 5 (%20,8) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | p=0,024; p<0,05 |

Kontrol ve deney gruplarında greftlerdeki kollajen miktarı karşılaştırıldığında; kontrol (median=3, min=3, maks=4) ve PKL+ kıyılmış kıkırdak gruplarında (median=3, min=2,maks=3) kollajen miktarının kıyılmış kıkırdak grubuna(median=2, min=1, maks=2) göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (p<0,001) (Tablo 6). Kontrol grubu ve PKL+kıyılmış kıkırdak grubu kendi aralarında

karşılaştırıldığında ise, içerdikleri kollajen miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p=0,09$).

Tablo 6: Greftler arasında kollajen miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol n(%) | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | PKL + | Toplam n(%) | ^a p |
|------------------------------|------|-----------------|------------------------------|------------------------------|----------------|----------------|
| | | | | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | | |
| Kollajen | + | 0 (%0) | 2 (%25) | 0 (%0) | 2 (%25) | |
| | ++ | 0 (%0) | 6 (%75) | 2 (%25) | 8 (%33) | |
| | +++ | 7 (%87,5) | 0 (%0) | 6 (%75) | 13 (%54,2) | |
| | ++++ | 1 (%12,5) | 0 (%0) | 0 (%0) | 1 (%12,5) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | p=0,000 |

Kontrol ve deney gruplarındaki toplam 24 greftte, GFAP pozitifliği ile kollajen miktarında artma arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon izlenmiştir ($p=0,033$, $p<0,05$).

Kontrol ve deney grupları içerdikleri elastik lif miktarı açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p=0,066$) (Tablo 7).

Tablo 7: Greftler arasında elastik lif miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol n(%) | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | PKL + | Toplam n(%) | ^a p |
|------------------------------|-----|-----------------|------------------------------|------------------------------|----------------|-------------------|
| | | | | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | | |
| Elastik Lifler | + | 1 (%12,5) | 4 (%50) | 1 (%12,5)) | 6 (%25) | |
| | ++ | 4 (%50) | 4 (%50) | 5 (%62,5) | 13 (%54,2) | |
| | +++ | 3 (%37,5) | 0 (%0) | 2 (%25) | 5 (%20,8) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | p=0,066 p>0,05 |

Kontrol ve deney grupları greftlerde görülen metakromazi açısından karşılaştırıldığında, kıyılmış kıkırdak grubu (median=2, min=2, maks=3) ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubunda (median=2,5 min=2 maks=3) metakromazi miktarının kontrol grubuna (median=1, min=1, maks=2) göre istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı olduğu bulunmuştur($p<0,001$) (Tablo 8). Kıyılmış kıkırdak grubu ile PKL+ kıyılmış kıkırdak grubu arasında ise metakromazi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilememiştir ($p=0,117$).

Tablo 8: Greftler arasında metakromazi miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol | Kıyılmış | PKL + Kıyılmış | Toplam | ^a p |
|------------------------------|-----|-----------|------------------|-------------------|-----------|-------------------|
| | | n(%) | Kıkırdak n(%) | Kıkırdak n(%) | n(%) | |
| Metakromazi | + | 7 (%87,5) | 0 (%0,0) | 0 (%0,0) | 7 (%29,2) | |
| | ++ | 1 (%12,5) | 7 (%87,5) | 4 (%50,0) | 12 (%50) | |
| | +++ | 0 (%0,0) | 1 (%12,5) | 4 (%50,0) | 1(%4,2) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | p=0,00 p<0,001 |

Kontrol ve deney gruplarındaki toplam 24 greftte, metakromazi ile fibrozis ($p<0,001$), inflamasyon ($p<0,001$), metaplastik kemik oluşumu ($p<0,001$) ve vaskülarizasyon artışı arasında ($p=0,025$ $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon artışı izlenmiştir.

Kontrol ve deney grupları fibrozis açısından karşılaştırıldığında, kıyılmış kıkırdak grubu (median=2, min=1, maks=3) ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubunda (median=2, min=1, maks=2) fibrozis miktarı, kontrol grubuna (median=1, min=0, maks=1) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$) (Tablo 9). Kıyılmış kıkırdak grubu ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p=0,175$).

Tablo 9: Greftler arasında fibrozis miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol | Kıyılmış | PKL + | Toplam | ^b p |
|-----------------|------------|----------|------------------|------------------------------|------------|--------------------|
| | | n(%) | Kıkırdak n(%) | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | | |
| Fibrozis | Yok | 2 (%25) | 0 (%0) | 0 (%0) | 2 (%8,3) | |
| | + | 6 (%75) | 1 (%12,5) | 3 (%37,5) | 10 (%41,7) | |
| | ++ | 0 (%0) | 6 (%75) | 5 (%62,5) | 11 (%45,8) | |
| | +++ | 0 (%0) | 1 (%12,5) | 0 (%0) | 1 (%4,2) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | p=0,004, p<0,05 |

Kontrol ve deney gruplarındaki toplam 24 greftte, fibrozis miktarı ile kollajen miktarı ($p=0,016$ $p<0,05$) ve elastik lif miktarı arasında ($p=0,023$ $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon izlenmiştir.

Kontrol ve deney grupları içerdikleri inflamatuvar hücre miktarları açısından karşılaştırıldıklarında, kıyılmış kıkırdak (median=1, min=1, maks=1) ile PKL+kıyılmış kıkırdak gruplarında (median=1, min=1, maks=2) inflamatuvar hücre miktarı, kontrol grubuna (median=0, min=0, maks=1) göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,003$ $p<0,05$) (Tablo 10). Kıyılmış kıkırdak grubu ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,317$).

Kontrol ile deney grupları vaskülarizasyon açısından karşılaştırıldıklarında, PKL+kıyılmış kıkırdak grubunda (median=3, min=2, maks=3) vaskülarizasyon miktarının kontrol (median=1, min=1, maks=2) ve kıyılmış kıkırdak grubuna (median=1,5 min=1, maks=2) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür ($p=0,002$ $p<0,05$) (Tablo 11). PKL+kıyılmış kıkırdak grubunda vaskülarizasyon miktarı, hem kontrol grubuna göre ($p=0,002$; $p<0,05$) hem de kıyılmış kıkırdak grubuna göre ($p=0,003$; $p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmış izlenmiştir.

Tablo 10: Greftler arasında inflamasyon miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol n(%) | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | PKL + | Toplam n(%) | ^a p |
|------------------------------|-----|-----------------|------------------------------|------------------------------|----------------|--------------------|
| | | | | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | | |
| İnflamasyon | Yok | 5 (%62,5) | 0 (%0,0) | 0 (%0,0) | 5 (%20,8) | |
| | + | 3 (%37,5) | 8 (%100) | 7 (%87,5) | 18 (%75) | |
| | ++ | 0 (%0,0) | 0 (%0) | 1 (%12,5) | 1 (%4,2) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | p= 0,003 p<0,05 |

Tablo 11: Greftler arasında vaskülarizasyon artış miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol n(%) | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | PKL + | Toplam n(%) | ^a p |
|------------------------------|-----|-----------------|------------------------------|------------------------------|----------------|-------------------|
| | | | | Kıyılmış Kıkırdak n(%) | | |
| Vaskülarizasyon | + | 5 (%62,5) | 4 (%50,0) | 0 (%0,0) | 9 (%37,5) | |
| | ++ | 3 (%37,5) | 4 (%50) | 3 (%37,5) | 10 (%41,7) | |
| | +++ | 0 (%0,0) | 0 (%0) | 5 (%62,5) | 5(%20,8) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | P=0,002 P<0,05 |

Kontrol ve deney grupları metaplastik kemik oluşumu açısından karşılaştırıldığında, kıyılmış kıkırdak grubu (median=2, min= 1, maks=3) ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubunda (median=2, min=1, maks=3) metaplastik kemik oluşum miktarı, kontrol grubuna (median=1, min=0, maks=1) göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0,001; p<0,05) (Tablo 12). Kıyılmış kıkırdak grubu ile PKL+kıyılmış kıkırdak grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir (p=0,954).

Tablo 12: Greftler arasında metaplastik kemik oluşum miktarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

| | | Kontrol | Kıyılmış | PKL + Kıyılmış | Toplam | ^ap |
|-------------------------------------|------------|----------------|--------------------------|---------------------------|---------------|----------------------|
| | | n(%) | Kıkırdak n(%) | Kıkırdak n(%) | n(%) | |
| Metaplastik Kemik Oluşumu | Yok | 3 (%37,5) | 0 (%0) | 0 (%0) | 3 (%12,5) | |
| | + | 5 (%62,5) | 2 (%25) | 1 (%12,5) | 8 (%33,3) | |
| | ++ | 0 (%0) | 3 (%37,5) | 5 (%62,5) | 8 (%33,3) | |
| | +++ | 0 (%0) | 3 (%37,5) | 2 (%25) | 5 (%20,8) | |
| Toplam | | 8 (%100) | 8 (%100) | 8 (%100) | 24 (%100) | |
| | | 100,0% | 100,0% | 100,0% | 100,0% | |
| ^a Kruskal- Wallis | | | | | | p=0,001; p<0,05 |

Kontrol ve deney gruplarındaki toplam 24 greftte, metaplastik kemik oluşumu ile vaskülarizasyon miktarı (p=0,031 p<0,05), fibrozis (p=0,006 p<0,05) ve inflamasyon (p<0,001) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon izlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Kıkırdak greftleri ile ilgili literatürde yer alan deneysel çalışmalara bakıldığında, farklı deney gruplarının aynı hayvanda çalışılabilecek miktarda donör alan içermesi nedeniyle sıklıkla tavşanların tercih edildiği görülmüştür (28, 117.) Tavşan kulağı, birden fazla deney grubunun çalışılabilmesine yetecek boyutta kıkırdak donör alanı içermekte olup elde edilmesi oldukça kolay, komplikasyon oranı ise düşüktür. Bu nedenle literatürde de benzer çalışmalarda sıklıkla tercih edilen tavşan modelinde cerrahi planlanmıştır. Tavşanlarla yapılan çalışmalarda kıkırdak kaynağı olarak auriküler, nazal septum ve kosta gibi çeşitli donör alanlar kullanılmış olup, eşit koşullarda farklı donör alanlardan elde edilen kıkırdak greftlerinin yaşayabilirliği arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir (118, 119). Çalışma gruplarının az sayıda olması, tüm grupları yerleştirebilecek yeterli boyutta bir alan içermesi ve donör alan ile cerrahi işlemin uygulanacağı alanın yakın olması gibi nedenlerle, greftler için alıcı alan olarak hareketsiz bir bölge olan tavşan kafasında frontal bölge tercih edilmiştir.

Kıkırdak greftlerine yönelik olarak hazırlanan deney modellerinde takip süresinin uzunluğu ile ilgili çeşitli yayınlar literatürde yer almaktadır. Zalzal ve arkadaşları, tavşanlarda yapılan kıkırdak grefti ile ilgili çalışmalarda takip süresi olarak 2 ay ile 4 ay arasında fark olmadığını ve tavşan ömrü dikkate alınır 2 aylık izlem süresinin yeterli olduğunu savunmuştur (120). Özdemir, tavşan modelinde kıkırdak viabilitesi üzerine yapılan çalışmalarda elli altıncı gün ile doksanıncı gün arasında anlamlı değişiklikler saptanması nedeniyle 90 günlük takip süresinin daha uygun olacağını belirtmiştir (121). Rudderman ise tavşanlarda kıkırdak çalışması için insan ömründe 1 yıla eşdeğer olduğunu belirttiği 90 günlük izlem süresini kullanmıştır (122). Pomahac, PLA-PLGA kopolimerinden üretilen kalıp yardımı ile şekillendirilen kıkırdak greftlerini 60 gün sonunda değerlendirmiştir (123). Liao ise üç boyutlu yazıcıda üretilen polyamid kalıp ile şekillendirdiği kıyılmış kıkırdak greftlerini 120 gün sonunda değerlendirmiş ve kıkırdak dokularının tamamen iyileştiğini gözlemiştir (96). Brenner'in 2006 yılında atimik fareler ile yaptığı ve çeşitli kıyılmış kıkırdak

greftlerinin histolojik sonuçlarını incelediği çalışmada, fasya ile sarılı olan grubun diğer kıyılmış kıkırdak greftlerine göre daha yüksek kondrosit viabilitesi göstermesine rağmen 8 haftalık takip süresi sonunda GFAP boyamasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (28). Çalışmamızda, greftler 12 hafta sonunda değerlendirilmiş olup PKL ile şekillendirilen kıyılmış kıkırdak greftleri ile kontrol grubu arasında GFAP ile boyanma miktarı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum, 12 haftalık takip süresinin kıyılmış kıkırdakları incelemek için yeterli bir süre olduğunu göstermektedir.

Kıyılmış kıkırdak greftleri ilk kez deneysel olarak Young tarafından 1941 yılında (21), klinik olarak ise Peer tarafından 1943 yılında kullanılmıştır (22). Peer 1948' de yaptığı çalışmasında, total kulak rekonstrüksiyonu ve kafatasındaki deprese alanların onarımında kıyılmış kıkırdak greftlerini tercih etmiş olup kıyılmış kıkırdakların çok daha kolay şekillendirilebildiğinden bahsetmiştir. Peer'e göre kıkırdaklar kıyılarak kullanıldığında emilmiyor ancak kıkırdakların arasında gelişen bağ doku ile bir araya gelerek bir bütün oluşturuyordu (23). Kıyılmış kıkırdaklar ile yapılan benzer çalışmalar da Peer'in sonuçlarını doğrulamakta idi (124). Kıkırdak greftlerinin kıyılarak kullanılması, blok kıkırdak kullanımına göre çok daha düşük oranlarda rezorbsiyonla sonuçlanıyordu (22, 49, 125, 126). Bu durum, kıyılarak kullanılan kıkırdak greftlerinde blok kıkırdağa göre çok daha geniş bir yüzey alanı oluşması ve bunun sonucunda grefte oksijen ve besin difüzyonunun artması ile açıklanmıştır (49, 125).

Kıkırdak greftlerini kıyarak kullanmanın bir diğer avantajı da, kıyılma işlemi ile parçalanmış kıkırdaklar arasında oluşan boşluklara göç eden fibroblastların greft içerisindeki kollajen ve elastik lif miktarını artırmasıdır. Bu durum greftin blok kıkırdağa göre alıcı alana çok daha güçlü bir şekilde tutunmasını sağlamaktadır (31). Yaptığımız çalışmada, literatür ile uyumlu olarak PKL ile şekillendirilen kıyılmış kıkırdak grubunda fibrozis ve vaskülarizasyon değerleri kontrol grubu olan blok kıkırdak grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Blok kıkırdak greftlerine göre çok daha yüksek sağkalım oranlarına sahip olan kıyılmış kıkırdakların şekillendirilmesi ile ilgili sorunlar ise, bu greftlerin kullanımını 21. yüzyıla kadar kısıtlamış görünmektedir. Erol'un 2000 yılında yayınladığı, 10 yıllık bir sürede 2365 hastada kullanılmış, kıyılmış kıkırdakların Surgicel ile şekillendirilmesi olarak özetlenebilecek "Türk lokumu" yöntemi ile, kıyılmış kıkırdak greftlerinin kullanımını yeniden gündeme gelmiştir (24). Daniel ve Calvert ise, Surgicel ile şekillendirilen kıyılmış kıkırdak greftlerinin şeklini uzun süre koruyamadığını ve kısa dönemde miktarı öngörülemeyen kıkırdak rezorbsiyonlarının görüldüğünden bahsetmişlerdir (27,127). Bu durum, oksidize rejenere selülozdan oluşan Surgicel'e bağlı olarak gelişen yabancı cisim reaksiyonunun bir sonucudur (14,25,28,118). Yabancı cisim reaksiyonu; başlangıçta görülen lenfosit infiltrasyonu, dev hücre oluşumu ve geç dönemde gelişen fibrozis ile karakterizedir (128). İnsanlarda selülozu metabolize edecek hidrolitik bir enzim bulunmaması nedeniyle Surgicel, 4-8 haftalık bir süreç sonunda yabancı cisim reaksiyonu ile parçalanmaktadır (128,129). Yılmaz ve arkadaşları ise, Surgicel'in en az 48 saat boyunca kıkırdak doku oksijenlenmesini engellediğini ve bu rölatif hipoksinin canlı kalan kondrositlerde rejenerasyon potansiyelinin kaybına yol açtığını belirtmişlerdir (25). Surgicel kullanımının bir diğer dezavantajı ise, Surgicel'in 24-72 saat arasında absorbe olması ve bu sebeple kıkırdak greftlerinin şeklinin korunmasında ve saçılmasının önlenmesinde bir bariyer görevi görmemesidir (28, 25, 127, 130).

Daniel tarafından 2004 yılında yayınlanan vaka serisinde, Türk lokumu yönteminin kabul edilemez kıkırdak absorpsiyonuna sebep olduğundan bahsedilerek Ssurgicel yerine otolog bir doku olan temporal fasya greftinin kullanımı önerilmiştir. Yapılan histolojik analizlerde, Surgicel'e sarılan kıkırdak greftlerinde kıkırdakların biyolojik olarak inaktif olduğu ve GFAP ile boyanmadığı görülürken, fasya grefti ile şekillendirilen kıkırdakların GFAP ile boyandığı gösterilmiştir (27, 28, 127, 131, 132). Calvert ve arkadaşlarının kıyılmış kıkırdak greftlerini histolojik olarak analiz ettikleri bir çalışmada, derin temporal fasya kullanımının perikondriyumu taklit ettiği, bu sayede kondrosit viabilitesini ve yaşayabilirliğini arttırdığı tezi savunulmuştur (127). Kıyılmış kıkırdak greftleri ile yapılan birçok çalışma, benzer şekilde otolog bir fasya ile şekillendirilen kıkırdakların kontrol grubuna yakın sonuçlar verdiğini

göstermektedir (29, 30, 133, 134). Bu duruma, fasyanın lokal olarak fibroblast büyüme faktörü benzeri mitojenlerin miktarını artırmasının neden olduğu öne sürülmüştür (135).

Kıyılmış kıkırdak greftlerinin Alloderm ile şekillendirildiği bir başka çalışmada, Alloderm' in de otolog fasyaya benzer şekilde vaskülarizasyonu arttırdığı, inflamasyonu engellediği ve bu sayede greft yaşayabilirliğini arttırdığı ve yalnızca kıyılarak kullanılan gruba göre kondrosit viabilitesinin ve rejenerasyon potansiyelinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (31).

Çalışmamızda, otolog fasya yerine kullanılan PKL ile benzer sonuçlar elde edilmesi, bu polimerin de kıyılmış kıkırdak greftleri için bir perikondrium rolü üstlenmiş olabileceği sonucunu doğurmuştur. PKL ile şekillendirilen grubun, izole kıyılmış kıkırdak grefti grubuna göre anlamlı derecede yüksek kollajen miktarı ve vaskülarizasyon artışı, buna bağlı olarak da kondrositlerin rejenerasyon kabiliyetini gösteren GFAP ile anlamlı derecede yüksek boyanması bu durumu destekler niteliktedir.

Kıyılmış kıkırdakların blok kıkırdak greftleri ile karşılaştırıldığı çalışmalarda; kıyılmış greftlerin viabilitesinin daha yüksek olduğu, rezorpsiyonun ise daha az olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak blok kıkırdak greftlerinde öngörülemeyen bükülme, eğilme gibi sorunlar kıyılmış kıkırdak greftleri için söz konusu değildir. Ancak kıyılmış kıkırdak greftleri, daha çok burun operasyonlarında dorsumda görülen kontör düzensizliklerinin düzeltilmesi ve dorsumun augmentasyonu amacıyla kullanılmaktadır. Kıyılmış kıkırdak greftleri yapısal greftler olmayıp destek amacı ile kullanılamamaktadırlar (131, 136).

Literatürde, kıyılmış kıkırdak greftlerine kompleks üç boyutlu şekiller vermeyi amaçlayan yalnızca üç çalışma ile karşılaştık. Bunlardan ilki, Peer tarafından 1948 yılında yapılan ve kıyılmış kıkırdak greftlerinin kullanımı ile ilgili öncü bir çalışma olan “vitalyum kulak kalıbı yardımı ile şekillendirilen kıkırdak greftlerinin kulak rekonstrüksiyonunda kullanımı” ile ilişkilidir. Peer, bu çalışmasında başarılı sonuçlar elde ettiğini, kıyılmış kıkırdak greftlerinin bir süre sonra birleşerek şekillenmiş bir

blok greft halini aldığını söylemiştir (23). Ancak vityum, oldukça sert yapıda bir materyal olup greftin şekillendirilmesi ardından vücuttan çıkartılması gerekmekte, bu durum ise ikinci bir operasyonu mecbur kılmaktadır. Kıyılmış kıkırdak greftlerini şekillendirmek amacıyla kullanılacak materyalin biyouyumlu ve biyobozunur olması, kolay şekillendirilebilir olması ve verilen şekli kıyılmış kıkırdaklar iyileşene kadar muhafaza edebilmesi, tüm bu süreç boyunca kıkırdakların beslenmesini engellememesi gerekmektedir. Zopf ve arkadaşları; 3B yazıcı teknolojisi ile hastaya spesifik, kıkırdak rejenerasyonunu destekleyecek nazal ve auriküler kalıpların üretilebileceğinden bahsetmişlerdir (137). Greftleri şekillendirmek üzere kullanılacak olan materyalin karakteristik özelliği, yapısal tasarımı ve porozitesinin 3B tasarımı sırasında düzenlenebiliyor olması, 3B yazıcı teknolojisinin klinisyene sağladığı en büyük avantajlardandır (138).

Literatürde, 3B yazıcı teknolojisi ile kıkırdak greftlerinin kullanımını benzer cerrahi amaçlarla (rinoplasti, kulak rekonstrüksiyonu) bir araya getirmeyi amaçlayan çalışmalar son dönemde artış göstermekle birlikte, bu çalışmalar genel olarak yazıcılarda üretilen iskeleler ile *in vitro* ortamda elde edilen hücrelerin bir arada kullanıldığı doku mühendisliği çalışmalarıdır. Bu çalışmalar gelecekte donör alan morbiditesi yaratmadan istenilen şekil ve nitelikte greftler elde edilmesini şüphesiz ki mümkün kılacaktır. Ancak günümüz teknolojisi ve imkanları ile, bu çalışmalar daha çok deneysel alanda kalmakta ve klinik kullanımda rutin hale geçememektedir. Doku mühendisliği ile elde edilen kıkırdak greftlerinin en büyük problemleri, oldukça zaman harcayan bir üretim sürecinden geçmeleri, primer hücre izolasyonu için ayrı bir girişim gerektirmesi, hücre kültür süreçlerinin oldukça zor ve üst düzey teknik bilgi gerektirmesi yanında immün rejeksiyon, patojen geçişi ve olası mutajenez risklerinin bulunmasıdır (139). Kıkırdak üretmeye yönelik canlıda yapılan doku mühendislik çalışmalarının bir diğer sorunu da, üretilen kıkırdağın canlı ortamda ilk dönemdeki şekil ve boyutunu koruyamamasıdır (70, 140). Bu durumun sebeplerinin başında, kültüre edilerek çoğaltılan kondrositlerin miktarının doku iskelesi rezorbe olurken onun yerine geçecek rejenerasyonu sağlayamaması gelmektedir. Bu durum üretilen greftin cilt gerimi altında şeklini koruyamamasına neden olmaktadır (141). Teorik olarak bu doku mühendislik ürünlerinin kondrosit proliferasyonu ve

şekillendirilmesinde etkili olacağı öngörülse de, *in vitro* hücre kültürü aşamasında kullanılan bazı enzimlerin elde edilen *in vivo* sonuçları etkilediği görülmüştür (142).

Bizim çalışmamızda, kıyılmış kıkırdak greftleri kullanılmış olup bu greftlerin miktarı günümüz imkanları ile üretilen kondrositlerden çok daha yüksektir. Uygun mikrosistemi yaratacak kalıplar ile şekillendirilmeleri durumunda, yüksek viabiliteleri ve üç ay gibi kısa bir sürede şekillendirilmiş blok bir kıkırdak haline gelebilmeleri, klinik kullanıma doku mühendislik ürünlerinden çok daha kısa sürede girmelerini sağlayabilir. Yapılan çalışmada ise 3B yazıcıda üretilen kalıplar, otojen kıyılmış kıkırdak greftleri ile doldurulmuş ve bu sayede *in vitro* hücre kültürü aşamasına gerek duyulmamıştır.

Bu amaçla 3B yazıcıda üretilen materyal, kıkırdak greftinin tutunabilmesi için uygun bir yüzey sağlamalı, biyouyumlu olmalı, poröz yapısı ile serum imbibisyona olanak sağlarken vaskülarizasyonu ve yeni doku oluşumunu engellememeli, gereken süre boyunca formunu koruyarak kıkırdağın bütünlüğünün bozmadan yeterli desteği sağlamalı ve uzun dönemde görülebilecek komplikasyonların önüne geçmek amacıyla emilebilir olmalıdır. Günümüzde kıkırdak greft alternatifi olarak kullanılan birçok alloplastik materyal, aynı zamanda çalışmamızda kullanıldığı şekliyle kıkırdak greftlerini şekillendirmek amacıyla da denenebilir. PDO genellikle sütür materyali olarak rinoplasti operasyonlarında kullanılmakta olup yaklaşık 6 aylık süreçte vücutta rezorbe olmakta, bu sebeple destek özelliğini uzun süre devam ettirememektedir (39, 40). Kıkırdak üretmeye yönelik olarak yapılan doku mühendislik çalışmalarında, FDA onaylı olan PGA, PLLA ve PKL gibi biyobozunur sentetik polimerlerin doku iskelesi yapımında sıklıkla kullanıldıkları görülmektedir (143,144). Bu materyallerin proteoglikan ve tip 2 kollajen gibi belirli kıkırdak matriks ürünlerinin sentez ve sekresyonunda destekleyici nitelikte olduğu ve ekilen kondrositler için gerekli fiziksel ve mekanik desteği sağladığı gösterilmiştir. PLLA doku iskeleleri ile yapılan çalışmalarda, çözünme süresi 2 yılın üzerinde olan bu polimerin uzun dönemde üretilen dokuda büyük hacim kayıplarına, yıkım ürünlerinin ise inflamatuvar ve immün yanıtlara sebep olabileceği gösterilmiştir (145, 146). Hızla eriyerek gelişen doku için yeterli alan sağlaması

planlanan PGA kalıpların ise mekanik stresinin yaklaşık %50'sini 2 haftada kaybetmesi ve yaklaşık 4 haftada tamamen erimesi, tasarlanan 3B şeklin devamlılığına engel olmaktadır (147).

PKL, başta doku mühendisliği olmak üzere tıbbın birçok alanında sıklıkla kullanılan, uygun mekanik güç ve dayanıklılığa sahip biyoyumlu ve biyobozunur sentetik bir polimerdir (148, 149, 150). Güvenli yapısı, biyoyumlu olması ve uzun dönemde degrede olması sebebiyle uzun yıllardır ilaç dağıtım sistemlerinde ve emilebilir sütür materyali olarak kullanılmaktadır (35, 103). Üstün reolojik ve viskoelastik yapısı sayesinde kolayca işlenerek birçok farklı implant yapımında kullanılabilir. Bu implantların fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak kolaylıkla manipüle edilebilir olması, spesifik anatomik bölgelerin onarımında kullanılmalarında kolaylık sağlamaktadır. PKL güvenli bir şekilde karbondioksit ve suya yıkılmakta olup toksik metabolit üretmemektedir. PKL'nin hidrofobik yapısı ve 60 derece üzeri sıcaklıklarda kolaylıkla eriyebilir olması, 3B yazıcı teknolojisi kullanılarak bilgisayar ortamında hastaya özgü olarak tasarlanan, canlıda kullanımı FDA tarafından onaylanmış bir implant üretimini mümkün kılmaktadır (151, 152). Yıkım süresi ortalama 2 yıl olsa da, E-kaprolakton ve L-laktik asitten sentezlenen kopolimerlerin yan ürünlerinin yıkımı 4-6 ayda başlamaktadır (147). Bu süreç, kıkırdak dokusunun rejenerasyonu için PGA ve PLLA'ya göre çok daha uygundur. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak manipüle edilebilir olması sayesinde emilebilirliğinin kontrol edilebilir olması, uygun anatomik bölge için istenilen özelliklerde implantlar üretimine de olanak sağlamaktadır (153).

Çalışmamızda kullanılan PKL kalıplar, 3B yazıcı kullanılarak tasarlanmış olup mikropor yapısına sahiptir. Bu yapı, kıyılmış kıkırdak greftlerinin iyileşme sürecinde gerekli maddelerin greftlere ulaşmasını engellemezken oluşan asidik metabolik atıkların da uzaklaşmasına, böylece hücrel infiltrasyon ve doku rejenerasyonuna izin vermektedir (35). PKL'nin poröz bir yapıda tasarlanması sayesinde, histolojik incelemede bu poröz yapılardan fibrovasküler doku iyileşmesi gerçekleşerek materyalin kullanıldığı alana entegre olarak uzun dönemde istenilen projeksiyonu sağladığı gösterilen hayvan rinoplasti modelleri içeren çalışmalar mevcuttur (154).

Çalışmamızda, %50 porozite ile ortalama $608,66 \pm 49 \mu\text{m}$ por büyüklüğünde porlar içeren kalıplar üretilmiş olup, yapılan biyomekanik testler ile bu değerlerin kıkırdak dokusuna uygun aralıkta direnç sağlayabileceği gösterilmiştir. PKL kalıplar, yüksek elastikiyete sahip olup kıkırdak greftleri ile benzer mekanik özellikler göstermektedir, bu da otolog kıkırdak greftlerinin kullanıldığı operasyonlarla benzer sonuçlar elde edilmesinin mümkün olacağı anlamına gelmektedir.

Literatürde PKL bazlı hazırlanan implantların uzun dönemde çeşitli biyomekanik yükler altında yapısal bütünlüğünü koruyabildiğini gösteren birçok çalışma mevcuttur (155, 156). Rai ve arkadaşları ratlarda segmental femur defektlerinde PKL/ TCP implantların 12 haftalık süreçte yüksek başarı yüzdesi ile kemikte iyileşme sağladığını göstermiştir (157). Geniş orbita taban defektlerinin onarımında PKL implantların kullanıldığı 20 hastalık bir çalışmada iyi fonksiyonel ve estetik sonuçlar elde edilmiştir (158). PKL'nın güçlü mekanik yapısı ve yavaş biyobozunur özellik göstermesi, istenilen burun şeklini uzun süre bozulmadan koruyacak olması nedeniyle hayvan burun augmentasyon modellerinde de denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır (37, 159). Park ve arkadaşlarının, tavşan modelinde PKL kalıbı septal ekstansiyon grefti olarak kullandıkları çalışmada 3 ayın sonunda porlardan yoğun fibrovasküler büyüme izlenmiş minimal inflamatuvar yanıt rastlanmıştır. Bu çalışma ile, tavşanda PKL'nin materyale bağlı inflamatuvar yanıt oluşturmadığı gösterilmiştir (159). Wiggenhauser ve arkadaşlarının gine domuzları ile yaptığı bir çalışmada, 3B yazıcıda tasarlanarak üretilen PKL implantlar nasal dorsum augmentasyonu amacıyla kullanılmış ve hiçbir hayvanda yabancı cisim reaksiyonu veya enfeksiyon gözlenmemiş olup tüm implantlar etraf yumuşak dokuya kapsül kontraksiyonu göstermeden entegre olmuştur. Histolojik değerlendirmede porların etrafında vasküler yapılar bol miktarda gözlenmiş ve implantın vaskülarizasyonunun arttığı gözlenmiştir. 6 ay süre ile takip edilen implantlarda ise kıkırdak dokudakine benzer özellikte doku matriksi gözlenmiştir. 3 aylık takipte incelenen implantlara göre bağ dokunun zamanla kıkırdak doku benzeri matriks ile yer değiştiği görülmüştür (160). PKL' nin alloplastik bir materyal olarak kullanıldığı rinoplasti modellerinde, uzun dönemde materyalin degrade olması sonrası gelişebilecek komplikasyonların, 24 aylık süreçte gelişecek fibrozis ve yeni doku

iyileşmesi sayesinde minimum olacağı öngörülmüş ancak bu kadar uzun takip süresi olan bir çalışma yapılmamıştır (161). Park ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada kıkırdak grefti kullanımı gereken 101 rinoplasti vakasında polikaprolakton kullanarak elde ettikleri alloplastik materyalleri kullanmış ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu hastaların uzun dönem takiplerinde greftlerinde bükülme, kontraktür veya absorpsiyon izlenmemiş; yalnızca 2 vakada enfeksiyon gelişmiştir. Projeksiyonunun azaltılmasını talep eden bir hastada PKL greft 20 haftanın sonunda çıkartılarak histopatolojik olarak incelenmiştir. Bu hastada greftin alıcı alana oldukça iyi şekilde entegre olduğu, H&E boyamada herhangi bir inflamasyon bulgusu izlenmediği, greft porlarından belirgin fibrovasküler doku büyümesi izlendiği ve özellikle kıkırdak dokularında bulunan tip 2 kollajenin arttığı gösterilmiştir (154). PKL'nin doku iskelesi olarak kullanıldığı birçok kıkırdak mühendisliği çalışmasında, PKL'nin hücre tutunması ve çoğalmasını, aynı zamanda kondrositler için ekstraselüler matriks oluşumunu desteklediği gösterilmiştir (36, 103, 153). Bu bulgu, PKL'nin yalnızca bir destek materyali olmanın ötesinde kıkırdak rejenerasyonu için uygun mikrosistemi oluşturduğunun da bir kanıtıdır (154).

Literatürde kıyılmış kıkırdak greftlerine bir kalıp yardımı ile kompleks 3B şekiller vermeyi amaçlayan yalnızca üç çalışma ile karşılaşmıştır. Bu alandaki ilk çalışma, Peer'in vityum kulak kalıbı ile yaptığı çalışmadır. Pomahac ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada kostal kıkırdak greftlerini ezerek poli-L-laktik/poliglikolik asit (Laktasorb) meş ile S ve U şeklinde şekillendirmiş ve 8 haftanın sonunda istenilen şekilde bir kıkırdak dokusu elde etmişlerdir (123). Liao ise, üç boyutlu yazıcıda üretilen polyamid bir kulak kalıbı ile kıkırdak greftlerini şekillendirmeyi amaçlamıştır. Bu çalışmada üç boyutlu yazıcıda üretilen, üzerinde belirli aralıklarla tasarlanan porlar bulunan kulak şekli verilmiş bir kalıp kullanılarak 4 ay sonunda istenilen şekilde blok bir kıkırdak grefti elde edilmiş, histokimyasal çalışmalar ile şekillendirilen kıkırdakların viabilitesinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada, emilebilir olmayan bir sentetik polimer olan poliyamid kullanılmıştır. Dört ay sonunda greftler çıkartılırken, greftlerin etrafında fibrokistik bir kapsül olduğu ve eksuda içerdiği gözlenmiştir. Bu durum kondrosit viabilitesi için sorun yaratmamış olsa da,

yabancı cisim reaksiyonuna baęlı olarak geliřtięi dūřünölen bu durumun uzun dñnemde yaratacaęı komplikasyonlar öngörölemeyecektir (96).

Bizim çalışmamızda ise, biyouyumlu ve biyoçözünür özellikte olan PKL kullanılmıştır. Yapılan çalışma, kıyılmış kıkırdak greftlerinin PKL kalıplar ile şekillendirildiği literatürdeki ilk çalışma olup, fasya greftlerinin fonksiyonunu taklit edebilmesi amacıyla oldukça ince üretilmiş ve sütürler yardımı ile bir silindir haline getirilerek uygulanması oldukça basit bir şekilde çalışılmıştır. PKL ile şekillendirilen kıyılmış kıkırdak greftleri ile izole kıkırdak greftleri arasında metakromazi, fibrosis, inflamasyon ve metaplastik kemik oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. Buna ek olarak PKL ile şekillendirilen kıkırdak greftlerinde, kıyılmış kıkırdak greftlerine göre vaskölarizasyon, kollajen miktarı ve kondrositlerin rejenerasyon potansiyeli istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulunmuştur.

6. SONUÇ

Yapılan çalışma ile, bilgisayar ortamında istenilen şekilde tasarlanarak 3B yazıcılarda ofis ortamında üretilebilecek PKL kalıplar yardımı ile kıyılmış kıkırdak greftlerinin şekillendirilebileceği gösterilmiştir.

On iki haftalık takip süresi sonunda PKL kalıbın kıkırdaklar ile tamamen kaynaştığı, bir miktar rezorbe olduğu ancak bu sürenin kıyılmış kıkırdakların istenilen şekilde iyileşmesi için yeterli olduğu görülmüştür.

PKL kalıp ile şekillendirilen greftlerde kollajen miktarının ve kondrosit rejenerasyon kabiliyetinin blok kıkırdak grefti ile benzer olduğu görülmüştür. Metakromazi, fibrozis, inflamasyon ve metaplastik kemik oluşumu açısından ise kıyılmış kıkırdak grefti ile aralarında bir fark bulunmamıştır. Bu durum PKL kalıbın herhangi bir ek morbiditeye sebep olmadan kıyılmış kıkırdak greftlerini şekillendirmek amacıyla kullanılabilirliğini göstermektedir. PKL kalıbın greftleri şekillendirmenin ötesinde, adeta bir perikondrium görevi görerek kondrositlerin rejenerasyon kapasitesini de artırdığı gözlemlenmiştir. PKL ile şekillendirilen grupta vaskülarizasyonun istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek oluşu, bu hipotezi desteklemektedir.

Yapılan çalışmanın ışığında başta rinoplasti olmak üzere burun rekonstrüksiyonu, kulak kepçesi rekonstrüksiyonu, orbita taban fraktürü onarımı gibi operasyonlarda kullanılmak üzere daha kompleks şekillerde üretilmiş kalıplar yardımı ile amaca yönelik tasarlanabilecek hibrid greftler üretilmesi mümkün olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Vialogo J.G. Autogenic bone plug to seal burr holes: technical note. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 1999, 57.4: 1041-1045.
2. Breitbart AS, Ablaza VJ. Implant materials. *Grabb and Smith's Plastic Surgery, 5th Ed. Philadelphia: Lippincott-Raven*, 1997, 39-46.
3. Matsumoto K, Kohmura E, Kato A, Hayawaka T. Restoration of small bone defects at craniotomy using autologous bone dust and fibrin glue. *Surgical neurology*, 1998, 50.4: 344-346.
4. Patel K, Brandstetter K. Solid implants in facial plastic surgery: potential complications and how to prevent them. *Facial Plastic Surgery*, 2016, 32.05: 520-531.
5. Berghaus A, Stelter K. Alloplastic materials in rhinoplasty. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*, 2006, 14.4: 270-277.
6. Winkler AA, Soler ZM, Leong PL, Murphy A, Wang TD, Cook TA. Complications associated with alloplastic implants in rhinoplasty. *Archives of facial plastic surgery*, 2012, 14.6: 437-441.
7. Bartlett S. P. Transplant Biology and Applications to Plastic Surgery. *Thorne, CH, Beasley, RW, Sherrell, JA, et al. Grabb and Smith's Plastic Surgery 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams*, 2007.
8. Lin G, Lawson W. Complications using grafts and implants in rhinoplasty. *Operative Techniques in Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 2007, 18.4: 315-323.
9. Menger DJ, Nolst Trenite GJ. Irradiated homologous rib grafts in nasal reconstruction. *Archives of facial plastic surgery*, 2010, 12.2: 114-118.
10. Si LS, Li HL, Zheng XM, Yang ZQ, Hou CQ, He SH et al. Immunopathological study on human cartilage allografts. *Chinese medical journal*, 1989, 102.1: 12-17.
11. JA Fox, KB Freedman, SJ Lee, BJ Cole. Fresh osteochondral allograft transplantation for articular cartilage defects. *Operative Techniques in Sports Medicine*, 2002, 10.3: 168-173.
12. ML Wong, JL Wong, KA Athanasiou, LG Griffiths. Stepwise solubilization-based antigen removal for xenogeneic scaffold generation in tissue engineering. *Acta biomaterialia*, 2013, 9.5: 6492-6501.
13. İslamoğlu K, Dikici MB, Bahadır M, Özgentaş HE. Perrmanence of diced cartilage, bone dust and diced cartilage/bone dust mixture in experimental design in twelve weeks. *Journal of Craniofacial Surgery*, 2006, 17.5: 905-908.
14. Kazikdas KC, 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. *The Laryngoscope*, 2007, 117.10: 1728-1734.
15. Juri J, Carlos E, Juan C. Ear cartilage grafts to the nose. *Plastic and reconstructive surgery*, 1979, 63.3: 377-382.
16. Falces E, Gorxey M. Use of ear cartilage grafts for nasal tip reconstruction. *Plastic and reconstructive surgery*, 1972, 50.2: 147-152.
17. McKinney P. Nasal tip cartilage grafts. *Annals of plastic surgery*, 1978, 1.2: 177-183.

18. Wee JH, Park MH, Oh S, Jin HR. Complications associated with autologous rib cartilage use in rhinoplasty: a meta-analysis. *JAMA facial plastic surgery*, 2015, 17.1: 49-55.
19. Kim DW, Shah AR, Toriumi DM. Concentric and eccentric carved costal cartilage: a comparison of warping. *Archives of facial plastic surgery*, 2006, 8.1: 42-46.
20. Fatemi MJ, Hasani ME, Rahimian S, Bateni H, Pedram M, Mousavi SJ. Survival of block and fascial-wrapped diced cartilage grafts: an experimental study in rabbits. *Annals of plastic surgery*, 2012, 69.3: 326-330.
21. Young, F. Autogenous cartilage grafts. *Surgery* 10: 7, 1941.
22. Peer LA. Diced cartilage grafts: New method for repair of skull defects, mastoid fistula and other deformities. *Archives of Otolaryngology*, 1943, 38.2: 156-165.
23. Peer LA. Reconstruction of the auricle with diced cartilage grafts in a vitallium ear mold. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1948, 3.6: 653-666.
24. Erol O. The Turkish delight: a pliable graft for rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*, 2000, 105.6: 2229-2241.
25. Yilmaz S, Erçöçen AR, Can S, Yenidünya S, Edali N, Yormuk AE. Viability of diced, crushed cartilage grafts and the effects of Surgicel (oxidized regenerated cellulose) on cartilage grafts. *Plastic and reconstructive surgery*, 2001, 108.4: 1054-60; discussion 1061-2.
26. Cakmak O, Bircan S, Buyuklu F, Tuncer I, Dal T, Ozluoglu LN. Viability of crushed and diced cartilage grafts: a study in rabbits. *Archives of facial plastic surgery*, 2005, 7.1: 21-26.
27. Daniel RK, Calvert JW. Diced cartilage grafts in rhinoplasty surgery. *Plastic and reconstructive surgery*, 2004, 113.7: 2156-2171.
28. Brenner KA, McConnell, Evans GR, Calwert JW. Survival of diced cartilage grafts: an experimental study. *Plastic and reconstructive surgery*, 2006, 117.1: 105-115.
29. Miller TA. Temporalis fascia grafts for facial and nasal contour augmentation. *Plastic and reconstructive surgery*, 1988, 81.4: 524-533.
30. Guerrerosantos J. Temporoparietal free fascia grafts in rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*, 1984, 74.4: 465-475.
31. Kim HK, Chu LS, Kim JW, Park B, Kim MK, Bae TH et al. The viability of diced cartilage grafts wrapped in autogenous fascia and AlloDerm® in a rabbit model. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 2011, 64.8: e193-e200.
32. Bracaglia R, Tambasco D, D’Ettorre M, Gentileschi S. “Nougat graft”: diced cartilage graft plus human fibrin glue for contouring and shaping of the nasal dorsum. *Plastic and reconstructive surgery*, 2012, 130.5: 741e-743e.
33. Bullocks JM, Echo A, Guerra G, Stal S, Yuksel E. A novel autologous scaffold for diced-cartilage grafts in dorsal augmentation rhinoplasty. *Aesthetic plastic surgery*, 2011, 35.4: 569-579.
34. Lattyak BV, Maas CS, Sykes JM. Dorsal onlay cartilage autografts: comparing resorption in a rabbit model. *Archives of facial plastic surgery*, 2003, 5.3: 240-243.
35. Woodruff MA, Hutmacher DW. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in polymer science*, 2010, 35.10: 1217-1256.

36. OH SH, Park SC, Kim HK, Koh YJ, Lee JH, Lee MJ et al. Degradation behavior of 3D porous polydioxanone-b-polycaprolactone scaffolds fabricated using the melt-molding particulate-leaching method. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2011, 22.1-3: 225-237.
37. Park SH, Yun BG, Won JY, Yun WS, Shim JH, Lim MH et al. New application of three-dimensional printing biomaterial in nasal reconstruction. *The Laryngoscope*, 2017, 127.5: 1036-1043.
38. Park JH, Jin HR. Use of autologous costal cartilage in Asian rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*, 2012, 130.6: 1338-1348.
39. Caughlin BP, Been MJ, Rashan AR, Toriumi DM. The effect of polydioxanone absorbable plates in septorhinoplasty for stabilizing caudal septal extension grafts. *JAMA facial plastic surgery*, 2015, 17.2: 120-125.
40. Boenisch M, Mink A. Clinical and histological results of septoplasty with a resorbable implant. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 2000, 126.11: 1373-1377.
41. Randolph MA, Yaremchuk M. Repair, grafting and engineering of cartilage. In: Mathes S (eds). *Mathes Plastic Surgery*. Vol 1. 1st edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2003. 621-638.
42. Watanabe H, Yamada Y, Kimata K. Roles of aggrecan, a large chondroitin sulfate proteoglycan, in cartilage structure and function. *The journal of biochemistry*, 1998, 124.4: 687-693.
43. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. 8th edition. Stanford: Appleton and Lange. 1995; 124-130.
44. Fosang AJ, Beier F. Emerging Frontiers in cartilage and chondrocyte biology. *Best practice & research Clinical rheumatology*, 2011, 25.6: 751-766.
45. Brodsky B, Eikenberry EF. Determinants of Collagen Fibril Structure. *Biophysical journal*, 1986, 49.1: 78-79.
46. Grande DA, Pitman MI, Peterson L, Menche D, Klein M. The repair of experimentally produced defects in rabbit articular cartilage by autologous chondrocyte transplantation. *Journal of Orthopaedic Research*, 1989, 7.2: 208-218.)
47. Tew S, Redman S, Kwan A, Walker E, Khan I, Dowthwaite G et al. Differences in repair responses between immature and mature cartilage. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 2001, 391: S142-S152
48. Mankin HJ. Localization of tritiated thymidine in articular cartilage of rabbits: II. Repair in immature cartilage. *JBJS*, 1962, 44.4: 688-698.
49. Brent B. Repair and grafting of cartilage and perichondrium. *Plastic Surgery. Philadelphia: Saunders*, 1990, 559.
50. Liu W, Cao Y. Repair, grafting and engineering of cartilage. *Nelligan's Plastic Surgery Vol 1*. 4th edition, 2019. Chapter 17: 262.
51. Brent B. The acquired auricular deformity. A systematic approach to its analysis and reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 1977;59:475-485.
52. Ono I, Gunji H, Sato M, KAneko F. A method of treatment of constricted ears with a conchal cartilage graft to the posterior auricular plane. *Plastic and reconstructive surgery*, 1993, 92.4: 621-627.

53. Firmin F, Sanger C, O'toole G. Ear reconstruction following severe complications of otoplasty. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 2008, 61: S13-S20.
54. Adamson PA. Grafts in rhinoplasty: autogenous grafts are superior to alloplastic. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 2000, 126.4: 561-562.
55. Murrell GL. Dorsal augmentation with septal cartilage. In: *Seminars in plastic surgery*. © Thieme Medical Publishers, 2008. p. 124-135.
56. Tanzer RC. Total reconstruction of the auricle: The evolution of a plan of treatment. *Plastic and reconstructive surgery*, 1971, 47.6: 523-533.
57. Thomson HG, Kim TY, Ein SH. Residual problems in chest donor sites after microtia reconstruction: a long-term study. *Plastic and reconstructive surgery*, 1995, 95.6: 961-968.
58. Brent B. The correction of microtia with autogenous cartilage grafts: II. Atypical and complex deformities. *Plastic and reconstructive surgery*, 1980, 66.1: 13-21.
59. Uppal RS, Sabbagh W, Chana J, Gault DT. Donor-site morbidity after autologous costal cartilage harvest in ear reconstruction and approaches to reducing donor-site contour deformity. *Plastic and reconstructive surgery*, 2008, 121.6: 1949-1955.
60. Ahmed A, Imani P, Vuyk HD. Reconstruction of significant saddle nose deformity using autogenous costal cartilage graft with incorporated mirror image spreader grafts. *The Laryngoscope*, 2010, 120.3: 491-494.
61. Bhatt CY, Vyas KA, Magnesh ST, Nikhil SP, Harpreet SB, Rajat KS. Maxillonasal dysplasia (Binder's syndrome) and its treatment with costal cartilage graft: A follow-up study. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 2008, 41.02: 128-132.
62. MSC AM, Gantous A. The use of autogenous costal cartilage graft in septorhinoplasty. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, 2007, 137.6: 862-867.
63. Shinohara H, Yuzuriha S, Matsuo K, Kushima H, Kondoh S. Tracheal reconstruction with a prefabricated deltopectoral flap combined with costal cartilage graft and palatal mucosal graft. *Annals of plastic surgery*, 2004, 53.3: 278-281.
64. Sajjadian A, Naghshineh N, Rubinstein R. Current status of grafts and implants in rhinoplasty: Part II. Homologous grafts and allogenic implants. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2010, 125.3: 99e-109e.
65. Sajjadian A, Rubinstein R, Naghshineh N. Current status of grafts and implants in rhinoplasty: part I. Autologous grafts. *Plastic and reconstructive surgery*, 2010, 125.2: 40e-49e.
66. Liu W, Cao Y. Repair, grafting and engineering of cartilage. *Nelligan's Plastic Surgery Vol 1*. 4th edition, 2019. Chapter 17: 271.
67. Vacanti CA, Langer R, Schloo B, Vacanti JP. Synthetic polymers seeded with chondrocytes provide a template for new cartilage formation. *Plastic and reconstructive surgery*, 1991, 88.5: 753-759.
68. Vacanti CA, Kim W, Upton J, Vacanti MP, Mooney D. Tissue-engineered growth of bone and cartilage. In: *Transplantation proceedings*. 1993. p. 1019-1021.
69. Otto IA, Melchels FPW, Zhao , Randolph MA, Kon M, Breugem CC et al. Auricular reconstruction using biofabrication-based tissue engineering strategies. *Biofabrication*, 2015, 7.3: 032001.

70. Bichara DA, O'Sullivan NA, Pomerantseva I, Zhao X, Sundback, CA, Vacanti JP et al. The tissue-engineered auricle: past, present, and future. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 2012, 18.1: 51-61.
71. Cao Y, Vacanti JP, Paige KT, Upton J, Vacanti CA. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plastic and reconstructive surgery*, 1997, 100.2: 297-302.
72. Liu W, Cao Y. Repair, grafting and engineering of cartilage. *Nelligan's Plastic Surgery Vol 1*. 4th edition, 2019. Chapter 17: 273.
73. Stock UA, Vacanti JP. Tissue engineering: current state and prospects. *Annual review of medicine*, 2001, 52.1: 443-451.
74. Park, JY, Choi YJ, Shim JH, Park JH, Cho DW. Development of a 3D cell printed structure as an alternative to autologous cartilage for auricular reconstruction. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2017, 105.5: 1016-1028.
75. Das S, Pati F, Choi YJ, Rijal G, Shim JH, Kim SW et al. Bioprintable, cell-laden silk fibroin–gelatin hydrogel supporting multilineage differentiation of stem cells for fabrication of three-dimensional tissue constructs. *Acta biomaterialia*, 2015, 11: 233-246.
76. Lee JS, Hong JM, Jung JW, Shim JH, Oh JH, Cho DW. 3D printing of composite tissue with complex shape applied to ear regeneration. *Biofabrication*, 2014, 6.2: 024103.
77. Shim JH, Lee JS, Kim JY, Cho DW. Bioprinting of a mechanically enhanced three-dimensional dual cell-laden construct for osteochondral tissue engineering using a multi-head tissue/organ building system. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 2012, 22.8: 085014.
78. Kundu J, Shim JH, Jang J, Kim SW, Cho DW. An additive manufacturing-based PCL–alginate–chondrocyte bioprinted scaffold for cartilage tissue engineering. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 2015, 9.11: 1286-1297.
79. Yen HJ, Tseng CS, Hsu SH, Tsai CL. Evaluation of chondrocyte growth in the highly porous scaffolds made by fused deposition manufacturing (FDM) filled with type II collagen. *Biomedical microdevices*, 2009, 11.3: 615-624.
80. Zhang J, Liu L, Gao Z, Li L, Feng X, Wu W et al. Novel approach to engineer implantable nasal alar cartilage employing marrow precursor cell sheet and biodegradable scaffold. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 2009, 67.2: 257-264.
81. Schuurman W, Khristov V, Pot MW, van Weeren PR, Dhert WJ, Malda J. Bioprinting of hybrid tissue constructs with tailorable mechanical properties. *Biofabrication*, 2011, 3.2: 021001.
82. Mccue T. 3D Printing Stock Bubble? \$10.8 Billion By 2021. *Forbes*. 2015.
83. Levy GN, Schindel R, Kruth JP. Rapid manufacturing and rapid tooling with layer manufacturing (LM) technologies, state of the art and future perspectives. *CIRP annals*, 2003, 52.2: 589-609.
84. Lee Min, Wu BM. Recent advances in 3D printing of tissue engineering scaffolds. In: *Computer-Aided Tissue Engineering*. Humana Press, Totowa, NJ, 2012. p. 257-267.
85. Schubert C, Van Langeveld MC, Donoso LA. Innovations in 3D printing: a 3D overview from optics to organs. *British Journal of Ophthalmology*, 2014, 98.2: 159-161.

86. Shim JH, Jeong JH, Won JY, Bae JH, Ahn G, Jeon H et al. Porosity effect of 3D-printed polycaprolactone membranes on calvarial defect model for guided bone regeneration. *Biomedical Materials*, 2017, 13.1: 015014.
87. Armillotta A, Bonhoeffer P, Dubini G, Ferragina S, Migliavacca F, Sala G et al. Use of rapid prototyping models in the planning of percutaneous pulmonary valved stent implantation. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 2007, 221.4: 407-416.
88. D'Urso PS, Effeney DJ, Earwaker WJ, Barker TM, Redmond MJ, Thompson RG et al. Custom cranioplasty using stereolithography and acrylic. *British Journal of Plastic Surgery*, 2000, 53.3: 200-204.
89. D'Urso PS, Barker TM, Earwaker WJ, Bruce LJ, Atkinson RL, Lanigan MW et al. Stereolithographic biomodelling in cranio-maxillofacial surgery: a prospective trial. *Journal of cranio-maxillofacial surgery*, 1999, 27.1: 30-37.
90. Gerstle TL, Ibrahim AM, Kim PS, Lee BT, Lin SJ et al. A plastic surgery application in evolution: three-dimensional printing. *Plastic and reconstructive surgery*, 2014, 133.2: 446-451.
91. Bauermeiste AJ, Zuriarrain A, Newman MI. Three-dimensional printing in plastic and reconstructive surgery: a systematic review. *Annals of plastic surgery*, 2016, 77.5: 569-576.
92. Chae MP, Rozen WM, McMenemy PG, Findlay MW, Spychal RT, Hunter-Smith, DJ. Emerging applications of bedside 3D printing in plastic surgery. *Frontiers in surgery*, 2015, 2: 25.
93. Hull CW. Apparatus for production of three-dimensional objects by stereolithography. 1986. *Google Patents*, 2016.
94. Almquist TA, Smalley DR. *Thermal stereolithography*. U.S. Patent No 5,141,680, 1992.
95. Rengier F, Mehndiratta A, Von Tengg-Koblogk H, Zechmann CM, Unterhinninghofen R, Kauczor, HU et al. 3D printing based on imaging data: review of medical applications. *International journal of computer assisted radiology and surgery*, 2010, 5.4: 335-341.
96. Liao J, Chen Y, Chen J, He B, Qian L, Xu J et al. Auricle shaping using 3D printing and autologous diced cartilage. *The Laryngoscope*, 2019, 129.11: 2467-2474.
97. Tan KH, Chua CK, Leong KF, Cheah CM, Gui WS, Tan WS et al. Selective laser sintering of biocompatible polymers for applications in tissue engineering. *Bio-medical materials and engineering*, 2005, 15.1, 2: 113-124.
98. Wiria FE, Leong KF, Chua CK, Liu Y. Poly- ϵ -caprolactone/hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication via selective laser sintering. *Acta biomaterialia*, 2007, 3.1: 1-12.
99. Abarrategi A, Moreno-Vicente C, Martínez-Vázquez FJ, Civantos A, Ramos V, Sanz-Casado JV et al. Biological properties of solid free form designed ceramic scaffolds with BMP-2: in vitro and in vivo evaluation. *PLoS one*, 2012, 7.3.
100. Shanjani Y, De Croos JA, Pilliar RM, Kandel RA, Toyserkani E. Solid freeform fabrication and characterization of porous calcium polyphosphate structures for tissue engineering purposes. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2010, 93.2: 510-519.

101. Tarafder S, Davies NM, Bandyopadhyay A, Bose, S. 3D printed tricalcium phosphate bone tissue engineering scaffolds: effect of SrO and MgO doping on in vivo osteogenesis in a rat distal femoral defect model. *Biomaterials Science*, 2013, 1.12: 1250-1259.
102. Korpela J, Kokkari A, Korhonen H, Malin M, Närhi T, Seppälä J. Biodegradable and bioactive porous scaffold structures prepared using fused deposition modeling. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2013, 101.4: 610-619.
103. Teo EY, Ong SY, Chong MSK, Zhang Z, Lu J, Moochhala S et al. Polycaprolactone-based fused deposition modeled mesh for delivery of antibacterial agents to infected wounds. *Biomaterials*, 2011, 32.1: 279-287.
104. Kim J, McBride S, Tellis B, Alvarez-Urena P, Song YH, Dean DD et al. Rapid-prototyped PLGA/ β -TCP/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds in a rabbit femoral defect model. *Biofabrication*, 2012, 4.2: 025003.
105. Rossatti, B. Observations on the blood supply of the rabbit's ear and on the experimental new-formation of arterio-venous anastomoses. *Journal of anatomy*, 1956, 90.Pt 3: 318.
106. Harkness JE, Wagner JE. The biology and medicine of rabbits and rodents, 4th edition. Iowa: Williams and Wilkins; 1995, 14-20.
107. Percy DH, Barthold SW. Pathology of laboratory rodents and rabbits, third edition. IOWA: Blackwell Publishing; 2007, 253-255.
108. Coskun BU, Seven H, Yigit O, Alkan S, Savk H, Basak et al. Comparison of diced cartilage graft wrapped in surgicell and diced cartilage graft wrapped in fascia: an experimental study. *The Laryngoscope*, 2005, 115.4: 668-671.
109. WON HR, Kim YS, Won JE, Shin YS, Kim CH. The Application of Fibrin/Hyaluronic Acid–Poly (l-Lactic-co-Glycolic Acid) Construct in Augmentation Rhinoplasty. *Tissue engineering and regenerative medicine*, 2018, 15.2: 223-230.
110. Zhong X, Ji C, Chan AK, Kazarian SG, Ruys A, Dehghani F. Fabrication of chitosan/poly (ϵ -caprolactone) composite hydrogels for tissue engineering applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2011, 22.2: 279-288.
111. Kelly CN, Miller AT, Hollister SJ, Guldberg RE, Gall K. Design and structure–function characterization of 3D printed synthetic porous biomaterials for tissue engineering. *Advanced healthcare materials*, 2018, 7.7: 1701095.
112. Zaborowska M, Bodin A, Bäckdahl H, Popp J, Goldstein A, Gatenholm P. Microporous bacterial cellulose as a potential scaffold for bone regeneration. *Acta biomaterialia*, 2010, 6.7: 2540-2547.
113. Woo SLY, Akeson WH, Jemcott GF. Measurements of nonhomogeneous, directional mechanical properties of articular cartilage in tension. *Journal of biomechanics*, 1976, 9.12: 785-791.
114. Williamson AK, Chen AC, Masuda K, Thonar EJM, Sah RL. Tensile mechanical properties of bovine articular cartilage: variations with growth and relationships to collagen network components. *Journal of Orthopaedic Research*, 2003, 21.5: 872-880.
115. Simha NK, Carlson CS, Lewis JL. Evaluation of fracture toughness of cartilage by micropenetration. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2004, 15.5: 631-639.

116. Eshraghi S, Das S. Mechanical and microstructural properties of polycaprolactone scaffolds with one-dimensional, two-dimensional, and three-dimensional orthogonally oriented porous architectures produced by selective laser sintering. *Acta Biomaterialia*, Volume 6, Issue 7, July 2010, Pages 2467-2476
117. Akbas, H., Karacaoglan, N., Eroglu, L., Uysal, A., Incesu, L, Kandemir, B. Radiologic and histological evaluation of otogenic sliced cartilage grafts at the tip of the chin of rabbits: an experimental study. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*, 2004, 130.4: 453-458.
118. Hizal E, Buyuklu F, Ozer O, Cakmak O. Effects of different levels of crushing on the viability of rabbit costal and nasal septal cartilages. *Plastic and reconstructive surgery*, 2011, 128.5: 1045-1051.
119. Buyuklu F, Hizal E, Yilmaz Z, Sahin FI, Cakmak O. Viability of crushed human auricular and costal cartilage chondrocytes in cell culture. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 2011, 39.3: 221-225.
120. Zalzal GH, Cotton RT, McAdams AJ. Cartilage grafts—present status. *Head & neck surgery*, 1986, 8.5: 363-374.
121. Tarhan E, Cakmak O, Ozdemir BH, Akdogan V, Suren D. Comparison of AlloDerm, fat, fascia, cartilage, and dermal grafts in rabbits. *Archives of facial plastic surgery*, 2008, 10.3: 187-193.
122. Rudderman RH, Guyuron B, Mendelsohn G. The fate of fresh and preserved, noncrushed and crushed autogenous cartilage in the rabbit model. *Annals of plastic surgery*, 1994, 32.3: 250-254.
123. Pomahac B, Zuhaili B, Kudsi Y. Guided cartilage regeneration using resorbable template. *Eplasty*, 2008, 8.
124. Wintch K. Reconstruction of the collapsed nose. *Surgical Rehabilitation in Leprosy*. Baltimore, Md.: Williams & Wilkins, 1974, 127-142.
125. Lee WPA, Butler PE. Transplant biology and applications to plastic surgery. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997, 27-37.
126. Coster DJ, Galbraith JE. Diced cartilage grafts to correct enophthalmos. *The British journal of ophthalmology*, 1980, 64.2: 135.
127. Calvert JW, Brenner K, DaCosta-Iyer M, Evans GR, Daniel RK. Histological analysis of human diced cartilage grafts. *Plastic and reconstructive surgery*, 2006, 118.1: 230-236.
128. Ertaş NM, Hücümenoğlu S, Beşalti O, Ozak A, Çelebioğlu S. The effects of oxidized, regenerated cellulose on diced cartilage xenografts: an experimental study. *Annals of plastic surgery*, 2000, 45.2: 224-225.
129. Pierce AM, Wiebkin OW, Wilson DF. Surgicel®: its fate following implantation. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 1984, 13.6: 661-670.
130. Cakmak O, Buyuklu F. Survival of diced cartilage grafts: an experimental study. *Plastic and reconstructive surgery*, 2006, 118.7: 1658.
131. Kelly MH, Bulstrode NW, Waterhouse N. Versatility of diced cartilage–fascia grafts in dorsal nasal augmentation. *Plastic and reconstructive surgery*, 2007, 120.6: 1654-1659.
132. Guerrerosantos J, Trabanino C, Guerrerosantos F. Multifragmented cartilage wrapped with fascia in augmentation rhinoplasty. *Plastic and reconstructive surgery*, 2006, 117.3: 804-812.

133. Duncan MJ, Thomson HG, Mancer JF. Free cartilage grafts: the role of perichondrium. *Plastic and reconstructive surgery*, 1984, 73.6: 916-923.
134. Allam AM, Sarhan NI. Histological and immunohistochemical study on the survival of diced cartilage grafts wrapped in surgicel and fascia in albino rabbits. *Egyptian Journal of Histology*, 2014, 37.1: 8-15.
135. Li G, Zheng B, Meszaros LB, Vella JB, Usas A, Matsumoto T et al. Identification and characterization of chondrogenic progenitor cells in the fascia of postnatal skeletal muscle. *Journal of molecular cell biology*, 2011, 3.6: 369-377.
136. Daniel RK. Diced cartilage grafts in rhinoplasty surgery: current techniques and applications. *Plastic and reconstructive surgery*, 2008, 122.6: 1883-1891.
137. Zopf DA, Mitsak AG, Flanagan CL, Wheeler M, Green GE, Hollister SJ. Computer Aided–Designed, 3-Dimensionally Printed Porous Tissue Bioscaffolds for Craniofacial Soft Tissue Reconstruction. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*, 2015, 152.1: 57-62.
138. Woodfield TB, Malda J, De Wijn J, Peters F, Riesle J, van Blitterswijk CA. Design of porous scaffolds for cartilage tissue engineering using a three-dimensional fiber-deposition technique. *Biomaterials*, 2004, 25.18: 4149-4161.
139. Nie H, Lee CH, Tan J, Lu C, Mendelson A, Chen M. Musculoskeletal tissue engineering by endogenous stem/progenitor cells. *Cell and tissue research*, 2012, 347.3: 665-676.
140. Zhou L, Pomerantseva I, Bassett EK, Bowley CM, Zhao X, Bichara DA et al. Engineering ear constructs with a composite scaffold to maintain dimensions. *Tissue Engineering Part A*, 2011, 17.11-12: 1573-1581.
141. Zhang L, He A, Yin Z, Yu Z, Luo X, Liu W et al. Regeneration of human-ear-shaped cartilage by co-culturing human microtia chondrocytes with BMSCs. *Biomaterials*, 2014, 35.18: 4878-4887.
142. Reiffel AJ, Kafka C, Hernandez KA, Popa S, Perez JL, Zhou S et al. High-fidelity tissue engineering of patient-specific auricles for reconstruction of pediatric microtia and other auricular deformities. *PLoS one*, 2013, 8.2: e56506.
143. Chu CR, Monosov AZ, Amiel D. In situ assessment of cell viability within biodegradable polylactic acid polymer matrices. *Biomaterials*, 1995, 16.18: 1381-1384.
144. Ma PX, Schloo B, Mooney D, Langer R. Development of biomechanical properties and morphogenesis of in vitro tissue engineered cartilage. *Journal of biomedical materials research*, 1995, 29.12: 1587-1595.
145. Grande DA, Halberstadt C, Naughton G, Schwartz R, Manji R. Evaluation of matrix scaffolds for tissue engineering of articular cartilage grafts. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 1997, 34.2: 211-220.
146. Chen CC, Chueh JY, Tseng H, Huang HM, Lee SY. Preparation and characterization of biodegradable PLA polymeric blends. *Biomaterials*, 2003, 24.7: 1167-1173.
147. Yang S, Leong KF, Du Z, Chua CK. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue engineering*, 2001, 7.6: 679-689.

148. Baker SC, Rohman G, Southgate J, Cameron NR. The relationship between the mechanical properties and cell behaviour on PLGA and PCL scaffolds for bladder tissue engineering. *Biomaterials*, 2009, 30.7: 1321-1328.
149. Chaim IA, Sabino MA, Mendt M, Müller AJ, Ajami D. Evaluation of the potential of novel PCL–PPDX biodegradable scaffolds as support materials for cartilage tissue engineering. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 2012, 6.4: 272-279.
150. Jeong CG, Hollister SJ. A comparison of the influence of material on in vitro cartilage tissue engineering with PCL, PGS, and POC 3D scaffold architecture seeded with chondrocytes. *Biomaterials*, 2010, 31.15: 4304-4312.
151. Temple JP, Hutton DL, Hung BP, Huri PY, Cook CA, Kondragunta R, Grayson WL. Engineering anatomically shaped vascularized bone grafts with hASCs and 3D-printed PCL scaffolds. *Journal of biomedical materials research Part A*, 2014, 102.12: 4317-4325.
152. Park S, Kim G, Jeon YC, Koh Y, Kim W. 3D polycaprolactone scaffolds with controlled pore structure using a rapid prototyping system. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2009, 20.1: 229-234.
153. Boutry CM, Chandrahali H, Streit P, Schinhammer M, Haenzi AC, Hierold C. Towards biodegradable wireless implants. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 2012, 370.1967: 2418-2432.
154. Park YJ, Cha JH, Bang SI, Kim SY. Clinical application of three-dimensionally printed biomaterial polycaprolactone (PCL) in augmentation rhinoplasty. *Aesthetic plastic surgery*, 2019, 43.2: 437-446.
155. Li WJ, Danielson KG, Alexander PG, Tuan RS. Biological response of chondrocytes cultured in three-dimensional nanofibrous poly (ϵ -caprolactone) scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 2003, 67.4: 1105-1114.
156. Lim HC, Bae JH, Song HR, Teoh SH, Kim HK, Kum DH. High tibial osteotomy using polycaprolactone-tricalcium phosphate polymer wedge in a micro pig model. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 2011, 93.1: 120-125.
157. Rai B, Oest ME, Dupont KM, Ho KH, Teoh SH, Guldberg RE. Combination of platelet-rich plasma with polycaprolactone-tricalcium phosphate scaffolds for segmental bone defect repair. *Journal of biomedical materials research Part A*, 2007, 81.4: 888-899.
158. Teo L, Teoh SH, Liu Y, Lim L, Tan B, Schantz JT, Seah LL. A novel bioresorbable implant for repair of orbital floor fractures. *Orbit*, 2015, 34.4: 192-200.
159. Kim YS, Shin YS, Choi JW, Park JK, Kim DH, Kim CH et al. The application of three-dimensional printing in animal model of augmentation rhinoplasty. *Annals of biomedical engineering*, 2015, 43.9: 2153-2162.
160. Wiggenhauser PS, Balmayor ER, Rotter N, Schantz JT. In vivo evaluation of a regenerative approach to nasal dorsum augmentation with a polycaprolactone-based implant. *European journal of medical research*, 2019, 24.1: 6.

161. Oh SH, Park SC, Kim HK, Koh YJ, Lee JH, Lee MC et al. Degradation behavior of 3D porous polydioxanone-b-polycaprolactone scaffolds fabricated using the melt-molding particulate-leaching method. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2011, 22.1-3: 225-237.



8. ÖZGEÇMİŞ

8.1 Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı: Mert CANLI

Doğum Yeri ve Tarihi: Kütahya, 23.10.1989

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Evli

İletişim Adresi ve Telefonu: Barbaros Mahallesi Mütevelli Çeşme Caddesi
Çamlıca Atayurt Sitesi B Blok No:9 Üsküdar/ İSTANBUL

Yabancı Dili: İngilizce

8.2 Eğitimi

2014-2020 Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Sağlık Uygulama ve
Araştırma Merkezi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği

2007-2013 Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi

2004-2007 Çorum Anadolu Lisesi

2003-2004 Çankaya Milli Piyango Anadolu Lisesi

8.3 Ünvanları

2014-2020 Asistan doktor

8.4 Mesleki Deneyimi

2013 Aralık- Halen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Sağlık Uygulama
ve Araştırma Merkezi' nde görev yapmaktayım.