

**T.C.**  
**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**NİASİN (B<sub>3</sub>) VİTAMİNİNİN YAĞ GREFTİ SAĞ KALIMI ÜZERİNE**  
**ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. İsmail BARUT**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç. Dr. Serhan TUNCER**

**ANKARA**  
**ŞUBAT 2016**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince beni yetiştiren, uzmanlık yaşamıma hazırlayan ve kendisini her yönüyle örnek aldığım tez hocam Doç. Dr. Serhan TUNCER' e, asistanlığım boyunca bizden tecrübelerini esirgemeyen ve uzmanlık eğitimimiz için gerekli ortamı sağlayan değerli hocam ve Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Seyhan ÇENETOĞLU' na, asistanlığım süresince beraber çalıştığım ve kendilerinden çok şey öğrendiğim hocalarım Prof. Dr. Osman LATİFOĞLU' na, Prof. Dr. Sühan AYHAN' a, Doç. Dr. Kemal FINDIKÇIOĞLU' na teşekkürü bir borç bilirim. Asistanlığımın başında tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum Prof. Dr. Cemalettin ÇELEBİ' ye ve Prof. Dr. Selahattin ÖZMEN' e teşekkür ederim. Kliniklerinde rotasyon yaptığım dönemde bilgi ve birikimlerinden faydalandığım hocalarıma ayrıca teşekkür ederim. Tezimin hazırlanması aşamasında, yardımlarını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı' dan Prof. Dr. Çiğdem ELMAS' a ve Dr. Merve SEYMEN' e teşekkür ederim. Beni bu güzel hayata hazırlayan ve tecrübelerini bana aktaran babam Mikail BARUT' a , annem Şami BARUT' a, her türlü kahrımı çeken hayat arkadaşım Dr. Günel BARUT' a teşekkürlerimi ve minnettarlığımı sunarım.

Dr. İsmail BARUT

## İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1. YAĞ DOKUSUNUN YAPISI VE FİZYOLOJİSİ .....	4
2.2. YAĞ HÜCRE Sİ TARAFINDAN SALGILANAN ÜRÜNLER .....	10
2.3. YAĞ GREFTİ TARİHÇESİ .....	19
2.4. YAĞ GREFTİNİN ELDE EDİLMESİ, HAZIRLANMASI VE UYGULANMASI .....	23
2.5. ADİPOZ KÖK HÜCRE VE YAĞ GREFTİ .....	25
2.6. YAĞ GREFTİNİN KLİNİK UYGULAMASI.....	39
2.7. YAĞ GREFTİ SAĞKALIMI ARTTIRMA TEKNİKLERİ .....	40
<b>3. NİASİN (B3 VİTAMİNİ)</b> .....	<b>43</b>
3.1. TARİHÇE .....	43
3.2. KİMYASAL YAPISI .....	45
3.3. FİZYOLOJİK ROLÜ .....	45
3.4. BESİNSEL KAYNAKLARI .....	47
3.5. EKSİKLİĞİ.....	48
3.6. TEDAVİDE KULLANIMI.....	51
<b>4. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	<b>52</b>
4.1. GRUPLAR VE AÇIKLAMA .....	53
4.2. NİASİN (B3 VİTAMİNİ) TEDAVİSİ.....	55
4.3. CERRAHİ YÖNTEM .....	55
4.3.1 Yağ Greftlerinin Elde Edilmesi: .....	55
4.3.2. Yağ Greftinin Alıcı Sahaya Transferi .....	56
4.3.3. Doku Örneklerinin Elde Edilmesi.....	57
4.4. HİSTOLOJİK YÖNTEM .....	57
4.4.1. Masson'un Üçlü Boyası Boyama Yöntemi .....	58
4.5. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM .....	59
<b>5. BULGULAR</b> .....	<b>60</b>
5.1. MAKROSKOPİK BULGULAR.....	60
5.2. HİSTOLOJİK BULGULAR.....	65
<b>6. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>79</b>
<b>7. ÖZET</b> .....	<b>84</b>
<b>8. SUMMARY</b> .....	<b>86</b>
<b>9. KAYNAKLAR</b> .....	<b>88</b>

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Serbest otolog yağ greftleri yüz, el ve meme başta olmak üzere vücudun çeşitli kısımlarında hem estetik hem de rekonstrüktif amaçlı olarak yaygın kullanıma sahiptir. Bir çok araştırmacı otolog yağ greftini ideal dolgu maddesi olarak göstermektedir. Kişinin kendisinden kolayca elde edilebilmesi, yabancı cisim reaksiyonu oluşturmaması, ucuz ve tekrarlanabilir olması, hem verici alan hemde alıcı saha komplikasyonunun düşük olması bu prosedürün üstün yönleridir. Ancak bu işlem sırasında diğer işlemlerde uygulanan kimyasal ajanlardan farklı olarak canlı hücre aktarımı yapılmaktadır. Bu nedenle hücrelerin sağkalımını arttırmak için difüzyon ile beslenmelerini mümkün kılacak ortamın sağlanması şarttır. Kanlanmanın yeterli olması, enfeksiyon olmaması, yüksek hacimli enjeksiyondan kaçınılması başlıca dikkat edilmesi gereken unsurlar olarak karşımıza çıkmaktadır<sup>3</sup>.

Literatüre baktığımızda yapılan çalışmalar göstermiştir ki; bütün koşullar uygun olarak hazırlanmış olsa bile % 70' lere varan emilim oranları mevcuttur. Neuhof, Guerney, Hilse, Green ve Peer gibi araştırmacılar emilim sebepleri üzerine farklı zamanlarda yapmış oldukları çalışmalarını sunmuşlardır. Greft alınırken uygulanan travmanın boyutu, greft enjekte edilirken var olan hücre sayısı yukarıda sayılan koşullar uygun olarak hazırlansa bile nekroz oranlarının yüksek olmasını açıklamaktadır<sup>2</sup>.

Peer yağ greftini sıçan rektus kasına vererek sağ kalımını arttırdığını tespit etmiştir<sup>4</sup>. Bunun üzerine yağ greftinin sağ kalımının artırılacağı düşüncesiyle

çeşitli araştırmacılar tarafından bu amaçla FGF, fibrin glue, PRP, insulin, hiyalüronik asit, eritropoetin, anti –TNF  $\alpha$ , EGF, botulinum toksin A,  $\beta$  blokerler v.b. gibi ajanlar kullanılmıştır. Ancak istenilen sağkalımı sağlamaya yönelik herhangi bir fikirbirliği sağlanamamıştır.

Greft alınırken uygulanan mekanik travma hücre zarı hasarına ve nekroza sebep olmaktadır. Alıcı sahaya yerleştirilen hücreler için en büyük stres faktörü iskemidir. Oluşan iskemi nekrozun aksine programlı ve enerji bağımlıdır. Hücrede DNA fragmantasyonu sonrası oluşan sinyaller kaspaz aktivasyonu yapmakta oluşan substratlar membran ve mitokondri hasarı oluşurmaktadır<sup>5</sup>.

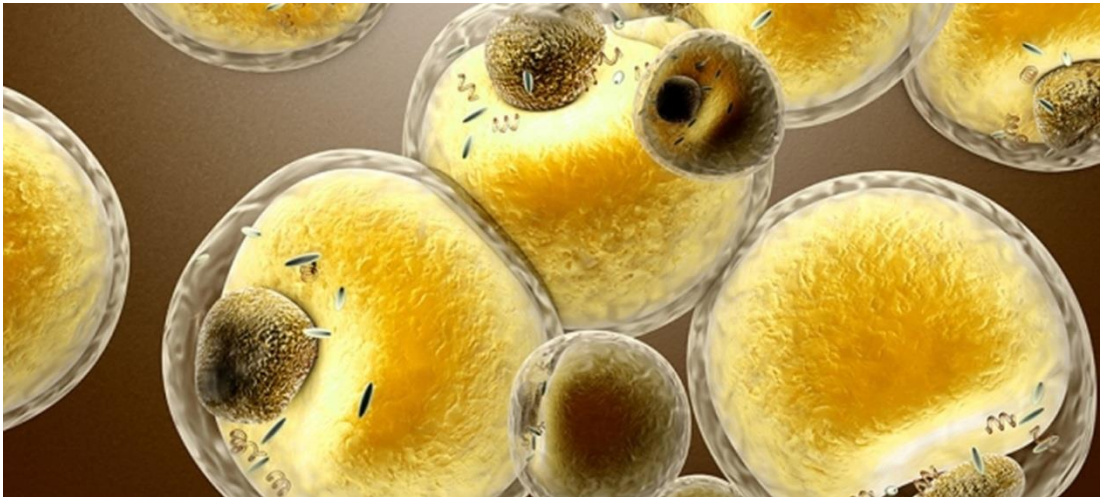
Niasin (B<sub>3</sub> vitamini) suda çözünür. Vücutta nikotink asid (piridin-3-karboksilik asit), nikotinamid (nikotink asid amid) ve bazı vitaminler için koenzim olarak işlev görmektedir. Eksikliğinde dermatit, diyare ve demans ile seyreden pellegra hastalığı meydana gelir. Niasin (B<sub>3</sub> vitamini) adiposit dokuda niasin reseptör (HCA<sub>2</sub>) blokajı yaparak lipolizi inhibe eder. Sonuçta cAMP/PKA sinyal inhibisyonuna bağlı trigliserit hidrolizi ve dolayısıyla serum serbest yağ asidi miktarında azalma oluşur. Niasin (B<sub>3</sub> vitamini) adiponektin mRNA stimülasyonu yapar. Oluşan bu stimülasyon niasinin metabolik sendromlu hastalarda insülin duyarlılığını arttırıcı, anti-aterosklerotik ve anti-enflamatuar etkisini açıklamaktadır. Ali A.H. ve arkadaşları tarafından diyabetik ratlarda yapılan endokrinolojik çalışmada niasinin adiposit fosfolipit membranının hasarını önleyerek ve sentezine katkı sağlayarak lipolizi azalttığı ve yağ dokusunda lipogenezisi stimüle ettiği gösterilmiştir<sup>1</sup>.

Amacımız; niasinin oral yoldan kullanımının lipolizi inhibe edici ve lipogenezisi destekleyici etkisinden faydalanarak serbest olarak transfer edilen yağ hücrelerinin sağkalımını artırıp arttırmadığını ortaya koymaktır. Eğer sağkalım yanında yaşayan adiposit miktarını arttırabilirsek gereken yağ enjeksiyonu ameliyatı sayısında önemli miktarda azaltmış olacağız. Bunun sonucunda bu ameliyat daha kesin sonuçları olan ve daha çok tercih edilen bir prosedür haline gelecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

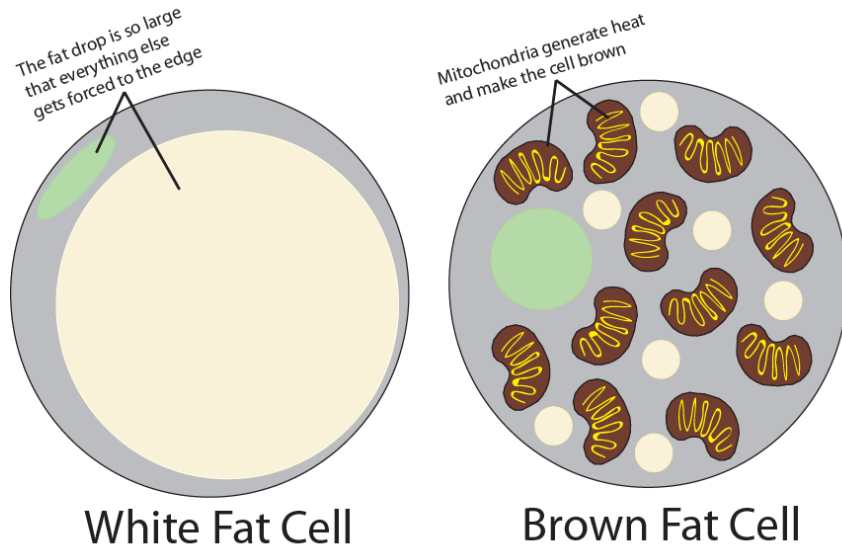
### 2.1. Yağ Dokusunun Yapısı ve Fizyolojisi

Yağ dokusu hücre sayısı ve büyüklüğü bakımından yaşam boyu, enerji ihtiyacı ve tüketimine bağlı olarak sürekli hacim değişikliği gösteren bir dokudur. Enerji depolama ve salgılama fonksiyonları çok karışık sistemler tarafından kontrol edilir. Yağ hücresi pasif bir hücre değildir aksine günlük enerji alınımına bağlı olarak sürekli hacim değişikliği gösteren, ekstrasellüler sıvıya sitokin ve hormon salgılayan bir hücredir. Bu salgı ürünleri ile endokrin, parakrin ve otokrin yolla değişik hücrelerle haberleşir. Hormonlar ve sitokinlere membran reseptörleri aracılığı ile yağ asidi salgılayarak veya yağ asitlerini hücre içine alarak ,sitokin salgılayarak cevap verir. Yağ hücresi enerji depolamaya ve salgılamaya adapte olmuştur.Yağ lipid damlacıkları trigliserit olarak depolanır ve bu damlacıklar hücrenin %90 kadarını oluşturur, geri kalanını diğer hücre organelleri oluşturur<sup>6</sup>. (şekil-1)



Şekil-1:Yağ hücresi elektron mikroskobu görüntüsü(spectral)

Yağ dokusu, kahverengi yağ dokusu ve beyaz yağ dokusu olmak üzere ikiye ayrılabilir. Kahverengi yağ dokusu hücreleri içerdiği çok sayıda mitokondrileri, erişkinde çok az sayıda bulunması ve termoregülasyonda görev alması ile beyaz yağ dokusu hücrelerinden farklıdır. (şekil-2)



Şekil-2: Beyaz ve kahverengi yağ hücresi (scienceisntscary)

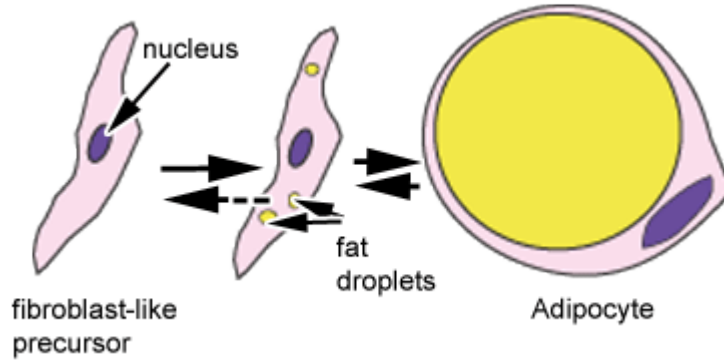
Beyaz yağ dokusu, viseral yağ dokusu (karın boşluğunda iç organlar etrafında yerleşmiş olan, omental yağ) ve deri altı yağ dokusu olmak üzere iki kısımda incelenir. Viseral yağ dokusu, total vücut yağının %10 kadarını oluşturur ve yaşlanma ile bu oran %20 'lere kadar artabilir. Deri altı yağ ve viseral yağ arasında hücre büyüklüğü, membran reseptörleri, kana yağ asidi salgılama ve yağ depolama fonksiyonları bakımından farklılıklar vardır. Örneğin viseral yağ dokusundan IL-6 salgılanması deri altı yağ dokusuna göre 2-3 kat daha fazladır. Viseral yağ dokusunun venöz drenajı portal sistemdir ve salgılanan yağ asitleri



doğrudan karaciğerde glukoneogenezele diğer enerji kaynaklarına dönüştürüldüğü gibi lipoproteinlere dönüştürülerekte tekrar kana verilebilir<sup>7</sup>.

Yağ dokusu ve yağ hücreleri kan damarları ile yakın ilişkilidir ve iyi gelişmiş bir kapiller ağa sahiptir. Yağ dokusu kapillerleri iskelet kası kapillerlerine göre daha geçirgen ve lipoprotein lipaz bakımından zengindir. Yağ doku hücreleri kendi aralarında, kapiller endotel ve damar düz kas hücreleri ile sürekli iletişim halindedir<sup>8</sup>.

Yağ hücrelerinin gelişimi gebeliğin 15. haftasından sonra, fibroblastlardan preadipositlere dönüşümü mitozla çoğalarak olur. (şekil-3)

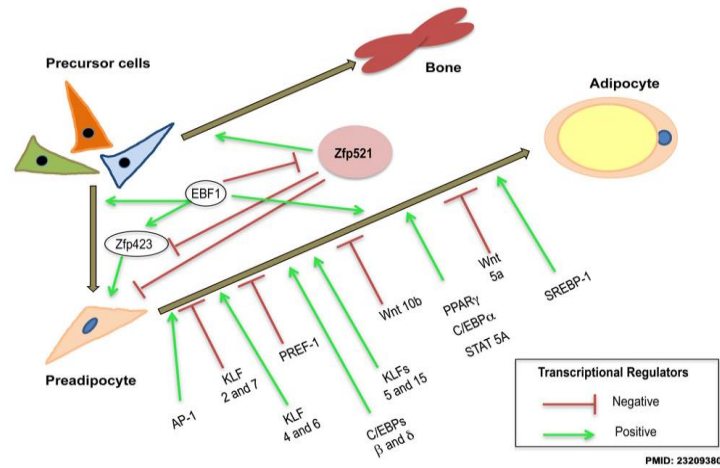


Şekil-3:Yağ hücresinin gelişimi (histology.leeds)

Yaşamın ilk iki yılında preadipositlerden yağ hücreleri oluşur. Büyüklük ve sayı olarak en çok bu yıllarda değişime uğrarlar (şekil-4). Puberteye kadar yağ hücre sayısı çoğalarak artmaya devam eder. Ergenlikten itibaren yağ hücresinde mitoz görülmez, hücreler sayıca artmaz, sadece hücre büyüklüğü değişir. Bu nedenle puberte öncesi obezite, hiperplastik (hücre sayısı ve büyüklük artışı şeklinde), puberte sonrası hipertrofik (sadece hücre çapı ve hacminde büyüme) büyüme

şeklinde. Yağ hücresinin büyüklüğü 10-200 µm kadar olabilmektedir. Böylece hücre çap olarak 20 kat büyüme gösterebilirken, hacim olarak büyüme bin kata ulaşabilmektedir<sup>7</sup>.

Yağ hücresine hormonlar ve sitokinler aracılığı ile endokrin, parakrin ve otokrin sinyaller gelir. Membranda bulunan hormon sitokin reseptörleri (leptin, insülin, TSH, anjiotensin-2 gibi), adrenerjik reseptörler ( $\beta_1$  ve  $\beta_2$ ,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  resptör gibi), lipoprotein reseptörler (VLDL, LDL, HDL gibi) ve sitoplazmada bulunan nükleer reseptörler olmak üzere iki gruptur. Bu reseptörlerin uyarılması ile oluşan sinyaller hücre fonksiyonlarını stimüle ya da inhibe ederek düzenler. Yağ hücresinde bu sinyaller ile trigliserit depolama veya depolanmış olan yağın, yağ asidi şeklinde kana verilmesi sağlanır ve hücreden hormon, bir kısım büyüme fakörleri ve sitokinler salgılanır. Yağ hücresinde TSH, TNF- $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , tiroksin ve glukokortikoid gibi maddeler proliferasyona neden olur<sup>9</sup>.



Şekil-4: Preadipositlerin farklılaşması (embriology.net)

Yağ hücresi membranında, diğer hücelere göre daha fazla miktarda bulunan lipoprotein lipaz (LPL), apolipoprotein-E ve kolesterol ester transfer protein enzimleri sayesinde dolaşımdan şilomikron ve VLDL' den yağ asitlerini kopararak hücre içine girmesini kolaylaştırır. Obezlerde yağ hücresi LPL aktivitesi, obez olmayanlara göre çok yüksektir. Bu yüzden yağ asitlerinin trigliserit halinde depolanması artmıştır<sup>9</sup>.

Yağ dokusu, vücutta en büyük enerji kaynağıdır ve bu enerji, açlıkta ve ihtiyaç duyulduğunda hızla yağ asitleri şeklinde geçebilecek trigliserit halinde depolanmıştır. Yağ hücrelerinden enerjinin, salgıladığı hormon ve sitokinlerin dolaşıma geçişi hormonal sinyallerle kontrol edilir. Yağ hücresine insülin, adrenalin, noradrenalin ve kortizol gibi maddeler etki ederek onun fonksiyonunu düzenler. Yağ hücresinden salınan leptinin keşfi ile merkezi sinir sistemini de etkilediği saptanmıştır. Leptin reseptörü, en çok besin alımının kontrolü ile ilgili merkezlerde (hipotalamusta) bulunmuştur. Yağ dokusu bir endokrin organ olarak görev yapmaktadır. Yağ hücrelerinden leptin' den başka, resistin, TNF- $\alpha$ , adiponektin, adipsin, IL-6, plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), TGF- $\beta$ , anjiotensinojen, asilation stimulating protein (ASP), IGF-1, PGI<sub>2</sub>, PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , gibi çok sayıda protein salgıladığıda saptanmıştır<sup>9</sup>.

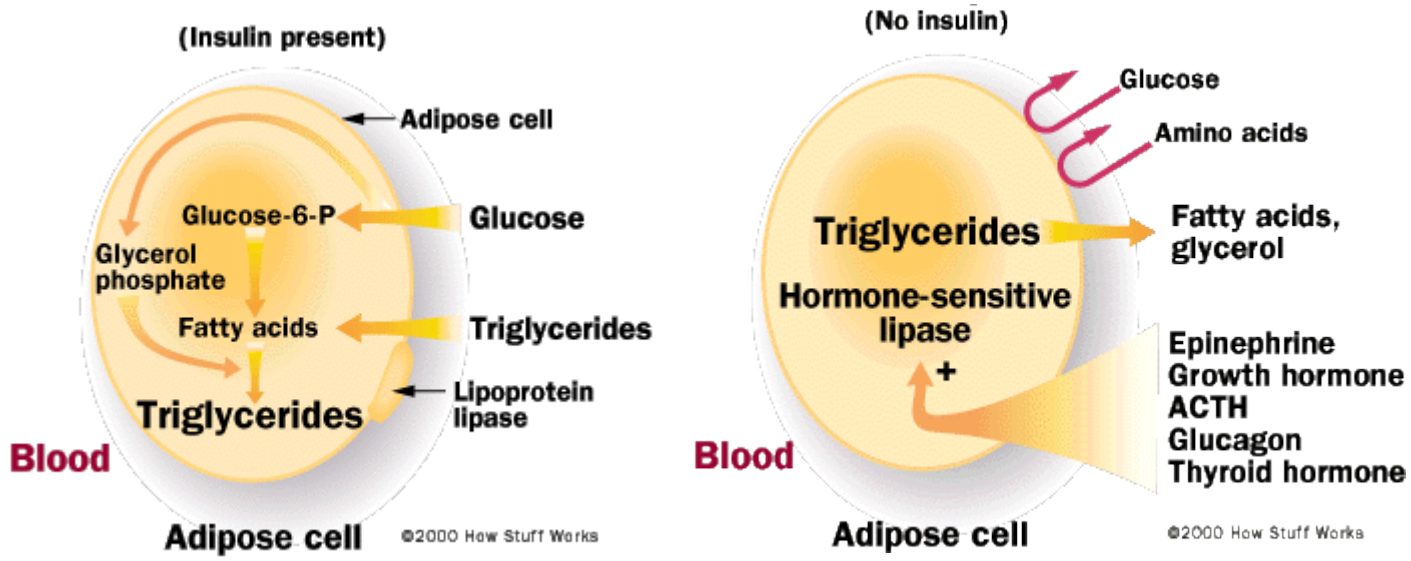
Yağ hücresinde ve diğer hücrelerde transkripsiyon faktörü olarak bulunan peroksizom proliferatör aktive edici reseptör (PPAR $\gamma$ ), yağ hücresi için önemlidir ve nükleer reseptör ailesindedir. Bu reseptör hücrede yağ asitleri, prostonoidler ve thiazolidinedion ( yeni bir antidiyabetik) gibi ilaçlar tarafından aktive edilir. PPAR $\gamma$ , yağ hücresinin farklılaşması ve vücut yağ kitlesinin oluşmasında anahtar

rol oynar ve insüline hassasiyeti düzenler. PPAR $\gamma$  tip 2 diyabetin güçlü bir belirleyicisidir. Obezlerde PPAR $\gamma$  viseral yağ dokusunda deri altı yağ dokusuna göre artmıştır. DNA' nın PPAR $\gamma$ ' ya cevap veren bölümünden birçok gen transkripsiyona neden olur. PPAR $\gamma$ ' un izoformları PPAR $\gamma$ 1 birçok dokuda bulunurken PPAR $\gamma$ 2 yalnızca yağ hücrelerinde bulunur ve yağ hücrelerinin farklılaşmasında rol oynar. PPAR $\gamma$ 2 izoformunda pro12Ala allel tip 2 diyabet riskini azaltır ve bireyin zayıflamasını sağlar. PPAR $\gamma$  geni kromozom 3' te yerleşmiştir. Yağ hücresinden salgılanan TNF- $\alpha$ , resistin ve adiponektin, PPAR $\alpha$ ' nın transkripsiyonel olarak kontrolü altındadır ve beslenme ve obezite arasındaki ilişkiyi düzenler<sup>10</sup>.

Acrp30, aguti protein ve aP2 yağ hücresinde bulunan sitoplazmik proteinlerden olup Acrp30 ve aguti protein dolaşımında sekrete edilir ve kanda belirli bir plazma seviyesi oluşturur. Acrp30 'un damar hasarında koruyucu özelliğinden bahsedilmektedir. Aguti protein ise hücre içi Ca<sup>+2</sup> artışından sorumlu olduğu sanılmakta olup daha çok deride etkin olduğu bildirilmektedir. aP2, düşük molekül ağırlıklı, yağ asidini bağlayan stoplazmik proteindir. Bu protein yağ hücresinde sitoplazma proteinlerinin % 6' sını oluşturur, intraselüler, organeller arası, hücre içi iletme katkıda bulunarak yağ asidi metabolizmasında rol alır. aP2 trigliserit veya yağ asidi oksidasyonu ve lipolitik hızıda kontrol eder<sup>11</sup>.

Yağ hücresinde glukoz ve yağ asitlerinden trigliserit sentezi (lipogenez) ve depolanması insülin tarafından stimüle edilir. İnsülin yağ hücresinde yağ hücre membran lipoprotein lipaz aktivitesini ve hücre içine yağ asidi girişini arttırır. Yağ hücresinde trigliseritlerin yıkımı (lipoliz) adrenalin ve noradrenalinin

hormona duyarlı lipaz enzimini aktive etmesi ile olur ve yağ asitlerinin dolaşıma geçmesi sağlanır. Egzersizde ve stres halinde plazma serbest yağ asidi miktarı 5-8 kat artar. Yağ asitlerinin kana geçmesini uyaran ve sağlayan diğer maddeler arasında büyüme hormonu, kortizol, tiroksin de sayılabilir<sup>6</sup>. (şekil-5)

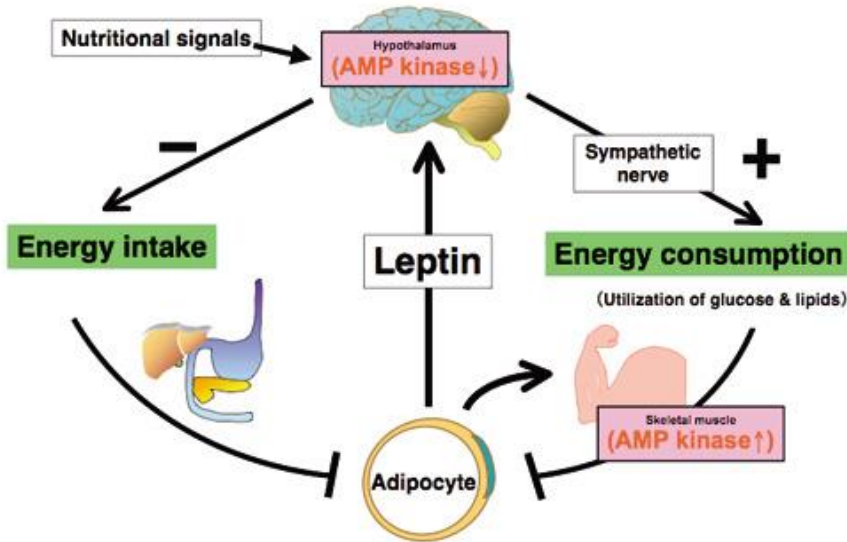


Şekil-5:Yağ hücresinde metabolik olaylar (affiliation.net)

## 2.2. Yağ Hücresi Tarafından Salgılanan Ürünler

**A)Leptin:** Leptin, yağ hücresinden salgılanan ve negatif feedback mekanizma ile hipotalamusa etki ederek besin alımını baskılayan ve enerji harcanmasını arttıran hormondur. Enerji homeostasisindeki görevini hipotalamus arkuat nukleusları (ARN), ventromedial (VMN) ve dorsomedial (DMN) hipotalamusta bulunan reseptörü (Ob-Rb) aracılığı ile yapar ve nöropeptit-y (NPY) sentez ve salgılanmasını inhibe eder ve enerji harcanmasını artırırken besin alımını azaltır. Leptinin yağ hücresinden salgılanması vücut yağ miktarı ile orantılıdır ve

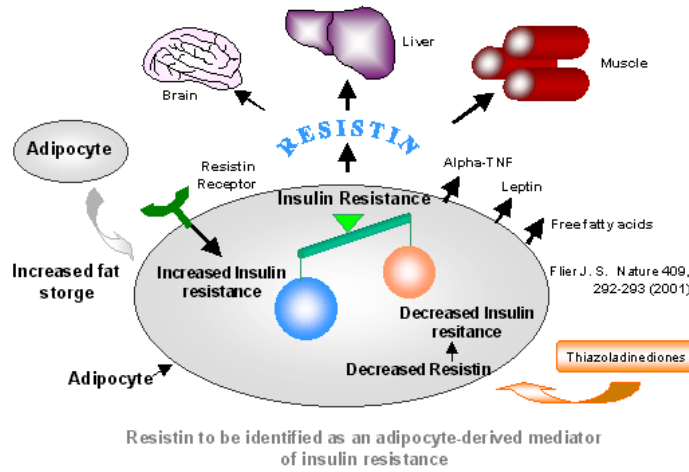
plazmadaki düzeyi daha çok deri altı yağ dokusu miktarı hakkında bilgi verir. Leptin mRNA' sını, deri altı yağ dokusunda visceral yağ dokusuna göre daha fazla olup kadınlarda erkeklere oranla yaklaşık iki misli daha fazla miktarda bulunur. Enfeksiyon, endotoksin, sitokinler, TNF- $\alpha$  ve IL-1 leptin üretimini stimüle eder. Leptin kas, karaciğer ve yağ hücresinde glukoneogenezi artırırken glukojenolizi azaltarak glukoz metabolizmasına katılır. Plazma leptin miktarı artarsa; besin alımı, lipogenez azalır ve enerji harcanması, lipoliz, insüline hassasiyet artar<sup>12</sup>. (şekil-6)



Şekil-6:Leptinin metabolizmaya etkisi (vitalare.com)

**B)Resistin:** Resistin yağ hücresinde bol miktarda bulunan ve salgılanan hormon olup son yıllarda keşfedilmiştir. Obezite ve tip-2 diyabet ile bağlantılıdır, periferik sinyal molekülü olan yeni bir polipeptit olduğu sanılmaktadır. Memeli kan

serumunda ölçülebilecek miktarda saptanmıştır. Resistin negatif feedback mekanizma ile periferik etki ederek vücut yağ kitlesini düzenliyor olabilir. Resistinin monositlerin endotel hücresi ile adezyonuna engel olarak aterosklerotik vasküler damar hasarına karşı koruyucu olduğu ileri sürülmektedir. Tip-2 diyabette mikroanjyopatiden sorumlu tutulmaktadır. Resistin enjeksiyonu farelerde hedef hücrelerin glukoz toleransını azalttığı, insüline hassasiyeti körelttiği ve serum insülin düzeyini düşürdüğü, böylece insülin direncini giderdiği görülmüştür. Resistin glukoz metabolizmasına etkili insülin antagonisti gibi çalışan hormon olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Farelerde dişi gonadal yağ dokusunda ve erkek epidimal beyaz yağ dokusunda bulunur. Obezlerde fazla kiloların azaltılması ve egzersiz desteğine yardımcı gibi görülmektedir<sup>13</sup>. (şekil-7)



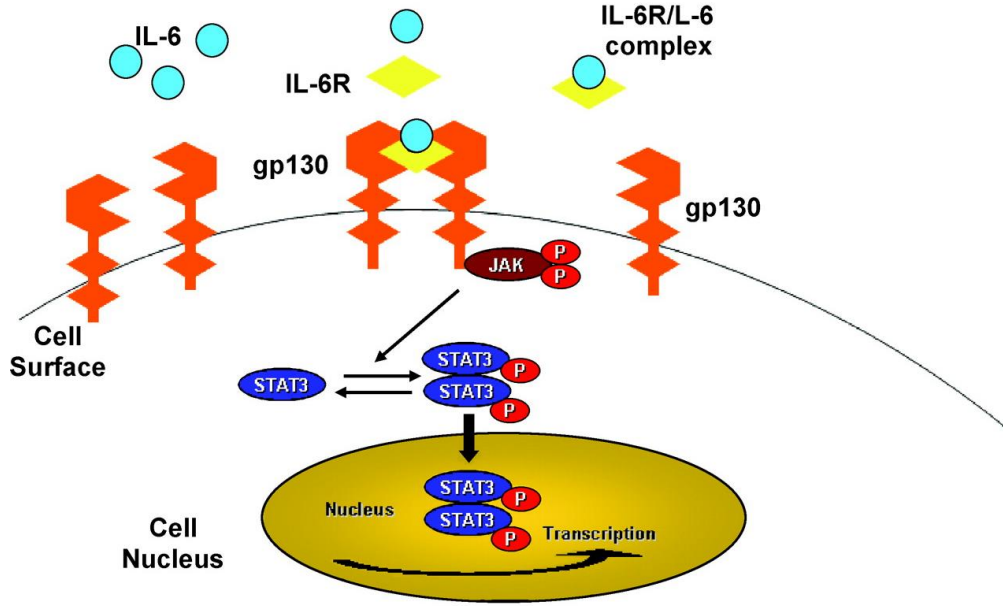
Şekil-7: Resistinin metabolizmaya etkisi (writeopinions.com)

**C)IL-6:** Yağ hücresinden salgılanan ve insüline hassasiyeti etkileyen sitokinlerdendir. IL-6, birçok immün hücre (fibroblast, endotel hücresi, lökositler, miyosit ve endokrin hücreler) tarafından üretildiği gibi yağ hücresinden de diğer

hücrelere göre daha fazla miktarda üretilir. IL-6 yağ hücre fonksiyonlarını otokrin ve parakrin olarak düzenler. Viseral yağ hücrelerinde deri altı yağ hücrelerine göre üretimi üç kat daha fazladır. Viseral yağ hücresinden salgılanan IL-6 portal yolla karaciğere ulaşarak hepatik trigliserit oluşumunu ve sekresyonunu, prokoagulan madde sentezini artırır ve hipertrigliseridemiye neden olur. IL-6 etkisini IL-6 reseptörü aracılığı ile yapar. IL-6 reseptörü class-1 sitokin reseptör sınıfındadır. IL-6, yağ dokusunun LPL aktivitesini, enerji depolanmasını azaltır, akut faz protein sentezini stimüle eder, hipotalamo-hipofizer aksın aktivitesini artırır, termogeneizde kortikotropin salıncı hormon (CRH) sekresyonunu artırır. IL-6 kortizol salımı, CRH ve ACTH salımını stimüle ederek artırır. Kortizol ise feedback inhibitör gibi IL-6 üretimini baskılar. Obezitede IL-6 plazma seviyesi artar. Viseral yağ dokusu deri altı yağ dokusuna göre 2-3 kat daha fazla IL-6 üretir. IL-6 reseptörü elde edilmiş fakat fonksiyonu tam olarak anlayamamıştır<sup>14</sup>. (şekil-8)

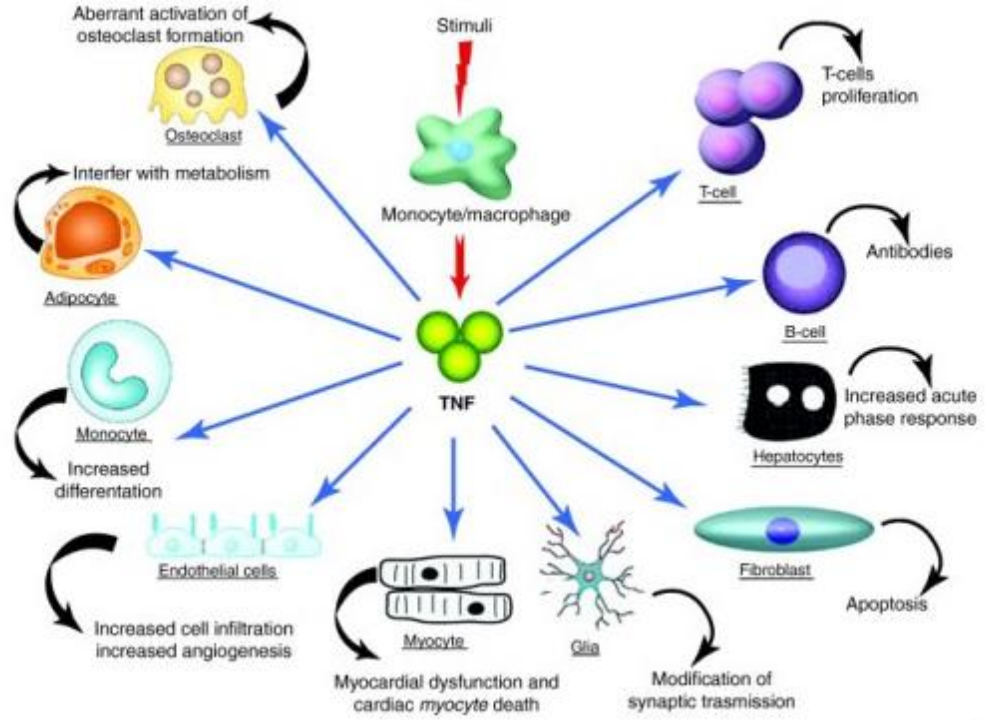
**D)TNF- $\alpha$ :** İlk defa makrofajlardan salgılandığı saptanan, immun fonksiyonları modüle eden, TNF $\alpha$ , yağ hücresinde salgılanır. TNF $\alpha$  hedef dokuların insüline cevabını etkiler. Septik şok, romatoid artrit, konakçı paraziter hastalıklarda, obezlerde plazma TNF $\alpha$  miktarı artar. Dolaşımdaki TNF $\alpha$ 'nın en büyük kaynağı yağ dokusudur. Viseral yağ dokusunda üretimi deri altı yağ dokusuna göre 67 kat daha azdır. TNF $\alpha$  mRNA' sı vücut yağ miktarı ile koreledir. Obezlerde kilo kaybı





Şekil-8:IL-6' nın hücreye etki mekanizması (aacrjournals.org)

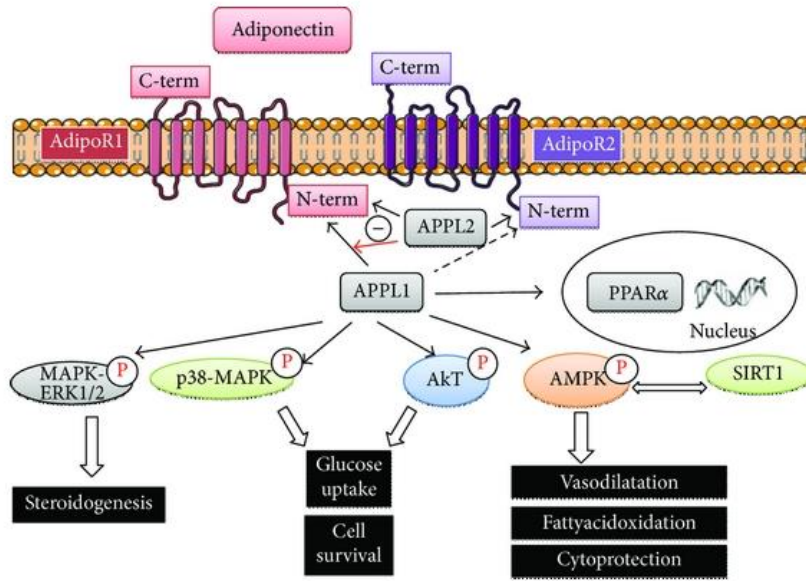
ile miktarı azalır.  $TNF\alpha$ 'nın yağ hücresi kültürlerinde insülinin etkisini bloke ettiği görülür.  $TNF\alpha$ 'nın iki reseptörü vardır; p60 insülin reseptör sinyali (glukoz transportu ile ilgilidir) ve p80 (insülin direnci patogenezinde görevlidir) yağ hücre membranında da bulunan reseptörlerdir. p60 aktivasyonu preadipositlerin farklılaşmasını inhibe ederken, p80 aktive eder.  $TNF\alpha$  yağ hücre sayısı ve volümünü düzenler, lipolizi stimüle eder, leptin üretimini artırır, tümör hücresinde  $TNF\alpha$  apoptotik etkili olup ve insülin reseptör sayısını azaltarak insülin direnci oluşumuna sebep olur, insülin reseptörünün tirozin kinaz aktivitesini bozar, böylece hücrelerin glukoz alımını azaltır. Obezlerde ve insülin direnci gelişenlerde plazma seviyesi düşüktür ve iskelet kasında insülin etkisini azalttığı bilinmektedir<sup>15</sup>. (şekil-9)



Şekil-9:TNF- $\alpha$ 'nın etkilediği hücreler (tipacilar.com)

**E)Adiponektin:** Adiponektin yağ hücresinden salgılanan, kollajen VIII ve kompleman c1' e benzeyen, insülin stimülasyonu ile salgılanan bir hormondur. Plazmada 2-25  $\mu\text{g/ml}$  kadar bulunan adiponektin salgılandıktan sonra plazmada kollajen I, III, V' e bağlanır, II ve IV' e bağlanmaz. Adiponektin endotelial adezyon moleküllerinin VCAM-I, ICAM-I ve E-selektin ile ilişkisini inhibe eder ve inflamatuvar sitokinler (TNF $\alpha$  gibi) ile ilişkiyi tetikler. Obezlerde ve insülin direnci gelişenlerde plazma seviyesi düşüktür. İn vivo koşullarda, kronik uygulamalarda adiponektin enjeksiyonlarının plazma serbest yağ asidi miktarını azalttığı görülmüştür. Doku yağ oksidasyonunu artırır sonuçta dolaşımdaki yağ asidi seviyesi düşer<sup>6</sup>. (şekil-10)

**F)Adipsin:** Yağ hücresinden sentezlenen serin özellikli, insanda kompleman faktör-D olarak bilinen bir sitokin proteindir. Yağ hücresi başına düşen adipsin sekresyon miktarı sabittir. Yağ hücre büyüklüğü arttıkça sekrete edilen adipsin miktarında artma olmaz. İnsülin ve glukokortikoidler tarafından plazma konsantrasyonu artırılır. Yağ dokusu metabolizması ve kompleman yolları arasında olası ilişkiyi sağlar<sup>6</sup>.

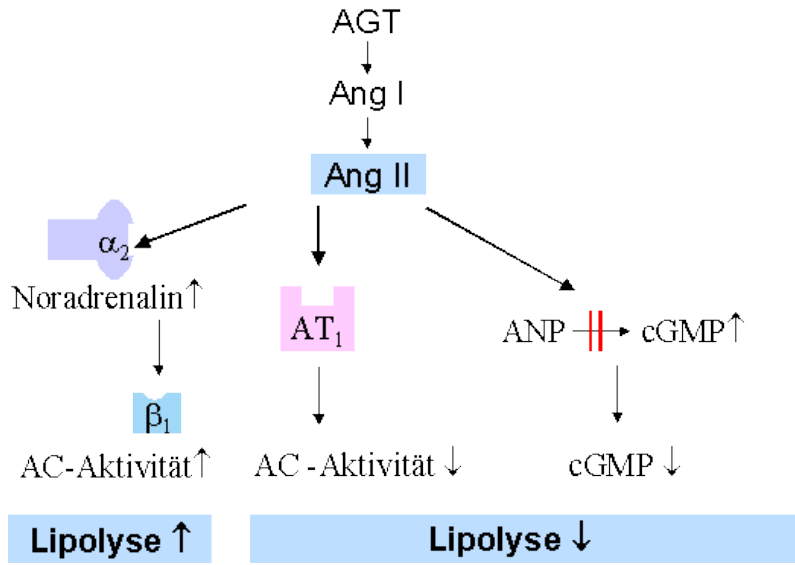


Şekil-10:Adiponektinin hücelere etki mekanizması (embriology.med)

**G)ASP (Asilation stimulating protein):** ASP, 14-kDa molekül ağırlığında, arginin içeren serum proteindir. Obezlerde plazma miktarı artar. ASP yağ hücre metabolizmasında yağ asitlerinin esterleşmesini, trigliserit sentezini stimüle eder ve sentez hızını artırır. Adipsin ve ASP birlikte yağ hücre büyüklüğünü düzenler.

Bu proteinin olmaması vücut yağının azalmasına, insüline hassasiyetin gelişmesine neden olur<sup>6</sup>.

**H)Anjiotensinojen:** Anjiotensinojen büyük oranda karaciğerde sentez edilir, birçok dokuda anjiotensinojen mRNA vardır. Kan basıncı ve elektrolit homeostazisinde görevli anjiotensin II' nin öncü maddesidir.Yağ hücresi membranında anjiotensin II reseptörü vardır. Bu reseptör aracılığı ile preadipositlerin yağ hücresine farklılaşması, besin alımı sinyallerine cevap oluşturulması ve yağ hücresinin büyüklüğünün düzenlenmesi sağlanır<sup>6</sup>. (şekil-11)



Şekil-11:Anjiotensinin oluşumu ve metabolik etkisi (uchise.ru)

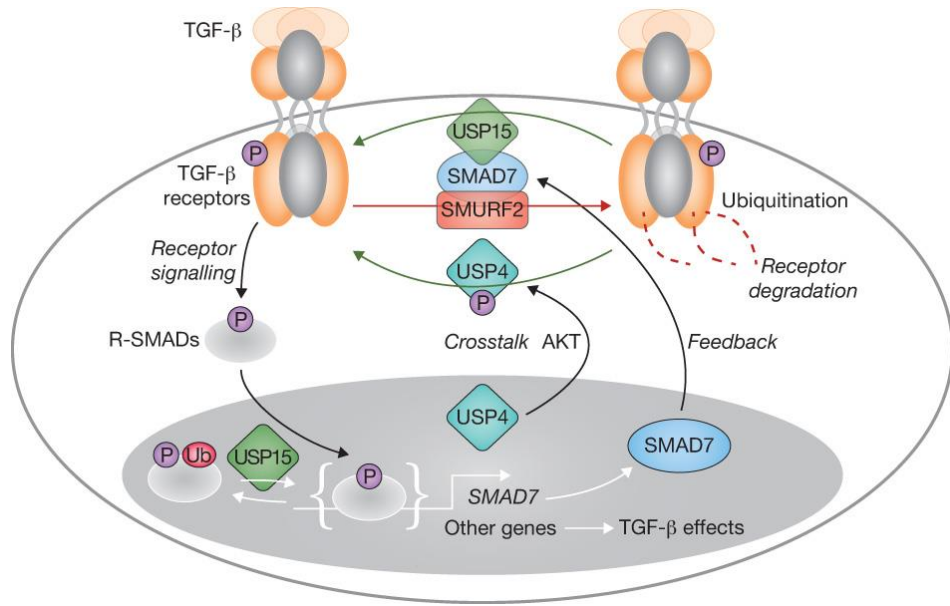
**I)PAI-1 (Plazminojen aktivatör inhibitör-1):** Serin proteaz ailesinin üyesidir. Doku plazminojen aktivatörünü inhibe ederek endojen fibrinolitik sistemi düzenler. Özellikle tromboembolik olaylarda plazma konsantrasyonu artar. Obezitede kardiyovasküler hastalıklar ile fibrinolitik sistem arasındaki ilişkinin açıklanması bakımından önemlidir. Yağ hücrelerinde PAI-1 sentezi ve insülin

aktivitesi TGF- $\beta$  tarafından bloke edilir. Obezitede ve insülin direnci gelişenlerde plazmada miktarı artar. Viseral yağ dokusundan daha çok salgılanır, fibrinolitik sistemin potent inhibitörüdür ve trombolizi inhibe eder. Plazmadaki miktarı viseral yağ miktarı hakkında bilgi verir<sup>6</sup>.

**K)TGF- $\beta$ :** TGF- $\beta$ , değişik hücreler tarafından üretilir, çok sayıda hücrede büyüme ve hücre tipinin farklılaşmasını sağlar. Adezyon, migrasyon, doku yenilenmesi, yara iyileşmesi gibi hücreyel olaylarda etkindir. Obez farelerde (ob/ob) TGF- $\beta$  mRNA düzeyi obez olmayan (db/db) farelere göre yüksek bulunmuştur. TGF- $\beta$  preadipositlerin proliferasyonunu artırır. TGF- $\beta$  enjeksiyonları PAI-1 sentezini birçok hücrede stimüle eder, PAI-1 mRNA miktarını artırır. Bu artış insülin ve TNF $\alpha$  etkisi ile olan artıştan daha fazladır<sup>6</sup>.  
(şekil-12)

**M)PGI<sub>2</sub> ve PGF<sub>2 $\alpha$</sub> :** PGI<sub>2</sub> ve PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 'nın inflamasyon, koagülasyon, ovulasyon, menstrüasyon ve asit sekresyonu gibi önemli düzenleyici fonksiyonları vardır. Yağ dokusunda görevi vazodilatasyonla doku kanlanması ve kapiller permeabilite artışı sağlamaktır<sup>6</sup>.

**N)MIF (Makrofaj inhibitör faktör):** İnflamasyon öncesi süreçlerde ve immüntenin düzenlenmesinde yer alır<sup>6</sup>.



Şekil-12:TGF-β hücre içi sinyal iletimi (nature.com)

### 2.3. Yağ Grefti Tarihçesi

İlk yağ enjeksiyonu Alman Plastik Cerrah Gustav NEUBER tarafından 1893 yılında gerçekleştirilmiştir. Verderame, 1909 yılında oküler cerrahi amacı ile gerçekleştirdiği yağ enjeksiyonunu sonrası hacmin küçülmesi üzerine daha fazla hacimlerde enjeksiyonu önermiştir<sup>16</sup>. Lexer 1911 yılında yağ enjeksiyonu sırasında greftin zarar görmesi sonrası hacminde azalma olduğunu rapor etmiştir<sup>17</sup>. Kanavel 1916 yılında dikkatli hemostazın ve aseptik koşulların sağ kalımı arttığını ve yağ dokusunun farklı anatomik bölgelere uygulansa bile yabancı cisim reaksiyonu oluşturmadığını göstermiştir<sup>18</sup>. Lexer, 1919 yılında %66' lar düzeyinde sağ kalımın olduğu geniş hacimlerde yağ enjeksiyonu serisini yayınlamıştır. Bu çalışmasında küçük enjeksiyonların skara dönüştüğünü yüksek hacimli enjeksiyonların yağ dokusuna dönüştüğünü bulmuştur<sup>17</sup>. Neuhof, 1923

yılında transplante edilen yağ greftinin tıpkı kemik grefti gibi bir takım değişikliğe uğradığını, bir kısım hücrenin öldüğünü, bir kısmının skar dokusuna dönüştüğünü ve bir kısmının yeni yağ dokusu oluşturduğunu bulmuştur<sup>19</sup>. Guerny, 1938 yılında gereğinden fazla yapılan yağ greftinin 1 yıl sonra ancak %25 ile %50' sinin sağ kaldığını ayrıca greftin bitişik hücreler halinde alınmasının yağ kisti oluşturduğunu, yağ hücrelerinin polimorfonükleer lökositler aracılığı ile fagosite edildiğini ve sağ kalan greftte yağ oranının yıllar geçtikçe artmakta olduğunu göstermiştir<sup>20</sup>. Green, 1947 yılında osteomyelitte sekonder defektlerde yağ ve fasya-yag otogreftini kullanmıştır. Uyguladığı dokunun önce bağ dokusu ve sonrasında kemik olacağını ve defektin kapanacağını öne sürmüştür<sup>21</sup>. Wertheimer ve Shapiro 1958 yılında yağ dokusunun konnektif doku fibroblastlarına benzer primitif adipoz hücrelerden geliştiğini göstermiştir<sup>22</sup>. Peer, 1950 yılında yağ greftini rektus kası içine enjekte etmiş , 3. ve 14. aylarda örnek almıştır. Bütün greftin konnektif doku kapsülü ile çevrili olduğunu bulmuştur. Tek greftlerin %45, multigreftlerin %75 hacim kaybına uğradığını görmüş, 1 yıl sonra greftin normal yağ dokusu gibi olduğunu rapor etmiştir<sup>23</sup>. Bames, 1953 yılında yağ grefti dolaşımının ortalama 4 gün sonra greft ile alıcı saha arasında gerçekleşen anastomozlar aracılığı ile olduğunu tespit etmiştir. Travmatize edilen greftlerin daha fazla hacim kaybına uğradığını ve dermal yağ greftlerinin protezlere nazaran küçük memelerde daha iyi bir kontür oluşturduğunu ileri sürmüştür<sup>24</sup>. Schorber, 1957 yılında hipomasti için serbest yağ grefti kullanmış ve 6-9 ay içinde yalnızca %25' nin sağ kaldığını bulmuştur<sup>25</sup>. Van ve Roncari, 1978 yılında in vitro ve in vivo rat modelinde adiposit prekürsörlerin erişkin

adipositlere dönüştüğünü bulmuştur<sup>26</sup>. Illouz, 1985 yılında yaptığı çalışmada transplante edilen hücrelerin revaskülerize olana kadar intrasellüler lipoliz ve ozmozis ile beslendiğini göstermiş ve transplante edilen dokunun %30'unun nekroze gittiğini ve dolayısıyla over-correction yapılmasının uygun olacağını savunmuştur<sup>27</sup>. Asken, 1987 yılında yaptığı çalışmada liposuction ile aldığı yağ greftinin %90 canlı olduğunu saptamış ve oluşan hücre hasarının kötü alma ve verme işlemine bağlı olduğunu savunmuştur<sup>28</sup>. Agris, 1987 yılında yaptığı çalışmada travma ve dehidrasyonun yağ hücrelerinde hasara neden olduğunu saptamıştır<sup>29</sup>. Billings ve May, 1987 yılında yaptığı çalışmada greftin ilk 4 gün, 4. gün, 10. gün ve 30-60. günlerdeki değişimlerini göstermişlerdir<sup>30</sup>. Hudson, 1990 yılında yaptığı çalışmada gluteal ve femoral bölgede yağ hücre boyutu ve hücre lipojenik aktivitesinin abdominal bölgedeki yağa oranla daha fazla olduğunu bulmuştur. Fasyal yağ hücrelerinin küçük ve lipojenik aktivitelerin yok denecek kadar az olduğu gösterilmiştir<sup>31</sup>. Nguyen, 1990 yılında yaptığı çalışmada vakumla alınmış, aspire edilmiş ve eksizyon ile alınmış yağ greftleri implante edildikten 9 ay sonra incelemiştir. Bütün greftlerde yağ hücrelerinin fibrozisle yer değiştirdiğini ve sadece küçük miktarda yağ hücresinin viabilitesini koruduğunu saptamıştır<sup>32</sup>. Asadi, 1993 yılında yaptığı çalışmada postravmatik skar depresyonu nedeni ile sağ trokanterik bölgeye yaptığı yağ enjeksiyonu sonrası 5. yılda kontürün korunduğunu rapor etmiştir<sup>33</sup>. Epley, 1993 yılında yaptığı çalışmada yağ greftine FGF uygulanmasının 1 yıl sonra sağ kalımı kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde arttırdığını göstermiştir<sup>34</sup>. Carpaneda ve Ribeiro, 1994 yılında yaptıkları çalışmada greftin kalınlığı ve geometrik şeklinin sağ kalım üzerinde etkili



olduğunun ve 3mm' den daha büyük çaplarda viabilitenin anlamlı oranda azaldığını bulmuşlardır<sup>35</sup>. Coleman, 1995 yılında yaptığı çalışmada yağ hücrelerin transplante edildiği yerde basınca bağlı olarak yer değiştirebileceğini ve buna bağlı olarak nütrisyonun bozulabileceğini aynı zamanda yağ greftinin çoklu tünellerden verilmesinin nütrisyonu arttırdığını bulmuştur<sup>36</sup>. Sattler ve Sommer, 1997 yılında yaptıkları çalışmada yağ greftinin kurutulduktan sonra -20°C' de 2 yıl bekletildikten sonra oda sıcaklığında incelendiğinde sadece yağ hücresi içerdiğini ve hiç fibröz doku içermediğini bulmuştur<sup>37</sup>. Ullmann' ın 1998 yılında yaptığı çalışmada Cariel serumu (esansiyel ve nonesansiyel amino asitler, vitaminler, GH, insülin ve sodyum selenite ) içeren yağ hücrelerinde 15 ay sonra hacmin %46' sının korunduğunu kullanılmayan grupta ise ancak %29' unun sağ kaldığını saptamıştır<sup>38</sup>.

Yağ dokusu yalnızca vücuttaki fazla karbonhidratın depolandığı bir doku değildir. Cilt ve derin doku arasında yer alır, içerdiği kök hücreler sayesinde rejenerasyon ve doku hasarının giderilmesinde önemli etkileri vardır. Yüz yılı aşkın süredir kullanılan yağ greftleri; yüz kontürünü sağlamak, yaşlanmaya bağlı atrofilerde, komorbit hastalıklara bağlı lipodistrofilerde kullanılmaktadır. Ancak oluşan yağ nekrozları nedeni ile etkisi çalışmalara göre farklılıklar gösterir. Coleman' ın 1997 yılında tekniğini yayınlamasından sonra yağ greftleri popülerite kazanmıştır ve günümüzde en çok uygulanan prosedürler arasına girmiştir<sup>39</sup>.

Adipoz kök hücre (ASC) bir çeşit erişkin kök hücredir ve 2000' li yıllarda bulunmasından itibaren üzerinde çalışmalar giderek artmaktadır. Çalışma sonuçları bu hücrelerin rejenatif süreçlerde merkezi rol aldığını göstermiştir. ASC

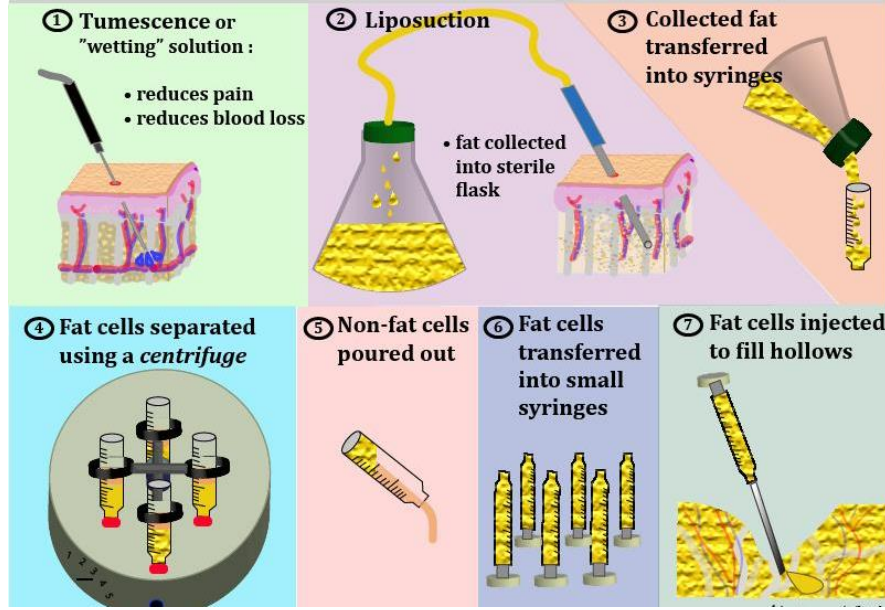
yağ greftlerine eklenmiştir ve oluşan hücre destekli lipotransfer (cell-assisted lipotransfer) tekniği uygulamaya konulmuştur<sup>40</sup>.

Yağ enjeksiyonunda tekniğin geliştirilmesi ile yağ nekrozu gibi yan etkiler azalmış, sağ kalan doku miktarının artması sağlanmıştır. Yeni tekniler daha yüksek hacimlerde yağ greftlerinin enjeksiyonuna imkan vermiştir. Günümüzde yağ greftleri estetik kullanımının yanı sıra travma ve yanık sonrası oluşan skarlar içinde yaygın olarak kullanılır hale gelmiştir.

#### **2.4. Yağ Greftinin Elde Edilmesi, Hazırlanması ve Uygulanması**

Rochrich yağ hücresi sağ kalımının verici sahadan bağımsız olduğunu rapor etmiştir. Verici alana uygulanan lidokain ve epinefrin yağ dokusu üzerine olumsuz etki oluşturmaz. Yağ greftinin geniş kanüllerle ve hafif negatif basınç altında aspire edilmesi sağ kalım üzerine olumlu etki eder. Shiffman 700 mmHg altındaki negatif basınçlarla yapılan aspirasyonun sağ kalımı %10 arttırdığını bulmuştur<sup>41</sup>. Özsoy 2-3 mm kanül yerine 4mm kanül kullanmanın sağ kalımı arttırdığını ortaya koymuştur<sup>42</sup>.

Coleman tarafından 1997 yılında tariflenen teknikte 10 mL şırınga ile aspirasyon yapılmasının yağ hücrelerine verilen hasarı azalttığını, 3000 rpm santrifüjün aynı hacme göre yağ hücresi konsantrasyonunu arttırdığını, enjeksiyon sırasında 1mL-3mL şırınga kullanımı dokular arasında 0.1 mL' den daha az boşluk oluşturduğu için revaskülizasyonun daha iyi olduğunu rapor etmiştir<sup>39</sup>. (şekil-13)



Şekil-12: Coleman Tekniği

Daha sonra yapılan çalışmalarda yağ grefti, santrifüj edilmeden, yıkanarak, elekten geçirilerek, bez üzerine konulup fazla sıvının süzülmesini sağlayarak kullanılmıştır. Ancak bu tekniklerin üstün olduğunu gösteren kesin çalışmalar mevcut değildir.

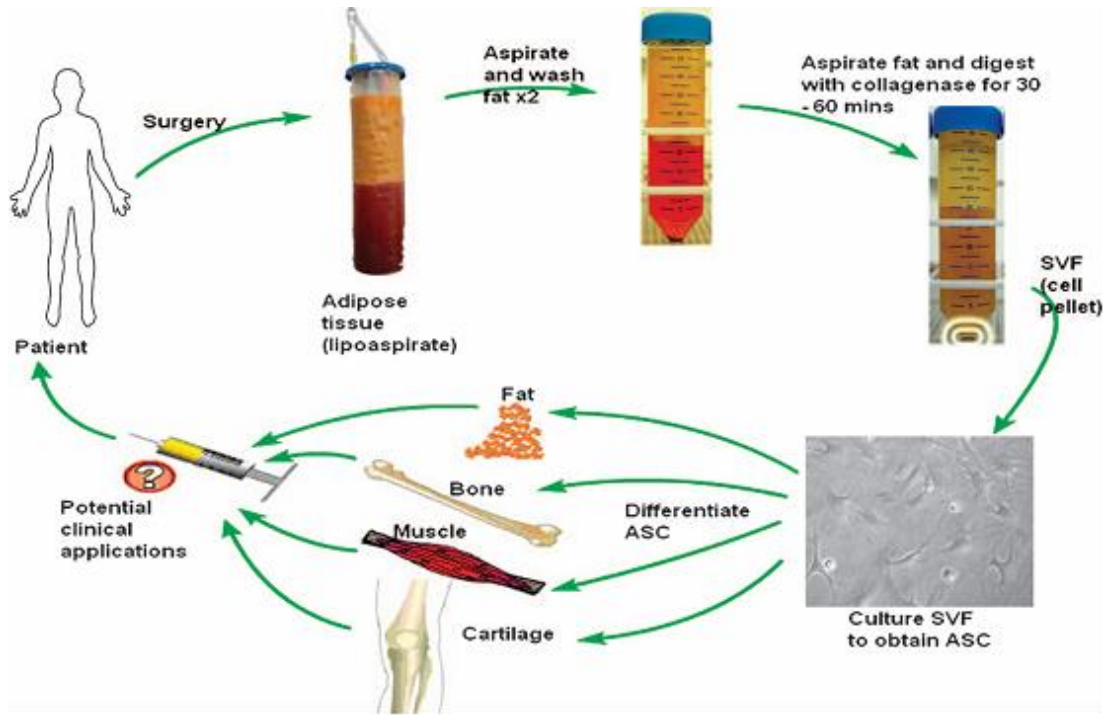
Özsoy, 2.5 mm kanül kullanılarak yapılan yağ enjeksiyonunda 1.6 mm ya da 2.0 mm kanül kullanılan tekniğe göre hücre sağ kalımının daha fazla olduğu göstermiştir. Ancak Erdim yaptığı çalışmada 14, 16 ya da 20 gauge iğne kullanmanın sağ kalımı etkilemediğini rapor etmiştir<sup>42</sup>.

Meme büyütme ve gluteal yağ enjeksiyonu gibi yüksek hacimlerde yağ enjeksiyonu gereken durumlarda Coleman tekniği kullanılarak 1 mL ya da 3 mL enjektör ile yapılan işlemler çok yorucu ve zaman alıcı olmaktadır. Bu durumda kilitli enjektörler kullanılarak sabit basınç oluşturulabilir ya da yağ aspire ederken

aynı zamanda enjekte etmeye imkan veren enjektörler kullanılarak zaman kazanılabilir. Enjeksiyon sırasında yağ greftini doku içinde kitle oluşturmadan yayarak yapmanın vaskülarizasyonu arttırdığı gösterilmiştir<sup>39</sup>.

### **2.5. Adipöz Kök Hücre ve Yağ Grefti**

Kök hüce, mitozla çoğalarak hem kendini yenileyebilen, hem de diğer özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneğine sahip, özelleşmemiş ana hücre tipidir. Kemik iliğinde kök hücrelerin varlığı ilk kez Freindstein tarafından 1976 yılında tanımlanmıştır<sup>75</sup>. Tarihsel süreçte ilk kullanımı ise deneysel çalışmalarda, radyasyonun kemik iliği üzerindeki etkilerini hafifletmek amacı ile olmuştur. İlerleyen zaman içinde kök hücreler, kemik iliği dışında periferik kan, göbek kordonu, deri, diş pulpası, plasenta ve tüm dokularda tespit edilmiş, yağ dokusu içerisindeki varlığı ise ilk kez Zuk tarafından 2001 yılında gösterilmiştir<sup>76</sup>. 1990 yılında Pittsburgh Üniversitesi'nde vücut şekillendirme amacı ile yapılan liposuction ile elde edilen yağ dokusu üzerinde yapılan çalışma ile adipöz kök hücreye rastlanmıştır. Alınan doku kollejenaz, histolizis enzimi ile ayrıştırılmış ve santrifüj yapılarak hücre süspansiyonu elde edilmiştir. Süspansiyon içinde fibroblastlara benzeyen multipotent diferansiyasyon gösteren ve erişkin kök hücreler olduğu anlaşılan stromal hücreler keşfedilmiştir. Bu hücrelere adipose derived stromal cell (ADSC) ya da adipose stromal cell (ASC) gibi isimler verilmiştir<sup>43</sup>. (şekil-14)



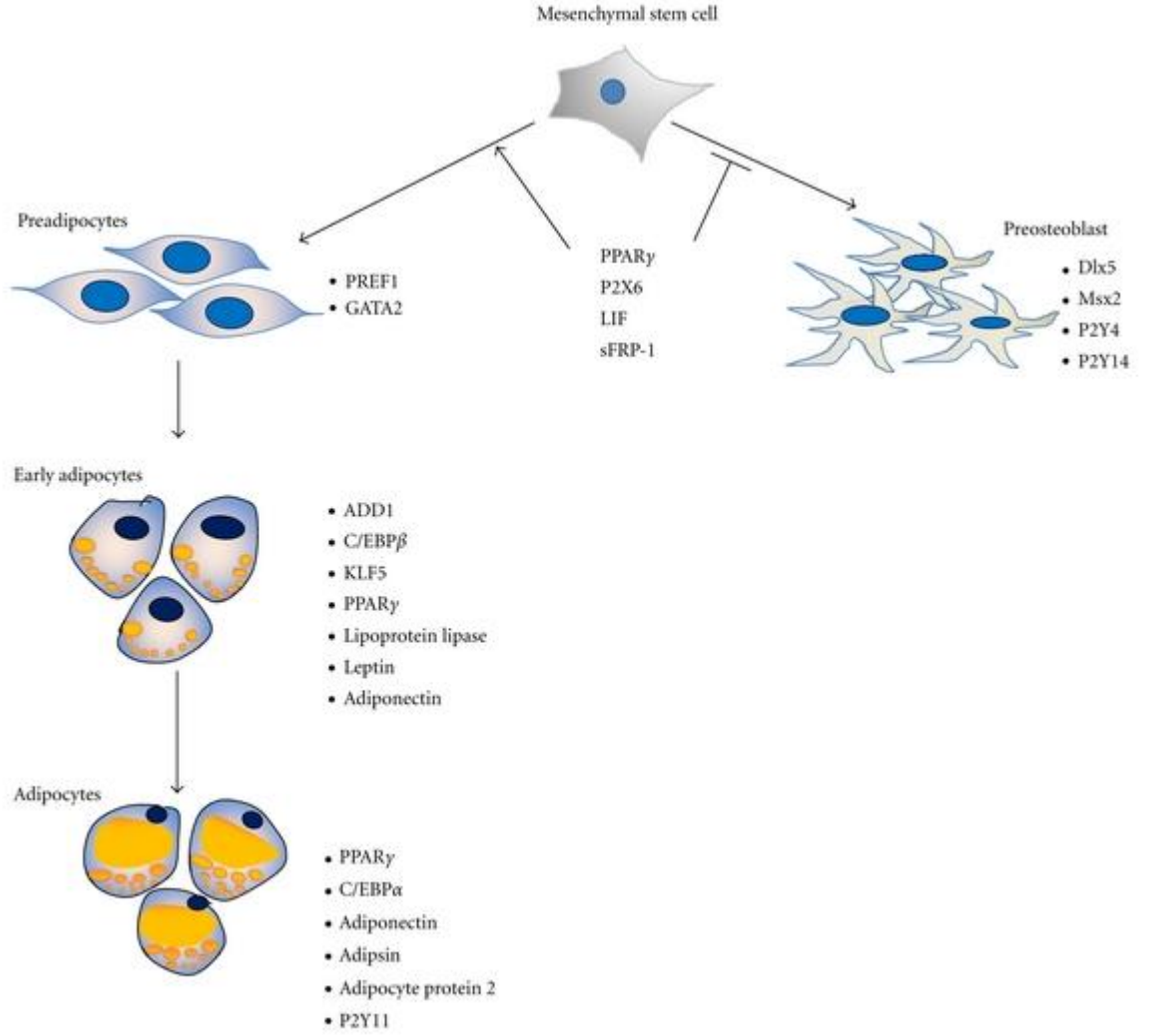
Şekil-14: Adiposit kök hücrenin multipotent diferansiyasyonu (uniqueshoppes.com)

Yağ dokusunun 1 gramında yaklaşık 5000 koloni oluşturuca ünite (CFU) mevcut iken, 1 ml kemik iliği kökenli materyalde 100-1000 CFU mevcuttur. Yağ dokusunun kolayca elde edilebilmesi, kemik iliğine nazaran bol miktarda kök hücre sağlayabilmesi, ayrıca yağ dokusu kökenli kök hücrelerin (YDKKH) etkinliğinin in vivo ve in vitro çalışmalarda kanıtlanmasını takiben, YDKKH rejeneratif tıp ve doku mühendisliği alanında plastik cerrahinin yanı sıra nöroloji, üroloji, ortopedi ve fizik tedavi gibi diğer branşların da ilgisini çekmiştir<sup>44</sup>.

Bununla birlikte YDKKH' in etki mekanizmaları, uygulandıkları alanda yerleşim, çoğalma ve farklılaşma özellikleri ve klinik kullanımlarıyla ilgili henüz netleşmemiş konular mevcuttur. YDKKH' in elde edildikleri vücut alanı,

hazırlanmaları sırasında uygulanan teknik, ayrıca kullanılacak kök hücre veya stromal vasküler fraksiyon (SVF) nedeni ile de klinik kullanımda henüz standardizasyon sağlanamamıştır ve optimizasyon çalışmaları devam etmektedir<sup>44</sup>.

Kök hücreler insan vücudunda zigotun oluşumundan itibaren mevcuttur. Henüz sekiz hücreden oluşan üçüncü gün embriyoda tüm hücreler totipotent embriyonik kök hücreler olarak adlandırılır. Totipotent kök hücreler plasenta ve tüm vücut hücrelerine dönüşebilme potansiyeli taşır. Hücre bölünmesinin devam etmesi ile birlikte 5-8. günlerde blastokist iç hücre kitlesinden vücudun farklı dokularını oluşturan ektoderm, mezoderm ve endoderm hücrelerine dönüşebilen pluripotent embriyonik kök hücreler gelişir. Daha sonra bu pluripotent kök hücreler oluşturacakları germinal tabakaya spesifik hale gelir ve diğer tüm dokulara farklılaşma yeteneklerini kaybeder ve sınırlı sayıda hücre tipine dönebilen erişkin multipotent kök hücrelerine dönüşür. Bununla birlikte Yamanaka ve arkadaşları, erişkin, farklılaşmış ve özelleşmiş somatik hücrelerin uygun transkripsiyon faktörlerinin (OCT3/4, Sox2, c-Myc ve Klf4) indüksiyonu ile pluripotent kök hücreye dönüşebileceğini göstermiştir<sup>45</sup>. (şekil-15)



Şekil-14: Adipositin farklılaşma safhaları (hindawi.com)

Erişkin tip kök hücreler, embriyonik yaşam sonrası dokulardan elde edilen kök hücrelerdir. Bu hücreler, özelleşmemiş ve kültürlerde uzun dönem (37 pasaj boyunca) farklılaşma göstermeksizin çoğalabilen, buna karşın özelleşme potansiyeli taşıyan hücrelerdir. Erişkin kök hücreler temelde üç ana kategoride incelenir;

1- Kan hücrelerini oluşturan hematopoetik kök hücreler

2- Osteoblast, kondroblast, adipositlerin köken aldığı mezenkimal kök hücreler

3- Organa spesifik, unipotent kök hücreler

Uluslar arası hücre tedavileri topluluğunun mezenkimal kökenli kök hücreler için tanımladığı kriterler şu şekildedir;

1- Plastik ve cam yüzeylere yapışabilme

2- Hücre yüzeyinde minimum CD73, CD90, CD105 ekspresyonu yanı sıra hematopoetik kök hücre belirteçleri olan CD45, CD34, CD14 ya da CD11 $\beta$ , CD79 $\alpha$  veya CD19 ve HLA-DR yüzey moleküllerinin negatifliği

3- Bu hücrelerin in vitro adiposit, kondrosit veya osteoblast gibi mezenkimal hücrelere dönüşebilme yeteneğinin bulunmasıdır

İlerleyen zaman içinde bu hücrelerin mezoderm dışında, endoderm ve ektoderm kökenli hücrelere de dönüşebildikleri in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir<sup>45</sup>.

Yağ dokusunu oluşturan hücrelerin %90' ı adiposit olmakla birlikte flow sitometri ile yapılan incelemeler sonucunda yağ dokusu içerisinde; matür adiposit, preadiposit, postadiposit (obezite sırasında yağ hücresine dönüşen ve kilo kaybı ile yeniden eski hücre tipi olan fibroblast yerine adiposit olarak kalan hücreler), mezenkimal kökenli kök hücre, makrofaj, fibroblast, retikülosit, vasküler endotel hücreleri, mast hücreleri ve sinir sistemi elemanlarının da bulunduğu tespit edilmiştir. Yoshimura ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada intakt yağ



dokusunun %16 adiposit, %30 adipoz kökenli kök hücre, %15 endotel, %9 kan orjinli hücreler ve %30 diğer hücrelerden oluştuğu bildirilmiştir<sup>46</sup>.

Kök hücrelerin yağ dokusu içerisinde kan damarları çevresindeki perisitler olduğu veya fibroblastların bir alt grubu olabileceği şeklinde yorumlar mevcut olmakla birlikte henüz kökenleri net olarak tanımlanamamıştır. Son dönemde yağ dokusu içinde, adipositler arasında SSEA-3 (Stage specific embrionic antigen) olarak tanımlanan ve diğer adipoz kökenli kök hücrelerden farklı yeni multipotent master hücre kültürü keşfedilmiştir. Bu bilgi, biri yağ dokusu içinde lokalize ve sadece acil durumlarda aktive olan multipotent kök hücrelerin varlığını, diğeri ise kapillerler çevresinde yerleşen ve dokunun fizyolojik dönüşümünü düzenleyen progenitor hücrelerin varlığını ortaya koyması açısından önemlidir<sup>46</sup>.

Yağ doku kökenli kök hücreler, diğer endotel hücrelerinden, makrofajlardan ve periferik monositlerden minimum CD105, CD73 ve CD90 olmak üzere taşıdıkları farklı fakat stabil yüzey ayaçlarının varlığı ile ayrılırlar.

Kök hücrelerin doku onarımına katkıları özellikle doku yaralanmasının var olduğu durumlarda ortaya çıkar. Normalde sağlıklı doku içerisinde sessiz bulunan kök hücreler, yaralanma sonrası ortaya çıkan endokrin ve parakrin çağrılar (selektin, kemokrin, integrin etkileşimleriyle) sonucu dokulardan ve kemik iliğinden yaralanmış dokuya doğru göç eder. Kök hücreler, aldıkları sinyal mekanizmaların etkisi ile ortamdaki progenitor hücreleri çoğalma ve farklılaşmaya stimüle etmeleri yanı sıra salgıladıkları büyüme faktörleri ve mediyatörler yoluyla da anti-inflamatuar ve immun modülatuar etki gösterirler ve

matriksin yeniden şekillenmesine katkıda bulunurlar. Kök hücrelerin, transfer edildikleri ortamda bulunan hücre türlerinin yüzey işaretlerini sunabildikleri immünolojik boyama yöntemleri ve revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile gösterilmiştir. Fakat temelde etkilerine ortam hücrelerine dönüşerek mi yoksa parakrin fonksiyonlarıyla mı yaptıkları konusundaki tartışma halen devam etmektedir<sup>46</sup>.

Doku hasarının ilk gününde ortama, yaralanmış dokulardan ve aktive olan plateletlerden; temel fibroblast büyüme faktörü (basic fibroblast growth factor, bFGF), trombosit kökenli büyüme faktörü (platelet derived growth factor, PDGF), epidermal büyüme faktörü (epidermal growth factor, EGF), dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) ve tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) salınır. Yoshimura ve arkadaşlarının, yağ dokusunda iskemi ve reperfüzyon yaralanması ile ilgili yaptıkları deneysel çalışmada; yaralanmanın 1. gününde ortama salınan bFGF' e ve iskemiye cevap olarak, YDKKH' lerin, çoğalmakla kalmayıp aynı zamanda kuvvetli damarlanma stimülanı ve fibrogenesis inhibitörü olan hepatosit büyüme faktörü (hepatocyte growth factor, HGF) salgıladıkları tespit edilmiştir. Ortamdaki apoptotik endotel hücrelerinden salınan EGF' ün de kök hücrelerin anti-apoptotik cevabını arttırdığı gösterilmiştir. YDKKH'lerin ortamdaki büyüme faktörleri ve stimülanlara cevap olarak hem adipositlere hemde vasküler endotel hücrelere dönüştüğü düşünülmeyle birlikte, vasküler endotel hücrelerine dönüşüm deneysel çalışmalarda gösterilmiş fakat in vivo çalışmalarda nadiren tespit edilmiştir. Ayrıca, kök hücrelerin yaralanmış ortama infiltre olan lökositlerden salınan pro-

inflatuvar sitokinlerin (interleukin-1 $\beta$ ,IL-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  ve nitrik oksit sentaz salınımı azaltıp, anti-inflatuvar sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , IL-10, bFGF- $\beta$  ve antipitotik gen Bcl-2) salınımını arttırdığıda gözlenmiştir<sup>47</sup>.

Bu mediyatörler, özellikle TGF- $\beta$ , mezenkimal kök hücrelerin doku hasarı üzerindeki etkilerinin yönetilmesinde önemli rol oynar ve çevre yağ dokuda sessiz pozisyonda bulunan veya kemik iliğinden köken alan diğer kök hücreleri aktive ederek ortama çağırır. Yaralanmanın 2-4. (inflatuvar faz) günlerinde yağ dokusu içerisinde yerleşmiş mast hücreleri ve trombositler de diğer hücreler gibi TNF- $\alpha$ , VEGF, PDGF, TGF- $\beta$  salgılayarak iyileşmeye katkıda bulunur. Yaralanmanın 5-7. günlerinde (proliferasyon fazı) ise VEGF, HGF, IL-8 ve matriks metalloproteinaz-8(MMP-8) yara sıvısında arttığı gözlenmiştir. Kompanzatuvar proliferasyon olarak da adlandırılan bu dönemde yağ dokusu kökenli kök hücrelerin yeni yağ dokusu hücrelerini oluşturduğu gösterilmiştir<sup>47</sup>.

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

Kök hücrelerin bir diğer özelliği de insan lökosit antijenlerini (HLA-DR) eksprese etmemeleri ve allojenik, aktive olmuş lenfositleri (T reg) suprese

edebilmeleridir. YDKKH immünomodülatör özellikleri in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir.

Yağ doku kaynaklı kök hücreler direk yağ dokusunun eksizyonu ve parçalanması sonrası veya lipoaspirat materyallerinin kollajenaz ile enzimatik parçalanma sonrası santrifüj işlemlerinden geçirilme ve kültüre edilerek çoğaltılması ile elde edilir. Ullman ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada karın, uyluk, bel ve diz bölgelerinden elde edilen yağ dokularının transfer edildikleri alan açısından karşılaştırıldıklarında yaşayabilirlik oranları açısından istatistiksel fark bulunamamıştır. Bir diğer çalışmada ise karın bölgesi yüzeysel bölümünde (skarpa fasyası) yerleşmiş olan YDKKH' in apoptoza diğer anatomik bölgelerde yerleşen kök hücrelere nazaran daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir<sup>48</sup>.

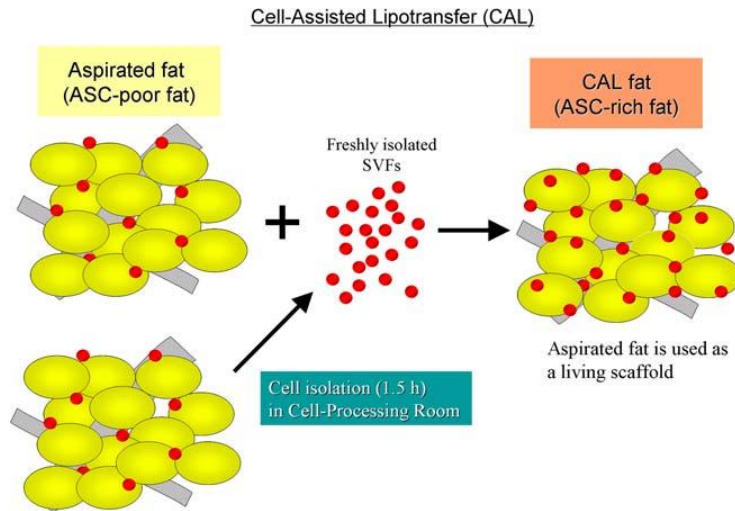
Deneysel amaçlı kullanımlar için kök hücrelerin kültür metodları standardize edilmiştir. Parçalanmış ya da lipoaspirat içinde bulunan yağ dokusu tüm kan ve fazla sıvılardan temizleninceye kadar fosfatlanmış serum fizyolojik ile yıkanır. Daha sonra bu yağ dokusu 37<sup>0</sup> C de 1 saat boyunca manyetik karıştırıcıda bekletilir ve hemen ardından Tip A kollajenaz, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), fetal inek serumu (Bovine Fetal Serum), streptomisin ve penisilin ilavesiyle enzimatik parçalanmaya bırakılır. Elde edilen materyal santrifüje edilir ve üst tarafta kalan bölüm atılır. Santrifüj tüpünün altta kalan hücre topluluğu stromal vasküler fraksiyon olarak bilinir ve içerisinde; eriroisit, fibroblast, perisit, endotel hücreleri, makrofajlar ve yağ dokudan köken alan kök hücreler bulunur. Bu hücre kümesi, kültür kaplarına atılır ve 37<sup>0</sup> C de %5 CO<sub>2</sub> ile inkübe

edilir. Kùltür kapları içindeki sıvılar günlük değiştirilir ve diğer hücrelerden farklı olarak kök hücreler plastik kùltür materyallerine yapıştıklarından birkaç gün içerisinde izolasyon ve çoğaltımları sağlanmış olur. Bu hücreler, özelleşmemiş kök hücreler olup, yeterli ekspansiyona ulaştıklarında tripsin ve EDTA kullanılarak ortamdan ayrılır, pasajları yapılarak deneysel veya klinik kullanıma hazır hale gelirler. Doku mühendisliği amacı ile kullanılmak istendiğinde YDKKH'lerin adipojenik farklılaşma potansiyellerini arttırmak amacıyla kùltür ortamına insülin, deksametazon, indometazin eklenirken, osteojenik potansiyellerini arttırmak için korbik asit ve gliserofosfat ilave edilir<sup>49</sup>.

Son dönemde deneysel ve klinik alanda yapılan çalışmalar, stromal vasküler fraksiyon içindeki kök hücre etkinliğinin saflaştırılmış ve kùltüre edilmiş kök hücrelere göre daha etkin ve daha güvenilir olduğunu göstermektedir. Chazenbalk ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada adipositlerin, adipoz kökenli makrofajlarla (CD14+/CD45+7CD206+) birlikte kùltüre edilmesi durumunda, adipositler ile makrofajlar arası parakrin etkileşimler sonucu preadiposit oluşumunu ve dokuda lipit birikiminin arttığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca Yoshimura ve arkadaşlarının yaptıkları prelinik ve klinik çalışmada, stromal vasküler fraksiyonu kullanarak zenginleştirdikleri yağ greftleriyle yaptıkları kozmetik amaçlı meme büyütme sonuçlarının daha iyi olduğu görülmüştür(şekil-16). Bu durum hücre yardımcı yağ transferi (cell-assisted lipotansfer) tanımının plastik cerrahi literatürüne girmesine yol açmıştır. Bu stratejinin geliştirilmesinin temelinde; transfer edilen yağ dokularının uzun dönemde %40-70 oranında atrofiye uğraması ve bunun teknik nedenler yanı sıra,

transfer edilen yağ doku içindeki kök hücre sayısının rölatif azlığından kaynaklandığı düşüncesi yatmaktadır. Bu uygulamayla, aspire edilen yağ doku materyali içindeki kök hücrelerin sayısının artırılması amaçlanmıştır. Çünkü kök hücrelerin büyük bir bölümünün verici sahadaki kan damarları çevresinde kaldığı ve lipospirata gelmediği, diğer bir bölümünün de lipoaspiratın sıvı bölümü içinde kaldığı düşünülmektedir<sup>50</sup>.

YDKK' ler transfer edildikleri alanda çoğalmaya devam eder ve multipotent özelleşme kapasitesine sahip olduklarından uygulandıkları alanda, alanın gereksinimlerine uygun şekilde uyum sağlayarak ihtiyaca cevap verirler. Plastik cerrahide YDKKH' ler sıklıkla stromal vasküler fraksiyon şeklinde veya izole edilmiş fakat kültüre edilmemiş hücreler olarak kullanılır. Kök hücrelerin elde edildiği bireyin yaşının, YDKKH yaşayabilirliği ve adipojenik potansiyeli üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir<sup>51</sup>.



Şekil-16:Hücre yardımcı yağ transferi (cosmeticmedicine.com)

Otolog yağ dokusu transplantasyonları, plastik cerrahide rekonstrüktif ve estetik amaçlı sıklıkla kullanılan bir uygulamadır. Son dönemlerde özellikle meme ve yüz bölgesine yağ grefti uygulamaları popülerite kazanmıştır. Bununla birlikte transplante edilen yağ dokusunun %40-70 oranlarında atrofiye uğraması ve sonucun belirsizliği nedeni ile tekrarlayan seanslara ihtiyaç duyulur. YDKKH' lere ihtiyaç tam da bu noktada ortaya çıkmaktadır. Matür kök hücrelerin dayanıklı olmaması ve özellikle hipoksiye olan duyarlılıklarının YDKKH' lere göre fazla olması nedeni ile, matür yağ dokusu kök hücrelerden zenginleştirilerek uygulanır. Yoshimura ve arkadaşlarının YDKKH' ler ile zenginleştirilmiş yağ transferi uyguladıkları klinik çalışmalarda, sonuçların klasik lipoenjeksiyona göre daha başarılı olduğu, yağ birikimini arttırdığı, seans sayısını azalttığı tespit edilmiştir. Tiryaki ve arkadaşları daha önce yağ grefti uygulanmış ama yeterli düzelme gözlenmeyen sekonder olgularda YDKKH ile zenginleştirilmiş yağ greftlemesinin daha başarılı sonuçlar verdiğini bildirmiştir<sup>52</sup>.

Kim ve arkadaşları, lipospirat yolu ile elde edilen YDKKH' leri kültür ortamında çoğalttıktan sonra deprese skarlı alanlara uygulamış ve bu bölgelerde hücrelerin matür adipositlere dönüştüğünü gözlemlemiştir. Bununla birlikte yayınlanan çalışmaların büyük bir bölümü kontrol grubu olmayan çalışmalardır ve YDKKH' lerin klinik potansiyeli hakkında hala belirsizlik devam etmektedir<sup>53</sup>.

YDKKH' lerin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştıran en dikkat çekici çalışma 2007 yılında Rigotti tarafından yayınlanmıştır. Liposuction sonrası santrifüj edilen ve saflaştırılan yağ dokusunun tekrarlayan seanslarla

radoterapiye bağlı hasarlanmış dokulara uygulanmasını takiben, radyasyon hasarlı dokunun iyileşmesi lipoaspirat içindeki kök hücrelere bağlanmıştır<sup>54</sup>.

Landeckel ve arkadaşları YDKKH' ler geniş travmatik kalvaryal defekti olan bir hastada kanselz kemik greftleri ile birlikte uygulamış ve postoperatif 3. ayda çekilen tomografik incelemelerde belirgin ossifikasyon tespit edilmiştir<sup>55</sup>.

2009 yılında Mesimaki ve arkadaşları geniş keratokist nedeni ile hemimaksillektomi uygulanan bir hastada YDKKH' leri ile trikalsiyum fosfat granüllerini titanyum mesh içinde prefabrike etmiş ve daha sonra elde edilen doku mikrovasküler flep olarak maksillaya nakledilmiştir. Doku biyopsilerinde kemiğin yeniden şekillendiği saptanmıştır. Son dönemde YDKKH' lerin neovaskülarizasyonu arttırarak random paternli fleplerin yaşayabilirliğini olumlu yönde etkilediğine dair yayınlar mevcuttur<sup>56</sup>.

Doku mühendisliği uygulamasının başarılı olabilmesi için kök hücreler ve bu hücrelerin yaşamlarını sürdürebilecekleri uygun üç boyutlu mikroçevre ve biyomoleküllere (sinyal sistemleri) ihtiyaç vardır. Bu nedenle seçilecek iskelet yapının kök hücrelerin ortama yapışabilme (adezyon) ve bütünleşmelerini sağlayabilmesi yanı sıra çoğalma ve farklılaşmalarına da imkan tanıyor olması gerekmektedir. Literatürde, kollajen mikro boncuklar, Tip 1 kollajen, hiyalüronik asit bazlı sünger yapılar, hücreden arındırılmış plasental matriks (placental decellular matrix), enjekte edilebilir polilaktik ve glikolik kürecikler, ipek çitosanın ( silk fibroin-chitosan scaffold), poliglikolik ve polipropilen doku mühendisliği amacıyla kullanılan biyomateryallerdir. Bununla birlikte, Tip 1



kollajen içeren süngerimsi matriks yapıların, poliglolik asit veya hiyaluronik asit bazlı gel matrikslere göre daha fazla yağ doku benzeri yapı oluşturabildiği bildirilmiştir<sup>57</sup>.

Kök hücrelerin üç boyutlu matrikslere tutunması sonrası bu yeni ortamda çoğalmaları ve istenilen tipte hücrelere dönüşebilmeleri ayrıca yeni damar dokularının oluşabilmesi, kök hücrelerle birlikte ortama eş zamanlı olarak uygulanan biyomoleküllerle de ilişkilidir. Son dönemde yapılan çalışmalar trombositten zengin plazmanın içerdiği yoğun büyüme faktörleri sayesinde YDKKH'lerin çoğalma ve parakrin fonksiyonları üzerinde olumlu etki yaptığını göstermektedir. Pickard ve arkadaşlarının biyomateryaller çevresinde oluşan biyofilm tabakasını kök hücreler kullanarak önlemeye yönelik yaptıkları bir çalışmada damar endoteli büyüme faktörlerinin (VEGF) YDKKH'ler ile birlikte uygulandığında kök hücrelerin poliüretan implant yüzeyine yapışabilirliklerini ve implantın çevre dokuya entegrasyonunu arttırdığını tespit etmiştir. Bu çalışmada plastik cerrahi açısından ilginç olabilecek bir başka sonuç daha ortaya çıkmıştır. YDKKH'lerin her ne kadar poliüretan ve poliyamid üzerindeki biyofilm tabakasının oluşumunu azaltıyor ve entegrasyonu arttırıyorsa da, silikon materyaller çevresine yapışmadıkları ve kapsül formasyonunu önlemeye katkıları olmadığı tespit edilmiştir<sup>58</sup>.

Literatürde YDKKH'lere doku mühendisliği uygulamalarında, hücrelerin çoğalma ve değişime uğrama veya damarlanmanın arttırılması amacıyla üzerinde çalışılan büyüme faktörleri; FGF2, PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, HGF, granülosit ve makrofaj koloni stimüle edici faktör, stroma kökenli faktör-1 $\alpha$  olarak sayılabilir<sup>57</sup>.

YDKKH' lerin dokuya infüzyonu sonrası takibinin sağlanabilmesi için çeşitli teknikler uygulanmaktadır. Dokuların histopatolojik olarak incelenmesi ile kök hücrelerin görüntülenmesi zorluklar içerdiğinden, in vivo çalışmalarda yeşil floresan protein (GFP) ile transfekte edilen ve floresans yayan hücrelerin dokularda takibi sık kullanılan yöntemlerden olmuştur. Diğer teknikler ise lusiferaz ile işaretlenerek biyoluminesans cihazı ile veya demir oksit nanopartikülleri ile hücrelerin işaretlenerek MR altında in vivo görüntülenmesidir<sup>58</sup>.

Mezenkimal kökenli kök hücrelerin kanser hücreleri üzerine etkileri ile ilgili yoğun şüpheler mevcuttur. YDKKH' lerin immunsupresif özellikleri ve yoğun anjiyojenik potansiyelleri nedeniyle tümör cerrahisi sonrası uygulanan rekonstrüksiyonlarda kanser gelişimini aktive edebileceği yönünde yayınların yanı sıra, YDKKH' lerin tümör supresif özellikleri olduğunu ileri süren yayınlarda mevcuttur. Altman ve arkadaşları deri altına meme kanseri implante edilmiş ratlara floresanla işaretlenmiş YDKKH' leri farklı şekillerde ( tümör hücresi ile beraber deri altına, uzak bir alanda deri altına, intravenöz, aselüler insan dermal matriksi içinde tümörden uzak alana) enjekte ettikleri ve tümör hacimlerini değerlendirdikleri deneysel çalışmada; YDKKH' lerin yara mikroçevresinde tutulduğu ve uzak alandaki tümör hücrelerin mikroçevresine katkıda bulunmadığı sonucuna varmıştır<sup>58</sup>.

## **2.6. Yağ Greftinin Klinik Uygulaması**

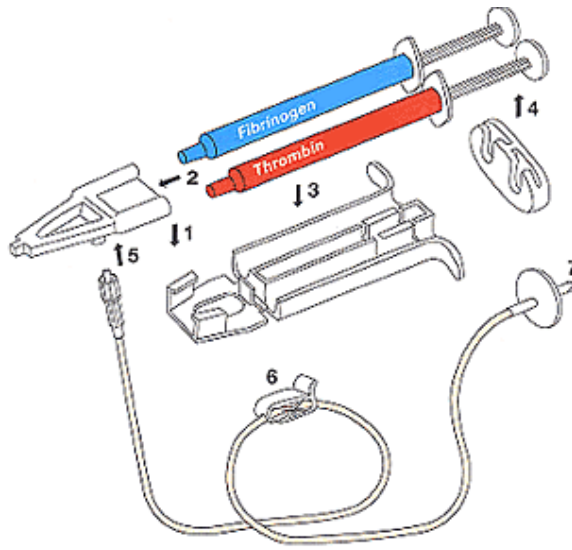
Yağ grefti ile ilgili artan tecrübe, ASC' nin keşfi, yanıklarda, skaralarda, estetik amaçlı olarak yüksek miktarda yağ enjeksiyonu yapmayı mümkün

kılmıştır. Meme büyütme amacı ile yağ enjeksiyonu eskiden beri bilinen bir prosedür olmasına rağmen yağ nekrozu, kist oluşumu ve enfeksiyon gibi sebepler kullanımı kısıtlamıştır. Ancak cell asisted lipotransfer metodunun kullanıma girmesi ile parsiyel mastektomi ve lumpektomi operasyonlarında yağ enjeksiyonunun başarı ile yapılmasına olanak sağlamıştır. Son zamanlarda meme rekonstrüksiyonu amacı ile yapılan fleplerin ve meme protezi düzensizliklerinin giderilmesi amacı ile kullanımı artmıştır. Ayrıca BRAVA cihazının kullanıma girmesi ile oluşturulan cilt ceplerinin doldurulmasında bu metod başarı ile kullanılmaktadır<sup>58</sup>.

Geniş yaralarda ve yanıklarda uygulanan yağ grefti iyileşmeyi hızlandırmakla kalmayıp dokunun son şekli üzerinede olumlu etki yapmaktadır. Yakın gelecekte bu bulgular ışığında saf ASC kültürleri oluşturulabilecek ve etki daha da artacaktır.

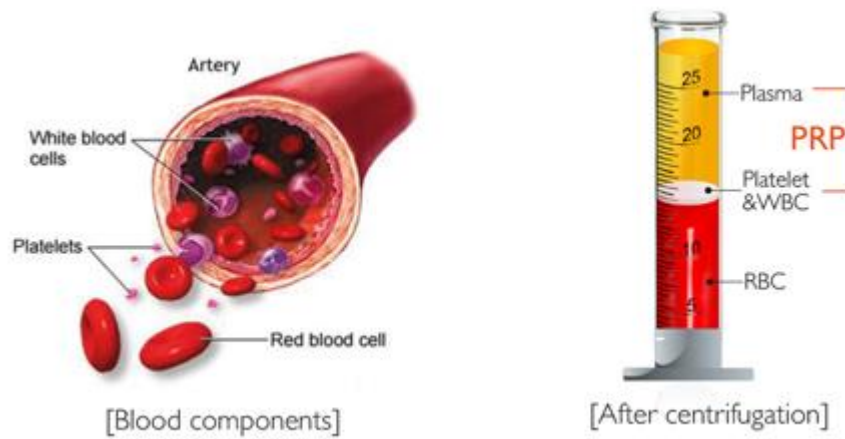
## **2.7. Yağ Grefti Sağkalımı Arttırma Teknikleri**

**Fibrin Glue:** Karaçal ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada fibrin glue uygulamanın fibroblast proliferasyonunu ve VEGF' nin lokal olarak arttırdığını bununda yağ dokusunda neovaskülarizasyonu arttırdığını tespit etmiştir. Çalışma grubunda sağ kalım  $79 \pm 4$  iken kontrol grubunda  $55 \pm 6$  olarak bulunmuştur<sup>59</sup>. (şekil-17)



Şekil-17:Fibrin glue (cslsurgery.com)

**Platelet Rich Plasma (PRP):** Shnichiro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PRP uygulamanın 30-120. günlerde rezorpsiyonu azalttığı, alınan biyopsilerde kontrol grubunda greftin etraf dokuya yapışık iken çalışma grubunda greftin yumuşak olduğu ve etraf dokulardan ayırt edilemediğini bulmuştur<sup>60</sup>. (şekil-18)



Şekil-18:Trombositten zengin plazma elde edilmesi (dizprp.com)

**Anti-TNF $\alpha$  Tedavisi:** Yang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada anti-TNF $\alpha$  tedavisinin verilmesinin sağkalımı arttırdığı ve çalışma grubunda apoptoza uğrayan hücre sayısının anlamlı oranda az olduğu tespit edilmiştir<sup>61</sup>.

**Botulinum Toksin A:** Baek ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada botulinum toksin A' nin ileri dönemde kontrol grubuna göre sağ kalımı anlamlı oranda arttırdığı tespit edilmiştir<sup>63</sup>.

**Epidermal Büyüme Faktörü (EGF):** Park ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada EGF' nin vaskülarizasyonu arttırdığı, hücre morfolojisinin kontrol grubuna göre korunduğu bulunmuştur. Sağ kalım anlamlı oranda yüksek bulunmuştur<sup>64</sup>.

**Beta Blokerler:** Ayhan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada selektif  $\beta_1$  blokerler, insülin ve salin ile kıyaslanmıştır. Çalışmada selektif  $\beta_1$  blokerlerin yağ greft sağ kalımını anlamlı oranda arttırdığı bulunmuştur<sup>65</sup>.

**Leptin:** Wang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada leptinin greft etrafındaki fibröz membranı ve hücre nekrozunu azalttığını bulmuştur. 10. 20. ve 40. günlerde yapılan biyopsilerde sağ kalımın kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur<sup>66</sup>.

**Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF):** Chang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada VEGF' ün alıcı sahada fibrozisi ve hücre nekrozunu azalttığı bulunmuştur<sup>67</sup>.

**Hyalüronik Asit:** Alghoul ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada hyalüronik asit verilen grupta hücre nekrozunun az olduğu, neovaskülarizasyonun daha iyi ve doku kaybının daha az olduğu tespit edilmiştir<sup>68</sup>.

**Prilokain ya da Lidokain + Epinefrin Uygulaması:** Livaoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ameliyat öncesi lokal anestetik olarak tek başına prilokain ya da epinefrin + lidokain uygulanmasının yağ grefti sağ kalımı üzerine olumsuz etki oluşturmadığı tespit edilmiştir<sup>69</sup>.

### **3. NİASİN (B3 VİTAMİNİ)**

#### **3.1. Tarihçe**

Pellegra (pelle:deri, agra:kaba), 12. yy' da tanımlanmış bir hastalık olmasına rağmen ilk defa İspanyol Don Gasper Casal tarafından 1735 yılında tarif edilmiştir. Bundan sonra 1771 yılında İtalyan Frapolli, B<sub>3</sub> vitamininin noksanlığından kaynaklanan cilt bozukluklarına İtalyanca pelle agra, kaba cilt anlamına gelen pellegra ismini koymuştur. Amerika kıtasının Avrupalılarca keşfinden ve Amerika' dan Avrupa'ya mısırın besin olarak gelmesinden sonra bu hastalık Avrupa' da belirmiş ve artmıştır. 19. yy' da kıtlıklar ve mısır ekiminin yayılması ile birlikte pellegra hastalığı da bütün Avrupa' ya yayılmıştır, 19. yy'da Avrupa' da nispeten azalırken Mısır ve diğer Kuzey Afrika ülkelerini ve daha sonra bütün Afrika' yı egemenliği altına almıştır. Sayısız çocuk ve erişkin pellegranın pençesine düşmüştür. ABD' de pellegra Kuzey-Güney Savaşı' ndan sonra artmıştır. ABD' nin güneyinde zenciler ve diğer yoksul halk arasında çok

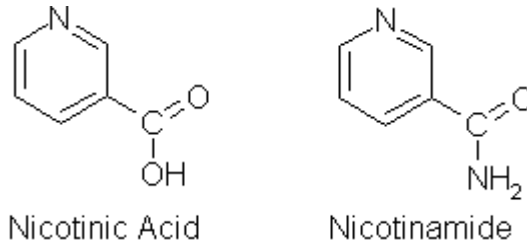
yaygın hale gelen hastalık, bulaşıcı bir hastalık olarak kabul edilmiştir. Konuyu incelemek ve bu salgın ile savaşmak için federal hükümet tarafından gönderilen Goldberg adlı bir hekim, düşkünler yurdunda barınan yoksulların günlük yemeklerine mısır ve mısır ürünleri dışında et ve sebze katınca hastalığın önlendiği ve düzeldiğini görerek bunun besinsel bir hastalık olduğunu belirtmiştir. Önceleri bu hastalığın protein eksikliği sonucu geliştiği düşünülse de daha sonra kaynamış maya özü ile de bu hastalığın düzeldiği gözlemlenerek ve o sırada vitaminlerle ilgili olarak başlayan yayınların da verdiği ilhamla bu hastalığın bir vitamin eksikliği hastalığı olabileceği tahmin edilmiştir. 1937 yılında Elvehjem ve arkadaşları köpeklerde pellegra eş değeri olarak oluşan karadil hastalığının karaciğerden elde edilen nikotinamid ile iyileştiğini ve nikotinamidin pellegrayı önleyen vitamin (pellegra preventive-pp vitamin) olduğunu bildirmiştir. Aslında nikotinamid daha 1987 yılında kimyagerler tarafından tütünün bilinen alkaloidin nikotini oksidasyonu ile elde edilmiştir. Ama ancak aradan 40 yıl geçtikten sonra insanlığın yaygın ve müzmin zehiri olan tütünün alkaloidinden elde edilen bu maddenin çok önemli bir vitamin olduğu anlaşılmıştır. Bu bilgi ve çabalara rağmen ABD’ de pellegra II.Dünya Savaşı’ na kadar azalmakla birlikte devam etmiştir. Bu dönemde ABD’ de artan refah ve yükselen işçi ücretleri sırf mısır ve mısır ürünleri ile beslenme adetini ortadan kaldırmış ve bununla birlikte pellegrada ortadan kalkmıştır. Günümüzde pellegra Afrika’ da sağlık sorunu olabilmektedir. Mısır’ da çok azalmış olmakla birlikte görülebilmekte, Sudan ve Tanzanya’ da rastlanılabilmektedir. Güney Afrika’ da Bantu yerlileri arasında oldukça yaygındır. Hindistan ve Pakistan’ ın bazı bölgelerinde oldukça yaygındır.

Bu bölgelerde başlıca besin kaynağı ya mısır ya da lösün amino asidi bakımından zengin jowar (sorghum vulgare)‘ dır<sup>70</sup>.

### 3.2. Kimyasal Yapısı

Nikotinik asit, piridin türevidir. Kimyasal olarak nikotin ile yakınlığı olmakla birlikte fizyolojik etkilerinin nikotin ile benzerliği yoktur. Suda çözünen beyaz kristal bir tozdur. Isıya ve ışığa dayanıklıdır. Aşağı yukarı en dayanıklı vitamin olduğu söylenebilir. Sentezi kolaydır. Nikotinik asit vücutta nikotinamid şeklinde bulunur, nikotinik aside niasin adı da verilir. Niasin adı ‘nikotinik asit vitamin ‘ tamlamasından gelir.

Niasin (nikotinik asit) piridin-3-karboksilik asittir. Niasinamid veya nikotinik asit amid de asit amiddir (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>). Molekül ağırlığı ; 123,11 g/mol ‘dür<sup>71</sup>. (şekil-19)



Şekil-19:Niasin prekürsörleri (harper’s biochemistry)

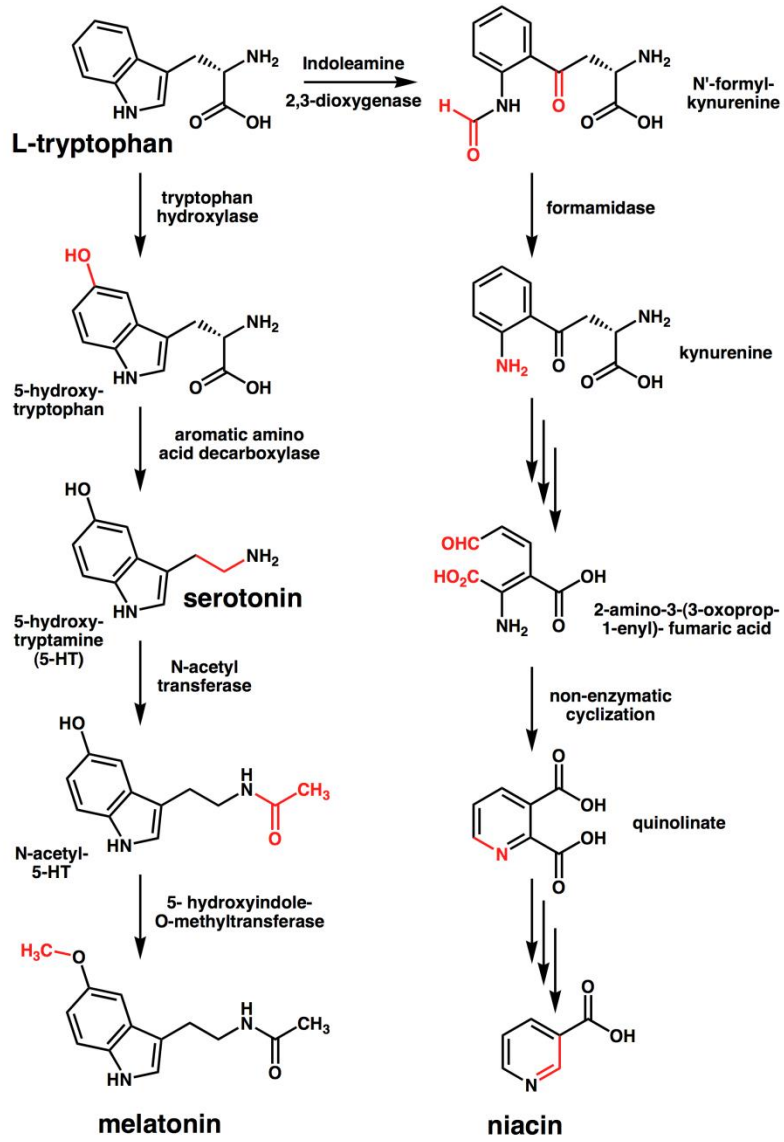
### 3.3. Fizyolojik Rolü

Nikotinamid, NAD (nikotinamid adenin dinükloitid) ve NADP (nikotinamid adenin dinükloitid fosfat)‘ in yapılarına girer. Böylece hücrelerin oksijeni kullanabilmesi için gerekli solunum enzimlerinin işlemlerini sağlar. Eksikliğinde deride ve gastrointestinal traktusta oluşan değişikliklerin tam

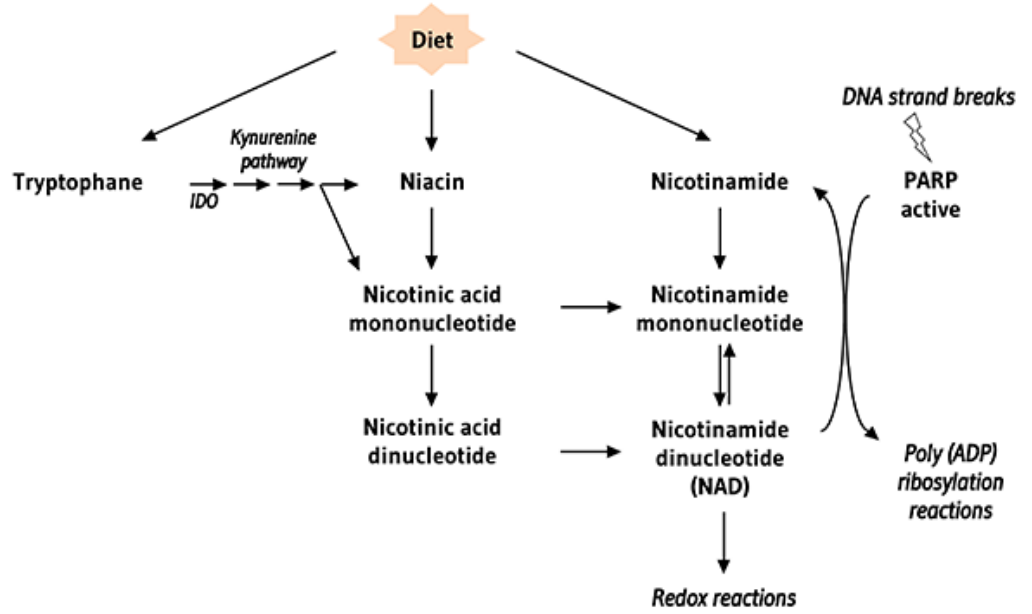


mekanizması aydınlatılmış değildir. Sentez ve yıkım şeklinde gösterilmiştir<sup>71</sup>.

(şekil-20 ve şekil-21)



Şekil-20 :Niasinin vücutta sentezi (Harper's biochemistry)



Şekil-21:Niasinin diyet ile alınması (Ipi.oregonstate)

### 3.4. Besinsel Kaynakları

Nikotik asit, besinlerde mevcut triptofan amino asidinden vücutta sentez edilebilir. Yiyeceklerde alınan 60 mg triptofandan 1 mg nikotik asit sentez edilebilmektedir. Bazı besinler eskiden beri pellegralı hastaların tedavisinde başarılı olmuştur. Fakat içlerinde nikotik asit miktarı azdır (süt ve yumurta gibi). Bunun nedeni bu besinlerin ribol triptofan amino asidi içermeleridir. Besinlerdeki nikotik asidin bir kısmı bağlı haldedir ve biyolojik değeri yoktur. Mısırdaki niasetin şeklinde bağlı olarak bulunan nikotik asidin, pişirmeden önce sodalı su gibi alkalilerde muamele edilmesi halinde serbest duruma geçebilir ve geleneksel olarak mısırı bu şekilde pişiren Meksikalı' larda pellegra görülmediği gözlenmiştir. Mısır, kebab mısır şeklinde kızgın külde pişirilirse nikotik asit

serbestleşebilir ve mısırı bu şekilde yiyen Arizona yerlilerinde de başlıca besin kaynağı mısır olan diğer insan topluluklarına göre pellegranın az görüldüğü bildirilmiştir. Ortalama batı tarzı ile beslenmede günlük alınan nikotinik asidin en az yarısı proteinlerdeki triptofan amino asidinden gelmektedir.

1967 yılında FAO ve WHO ortak komisyonu günlük diyetin 1000 kalorisi başına 6.6 mg nikotinik asit veya eşdeğeri triptofan içermesi gerektiğini belirtmiştir. Günlük gereksinimin 10-14 mg arasında olduğu ve bunun tümü triptofandan karşılanacaksa 600 mg civarında triptofan alınması gerektiği söylenebilir. Gebelikte triptofandan nikotinik aside dönüşüm artar. Östrojenler triptofan dioksijenaz enziminin faaliyetini arttırarak kinürenin yolunu hızlandırır. Ancak bu oranlar bol protein alındığı zaman geçerlidir. Kısıtlı protein alımı sırasında az miktarda aşılın triptofan organizma içinde diğer amaçlar için kullanılabilir<sup>71</sup>.

### **3.5. Eksikliği**

Nikotinik asit eksikliği, yetersiz beslenme sonucu gelişebileceği gibi, karsinoid tümör, izoniyazid tedavisi, Hartnup hastalığı gibi triptofan metabolizmasını etkileyen durumlar sonucu sekonder olarak da gelişebilir. Emilimi çok iyi olduğundan malabsorbsiyon sendromlarında eksikliği en az görülen vitamindir. Niasin eksikliğinde ışığa maruz kalan yerlerde daha ziyade cilt kısımlarında dermatit, mukozalarda eritemler, glossit, stomatit, ürogenital sistemde iltihaplar görülür. Zeka geriliği, bulantı-kusma da görülür. Karın ağrıları, kramplar en önemli yakınmalardır. Baş ağrıları, baş dönmeleri ve depresyonlar olur. Birçoğunda karaciğer yağlanmasına rastlanılır<sup>70</sup>.

Belirgin nikotink asit eksikligi sonucu gelisen tablo pellegra adıyla bilinir. Başlıca besin kaynağı mısır olan toplumlarda görüldüğü için mısır hastalığı adı ile de anılmıştır. Mısır hem az miktarda nikotink asit içerir, hem de mısırdaki nikotink asit bağlı durumdadır. Bir başka önemli noktada zein adlı mısır proteininin triptofan amino asidi bakımından zengin olmayışıdır. Bu şekilde hem alınan nikotnik asit yetersiz olur hem de triptofandan yeterli nikotink asit yapılamaz. Nikotink asit alımının kısıtlı olduğu durumlarda lösin amino asidini fazla içeren besinlerin alınışı da pellegraya yol açabilir. Çünkü lösin amino asidi hücreye girmek için triptofan amino asidi ile yarışır ve kısmen triptofan yetersizliği oluşur. Hindistan ‘da başlıca besini süpürge otu darısı (sorghum vulgare) olanlarda görülen pellegra lösin fazlalığına bağlanmıştır. Pellegrada şüphesiz diğer vitamin eksiklikleride görülür<sup>70</sup>.

Pellegranın klinik belirtileri üç ana sistemde yoğunlaşır : a) Deri belirtileri (dermatit), b) Gastrointestinal belirtiler (diare gibi), c) Sinir sistemi belirtileri (demans gibi). (şekil-22)

Deride ilk belirtiler güneş gören yerlerde güneş yanığı gibi bir eritem belirmesidir. Bu eritem plakları deriden hafifçe kabarık ve kaşıntılıdır. Ağır olgularda içi su dolu kabarcıklar (vezikül) ve kabuklar belirir, yaralar açılabilir. Uzun süren hafif olgularda bu kırmızı plakların yerini esmer pigmentasyon alır ve bu bölgelerde deri kuru ve kalındır. Eksikliğin endemik olduğu bazı Afrika bölgelerinde boyunda yakalık tarzında ve el sırtında, kollarda plaklar halinde derinin kuruyup kalınlaşması dikkati çeken tek belirti olabilir. Sindirim sistemi

belirtileri olarak hazımsızlık ve ishal görülebilir. İshal üç ana belirtiden biri sayılmakla birlikte (dermatit, daire, demans) bazen görülmeyebilir<sup>70</sup>.



Şekil-22:Pellegraya bağlı dermatit

Pellegra hastalığında başlıca semptomlara ağız kavitesinde rastlanır. Ağız mukozasında yanma hissi saptanır, dudak ve dilin yan kısmı kırmızı ve şiştir. Daha sonraki dönemlerde dilin üstü kırmızı ve şiş olarak tespit edilir devamında diş eti iltihabı diş etleri arasındaki papillalarda ülserler, tükürük bezlerinin büyümesi, tükürük salgısında artış gelir. Sinir sisteminde, ellerde tremor ve depresyon hali, irritasyon ve bazen delirium görülür. Ağır olgularda tam bir bunama (demans) tabloya egemen olabilir<sup>70</sup>.

Tüberküloz tedavisinde başlıca ilaçlardan birisi olan izoniyazit (izoniyazit-izonikotinic asit hidrazit) verilmesi sırasında nikotinic asit yetersizliği görülebilir. Özellikle hastaya ek olarak B<sub>6</sub> vitamini verilmiyorsa bu durum daha kolay belirir.

Alkoliklerde beslenme yetersizliğine bağlı olarak pellegra oldukça sık görülür ve genellikle diğer vitamin eksiklikleri ile beraberdir. Kronik böbrek yetersizliği olan olgularda uzun süre protein kısıtlaması yapılıyor ve ek olarak B grubu vitaminler verilmesi ihmal ediliyorsa sıklıkla pellegra hastalığı görülebilir<sup>70</sup>.

Karsinoid tümörlerde, argentaflin hücrelerden oluşan tümör aşırı serotonin üretir. Triptofan büyük ölçüde serotonin üretimine kaydığı için nikotinik asit eksikliği görülebilir. Hartnup Hastalığı denen doğuştan gelen bir hastalıkta barsaklarda ve böbrek tubulus hücrelerinde triptofanın taşınmasında bir kusur vardır. Triptofan hem emilemez hem de böbrekten kaybedilir. Pellegra ortaya çıkar ve pellegraya ait belirtiler nikotinik asit tedavisine tam cevap verir<sup>71</sup>.

### **3.6. Tedavide Kullanımı**

Primer ve sekonder pellegranın tedavisinde (Hartnup hastalığı dahil) başlıca tedavi amacı, B<sub>3</sub> vitaminin verilmesidir. Nikotinik asit yüksek dozda verilirse geçici vazodilatör etkisi nedeni ile yüzde, boyunda, avuç içinde yanma ve karıncalanma hissi olabilir. Doğrudan nikotinik asit amid verilirse bu etki görülmez. Genellikle dört saatte bir 100 mg'lık tablet verilir ve pellegra belirtileri günler içinde silinir. Diğer vitamin eksikliklerininde olması sıklıkla muhtemel olduğundan genellikle yanına multivitamin katılarak verilir. Hasta iyileştikten sonra diyeti ile ilgili düzenlemeler yapılır ve hasta eğitilir. Son zamanlarda triptofan bakımından iki misli, lizin bakımından üç misli zengin olan ‘’opaque 2’’ mısırın geleneksel mısır yerine geçilmesi için çaba gösterilmektedir<sup>70</sup>.

Nikotinik asit, vazodilatasyon yapıcı etkisi ile arter yetersizliklerinde de kullanılmıştır. Etkisi hemen sadece deri damarlarıdır; bu bakımdan serebral,

koroner ve hatta periferik arter rahatsızlıklarında faydası yoktur. Nikotik asit (niasin) yağ hücrelerinde lipolizi azaltır, bu hücrelerden kana serbest yağ asitleri verilmesini engeller. Yüksek dozda verilirse kanda daha düşük ve çok düşük dansiteli (sırasıyla LDL ve VLDL) lipoprotein miktarını azaltır. Hiperlipemi hallerinde bu etkisinden yararlanmak amacı ile kullanılır. Tedavide günde 4 defa 50 mg ile başlanabilir ve 2-3 hafta içinde doz günde 3 defa 1'er grama yükseltilir. Faydalı etki bu yüksek dozda belirgin olur. Kolesteramin ile birlikte kullanılıncak hiperkolesterolemide oldukça etkili sonuç verir. Ancak yan etki sıktır. Vazodilatasyon etkisi ile hastada sıkıntılı anlar yaşanabilir, mide şikayetlerinede neden olabilir. Karaciğer için zararlı etki gösterebilir. Kanda ürik asit seviyesi artabilir. Şizofrenide ve zeka geriliklerinde denenmiş ama hiçbir fayda sağlanamıştır<sup>72</sup>.

#### **4. GEREÇ VE YÖNTEMLER**

Bu çalışma, G.Ü.ET-15.045 kod numarası ile Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı almıştır. Çalışma, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) gerçekleştirildi. Çalışmada ortalama ağırlıkları 300±25 gram olan Long Evans cinsi dişi sıçan kullanıldı. Toplamda altı (6) grup, her grupta altışar (6) adet sıçan bulunmakta olup otuz altı (36) adet sıçan kullanılmıştır.

#### **4.1. Gruplar ve Açıklama**

İki (2) ana grup ve üçer (3) alt grup olmak üzere toplamda 6 grup bulunmaktadır;

##### **A- 15. gün sağkalım çalışması değerlendirilmesi**

**1: (Kontrol grubu):** Standart teknik ile yağ grefti uygulandı. (n=6)

**2: (Deney grubu):** Standart teknik ile yağ grefti uygulamasından sonra günde tek doz olarak oral yoldan 780 mg/kg dozunda niacin (B<sub>3</sub> vitamini) 15 gün süre ile verildi<sup>73</sup>. (n=6)

##### **B- 30. gün sağkalım çalışması değerlendirilmesi**

**3: (Kontrol grubu):** Standart teknik ile yağ grefti uygulandı. (n=6)

**4: (Deney grubu):** Standart teknik ile yağ grefti uygulamasından sonra günde tek doz olarak oral yoldan 780 mg/kg dozunda niacin (B<sub>3</sub> vitamini) 30 gün süre ile verildi<sup>73</sup>. (n=6)

##### **C- 60. gün sağkalım çalışması değerlendirilmesi**

**5: (Kontrol grubu):** Standart teknik ile yağ grefti uygulandı. (n=6)

**6: (Deney grubu):** Standart teknik ile yağ grefti uygulamasından sonra günde tek doz olarak oral yoldan 780 mg/kg dozunda niacin (B<sub>3</sub> vitamini) 60 gün süre ile verildi<sup>73</sup>. (n=6) (Tablo-1)



<b>GRUP</b>	<b>KONTROL</b>	<b>DENEY</b>	<b>SAKRİFİYE EDİLDİĞİ GÜN</b>
<b>1</b>	+	-	<b>15. GÜN</b>
<b>2</b>	-	+	<b>15.GÜN</b>
<b>3</b>	+	-	<b>30.GÜN</b>
<b>4</b>	-	+	<b>30.GÜN</b>
<b>5</b>	+	-	<b>60.GÜN</b>
<b>6</b>	-	+	<b>60.GÜN</b>

**Tablo-1:Gruplar ve işlem zamanı**

Yağ grefti kayanağı olarak sıçanların inguinal bölgeleri kullanıldı. Alıcı saha ise sıçanın ense bölgesi olarak belirlendi. Ensedede standart cep açıldı ve panniculus carnosus tabakasına greftler yerleştirildi. Greftler tek parça olarak transfer edildi. Inguinal bölgeden alınan greftler salin ile yıkandıktan sonra ensede oluşturulan cebe yerleştirildi. Kontrol gruplarına (1, 3, 5) hiçbir uygulama yapılmadı. 2. gruptaki sıçanlara greft uygulamasından itibaren oral yoldan 780 mg/kg dozda niacin (B<sub>3</sub> vitamini) 15 gün süresince verildi ve 15. günde 1. ve 2. gruptaki sıçanlar sakrifiye edildi. 4. gruptaki sıçanlara greft uygulamasından itibaren oral yoldan 780 mg/kg niacin (B<sub>3</sub> vitamini) 30 gün süre ile verildi ve 30. günde 3. ve 4. gruptaki sıçanlar sakrifiye edildi. 6. gruptaki sıçanlara greft uygulamasından itibaren oral yoldan 780 mg/kg niacin (B<sub>3</sub> vitamini) 60 gün süre ile uygulandı ve 60. günde 5. ve 6. gruptaki sıçanlar sakrifiye edildi. Sakrifiye edildikten sonra her gruptaki greftlerin makroskobik, volümetrik ve histolojik değerlendirmeleri yapıldı<sup>74</sup>.

## 4.2. NİASİN (B3 VİTAMİNİ) TEDAVİSİ

2. 4. ve 6. gruptaki sıçanlara 780 mg/kg dozunda niasin (GNC Niacin 500 mg dietary supplement) serum fizyolojik içinde oral yoldan gavaj yöntemi ile uygulandı. Niasin her grupta greft uygulandığı zaman ile başlanarak günde tek doz olarak sakrifasyon zamanına kadar uygulandı<sup>73</sup>. (şekil-23)

## 4.3. Cerrahi Yöntem

### 4.3.1 Yağ Greftlerinin Elde Edilmesi:

Sıçanların, 45 mg/kg Ketamin HCl ve 5 mg/kg Xylazin intramüsküler enjeksiyon ile uygun anestezileri sağlandı. Ardından ense ve kasık bölgeleri



Şekil-23:Niacin tablet

traşlandı. Sıçanlar öncelikle sırt üstü pozisyonda her iki kol ve bacaklarından tespit edildi. Uygun saha temizliği ve örtmeyi takiben kasıkta inguinal ligamana paralel deri kesisi yapıldı. Deri kesisi sonrası adipofasyal yastıkçığa ulaşıldı ve

çevre dokudan diseke edildi. Yağ yastıkçığına giden epigastrik damarlar bağlandı.  
(şekil-24)



**Şekil-24:Greftin elde edilmesi**

Elde edilen yağlar bekletilmeden hacimler, su taşırma yöntemi ile ölçüldü. Hacimleri dik duran ve içinde 1 mL serum fizyolojik sıvı bulunan 2,5 mL' lik enjektörler ile kurulan düzenekte ölçüldü. Kasık bölgesinde açılan insizyonlar 4/0 absorbe olabilen suture ile dikildi.

#### **4.3.2. Yağ Greftinin Alıcı Sahaya Transferi**

Dikiş işlemi sonrası yüzüstü çevrilen sıçanların ense bölgesine uygun saha temizliği ve örtünmeyi takiben horizontal insizyonla girildi. Bu bölgede cilt altı planda panniculus carnosus tabakasının altında cep açıldı. Standardize edilmek üzere dairesel kesilmiş 2x2 cm boyutunda steril bir plastik kullanıldı. Takiben hazırlanmış ve ölçümleri yapılmış yağ grefti tek parça halinde hazırlanan cep içerisine yerleştirildi. Açılan insizyon 4/0 absorbe olabilen suture ile dikildi. Daha sonra sıçanların uygun koşullarda bakım ve beslenmesi sağlandı. (şekil-25)



Şekil-25:Alıcı sahaya greftin yerleştirilmesi

#### 4.3.3. Doku Örneklerinin Elde Edilmesi

1., ve 2. gruptaki sıçanlar 15 gün yaşatıldıktan sonra 45 mg/kg Ketamin HCl ve 5 mg/kg Xylazin intramüsküler enjeksiyonu sonrası sakrifiye edildi. Ense bölgeleri traş edildi ve yüzüstü tespit edildi. Yağ grefti uygulanırken eski insizyon yerinden tekrar insizyon yapıldı. Cilt diseke edildi ve nakledilen yağlara ulaşıldı. Çevre bağ dokusundan uzaklaştırılarak hacim ve ağırlıkları ölçüldü ve histolojik incelemeler yapılmak üzere %10' luk nötral formol içine yerleştirildi. 3. ve 4. gruba aynı işlem 30. gün, 5. ve 6. gruba ise aynı işlem 60. günde yapıldı<sup>74</sup>.

#### 4.4. Histolojik Yöntem

Yağ pakelerine ait tüm doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak % 10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespit işleminden sonra doku örnekleri transversal olarak kesilerek bir süre daha tespit olmaları sağlandı.

Kasetlere konularak akar su altında 24 saat süresince yıkandı. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan derecelerde alkol serilerinden ( %70, %80, %90, %100) geçirildiler. Sonrasında dokular parlatılmaları amacıyla ksilolden geçirildi ve ardından erimiş parafine gömüldüler. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4-5 mikron kalınlığındaki kesitlere tüm gruplar için Hematoksilen-Eozin boyaması ve Masson'un Üçlü Boyaması uygulandı. Kesitler Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve resimleri çekildi.

Hematoksilen-Eozin boyama ile yapılan değerlendirmeler sonucunda Dejenerasyon Kriterleri tablosu oluşturuldu ve bu tablo için “ 0 = Hiç Yok, 1 = Zayıf, 2 = Zayıf Orta, 3 = Orta, 4=Yoğun, 5=Çok Yoğun” sayısal veriler olarak kabul edildi.

Dokuda tüm alan büyüklüğünün sayısal değerlendirilmesinin yapılabilmesi adına, 1.25x'lik objektif kullanılarak tüm alanda, her grup ve her denek için 6 ayrı bölge ölçümü yapıldı, istatistik uygulaması için veriler oluşturuldu.

#### **4.4.1. Masson'un Üçlü Boyası Boyama Yöntemi**

Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 30 dakika bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (%100, %96, %80, %70, %50) havada kurutuldu. 10 dakika süresince distile suda yıkandılar ve GBL Masson's Trikrom Kiti ile boyandılar. Boyama aşamasında 5 damla A (Weigert

Demirli Hematoksilen-A) ve 5 damla B (Weigert Demirli Hematoksilen-B) çözeltilisinde 10 dakika bekletildikten sonra lamalar silkelendi ve 30-60 dakika kadar oda ısısında bekletildi. Süre sonunda lamalar yıkanmadan 10 damla C (Pikrik Asit) çözeltilisinde 4 dakika süresince bekletildi. 3-4 sn distile su ile yıkandıktan sonra 10 damla D (Gelincik Kızılı Fuksin) çözeltisi ile 4 dakika muamele edildi ve dokular tekrar 3-4 sn distile suda yıkandı. 10 damla E (Fosfomolibdik Asit) çözeltilisinde 10 dakika bekletildikten sonra lamalar yıkanmadan 10 damla F (Masson Anilin Mavisi) çözeltilisine 5 dakika süresince alındı ve tekrar distile suda yıkandıktan sonra son olarak artan alkol serilerinden geçirildi ve ksilol'de tutularak, entellanla kapatıldı.

#### **4.5. İstatistiksel Yöntem**

Değerlendirilen bütün parametrelerden elde edilen verilerin istatistiksel incelemesi için SPSS for Windows v15.0 programından (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago,IL) faydalanıldı. Tüm verilerin ortalama, ortanca, minimum, maksimum ve standart sapmaları hesaplandı. Verilerin karşılaştırılmasında bağımsız değişkenler için Mann Whitney-U testi ve Kruskal Wallis varyans analizi, bağımlı değişkenler için Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanılmıştır. Değerlendirmede  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

## 5. BULGULAR

### 5.1. Makroskopik Bulgular

Grup 1 ve 2' de toplam 12 sıçan 15 gün, grup 3 ve 4' te toplam 12 sıçan 30 gün, grup 5 ve 6' da toplam 12 sıçan 60 gün süre ile uygun koşullarda takip edildikten sonra sakrifiye edildi. Otokanibalizme bağlı inguinal bölgede postoperatif ikinci, dördüncü ve beşinci günlerde yara açılmaları görüldü. Yara yerleri debride edilerek primer onarıldı. Hiçbir denekte ensede abse, enfeksiyon, nekroz, hematoma veya seroma gibi bir komplikasyon görülmedi. Çalışma boyunca hiçbir hayvanda kayıp gözlenmedi.

Bütün deneklerin işlem öncesi ağırlıkları kaydedildi ve daha sonra sakrifiye edildikleri günler tekrar ölçüldü. Deneklerin işlem öncesi  $300 \pm 25$  gr olan ortalama ağırlık değerleri işlem sonrası  $293 \pm 20$  gr olarak ölçüldü. İşlem sonrası ağırlıklar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

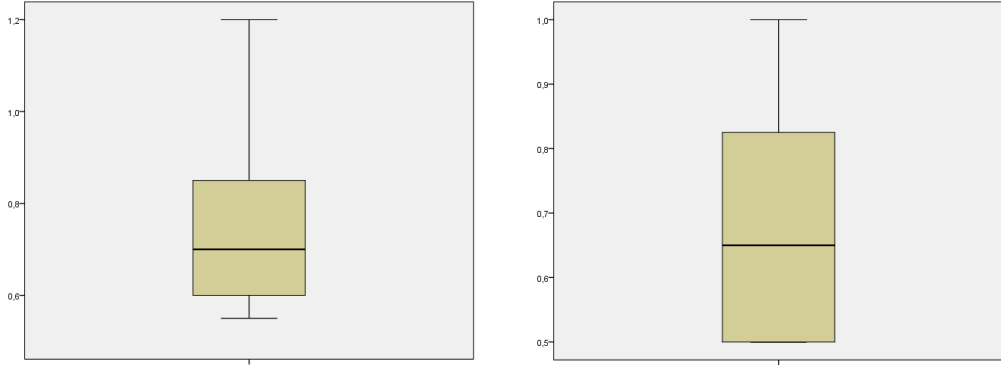
Yağ greftleri, daha önce yapılan insizyondan girilerek çevre dokudan dikkatlice diseke edilerek çıkarıldı. Daha sonra su taşıma yöntemi ile hacimleri ölçüldü. Hacim farkları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Grup 1 (kontrol grubu)' de 6 adet sıçan Grup 2 (deney grubu)' de 6 adet olmak üzere toplam 12 adet sıçan 15.günde sakrifiye edildi. Grup 1(kontrol grubu)' de işlem öncesi  $0,78 \pm 0,18$  cc olan ortalama hacim 15. günde  $0,74 \pm 0,2$  cc olarak hesaplandı. Grup 1' de işlem öncesi ve sonrasına göre hacimlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı( $p>0,05$ ) (Tablo-2, Şekil-26). Grup 2 (deney grubu)' de işlem öncesi  $0,58 \pm 0,11$  cc olan ortalama hacim 15. günde  $0,75 \pm 0,22$  cc olarak hesaplandı. Grup 2' de işlem öncesi ve sonrasına göre hacimsel

olarak meydana gelen artış istatistiksel olarak anlamlı saptandı( $p<0,05$ ).Grup 1 ve 2 kendi içinde kıyaslandığında hacimsel olarak anlamlı fark saptanmadı( $p>0.05$ ). (Tablo-2,Şekil-26)

15.Gün	Kontrol Grubu(cc)		15.Gün	Deney Grubu(cc)	
Grup 1	Önce	Sonra	Grup 2	Önce	Sonra
1	0,95	1	1	0,8	1,2
2	0,85	1	2	0,5	0,7
3	0,5	0,6	3	0,6	0,7
4	0,7	0,7	4	0,5	0,6
5	1	0,6	5	0,5	0,6
6	0,7	0,55	6	0,6	0,7

Tablo-2:15.gün grubu işlem öncesi ve sonrası hacim değerleri



Şekil-26: Sağ; İşlem öncesi hacim kıyaslaması. Sol; işlem sonrası hacim kıyaslaması

Grup 3 (kontrol grubu) ‘ te 6 adet sıçan grup 4 (deney grubu)’ te 6 adet olmak üzere toplam 12 adet sıçan 30. günde sakrifiye edildi. Grup 3 (kontrol grubu)’ te işlem öncesi  $0,71 \pm 0.14$  cc olan ortalama hacim 30. günde  $0.42 \pm 0.15$  cc olarak hesaplandı. Grup 3’ te işlem öncesi ve sonrasına göre hacimsel olarak



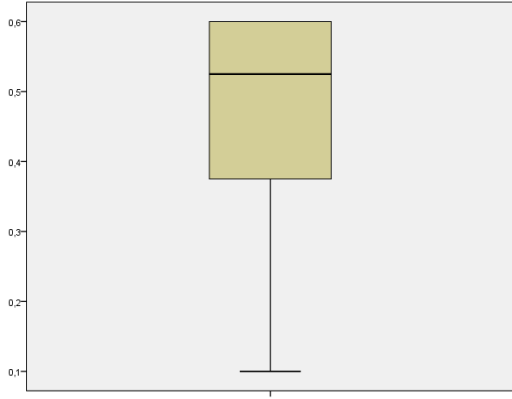
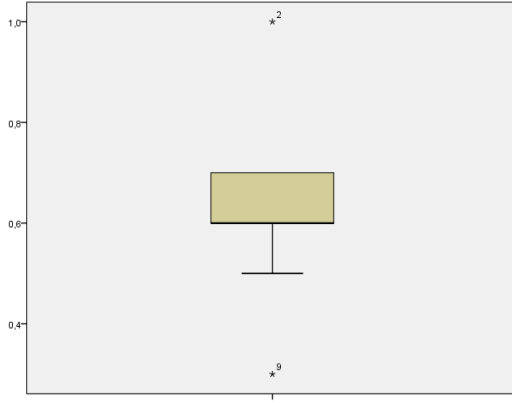
meydana gelen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). (Tablo-3, Şekil-27)

30.Gün		Kontrol Grubu(cc)		30.Gün		Deney Grubu(cc)		
Denek no	Önce	Sonra	Denek no	Önce	Sonra	Denek no	Önce	Sonra
1	0,7	0,6	1	0,6	0,3	1	0,6	0,3
2	1	0,2	2	0,6	0,6	2	0,6	0,6
3	0,7	0,35	3	0,3	0,1	3	0,3	0,1
4	0,6	0,4	4	0,7	0,6	4	0,7	0,6
5	0,6	0,6	5	0,6	0,5	5	0,6	0,5
6	0,7	0,4	6	0,5	0,55	6	0,5	0,55

Tablo-3:30.gün grubu işlem öncesi ve sonrası hacim değerleri

Grup 4 (deney grubu)' te işlem öncesi  $0,55 \pm 0,13$  cc olan ortalama hacim 30. günde  $0,49 \pm 0,19$  cc olarak hesaplandı. Grup 4' te işlem öncesi ve sonrasına göre hacimsel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Grup 3 ve 4 kendi içinde kıyaslandığında hacimsel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0,05$ ). (Tablo-3, Şekil-27)

Grup 5 (kontrol grubu)' te 6 adet, grup 6 (deney grubu)' da 6 adet olmak üzere toplam 12 adet sıçan 60.günde sakrifiye edildi. Grup 5 (kontrol grubu)' te işlem öncesi  $0,77 \pm 0,14$  cc olan ortalama hacim 60. günde  $0,25 \pm 0,11$  cc olarak hesaplandı. Grup 5' te işlem öncesi ve sonrasına göre meydana gelen hacimsel azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). (Tablo-4, Şekil-28)

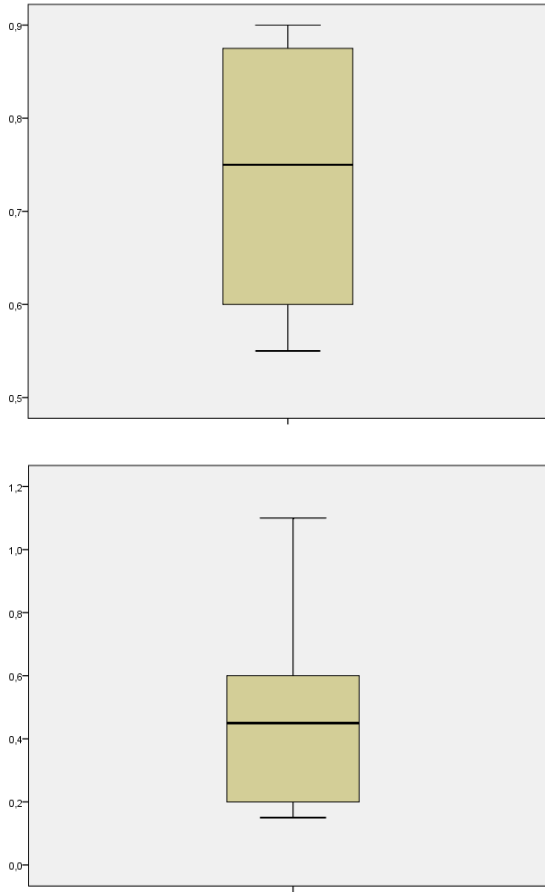


Şekil-27:Üst;İşlem öncesi hacim kıyaslaması.Alt;işlem sonrası hacim kıyaslaması

60.Gün		Kontrol Grubu(cc)		60.Gün		Deney Grubu(cc)		
Denek no	Önce	Sonra	Denek no	Önce	Sonra	Denek no	Önce	Sonra
1	0,9	0,2	1	0,55	0,5			
2	0,6	0,4	2	0,7	0,5			
3	0,6	0,2	3	0,9	1,1			
4	0,85	0,15	4	0,6	0,5			
5	0,8	0,4	5	0,6	0,7			
6	0,9	0,2	6	0,8	0,7			

Tablo-4:60.gün grubu işlem öncesi ve sonrası hacim değerleri

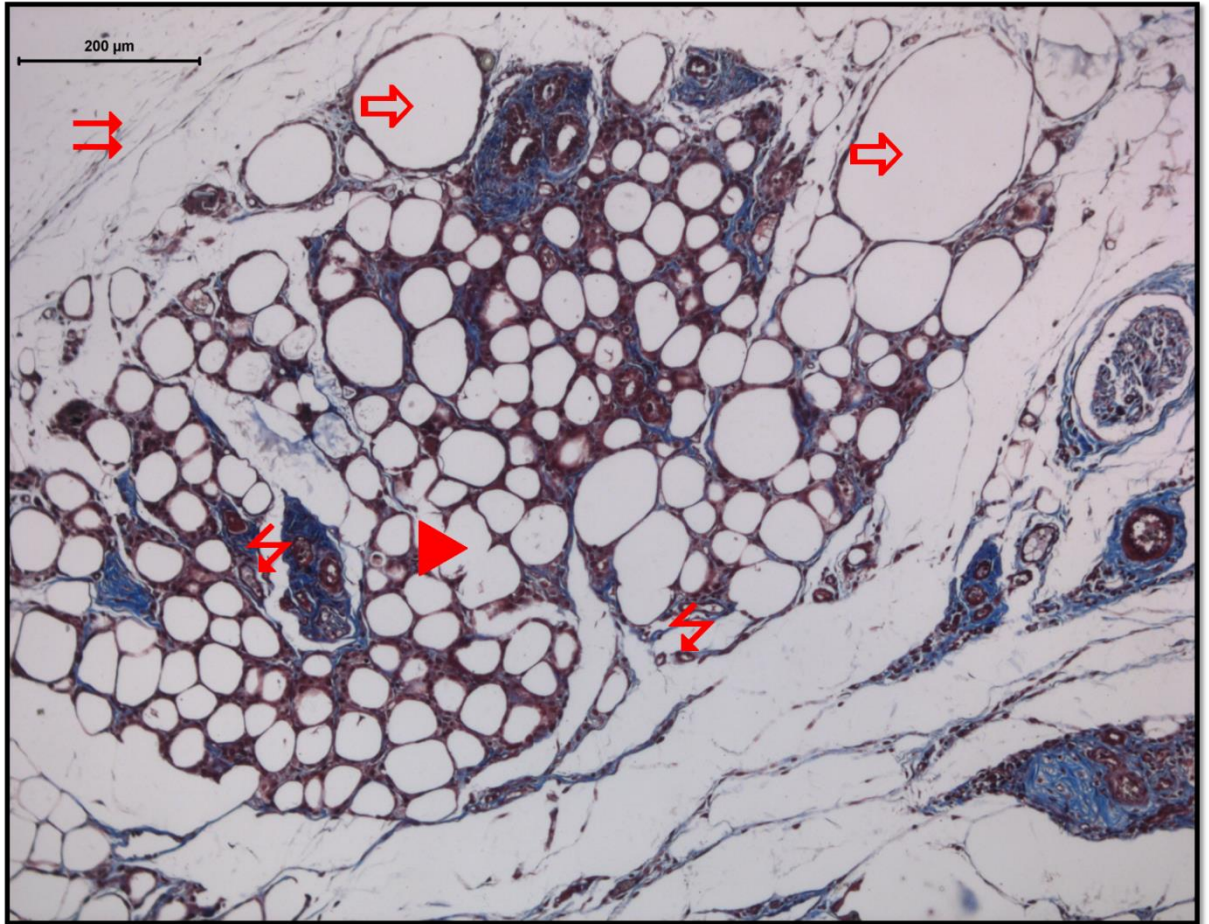
Grup 6 (deney grubu)' da işlem öncesi  $0,69 \pm 0,13$  cc olan ortalama hacim 60. günde  $0,66 \pm 0,23$  cc olarak hesaplandı. Grup 6' da işlem öncesi ve sonrasına göre hacimsel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Grup 5 ve 6 kendi içinde kıyaslandığında hacimsel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0,05$ ). (Tablo-4, Şekil-28)



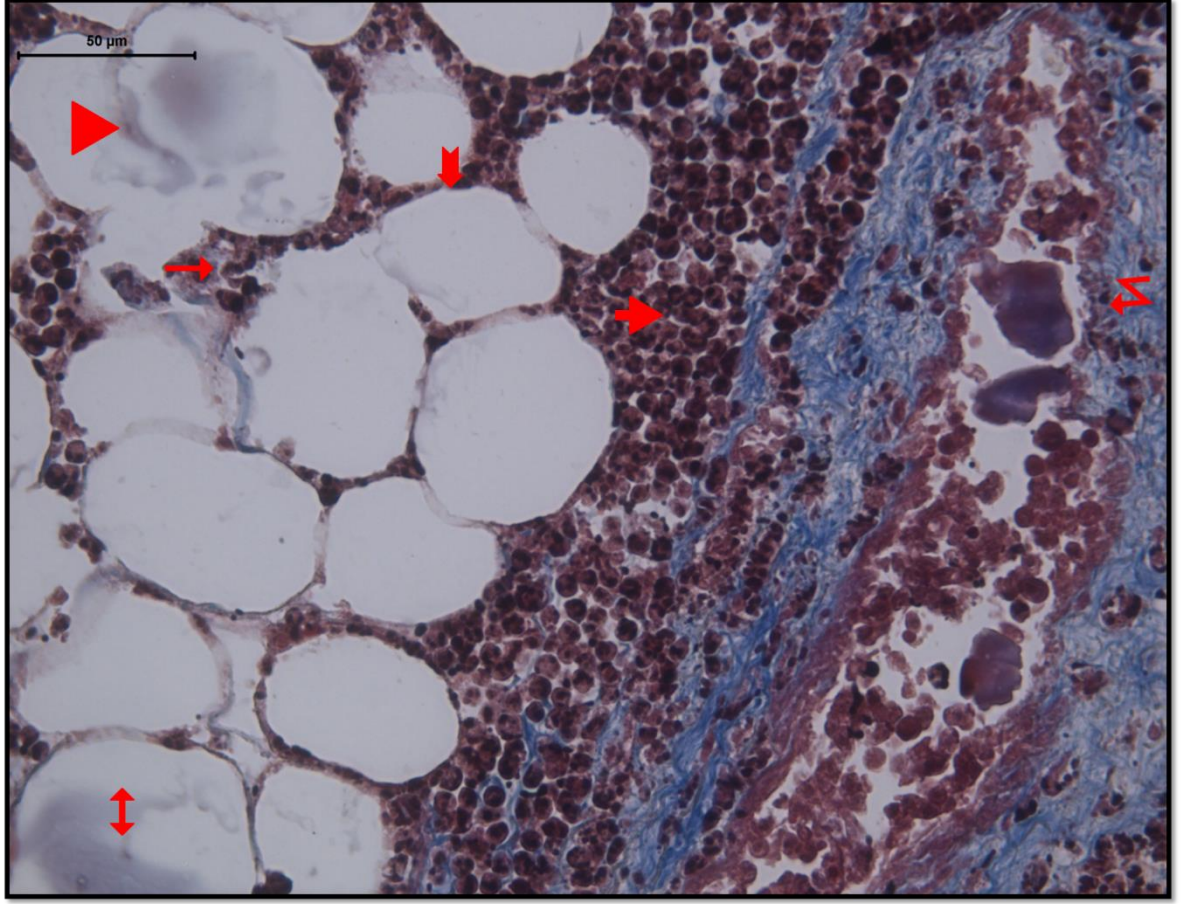
Şekil-28:Üst;İşlem öncesi hacim kıyaslaması.Alt;işlem sonrası hacim kıyaslaması

## 5.2. Histolojik Bulgular

Masson'un üçlü boyaması ile yapılan değerlendirmelerde; vitamin verilmeksizin, sadece yağ greft uygulaması yapılan ve 15. gün sakrifiye edilen kontrol grubunda adipositler arası bağ dokuda az miktarda lenfosit infiltrasyonu, bazı adipositlerde şekil bozukluğu ve çevre bağ doku ile ara bağ dokuda artış görüldü. Adipositlerin yer yer birbirleri ile birleşerek, adipositler arasında füzyon meydana geldiği ve sonuçta dev yağ hücrelerinin şekillendiği izlendi. İntersellüler alanda az miktarda miyelin figür oluşumu dikkati çekerken, ara ve çevre bağ dokuda az sayıda damar izlendi. (Şekil-29 ve 30)



Şekil-29:15 gün kontrol grubu küçük büyültmeli incelemelerde ⇨: Çevre bağ doku, ▶: Adiposit füzyonu, ⇨: Dev adiposit ve ⇨: Damar izleniyor (Masson's Trikrom x100).

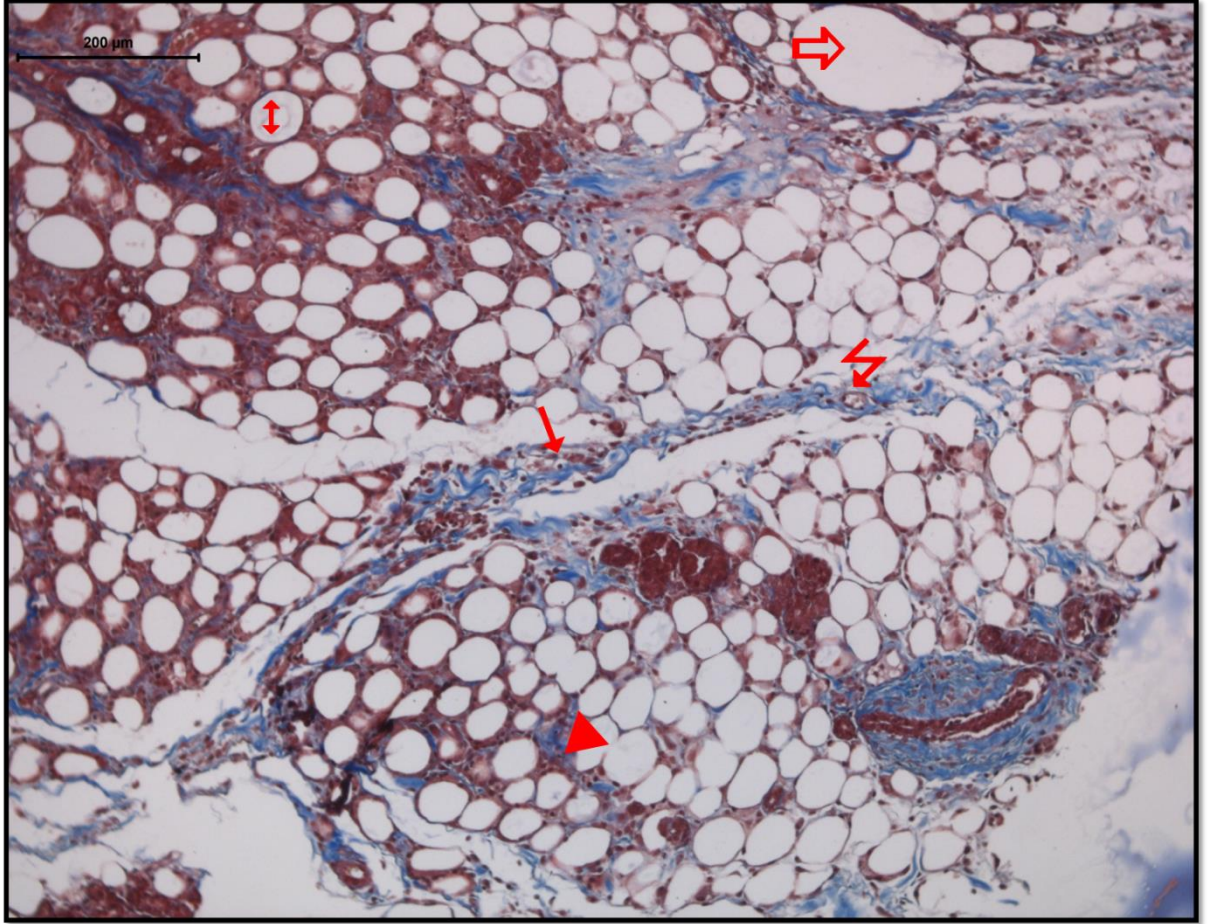


Şekil-30: 15 gün kontrol grubu büyük büyültmeli incelemelerde ➤: Lenfosit infiltrasyonu, ⇄: Adipositlerde şekil bozukluğu, →: Ara bağ doku, ▶: Adiposit füzyonu, †: Miyelin figür oluşumu ve ⚡: Damar görülüyor (Masson's Trikrom x400).

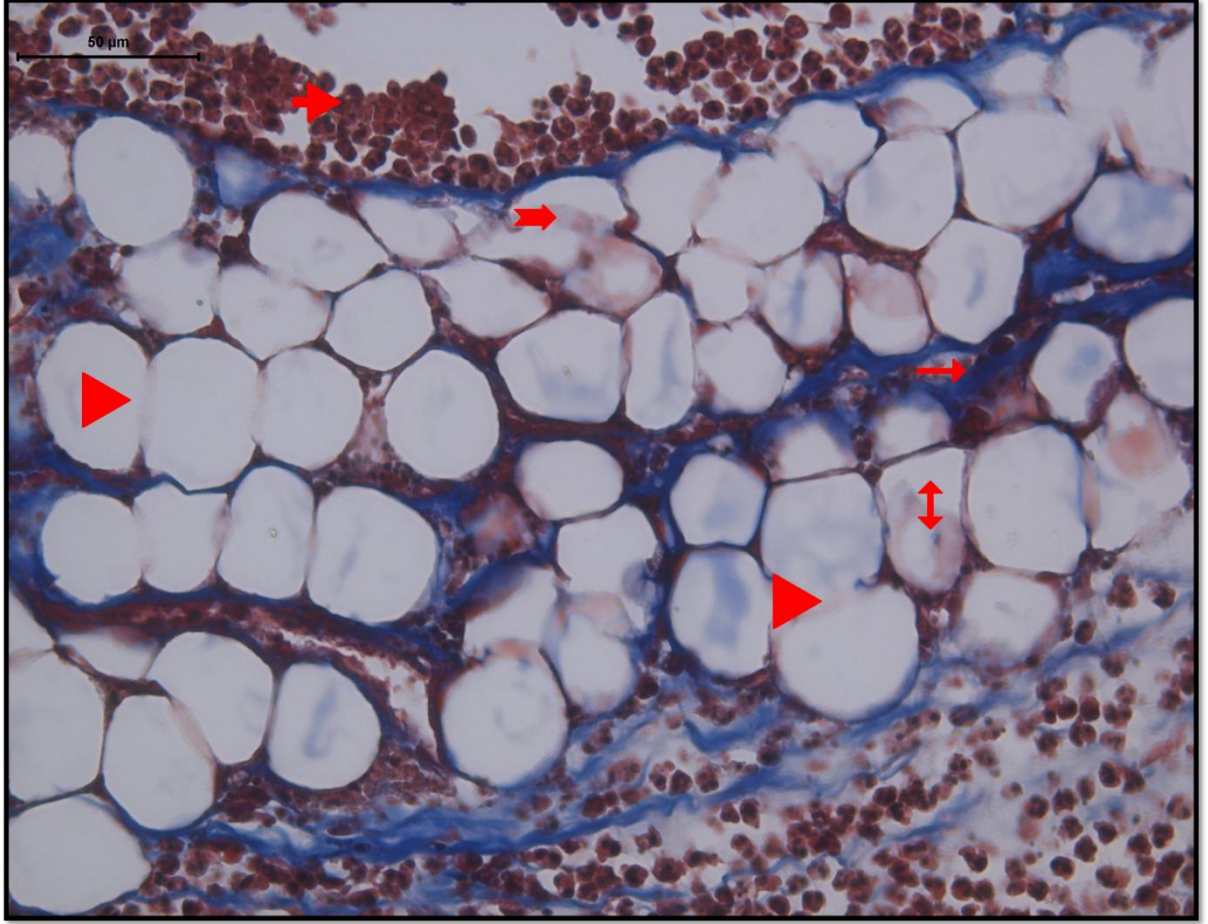
Yağ greft uygulaması ile birlikte Niasin (B3 vitamini) verilen ve 15. gün sakrifiye edilen deney grubunda, kontrol grubundan farklı olarak adipositler arası bağ dokuda lenfosit infiltrasyonunun arttığı, adipositlerde şekil bozukluğu, miyelin figür oluşumu ile ara ve çevre bağ dokuda artışın orta seviyelere çıktığı tespit edildi. Bu grupta anjiyogenezis kontrol grubuna göre göreceli olarak artış



gösterirken, adipositlerin füzyonu ve dev yağ hücresi oluşumunun kontrol grubu ile eşdeğer olduğu belirlendi. (Şekil-31 ve 32)



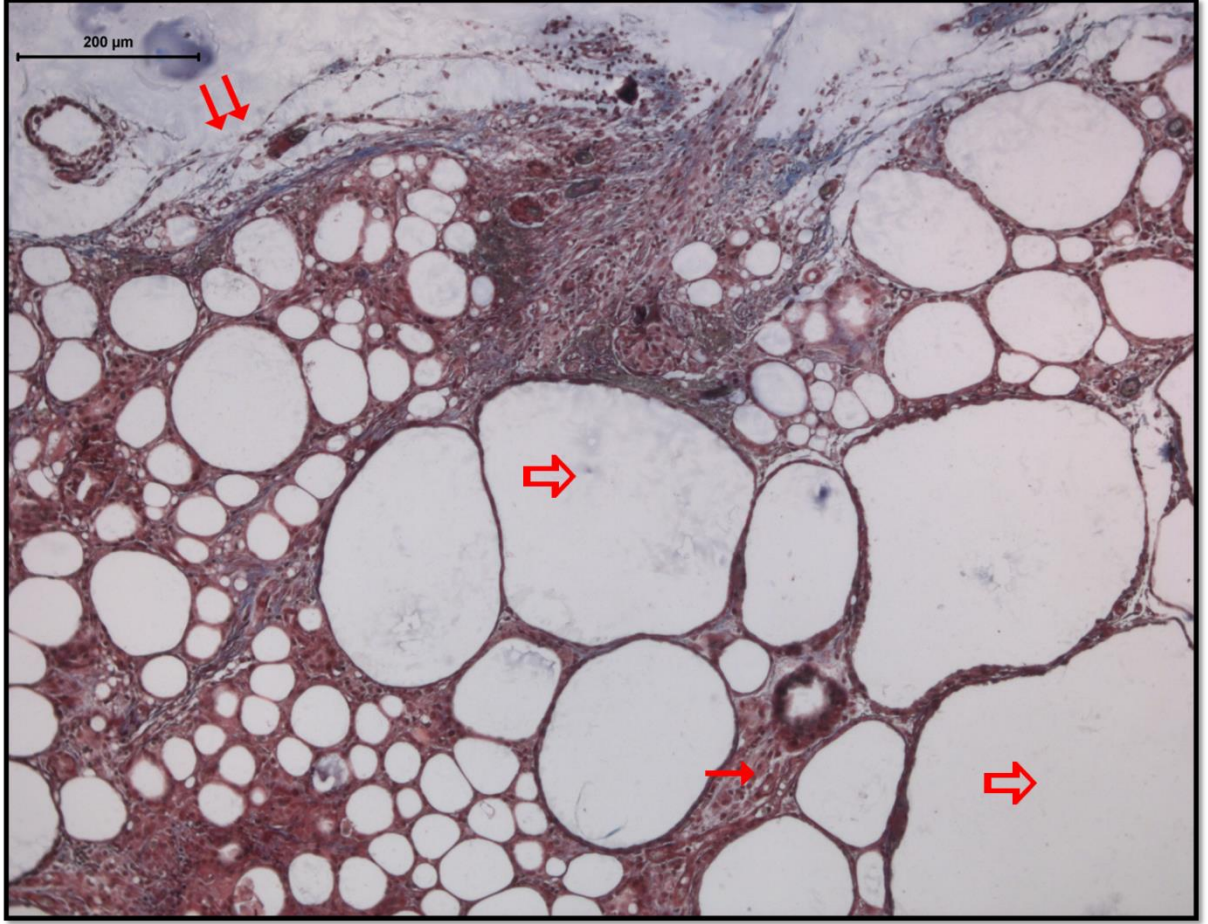
Şekil-31: 15 gün deney grubu küçük büyültmeli incelemelerde →: Ara bağ doku, ▶: Adiposit füzyonu, ⇒: Dev adiposit, ⇕: Miyelin figür oluşumu ve ⚡: Damar izleniyor (Masson's Trikrom x100).



Şekil-32: 15 gün deney grubu büyük büyültmeli incelemelerde ➔: Lenfosit infiltrasyonu, ➤: Adipositlerde şekil bozukluğu, →: Ara bağ doku, ▶: Adiposit füzyonu ve ⇕: Miyelin figür oluşumu izleniyor (Masson's Trikrom x400).

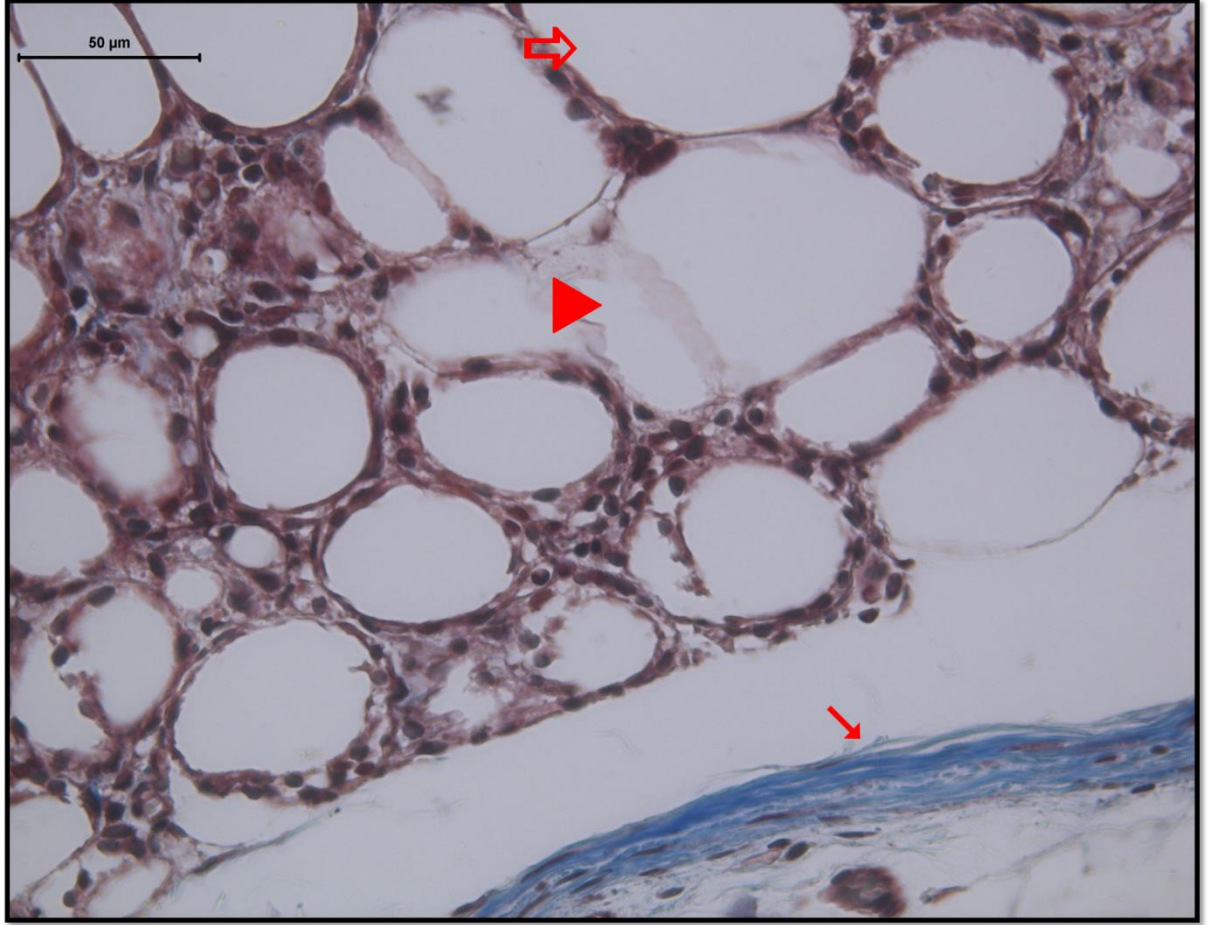
Vitamin verilmeksizin, sadece yağ greft uygulaması yapılan ve 30. gün sakrifiye edilen kontrol grubunun genel özellikleri ile 15. gün sakrifiye edilen kontrol grubuna benzer olduğu dikkati çekerken, çevre bağ doku yoğunluğunun bir miktar daha azaldığı tespit edildi . (Şekil-33 ve 34)





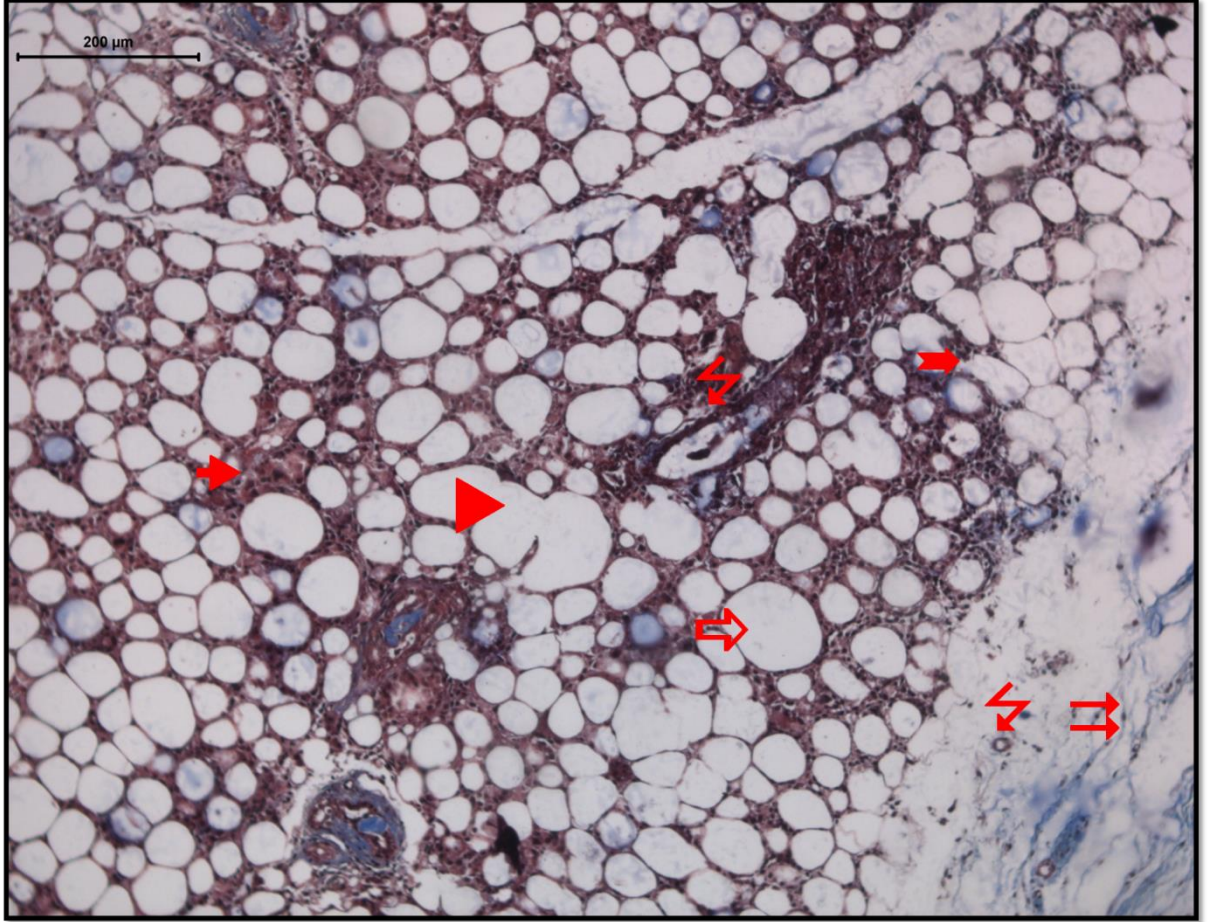
Şekil-33: 30 gün kontrol grubu küçük büyültmeli incelemelerde ⇨: Çevre bağ doku, →: Ara bağ doku ve ⇨: Dev adiposit görülüyor (Masson's Trikrom x100).



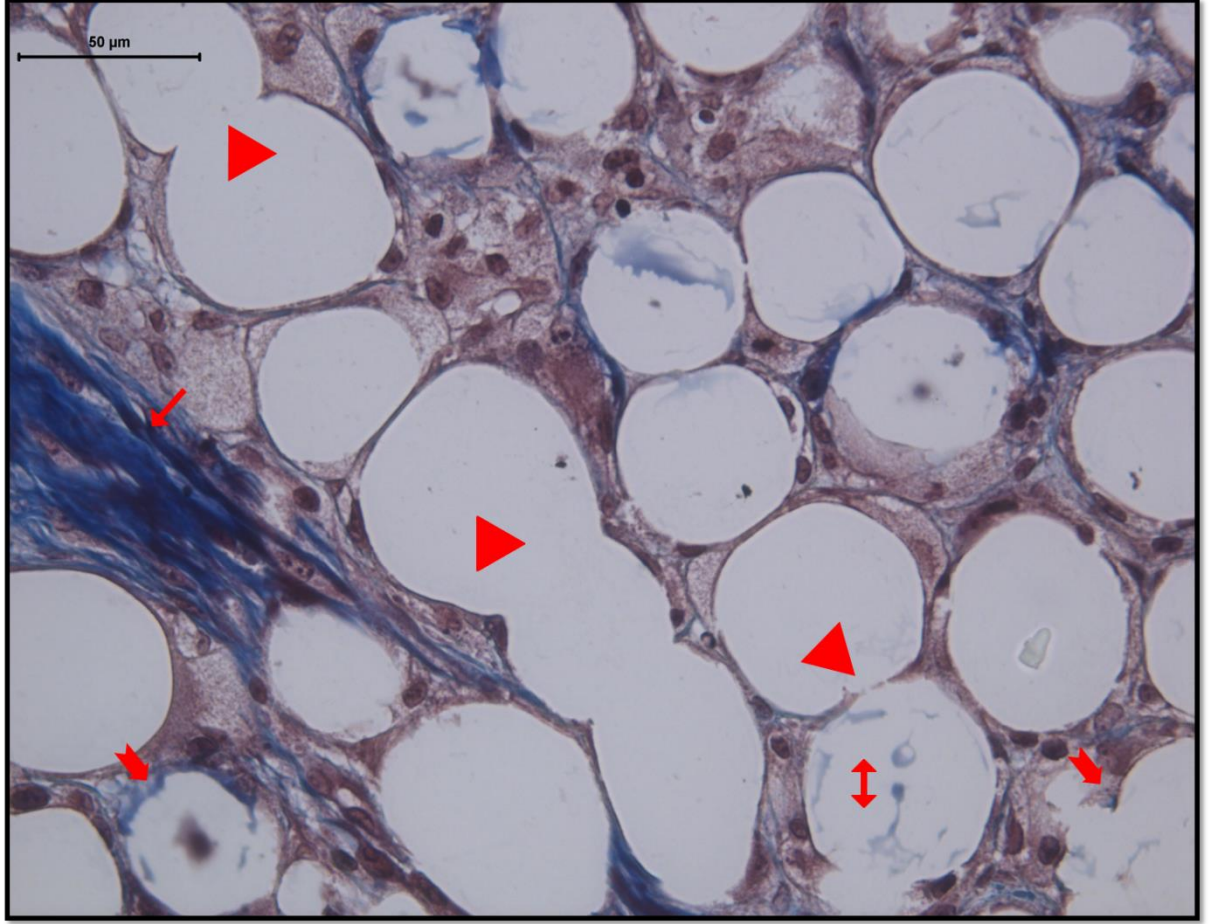


Şekil-34: 30 gün kontrol grubu büyük büyültmeli incelemelerde ⇔: Çevre bağ doku, ►: Adiposit füzyonu ve ⇨: Dev adiposit görülüyor (Masson's Trikrom x400).

Yağ grefti uygulaması ile birlikte Niasin (B3 vitamini) verilen ve 30. gün sakrifiye edilen deney grubunda, 15. gün sakrifiye edilen deney grubuna kıyasla adipositlerdeki şekil bozukluğunun ve lenfosit infiltrasyonunun bir miktar azaldığı izlendi. Buna karşılık bu grupta, adiposit füzyonu ve sonucunda oluşan dev yağ hücresi görünümünün, ayrıca intersellüler alanda miyelin figür oluşumunun ve anjiyogenezisin arttığı tespit edildi. (Şekil-35 ve 36)



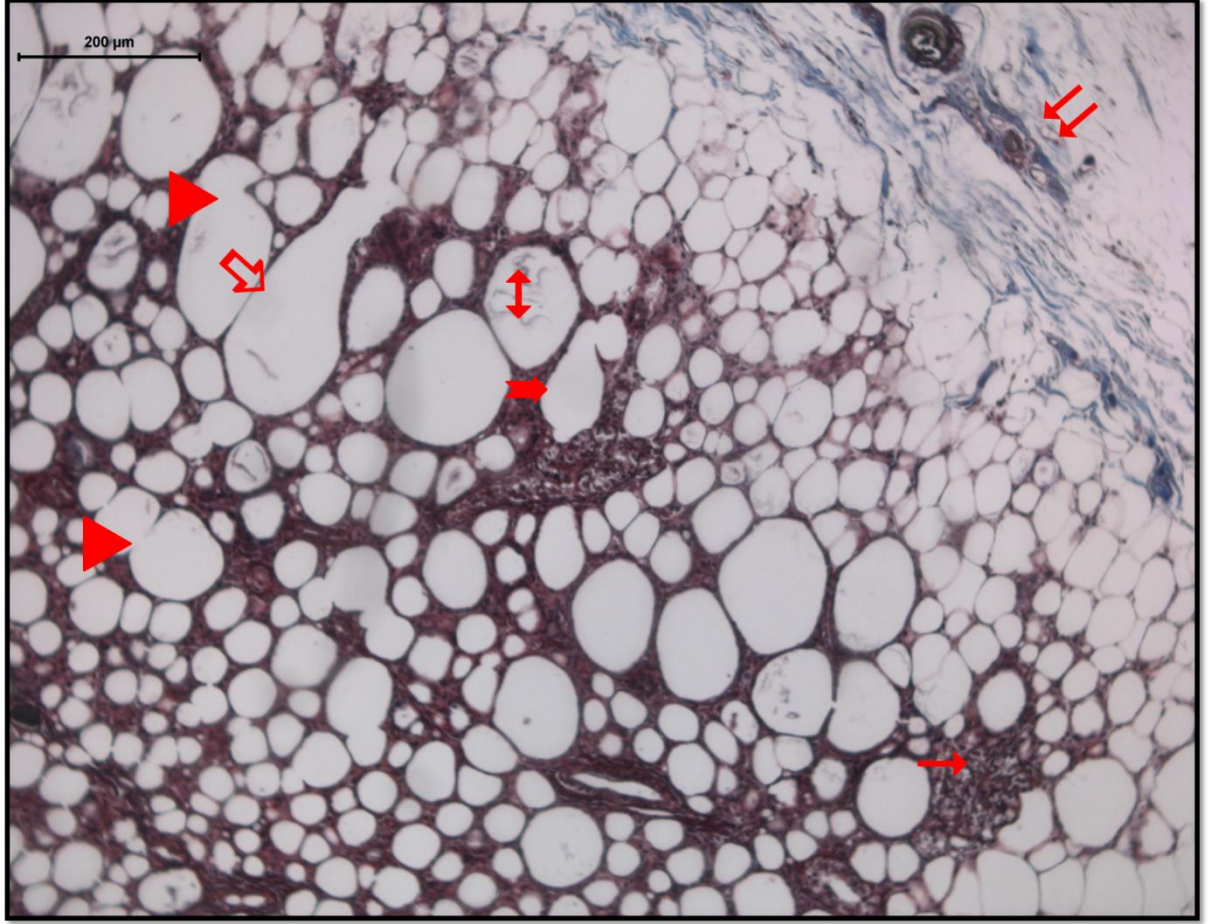
Şekil-35: 30 gün deney grubu küçük büyültmeli incelemelerde ➔: Lenfosit infiltrasyonu, ➤: Adipositlerde şekil bozukluğu, ⇌: Çevre bağ doku, ▶: Adiposit füzyonu, ⇨: Dev adiposit ve ⇩: Damar izleniyor (Masson's Trikrom x100).



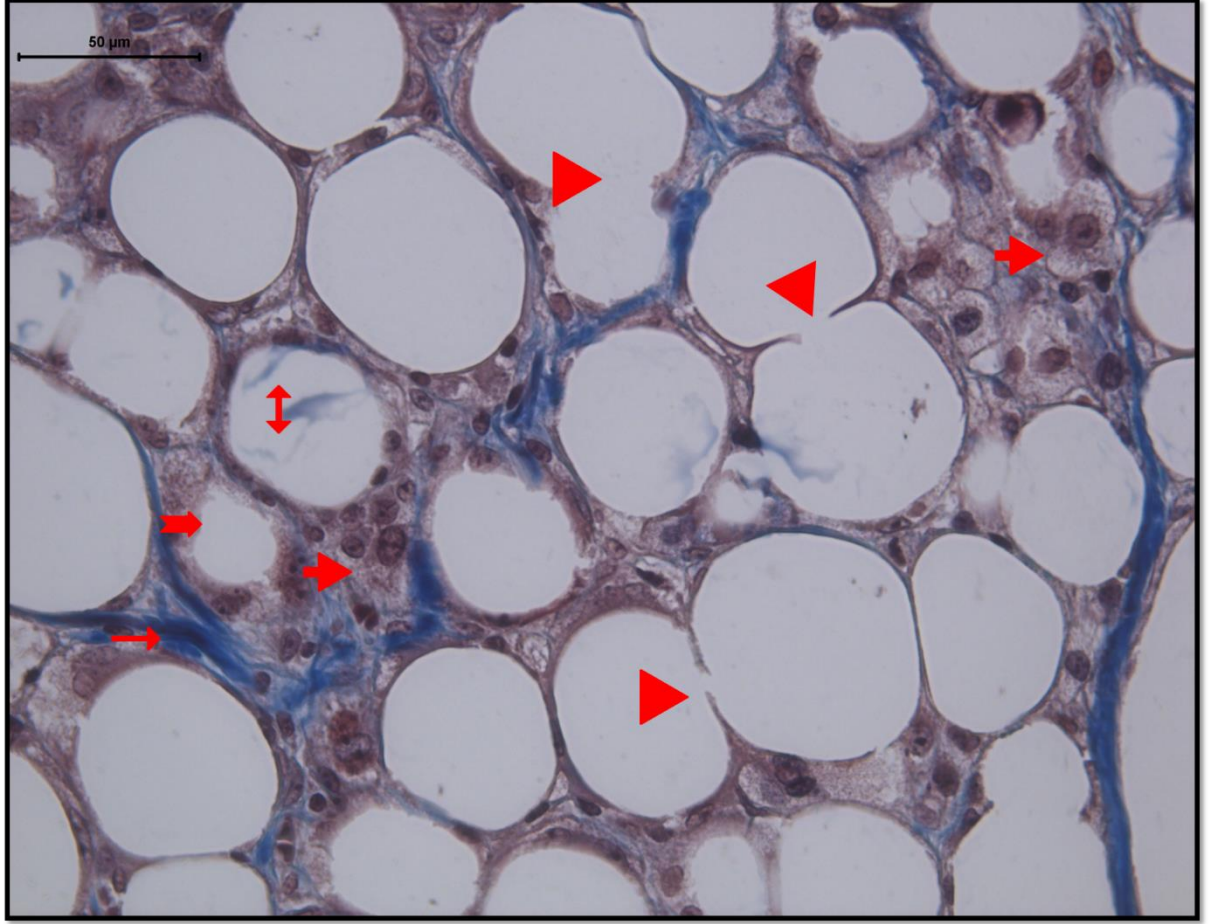
Şekil-36: 30 gün deney grubu büyük büyültmeli incelemelerde ➤: Adipositlerde şekil bozukluğu, →: Ara bağ doku, ▶: Adiposit füzyonu ve †: Miyelin figür oluşumu görülüyor (Masson's Trikrom x400).

Vitamin verilmeksizin, sadece yağ grefti uygulaması yapılan ve 60. gün sakrifiye edilen kontrol grubunda 15 ve 30. gün kontrol gruplarına kıyasla en belirgin değişimin çevre bağ dokuda azalma ve miyelin figürde artış olduğu gözlemlendi. (Şekil-37 ve 38)



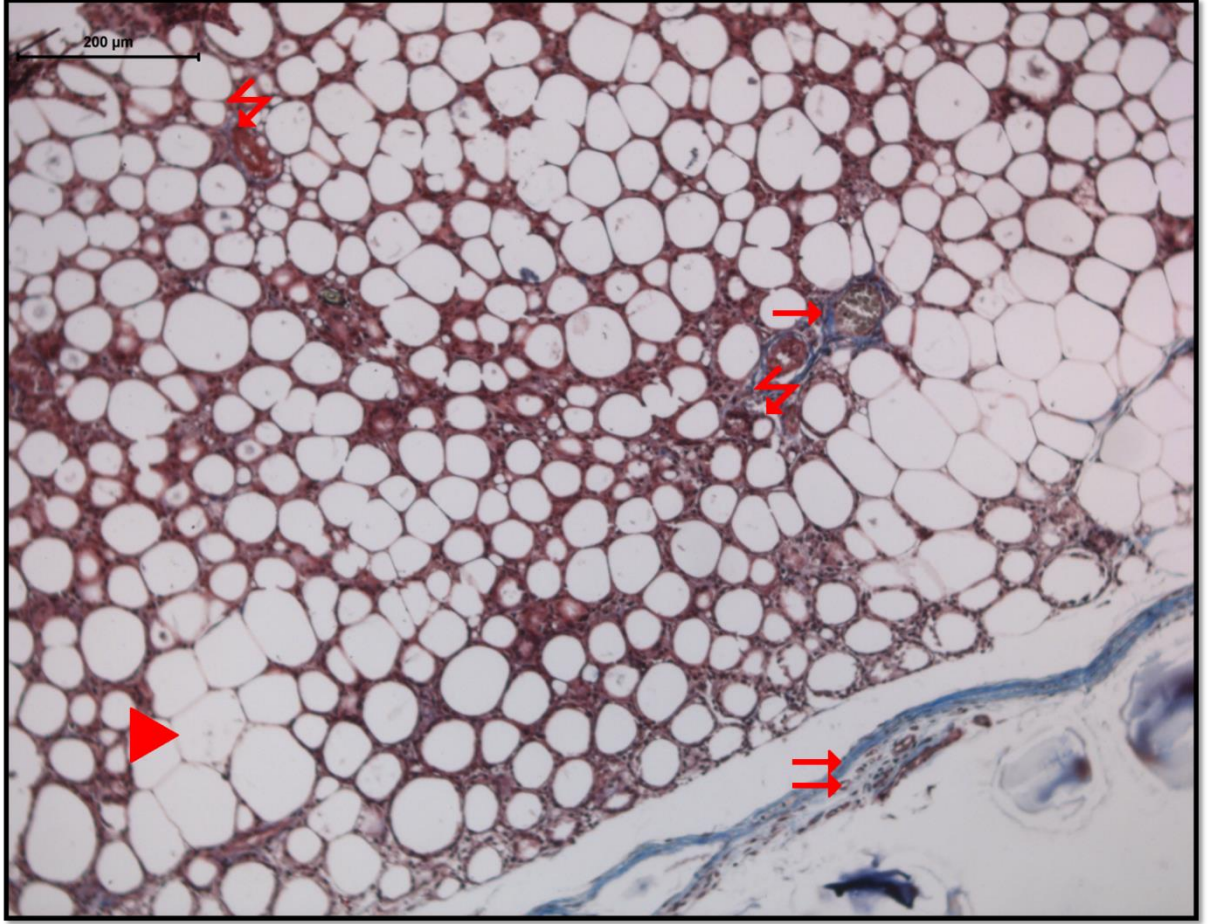


Şekil-37: 60 gün kontrol grubu küçük büyültmeli incelemelerde ➔: Adipositlerde şekil bozukluğu, ⇔: Çevre bağ doku, →: Ara bağ doku, ►: Adiposit füzyonu ve ⇨: Dev adiposit görülüyor (Masson's Trikrom x100).



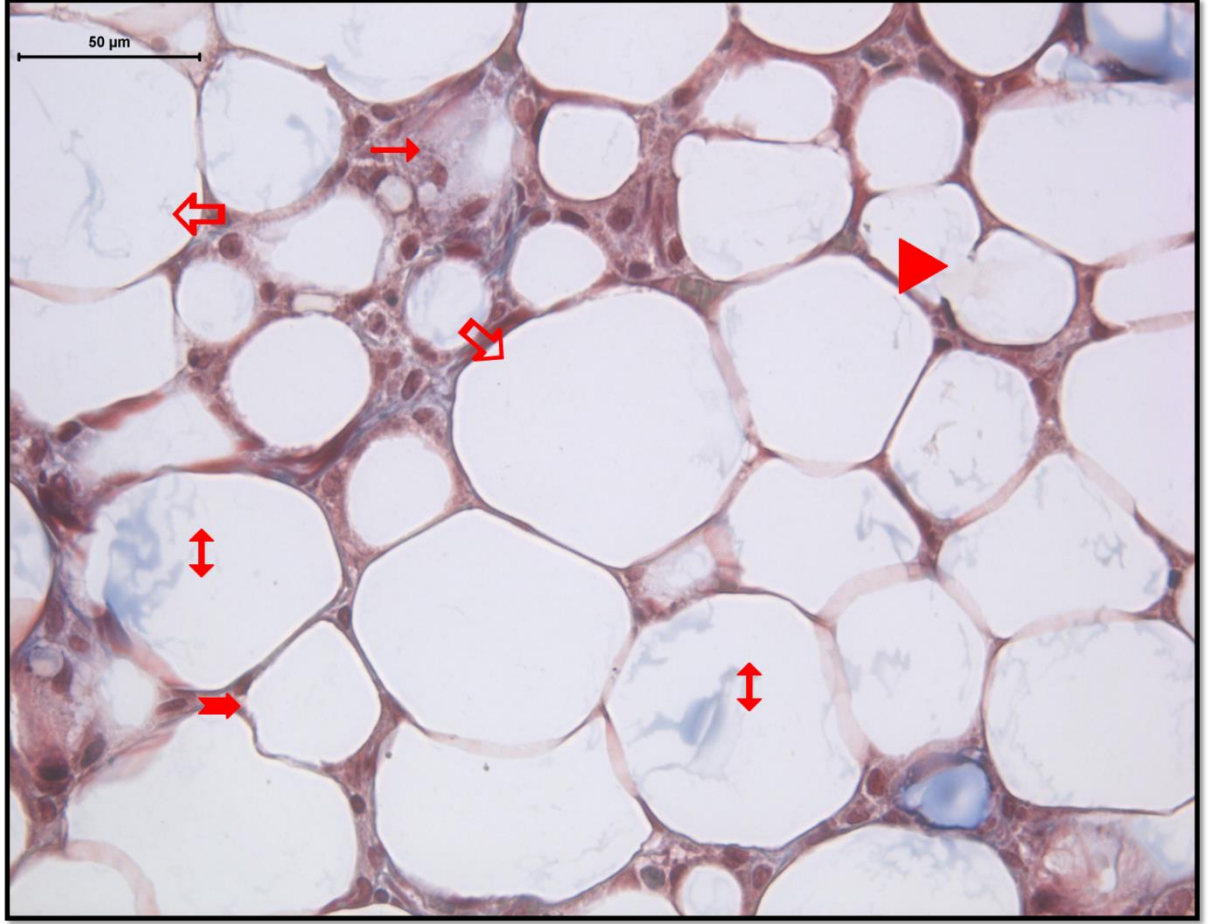
Şekil-38: 60 gün kontrol grubu büyük büyültmeli incelemelerde ➔: Lenfosit infiltrasyonu, ➤: Adipositlerde şekil bozukluğu, →: Ara bağ doku, ►: Adiposit füzyonu ve ⇕: Miyelin figür oluşumu izleniyor (Masson's Trikrom x400).

Yağ grefti uygulaması ile birlikte Niasin (B3 vitamini) verilen ve 60. gün sakrifiye edilen deney grubunda, diğer deney gruplarına oranla çevre ve ara bağ dokunun göreceli olarak azaldığı, adiposit füzyonu ve dev yağ hücresi oluşumunun özellikle 30. gün deney grubuna kıyasla azaldığı, anjiyogenezisin ise 15. gün deney grubuna göre göreceli olarak arttığı tespit edildi. (Şekil-39 ve 40)



Şekil-39: 60 gün deney grubu küçük büyültmeli incelemelerde ⇌: Çevre bağ doku, →: Ara bağ doku, ▶: Adiposit füzyonu ve ⇨: Damar izleniyor (Masson's Trikrom x100).





Şekil-40: 60 gün deney grubu büyük büyültmeli incelemelerde ➤: Adipositlerde şekil bozukluğu, →: Ara bağ doku, ▶: Adiposit füzyonu, ⇔: Dev adiposit ve ⇕: Miyelin figür oluşumu görülüyor (Masson's Trikrom x400).

Sonuç olarak; yağ greft uygulaması ile birlikte anjiyogenezis olaylanana kadar dokuda belirli bir süre görülen ve doku beslenmesinin sıkıntıya girdiği iskemik dönemde dokuyu koruması beklenen Niasin (B3 vitamini) uygulamasının özellikle 15. gün ve 60. gün kurban edilen deney grupları bazında karşılaştırıldığında, 60. gün gözlenen doku viabilitesi ve dejenerasyon kriterlerindeki iyileşmede, ayrıca özellikle 30. gün anjiyogeneziste başarılı olduğu

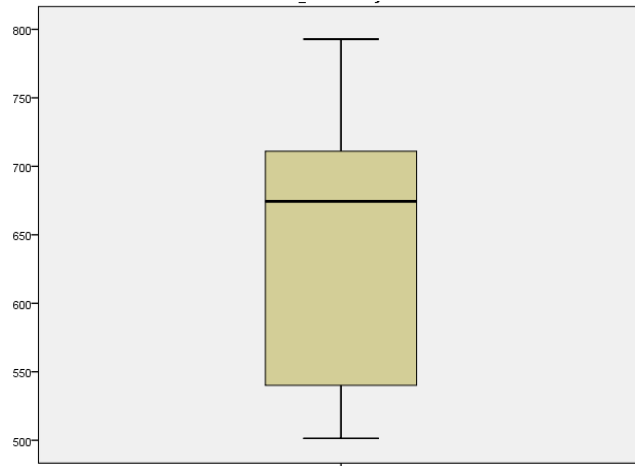
belirlendi. Tüm deney grupları bazında bakıldığında ise kontrol ve deney grupları arasında ilgili sürelerde görece belirgin bir farklılık tespit edilemedi. Bu nedenle, Niasin (B3 vitamini) uygulamasının hem damarların greft işlemi öncesi bu vitamene sensitif hale getirilmesi, ve hem de vitaminin dokudaki koruyucu etkisinin arttırılabilmesi amacıyla işlem öncesinde belirli bir süre boyunca koruyucu/işleme hazırlayıcı olarak veya farklı uygulama şekilleri kullanılarak uygulanmasının ve konu ile ilgili daha ileri araştırmaların yapılmasının uygun olacağı kanısına varıldı.

Hematoksilen-Eozin boyaması sonrasında 1.25x' lik objektif kullanılarak tüm alanda, her grup ve her hayvan için 6 ayrı bölgede kesitsel uzunluk ölçümü yapıldı. Grup 1' de toplam uzunluk ölçümü  $893,37 \pm 65,43 \mu\text{m}$ , Grup 2' de toplam uzunluk ölçümü  $898,62 \pm 91,18 \mu\text{m}$ , Grup 3'te toplam uzunluk ölçümü  $585,62 \pm 110,57 \mu\text{m}$ , Grup 4'te toplam uzunluk ölçümü  $590,13 \pm 116,03 \mu\text{m}$ , Grup 5' te toplam uzunluk ölçümü  $294,71 \pm 31,26 \mu\text{m}$ , Grup 6' da toplam uzunluk ölçümü  $649,06 \pm 109,07 \mu\text{m}$  olarak ölçüldü. Saptanan sayısal değerler istatistiksel olarak yorumlandı. Grup 1 ve 2 arasında 15. günde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Grup 3 ve 4 arasında 30. günde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Grup 5 ve 6 arasında 60. günde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). (Şekil-41)



DEJENERASYON KRİTERLERİ	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney
	15.Gün	15.Gün	30.Gün	30.Gün	60.Gün	60.Gün
	Grup-1	Grup-2	Grup-3	Grup-4	Grup-5	Grup-6
Lenfosit İnfiltrasyonu	1	2	1	1	1	1
Beyaz yağ dokusu hücresinde şekil bozukluğu	1	3	1	2	2	3
Çevre bağ doku artışı	3	3	2	2	1	1
Ara bağ dokuda artış	3	3	2	3	1	1
Beyaz yağ hücre füzyonu	2	2	1	2	2	1
Miyelin figür oluşumu	1	2	1	3	3	4
Anjiogenezis	1	3	1	4	2	5
Dev yağ hücresi	2	2	2	3	2	1

Tablo-5:Hematoksilen Eozin boyama ile yapılan değerlendirmeler sonucunda Dejenerasyon Kriterleri tablosu oluşturuldu ve bu tablo için “ 0 = Hiç Yok, 1 = Zayıf, 2 = Zayıf Orta, 3 = Orta, 4=Yoğun, 5=Çok Yoğun



Şekil-41:60. Gün uzunluk ölçümü kıyaslaması

## 6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yağ greftleri bir asrı aşkın süredir plastik cerrahide popülaritesini korumayı başarmıştır. Yabancı cisim reaksiyonu oluşturmaması, otolog olması sebebi ile biyouyumunun çok iyi olması, uygulamasının kolay olması, tekrarlanabilir olması, ucuz olması ve bol miktarda elde edilebiliyor olması sentetik muadillerine olan başlıca üstünlükleridir. Ancak uygulanan yağ greftinin %40-70 kadarının absorpsiyona uğraması keşfinden bu yana en önemli dezavantajı olmaya devam etmiştir. Kullanımını kısıtlayan bu engeli ortadan kaldırmaya yönelik yapılan yüzlerce çalışmaya rağmen tam bir konsensus sağlanamıştır<sup>2</sup>.

Coleman 1997 yılında kendi adı ile anılan tekniği yayınlamış ve ilginin tekrar bu konuya yönelmesini sağlamıştır. Bu tarihten itibaren santrifüj işleminin etkin kullanılması ile daha konsantre yağ grefti elde edilmiştir. Coleman tek bir insizyondan çok, çoklu insizyonlar ve çoklu cilt altı tüneller kullanarak yağ greftinin difüzyon ile daha rahat beslenebileceği geniş yüzeyler oluşturmuştur<sup>39</sup>.

2000 'li yılların başında adiposit kök hücrelerin (ASC) keşfi ile yağ dokusu ve grefti ile bildiğimiz her şey yenilenmiştir. Yağ dokusunun sadece fazla yağın biriktiği bir dokudan çok daha fazlası olduğu ortaya çıkmıştır. Bu kök hücreler fibroblastlara benzeyen multipotent mezenşimal kök hücrelerdir. Bu haliyle yağ greftleri sinir iyileşme, kas iyileşme ve kemik iyileşme çalışmaları gibi daha bir çok konuya ilham kaynağı olmuştur<sup>40</sup>.

Niasin (B<sub>3</sub> vitamini) suda çözünen bir vitamindir. Günlük gerekli miktar yiyeceklerle ya da vücut tarafından triptofan amino asidinden üretilmektedir. Niasin NAD ve NADP yapısına girerek lipogenez ve lipoliz metabolizmasına dahil olmaktadır. Niasin hücre membranında lipolizi azaltırken fosfolipit yapımını ve hücre içerisinde lipogenezi arttırmaktadır. Literatüre bakıldığında yağ greftinin sağ kalımını arttırmaya yönelik yapılan çalışmalarda kullanılan ajanlar arasında; fibrin glue, PRP, Anti-TNF  $\alpha$ , botulinum toksin A, EGF,  $\beta$  blokerler, leptin, VEGF, hiyalüronik asit vb. birçok madde bulunmaktadır<sup>59,60,61,63,64,65,66,67,68,69</sup>. Ancak niasin kullanımına ait bir çalışma bulunmamaktadır. Ali ve arkadaşları tarafından diyabetli sıçanlar üzerinde yapılan endokrinolojik çalışmada niasinin lipolizi azaltıcı ve lipogenezi arttırıcı etkisi insülin ile eşit olarak bulunmuştur. Bu yayın bizim çalışmamız için ilham kaynağı olmuştur<sup>1</sup>.

Çalışmamızda yağ grefti sağkalımını arttırmak için niasin (B<sub>3</sub> vitamini) uygulaması yapmak üzere hayvan modeli kullanıldı. Bu amaçla sıçan inguinal bölgesinden tek parça halinde alınan greftler hayvanın ense bölgesine yine tek parça olarak yerleştirildi<sup>73,74</sup>. Grup 2, 4 ve 6' da bulunan 18 hayvana günlük 780 mg/kg niasin oral yoldan verildi. Grup 1, 3 ve 5' te bulunan hayvanlara ek bir işlem yapılmadı. Grup 1 ve 2' de bulunan hayvanlar 15. günde sakrifiye edildi, Grup 3 ve 4' te bulunan hayvanlar 30. günde sakrifiye edildi, Grup 5 ve 6' da bulunan hayvanlar ise 60. günde sakrifiye edildi.

15. günde kontrol grubunda işlem öncesi ve sonrasına göre hacimsel anlamda fark bulunmaz iken deney grubunda işlem sonrası hacimsel olarak anlamlı artış sağlandığı gözlemlendi. Adiposit füzyonu ve dev yağ hücresi oluşumu

iki grup arasında benzer bulunurken adiposit şekil bozukluğu ve lenfosit infiltrasyonu deney grubunda daha yüksek olarak bulundu. Bu dönemde göze çarpan en önemli fark deney grubunda anjiogenezisin kontrol grubuna göre artış göstermiş olmasıdır.

30. günde kontrol grubunda hacimsel olarak anlamlı azalma mevcut iken deney grubunda hacimsel olarak azalma saptanmadı. İki grup arasında olan hacim değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Kontrol grubunda 15. güne oranla çevre bağ doku yoğunluğu bir miktar azalmış olarak deney grubunda ise adiposit şekil bızukluğu ve lenfosit infiltrasyonunun azaldığı görüldü. Buna karşın yine deney grubunda adiposit füzyon artışı, dev yağ hücre oluşumunda artış, miyelin figür oluşumunda artış ve anjiogeneziste artış tespit edildi.

60. günde kontrol grubunda hacimsel olarak anlamlı azalma tespit edilmişken deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. İki grubun hacimsel kıyaslanmasında istatistiksel olarak anlamlı değişim olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda çevre bağ dokusunun ve miyelin figürlerin 15 ve 30. günlere göre daha da azaldığı gözlemlendi. Deney grubunda ise 15 ve 30. günlere göre çevre ve ara bağ dokusunun, adiposit füzyonu ve dev yağ hücresi oluşumun azaldığı görüldü. Anjiogenezisin ise önceki günlere nazaran daha da arttığı gözlemlendi. 60.günde iki grup arasında deney grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı olan uzunluk ölçümleri tespit edildi. Bu bulgunun anjiogenezise bağlı daha fazla dokunun sağkalmasına bağlı olarak gerçekleştiği düşünüldü.

Niasin hiperlipidemi, hiperkolesterolemi tedavilerinde kullanıma sahiptir. Piyasada satılan formu saf niasinden çok, multivitamin kompleksler içinde ek olarak bulunmaktadır. Niasin kullanımının yağ greftleri üzerine etkisini araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Niasinin deney grubunda önceden başlanıp kanda belli bir seviyeye geldikten sonra greftin uygulanması daha uygun olabileceği düşünüldü. Böylece niasin daha greft ilk yerleştirildiğinde iskemiye hassasiyeti azaltabilme potansiyelini gösterebileceği ve belkide deney grubundaki yağ grefti sağ kalımını daha da arttırabileceği düşünüldü. Anjiogenezisin yalnızca deney grubunda olması bu etkinin büyük ölçüde niasine bağlı olduğunu göstermiştir.

Çalışmada sıçanlara verilen niasinin dozunun yağ grefti sağ kalımı için uygun doz olup olmadığı önemli bir tartışma noktasıdır. Dozlama önceki yapılmış çalışmalara dayanarak hazırlanmış olup miktarlar diyabetik ya da hiperlipidemik sıçanlar için uygulanan standartlardan elde edilmiştir. Bu çalışma eğer klinik uygulamada yağ grefti için niasin verilmesi düşünülüyor ise, ne kadar süre önce başlanıp ve ne kadar süre devam edilmesi gerektiği konusunda yol gösterici olamamıştır.

Yağ greftinin yaşabilirliği üzerinde apoptozisin önemli rolü literatürde gösterilmiştir<sup>77</sup>. Ancak niasinin histokimyasal ve farmokolojik olarak etkisinin apoptozisten çok hücre yüzey membranı hasarını önlemesi yolu ile gösterdiğinin bilinmesinden dolayı bu çalışmada apoptozis kıyaslaması yapılmamıştır.

Çalışmamızda yağ greftleri tek parça bir blok halinde alınmış ve travmaya maruz kalmadan alıcı sahaya yerleştirilmiştir. Deneklerin sakrifiye edilmesini takiben yine travmaya maruz bırakılmadan greftler tek parça halinde alınıp incelenmiştir. Böylece günümüzde en çok tercih edilen yöntem olan Coleman tekniğindeki gibi greft, travmaya maruz kalmamıştır.

Sonuç olarak yağ grefti ile birlikte oral yoldan niasin verilmesinin yağ grefti sağ kalımını belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir. Anjiogenezisin yalnızca deney grubunda ve 15. 30 ve 60. günlerde giderek artması bu etkinin niasine bağlı olduğunu göstermiştir.

## 7. ÖZET

Yağ grefti uygulamaları son dönemde plastik cerrahide oldukça yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bunun nedeni yağın iyi bir yumuşak doku dolgusu olması, ucuz, kolay elde edilebilir olması ve otolog olmasından dolayı herhangi bir yan etkisinin olmamasıdır. Ancak yağ grefti sağkalım oranları net olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Bu çalışmanın amacı Niasin (B<sub>3</sub> vitamini)' in hücrede lipolizi önleyici ve lipogenezi arttırıcı etkisinden yararlanılarak yağ grefti sağ kalımını arttırıp arttırmadığını araştırmaktır.

Çalışmada 36 adet dişi Long Evans sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar her bir grupta 6 adet olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Bütün gruplarda inguinal bölgeden tek parça halinde yağ grefti alındı hacimleri ölçüldü ve sonrasında ense bölgesine yerleştirildi. Grup 1, 3 ve 5 kontrol grubu olup yağ grefti işlemi sonrası ilaç uygulanmadı. Grup 2, 4 ve 6 deney grubu olup sakrifiye edilene kadar oral yoldan gavaj yöntemi ile günde 780 mg/kg Niasin verildi. Grup 1 ve 2' de bulunan sıçanlar 15. günde, Grup 3 ve 4' te bulunan sıçanlar 30.günde, Grup 5 ve 6' da bulunan sıçanlar 60. günde sakrifiye edildi. Sakrifiye edildikten sonra hacimler tekrar ölçüldü. Alınan greftler histolojik olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

30. ve 60. günlerde kontrol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı hacim azalmaları saptandı ( $p<0,05$ ). Deney gruplarında ise minimal azalma izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,06$ ). Bunun yanı sıra deney

gruplarında 15. 30. ve 60. günlerde kontrol gruplarına kıyasla giderek artan oranlarda anjiogenezis saptanmıştır.

Sonuç olarak oral yoldan sistemik etki gösteren Niasin lipolizi engelleyici, lipogenezisi artırıcı etkisinin yanı sıra anjiogenezisi de artırıcı etkisi ile sağ kalımı arttırmada başarılı bulunmuştur.



## **8. SUMMARY**

Fat grafting procedures has become very popular recently in plastic surgery field. Fat is an excellent soft tissue filler, it is cheap, easy to obtain and autologous; so it causes less side effects. However, survival ratios of fat graft sand factors affecting survival are not clearly elucidated.

The aim of this study is to investigate the use of Niacin (Vitamin B<sub>3</sub>) on fat graft survival by using its anti-lipolytic and lipogenic effects.

Thirty-six female Long-Evans rats were used in the study. The animals were divided into 6 groups of 6 animals each. In all groups, monoblock fat grafts were obtained from inguinal region, volumes were measured and engrafted in a pocket which was prepared on dorsal neck region. Group 1, 3 and 5 were control groups, no medication were given after grafting. Group 2, 4 and 6 were experiment groups and after fat grafting procedures, Niacin (780 mg/kg) was administered via oral gavage daily until they were sacrificed. In group 1 and 2 rats were sacrificed on day 15, in group 3 and 4 rats were sacrificed on day 30, in group 5 and 6 rats were sacrificed on day 60. Immediate volumes of grafts were measured after they were sacrificed. Excised grafts were evaluated histologically. The results were analyzed statistically.

Statistically significant volume reduction was found between control groups sacrificed on day 30 and day 60 ( $p < 0.05$ ). However, in niacin administered groups, volume losses were minimal on day 15, 30, 60 and changes were not statistically significant ( $p > 0.06$ ). Also, in niacin administered groups angiogenesis

was higher compared to control groups on day 15, 30 and 60, increasing respectively.

As a result, orally administered Niacin (Vitamin B3) was found to be effective in increasing fat graft survival in rat model. This effect can be attributed to anti-lipolytic, lipogenic, angiogenic properties of Niacin (Vitamin B3).

## **9. KAYNAKLAR**

- 1- Ali AH, Mundi M, Koutsari C, Bernlohr DA, Jensen MD. Adipose tissue free fatty acid storage in vivo: effects of insulin versus niacin as a control for suppression of lipolysis. *Diabetes*. 2015 Aug.
- 2-Rieck B, Schlaak S. Measurement in vivo of the survival rate in autologous adipocyte transplantation. *Plast Reconstr Surg*. 2003 Jun.
- 3- Andrea Moreira G, Catherine L, Christopher P, Ian T. An alternative method for harvest and processing fat grafts: an in vitro study of cell viability and survival. *Plast Reconstr Surg*. July 2007 - Volume 120.
- 4-Peer LA, Loss of weight and volume in human fat grafts: with postulation of a “cell survival theory.” *Plast Reconstr Surg*. 1950;5:217–230.
- 6-Schling P, Löffler G. Cross talk between adipose tissue cell, impact on pathophysiology. *News Physiol Sci*. 2002; 17 : 99-104
- 7-Ahmet Ergün. Yağ hücresi ve salgı ürünlerinin fonksiyonları. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası Cilt 56, Sayı 3, 2003*
- 8-Frühbeck G, J Gomez Ambrosi, FJ Muruzabal, M ABurrell. The adipocyte : a model for integration of endocrine and metabolic signalling in energy metabolism regulation. *Am J Physical Endocrine Metal* 2001.
- 9-Wiecek A, F Kokot, J Chudek, M Adamczak. The adipose tissue a novel endocrine organ of interest to the nephrologist. *Nefrol Dial Transplant* . 2002; 17 :191-195
- 10-Stumvoll M, H Haring. The peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 pro 12Ala polymorphism. *Diabetes*. 2002 ; 51 : 2341-2347

- 11-Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, O'Rahilly S. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  action in humans. *Diabetes* . 2001;50 : 2199-2202
- 12-Auwerx J, Steals B. Leptin. *The Lancet*. 1998 351 :737-42
- 13-Steppan CM, Lazar MA. Resistin and obesity associated insulin resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2002; 13(1) : 18-23
- 14-Fried S K, D A Bunkin, A S Greenberg. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6 : depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 83 : 847-850
- 15-Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamışligil GS. Protection from obesity induced insulin resistance in mice lacking TNF $\alpha$  function. *Nature*. 1997;389(9) : 610-614
- 16-Verderame P. Ueber fettransplantation bei adherenten knochennarben am orbitalran. *Klin Monatsbl f Augenh*. 1909;7:433.
- 17-Lexer E. Ueber freie fettransplantation. *Klin Therap Wehnschr*. 1911;18:53.
- 18-Kanavel AR. The transplantation of free flaps of fat. *Surg Gynecol Obstet*. 1916;23:163–176.
- 19-Neuhof H. *The Transplantation of Tissues*. New York,D. Appleton, 1923.
- 20-Guerney CE. Experimental study of the behavior of free fat transplants. *Surgery*. 1938;3:679-692.
- 21-Green JR. Repairing bone defects in cranium and tibia. *South Med J*. 1947;40:289.

- 22-Wertheimer E, Shapiro B. The physiology of adipose tissue. *Physiol Rev.* 1948;28:451.
- 23-Peer LA. Loss of weight and volume in human fat grafts: With postulation of a “cell survival theory.” *Plast Reconstr Surg.* 1950;5:217–230.
- 24-Bames HO. Augmentation mammoplasty by lipotransplant. *Plast Reconstr Surg.* 1953;11(5):404–412.
- 25-Schorcher F. Fettgewebsver pfl anzung bei zu kneiner Brust. *Munchen Med Wochenschr.* 1957;99(14):489.
- 26-Van RL, Roncari DA. Complete differentiation of adipocyte precursors: A culture system for studying the cellular nature of adipose tissue. *Cell Tiss Res.* 1978;195(2):317–329.
- 27-Illouz YG: New applications of liposuction: The Franco-American Experience. Beverly Hills, CA. *Medical Aesthetics.* 1985. 365–414.
- 28-Asken S. Autologous fat transplantation: Micro and macro techniques. *Am J Cosm Surg.* 1987;4:111–121.
- 29-Agris J. Autologous fat transplantation: A 3-year study. *Am J Cosm Surg.* 1987;4(2):95–102.
- 30-Billings E Jr, May JW. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1989;83(2):368–381.
- 31-Hudson DA, Lambert EV, Block CE. Site selection for fat autotransplantation: Some observations. *Aesthetic Plast Surg.* 1990;14(3):195–197.

- 32-Nguyen A, Pasyk KA, Bouvier TN, Hassett CA, Argernt LC. Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1990;85(3):378–386.
- 33-Asaadi M, Haramis HT. Successful autologous fat injection at 5-year follow-up. *Plast Reconstr Surg.* 1993;91(4):755–756.
- 34-Eppley BL, Sidner RA, Plastis JM, Sadove AM. Bioactivation of free-fat transfers: A potential new approach to improving graft survival. *Plast Reconstr Surg.* 1992;90(6):1022–1030.
- 35-Carpaneda CA, Ribeiro MT. Study of the histologic alterations and viability of the adipose graft in humans. *Aesthetic Plast Surg.* 1993;17(1):43–47.
- 36-Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. *Aesthetic Plast Surg.* 1995;19(5):421–425.
- 37-Sattler G, Sommer B. Liporecycling: Immediate and delayed. *Am J Cosm Surg.* 1997;14:311-316.
- 38-Ullmann Y, Hyams M, Ramon Y, Beach D, Peled IJ, Linderbaum ES. Enhancing the survival of aspirated human fat injected into mice. *Plast Reconstr Surg.* 1998; 101(7):1940–1944.
- 39-Coleman WP 3rd, Lawrence N. Liposuction. *Dermatol Surg.* 1997 Dec;23(12):1125.
- 40-Iyyanki T, Hubenak J, Liu J, Chang EI, Beahm EK, Zhang Q. Harvesting technique affects adipose-derived stem cell yield. *Aesthet Surg J.* 2015 May;35(4):467-76.

- 41-Constantine RS, Harrison B, Davis KE, Rohrich RJ. Fat graft viability in the subcutaneous plane versus the local fat pad. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2015 Jan 8;2(12):e260.
- 42-Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A. The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: a quantitative analysis. *Aesthet Surg J*. 2006 May-Jun;26(3):287-9.
- 43-Rigotti G, Marchi A, Galie M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg*. 2007;119:1409-22.
- 44-Wagers AJ, Weisman IL. Plasticity of adult stem cells. *Cell*. 2004;116: 639-48.
- 45-Aranda P, Agirre X, Ballaestar E, Andreu EJ, Roman-Gomez J. Epigenetic signatures associated with different levels of differentiation potential in human stem cells. *PLoS One*. 4 e:7809, 2009.
- 46-Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13:4279-95.
- 47-Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: Revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell*. 2008;2:313-9.
- 48-Eto H, Suga H, Matsumoto D. Characterization of adipose tissue and cellular components: differences between aspirated adipose tissue and excised adipose tissue. *Plast Reconstr Surg*. 2009;124:1087-97.
- 49-Dubois SG, Floyd EZ, Zvonic S. Isolation human adipose derived stem cells from biopsies and liposuction specimens. *Methods Mol Biol*. 2008; 449: 69-79.

50-Chazenbalk G, Bertolotto C, Heneidi S, Jumabay M, Trivax B, Aronowitz J. Novel pathway of adipogenesis through cross talk between adipose tissue macrophages, adipose stem cells and adipocytes: Evidence of cell plasticity. *PLoS One*. 2011;31:6(3):e17834

51-Gimble JM, Guilak F. Differentiation potential of adipose derived adult stem (ADAS) cells. *Curr Top Dev Bio*. 2003;58:137-60.

52-Tiryaki T, Fındıklı N, Tiryaki D. Staged stem cell- enriched tissue (SET) injections for soft tissue augmentation in hostile recipient areas: A preliminary report. *Aesthetic Plast Surg*. 2011;35:965-71.

53-Kim M, Kim I, Lee SK, Bang SI, Lim SY. Clinical trial of autologous differentiated adipocytes from stem cells derived from human adipose tissue. *Dermatol Surg*. 2011;37:750-9.

54-Rigotti G, Marchi A, Galie M. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: A healing process mediated by adipose derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg*. 2007;119:1409-22.

55-Lendeckel S, Jödicke A, Christophis P, Heidinger K, Wolff J, Fraser JK, Hedrick MH, Berthold L, Howaldt HP. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg*. 2004 Dec;32(6):370-3

56-Mesimäki K, Lindroos B, Tornwall J, Mauno J, Lindqvist C, Kontio R, Miettinen S, Suuronen R. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2009 Mar;38(3):201-9.



57-Rubin JP, Bennet JM, Doctor JS, Tebbets BM, Marra KG. Collagenous microbeads as a scaffold for tissue engineering with adipose derived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(2):414-24.

58-A.Özlem Gündeşlioğlu, Zeynep Altuntaş, Bilsev İnce, Mehmet Dadacı, Murad Aktan, Selçuk Duman. Adipose tissue derived stem cells and their uses in plastic surgery. *Türk plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi* 2013.

59-Karaçal N, Cobanoğlu U, Ambarcioğlu O, Kutlu N. The effect of fibrin glue on fat graft survival. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2007;60(3):300-3.

60-Nakamura Shinichiro, Ishihara Masayuki, Takikawa Megumi, Murakami Kaoru, Kishimoto Satoko, Nakamura. Platelet Rich Plasma (PRP) promotes survival of fat grafts in rats. *Annals of Plastic Surgery.* July 2010 - Volume 65.

61-Güney K. Sistemik ve Lokal Minosiklinin Yağ Grefti Sağkalımı ve Apoptotik Yolak İnhibisyonu Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi . Ankara-2013

62-Mei Yang, Feng Zang, Elizabeth Zhang, Shuyin Lin. Role of anti-TNF $\alpha$  in fat graft preservation. *Annals of Plastic Surgery.* May 2012- Vol 68.

63-Baek RM, Park SO, Jeong EC, Oh HS, Kim SW, Minn KW, Lee SY. The effect of botulinum toxin A on fat graft survival. *Aesthetic Plast Surg.* 2012 Jun;36(3):680-6.

64.ParkB, KongJS, KangS, KimYW. The effect of epidermal growth factor on autogenous fat graft. *Aesthetic Plast Surg.* 2011 Oct;35(5):738-44.

65.Meltem Ayhan, Dilek Şenen, Gökhan Adanalı, Metin Görgü, Bülent Erdoğan, Burcu Albayrak. Use of Beta Blockers for Increasing Survival of Free Fat Grafts. *Aesthetic Plastic Surgery.* September 2001-Volume 25.

- 66-Wang YB, Qi KM, Zhao M, Zhuang Q. Leptin as a survival enhanced-factor in grainy fat transplantation. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi*. 2004 Sep;20(5):366-8.
- 67-Chang L, Wang J, Zheng D, Zhang B, Fan Q, Zhu C, Yu L. Improvement of the survival of autologous free fat transplants in rats using vascular endothelial growth factor transfected bone mesenchymal stem cells. *Ann Plast Surg*. 2014 Mar;72(3):355-62.
- 68-Alghoul M1, Mendiola A, Seth R, Rubin BP, Zins JE, Calabro A, Siemionow M, Kusuma S. The effect of hyaluronan hydrogel on fat graft survival. *Aesthet Surg J*. 2012 Jul;32(5):622-33.
- 69-Topcu A, Aydin OE, Ünlü M, Barutcu A, Atabey A. Increasing the viability of fat grafts by vascular endothelial growth factor. *Arch Facial Plast Surg*. 2012 Jul-Aug;14(4):270-6.
- 70- Robert K. Murray, Darly K. Granner, Peter A. Mayes, Victor W. Radwell . Harper'ın Biyokimyası. Barış Kitabevi.
- 71-Mutahhar Yenson, İ.Ü.T.F. Biyokimya AD. Vitaminlerin Biyofonksiyonları, 1984.
- 72-Şebnem Gülen. B.Ü.T.F. Fizyoloji AD Vitaminlerin Fizyolojik Fonksiyonları. Fizyoloji Ders Notları. 2007.
- 73-Scholz K, Kynast AM, Couturier A, Mooren FC, Krüger K, Most E, Eder K, Ringseis R. Supplementing healthy rats with a high-niacin dose has no effect on muscle fiber distribution and muscle metabolic phenotype. *Eur J Nutr*. 2014 Aug;53(5):1229-36
- 74-Condé-Green A, Wu I, Graham I, Chae JJ, Drachenberg CB, Singh DP, Holton L, Slezak S, Elisseff J. Comparison of 3 techniques of fat grafting and cell supplemented lipotransfer in athymic rats: a pilot study. *Aesthet Surg J*. 2013 Jul;33(5):713-21.
- 75-Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet*. 1970; 3: 393-03

76-Zuk PA, Zhu M, Ashjian P. Human adipose tissue is a source multipotent stem cells.

Mol Biol Cell. 2002;13:4279-95

77-Toshiro N.,Harumi H.,Isao N. Microvascular angiogenesis and apoptosis in the survival of free grafts. The Laryngoscope.2000, lipincott.

