

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

ADRENALİN SOLUSYONU, PRP SOLUSYONU VE TAM KANIN  
YAĞ GREFTLERİNİN VİABİLİTESİNE ETKİSİ

Dr. Ahmet KÖRMUTLU

Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi  
Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR  
2013



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

ADRENALİN SOLUSYONU, PRP SOLUSYONU VE TAM KANIN  
YAĞ GREFTLERİNİN VİABİLİTESİNE ETKİSİ

Dr. Ahmet KÖRMUTLU

Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI  
Doç.Dr.Yakup KARABAĞLI

ESKİŞEHİR  
2013

## TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA,

Dr. Ahmet KÖRMUTLU'ya ait 'Adrenalin Solüsyonu, PRP Solüsyonu ve Tam Kanın Yağ Greftlerinin Viabilitesine Etkisi' adlı çalışma jürimiz tarafından Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 06.11.2013

Jüri Başkanı	Prof.Dr. Cengiz ÇETİN Plastik Rek. ve Estetik Cerrahi A.D.
Üye	Prof.Dr.A.Aydan KÖSE Plastik Rek. ve Estetik Cerrahi A.D.
Üye	Doç.Dr. Yakup KARABAĞLI Plastik Rek. ve Estetik Cerrahi A.D.

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun.....Tarih ve.....Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Bekir YAŞAR  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof. Dr. Cengiz ÇETİN'e, Prof. Dr. A.Aydan KÖSE'ye, Doç.Dr.Yakup KARABAĞLI'ya, Yrd.Doç.Dr.A.Emre KOÇMAN'a sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.Yapmış olduğum tez çalışmam süresince, desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç.Dr.Yakup KARABAĞLI'ya, örneklerin değerlendirilmesinde destek ve yardımlarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd.Doç.Dr.Dilek BURUKOĞLU'na ve Anatomi Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ferruh YÜCEL'e ve tezimin tüm istatistiklerinin hazırlanmasında yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Arş.Gör.Hülya YILMAZ'a yardımları ve destekleri için çok teşekkür ederim.

## ÖZET

**Körmutlu A. Adrenalin Solüsyonu, PRP Solüsyonu ve Tam Kanın Yağ Greftlerinin Viabilitesine Etkisi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2013.** Otolog yağ greftleri gerek rekonstrüktif sebeple gerek estetik uygulamalarda doku augmentasyonu, kırışıklık azaltılması ve vücut şekillendirme amacıyla sıklıkla başvuru alan uygulamalardır. Biyo-uyumluluğu, ucuzluğu ve uygulama kolaylığı açısından avantajlı bir cerrahi işlem olmasına karşın yağ dokunun yüksek rezorpsiyon oranları önemli bir dezavantajdır. Bu çalışmada tümesent solüsyonunun içinde kullanılan adrenalin, yağ grefti ile kullanımı ihtiva ettiği biyoaktif moleküller ile olumlu sonuçları tahmin edilen TZP solüsyonu ve yağ grefti hazırlanma aşamasında dokudan süzülmesi önerilen tam kanın viabiliteye olan etkisi araştırılmıştır. 40 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan 4 gruba ayrıldı. Grup 1(kontrol grubu)'de(n=10) sıçanın inguinal yağ yastığından alınan yağ grefti dorsumuna ciltaltı yerleştirildi, başka bir uygulama yapılmadı. Grup 2'de(n=10) yağ grefti+1/100000 adrenalin solüsyonu, grup 3'te(n=10) yağ grefti+PRP solüsyonu, grup 4'te(n=10) tam kan ¼ hacim oranında eklenerek aynı cerrahi prosedürler uygulandı. 6. ve 12.haftalarda yağ greftlerinin eksizyonu sonrası hacimleri tekrar ölçülerek histolojik, stereolojik değerlendirmeler yapıldı. Greftleme ve eksizyon sonrası hacimler sıvı taşıma yöntemiyle hesaplanıp sağkalım oranları, histolojik skorlama, stereolojik olarak birim alanda damar uzunlukları( $L_v$ ) değerlendirilerek istatistiksel çalışmalara dahil edildi. Verilerin istatistiksel analizi ile hacimsel olarak TZP ve tam kan uygulanan greftlerin kontrol grubuyla farkının anlamlı olduğu değerlendirildi.( $p<0,05$ ). Histolojik skorlama sonuçlarında gruplar arası anlamlı farklılık izlenmedi.( $p>0,05$ ).  $L_v$  değerleri incelendiğinde TZP, adrenalin ve tam kan gruplarının kontrol grubu ile aralarındaki farklılığın anlamlı olduğu görülmüştür. Ayrıca tam kan ile TZP grubunun da kendi aralarındaki farklılığın anlamlı olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak TZP ve tam kan gruplarının viabilite açısından ön plana çıktığı bunlardan TZP'nin daha değerli olduğu anlaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** yağ grefti, PRP, adrenalin, sağkalım, viabilite

## ABSTRACT

**Körmutlu A. The effect of adrenaline solution,PRP solution and whole blood on viability of fat grafts. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Eskişehir, 2013.** Autologous fat grafting is a commonly used technique for tissue augmentation, facial rejuvenation and body contouring, both for reconstructive and aesthetic indications. Although it is bio-compatible,cheap and easy surgical procedure;high resorption rates of adipose tissue is an important disadvantage. In this study;adrenaline used in tumescent solution; PRP solution, which is predicted that it has positive results in the usage of fat grafts by the help of its bioactive molecule contents and the effect of whole blood suggested to be filtered from tissue to the viability were investigated.Forty Sprague-Dawley rats were used in this study and divided into 4 groups. Groups were planned as follows: In group 1(control group)(n=10) fat grafts were harvested from inguinal fat pad and placed under the skin of rat's dorsal area,no material was added. In group2(n=10) fat graft+1/100000 adrenaline,in group 3(n=10) fat graft+PRP,in group 4(n=10) fat graft+whole blood were added in ¼ volume rate after performing the same surgical procedure. After 6<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> weeks fat grafts were removed and graft volumes were measured,histological and stereological examinations was performed. Grafted fat and excised fat volumes were calculated by liquid overflow method;survival rates,histological scoring and stereological length density( $L_v$ ) quantities were evaluated and included to statistical studies.According to statistical analyzing volumetric difference between control group and PRP with whole blood was significant( $p<0,05$ ). Histological scoring results didn't show significant difference between groups. $(p>0,05)$ .  $L_v$  values analysis showed significant difference between control group with PRP, adrenaline and whole blood group. And also a significant difference between whole blood group and PRP was determined. As a result PRP and whole blood came into prominence about viability of fat grafts, it was agreed that PRP was more valuable than the other group.

Key Words: fat graft, PRP,adrenaline,survival,viability

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Yağ Dokusunun Anatomi ve Histolojisi	5
2.2.1. Yağ Dokusunun Kanlanması	7
2.2.2. Yağ Dokusunun Komponentleri	8
2.3. Yağ Dokunun Fizyolojisi	9
2.3.1. Endokrin Organ Olarak Yağ Dokusu	11
2.4. Yağ Grefti Uygulamaları	12
2.4.1.Otolog Yağ Grefti Endikasyonları	13
2.4.2. Yağ Greftinin Sağkalımı	15
2.4.3. Yağ Doku Transferinde Donör Alan Tercihi	16
2.4.4. Yağ Hazırlama Metodları	17
2.4.5.Yağ Grefti Dondurarak Saklama Yöntemleri	19
2.4.6.Yağ Transferinin Komplikasyonları	20
2.5.Tümesent Solüsyonu ve Adrenalin Kullanımı	23
2.5.1.Standart Tümesent Solüsyonu ve İçeriği	23
2.5.2.Tümesent Anestezisinin Formülasyonu	24
2.5.3.Tümesent Anestezisinin Farmakokinetiği	25
2.5.4.Adrenalin	27
2.6.Trombosit Zengin Plazma(TZP)	29



	Sayfa
2.6.1.TZP İçindeki Büyüme Faktörleri ve Görevleri	32
2.6.2.TZP'nın Kullanım Alanları	33
3.GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1.Deney ve Kontrol Grupları	34
3.2.TZP Elde EdiliŖi	35
3.3.Sıçanda İnguinal Yağ Yastığı Anatomisi	38
3.4.Cerrahi İŖlem	38
4.BULGULAR	43
4.1.Hacimsel Değerlendirme	43
4.2.Histolojik Değerlendirme	45
4.3.Stereolojik Analiz	51
4.4.İstatistiksel Analiz	52
5.TARTIŖMA	56
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	70

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	adrenokortikotropik hormon
ADSC	Adipose derivated stem cell
AMP	adenozin monofosfat
ATP	adenozin trifosfat
bFGF	basic fibroblast growth factor
BI-RADS	Breast Imaging-Reporting and Data System
BMI	body mass index
Cmax	maksimum konsantrasyon
CRP	C-reaktif protein
CT	computed tomography
EGF	epidermal growth factor
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
GH	growth hormon
G6PDH	Glucose-6-phosphate dehydrogenase
HE	Hematoksilen-Eosin
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IGF-1	insulin-like growth factor-1
IL-6	interleukin 6
IL-4	interleukin 4
IL-13	interleukin 13
IL-1 $\beta$	interleukin 1 beta
Kcal/gr	kilokalori/gram
L	litre
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
mg	miligram
ml	mililitre
mm	milimetre
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NSAİİ	Non Steroid Anti İnflamatuar İlaçlar
NK	natural killer

ob	obezite geni
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1
PDEGF	platelet-derived epidermal growth factor
PDGF	platelet-derived growth factor
PRP	Platelet rich plasma
RBP4	retinol-binding protein
rpm	revolutions per minute
TGF- $\beta$	transforming growth factor $\beta$
TK	tam kan
TNF- $\alpha$	tümör necrosing factor alfa
TRAM	Transvers rectus abdominis muscle
TSH	tiroid-stimulating hormon
TZP	Trombositten zengin plazma
UVB	ultraviyole B
USG	Ultrasonografi
VEGF	vascular endothelial growth factor
VLDL	very-low-density lipoprotein
$\mu\text{m}$	mikrometre
$\mu\text{g}$	mikrogram

**TABLULAR**

	Sayfa
2.1. TZP İçindeki büyüme faktörleri ve görevleri	32
4.1. Preoperatif ve postoperatif yağ grefti hacimleri	44
4.2. Her rat için histolojik skorlama bulguları	50
4.3. Deney gruplarının Lv değerleri	52
4.4. Skorlama değerlerinin gruplar arası fark olmadığını gösteren p değerleri	53
4.5. Deney Gruplarının Histolojik Skorlama Medyan ve Q1-Q3 Değerleri	53
4.6. Deney Gruplarının Survival Rate Medyan ve Q1-Q3 Değerleri	53
4.7. Lv Değerleri Gruplar Ortalamaları ve Standart Sapmaları	54
5.1. Zamana göre yağ greftinin histolojisi	58

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Camper Fasyası ve Scarpa fasyasının ilişkisi	6
2.2. Abdominoplasti amelyatından sonra rezeke edilen dokuda, yüzeyel fasya ve yüzeyel yağ dokularının dizilişi	6
2.3. Her adipositin bir kapiller ile temasını gösteren yayma preparatı	7
2.4. Yağ dokusunun kanlanması	8
2.5. Leptin döngüsü	11
2.6. Tümesent liposakşın ile diğer estetik cerrahi uygulamalarının kombine edildiği hastalarda serum lidokain düzeyleri	2
2.7. Sadece tümesent liposakşın uygulanan hastalarda serum lidokain düzeyleri	26
2.8. Tümesent liposakşın ile diğer estetik cerrahi uygulamalarının kombine edildiği hastalarda serum epinefrin düzeyleri	27
2.9. Sadece tümesent liposakşın yapılan hastalarda serum epinefrin düzeyleri	27
2.10. TZP'nin alındığı aynı donörden alınan tam kan ile trombosit sayımlarının karşılaştırılması	30
3.1. Hettich Mikro 220R Santrifüj Cihazı	35
3.2. CPT Tüplerine uygun miktarda kan ile doldurulması	36
3.3. CPT Tüplerinin santrifüj işlemi sonrası hali	37
3.4. TZP'nin PPD enjektörlerine çekilmiş son hali	37
3.5. Ratın sağ inguinal bölgesinin işlem öncesi temizliği sonrası tespit tahtasına yerleştirilmesi	39
3.6. Ratın sağ inguinal bölge ciltaltından başlanarak femoral arter-sinir-ven paketinin korunarak yağ yastığının diseksiyonu	40
3.7. Donör cildin dikilmesi	40
3.8. Yüzüstü pozisyona alınarak servikal dorsumda belirlenen alıcı alanın bölge temizliği yapılarak hazırlanması	41
3.9. Alıcı bölgede hazırlanan ciltaltı poşa yağ greftinin yerleştirilmesi	41
3.10. İşlem sonrası ratın son hali	42

	Sayfa
4.1. Rat dorsumundan yağ grefinin eksizyonu	43
4.2. Eksize edilen yağ greftinin sıvı taşıma yöntemiyle ölçülmesi	43
4.3. Kontrol grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	46
4.4. Tam kan grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	47
4.5. Tam kan grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	48
4.6. PRP grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	48
4.7. Adrenalin grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü	49
4.8. Lv Değerleri Ortalamaları	54

## 1. GİRİŞ

Yağ dokusu, baskın hücre tipi yağ hücreleri(adiposit) olan bağ dokusunun özel bir tipidir. Adipositler bağ dokusu içerisinde tek başına bulunabilecekleri gibi çoğu kez vücudun çeşitli bölgelerine kümeler halinde dağılırlar. Normal ağırlıktaki insanda erkeklerde vücut ağırlığının yaklaşık %15-20'sini, kadınlarda ise vücut ağırlığının %20-25'ini yağ dokusu oluşturur(1).

İnsan vücudunun değişik bölgelerinden alınan yağ dokusuyla oluşturulan otolog yağ greftleri Plastik Rekonstrüktif ve Estetik cerrahide gerek doku ogmentasyonunda gerek kırışıklık azaltılmasında, yüz ve vücut konturu düzeltilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır(2). Hatta kronik alt ekstremitte ülserlerinde ve yanıklarda yağ hücrelerinin doku rejenerasyonuna etkisinden faydalanılarak olumlu sonuçlar elde edildiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir(3). Yağ grefti klinik uygulamalarının odaklandığı meme rekonstrüksiyonunda başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yaygın uygulamalar olmamasına rağmen post-radyasyon doku iyileşmesi, kronik yara ve termal yanıklardaki yararlı etkileri gösterilmiştir(3-5). Plastik Cerrahi uygulamaları dışında da otolaringolojide vokal kordların kontur düzeltilmesinde, kolorektal cerrahide sfinkter inkompetansında, beyin cerrahisinde serebrospinal sıvı kaçaqlarında, ortopedide kemik defektlerinde kullanılabilir(6).

Yağ greftlerinin biyo-uyumluluğu,malzeme olarak ucuzluğu ve kolay elde edilebilir olmasına karşın absorpsiyona eğilimli olması bir dezavantajdır(7,8). Bu postoperatif rezorpsiyon oranları yapılan çalışmaların genelinde %20-50 arasında olduğu ve bu oranın değişkenlik gösterebildiği belirtilmiştir(2,9,10).

Transplante yağ dokusunun uzun dönem sağkalımında birçok faktörün etkili olduğu saptanmıştır(8,11):

- Yağ greftinin elde edildiği donör alan
- Yağ greftinin uygulandığı alıcı alan
- Dokunun elde ediliş yöntemi
- Yağ transferi esnasında grefte uygulanan tedavi seçenekleri
- Saklama koşulları ve diğerleridir(Örneğin; Cryopreservation=Dondurarak saklama)(12-14).

Adrenalin; sıklıkla yağ grefti elde edilirken kanamayı minimize etmek amacıyla tümesent solüsyonunun bir birleşeni olarak kullanılmaktadır. Yağ grefti elde etme tekniklerinde, infiltrasyon anestezisi de dahil olmak üzere, postoperatif rezorpsiyon hala önemli problem olarak karşımıza çıkmaktadır(15). Ayrıca adrenalinin bu rezorpsiyona ne oranda etki ettiği konusunda fikir birliği bulunmamaktadır.

Trombositten zengin plazma(TZP)=Platelet rich plasma(PRP) birkaç klinik disiplinde kullanılır ve içerdiği sitokin ve growth faktörler nedeniyle doku rejenerasyonunu arttırdığı yönündeki bilgiler yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda TZP'nin kemik ve greft iyileşmesinde etkili olduğu maksillofasyal cerrahide, ortopedide kronik tendinopatilerde, kardiyak cerrahide sternotomi alanında, hemostaz ve greft iyileşmesi için faydalı olduğu gösterilmiştir. Daha yakın zamanlarda yumuşak doku defektleri ve yağ greftlerinde TZP uygulamasına olan ilgi artmıştır(16).

Yağ grefti elde ediliş yöntemleri arasında santrifujleme, serumla yıkama, pamuk gazdan veya elekten geçirme gibi yöntemler mevcut olup bunların temel amacı aspiratta mevcut olan kan ve kanı oluşturan komponentlerin uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemlerle ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcut olup tam bir görüş birliği bulunmamaktadır(7,17).

Bu çalışmada adrenalin solüsyonu, TZP solüsyonu ve tam kanın yağ grefti yaşayabilirliğine etkisini göstermek amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2. 1. Tarihçe

İnsanlarda otojen yağ nakli ilk olarak 1800'lerin sonlarında bildirilmiştir. Neuber ilk defa serbest yağ otogreftlerini kullanmanın önemini belirtmiştir. 1893'te orbita etrafındaki kozmetik bir defekti yağ grefti ile onarmıştır. Neuber ilk uygulamalarını büyük kitleli yağ greftleri ile yapmıştır. Bu uygulamalarının başarısızlığa uğraması üzerine çoklu küçük yağ greftlerinin kullanılmasını önermiştir(18). Neuber bu uygulamalarını Romberg hastalığı, atrofik skar ve meme ameliyatlarında kitle grefti olarak kullanmıştır. 1911'de Brunning keşfettiği yeni bir teknikle düzensiz zemini olan yumuşak doku deformitesine subkutanöz yağ doku doldurarak düzeltme sağlamıştır(2).

1912'de Eugene Hollander yüzünde lipoatrofi nedeniyle yağ infiltrasyonu yaptığı iki hastanın yüz değişikliklerinin fotoğraflarını yayımlayarak bu konudaki ilk bilgileri oluşturmuştur.

1926'da Charles Conrad Miller kanüllerle yaptığı yağ doku infiltrasyon tecrübelerini yazılarında paylaşmıştır. Miller yüz ve boyunda skara bağlı kontraksiyonu olan 36 vaka sadece yağın ılımlı küçülmesi ile düzelttiğini açıklamıştır. Buruna yaptığı yağ implantasyonundan sonra aylarca şeklinin gelişimini gözlemlemiştir. Miller ayrıca ileri dercede persistan, her türlü tedaviye dirençli 2 adet parotid fistülünü tedavi ettiğini iddia etmiştir. Bu hastaları 5 yıl takip etmiştir. Fakat bu tekniği hiçbir zaman yaygın olarak kullanılmamıştır(19).

1950 yılında Peer çalışmasıyla birlikte greft perfüzyonu yeterliliğinin transplantasyondan sonraki akıbeti hakkında anahtar bir rolü olduğu konusunda fikir vermiştir. Ayrıca yağ greftini histolojik olarak incelemiş ve makroskopik olarak ağırlığının yaklaşık %45'inin 1 yıl ve sonrasında kaybettiğini söylemiştir. Peer'ın mikroskopik değerlendirmeleri ışığında yağ greftinin dayanıklı yağ hücreleri greftin merkezi çekirdek kısmında bulunmakta ve rejenere olmaktadır. Ayrıca alıcı alanın kan desteğinin iyi olması, iyi hemostaz yağ grefti sağkalımını arttırmaktadır. Peer'ın çalışmalarına karşı olanlar da 30 yıl sonra benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Hekimlerdeki yağ greftine karşı azalan ilginin sebebi sonuçlardaki tutarsızlık ve tahmin edilemez olmasından kaynaklanmaktadır(20-22).

Erken 1980'lerde liposakşın ile elde edilen yarı akışkan yağ dokusu nispeten daha kolay bir teknik olarak,iğne veya küçük bir kanulle greftlemeye imkan sağlamıştır. Illouz'un erken dönem yayınlarında iyatrojenik liposakşın defektlerinde yağ grefti ile yapılan düzeltmelerde mükemmel sonuçlar belirtilmesine rağmen sonraki bildirimleri cesaret kırıcı ve yağ greftinin enjekte edilebilir kollajenle benzer kalıcılığı olduğu yönündedir. Başlangıçta keşfettiği yeni tekniklerin uygulamasında değişik sonuçlar ve başarısızlıklar sunmuştur(19). Fakat Illouz'un 'Karman' kanülünü keşfetmesiyle yağ doku ile şekil verme(liposculpture) ve liposakşın uygulamalarında estetik cerrahinin önünü açmıştır. Bu kanülün ucunun kapalı olması ve deliğin yanda olması yağ dokuların atravmatik olarak dışarı alınabilmelerini sağlayan önemli bir buluştur(23).

Fournier aspiratöre bağlı kanül yerine şırınga kullanarak lipoaspirasyon yapma fikrini ortaya atarak daha atravmatik bir tekniği kullanıma sunmuştur(23). Klein daha iyi yağ greft materyalinin elde edildiği daha iyi sonuçların ve daha az morbidite için yol gösteren tümesent tekniğini tanıtmıştır(11).

Ersek'in yağ dokusunu tel ile çalkalama, durulama, ardından serum fizyolojik solüsyon üzerinde kaldırılarak elekten geçirme gibi birçok travmatik yöntemi içinde barındıran tekniği Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi dergisinde yayımlanmıştır. Daha sonra kendisinin savunduğu bu travmatik tekniğin düşük sağkalım sonuçları görülmüş olup, Carson Lewis gibi yazarlardan olumsuz eleştiriler almıştır(19).

Coleman'ın yağ grefti ile ilgili klinik tecrübeleri;atravmatik, usulüne uygun yağ elde etme ve greftleme tekniği uygulandığında yağ greftinin etkisi ve devamlılığının arttığını göstermiştir. İlk bulgularını 1988 yılında Amerikan Estetik Plastik Cerrahi Topluluğu yıllık toplantısında rapor etmiş, ilk olarak nazolabial düzeltme yaptığı hastaların olgu sunumunu 1 yıl sonra yapmıştır(19).

2009'da Uluslararası Estetik Plastik Cerrahi Derneği'ne göre yağ greftleme Estetik Cerrahi içindeki cerrahi olmayan prosedürlerin %5. 9'unu oluşturmaktadır. 2009 yılında dünyada 514000'den fazla prosedür uygulanmış ve sadece Amerika'da 84000'den fazla hasta tedavi edilmiştir(24). Bu da bize bu uygulamanın günümüzdeki yaygınlığını açık bir şekilde göstermektedir.

## 2. 2. Yağ Dokusunun Anatomi ve Histolojisi

Anatomi ve histoloji kitapları incelendiği zaman, yağ dokusu ve onu meydana getiren hücreler hakkında bilgilerin az olduğu dikkati çekmektedir. Bu bilgi eksikliği nedeniyle araştırmacı doktorların yağ dokusunu tanımadan yaptıkları girişimlerin olumsuz sonuçları görülmüş, bilgi artışıyla birlikte hem bu olumsuz uygulamalar terkedilmiş hem de buna bağlı sonuçlar klinisyenleri daha memnun etmiştir.

Liposakşın metodunun bulunması, bu yönteme gösterilen ilginin sonucu, bu yöntemin yaygınlaşması ve komplikasyonların ortaya çıkmasıyla, yağ dokusu önem kazanmaya başlamıştır. Modern teknikler(elektron mikroskopları, otoradiyografiler, enzimoloji ve antikor denemeleri vs. ) kullanılmasıyla yapılan araştırmalar, yağ dokusunun embriyoloji, anatomi ve fizyolojisini daha detaylı tanımaya imkan sağlamıştır(23).

Yağ dokusunun; farklı yerleşim,yapı,renk ve histoloji gösteren ‘uniloküler’ ve ‘multiloküler’ olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Genel ya da sarı yağ dokusu olarak da adlandırılan uniloküler yağ dokusu hücreleri, sitoplazmalarının ortasında bir tek sarı yağ damlacığı içerirler. Vücudun geneline yayılan çoğunluğunu oluşturan yağ dokusu tipidir. Kahverengi yağ dokusu olarak adlandırılan multiloküler yağ dokusu hücrelerinin sitoplazmalarında ise çok sayıda lipid damlacığı ve kahverengi mitokondriler bulunur. Her iki yağ dokusu da zengin kan dolaşımı ağına sahiptir.

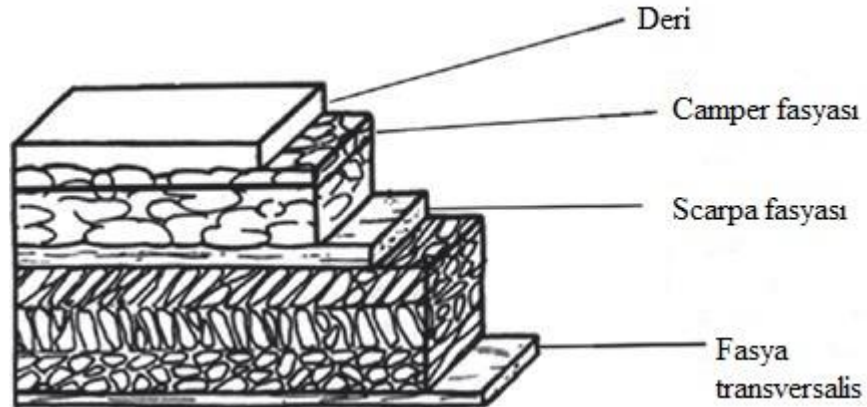
Yağ hücreleri mezenkimden türeyen lipoblastlardan gelişir. Sitoplazmalarında yağ depolayabilen bu hücreler fibroblastı andırırlar. Lipid damlacıkları başlangıçta ayrı ayrıdır, bu erken evredeki lipoblastlar ya da olgunlaşmamış yağ hücreleri multilokuler evrededir; ancak süratle birleşerek unilokuler yağ dokusu hücrelerinin karakteristik görünümü olan tek büyük yağ damlacığını meydana getirirler.

Yağ depoları ile doğan birkaç memeliden biri de insandır. Intrauterin yaşamın 30. haftasında yağı toplamaya başlarlar. Doğumdan sonra yeni yağ hücrelerinin gelişimi, genellikle küçük kan damarları etrafında yoğunlaşmış, farklılaşmamış mezenkimal hücrelerden oluşur. Erken postnatal dönemde sınırlı bir süre içinde, beslenme ve diğer etkenlere bağlı olarak adiposit sayısının arttığı da tahmin edilmektedir. Bu dönemden sonra hücre sayısı artmaz, ancak yüksek kalorili

gıdalar alınacak olursa,adipositlerde daha fazla lipid depolanır. Bu dönemdeki sayısal hücre artışı,yaşamın ileri dönemlerinde bireyi hiperplastik obeziteye sürükleyebilir(1).

Subkutan yağ dokusunda lobulleri ayıran kalın ve düzenli bir fasya mevcuttur. **Camper fasyası** adı verilen bu sıkı fasya,subkutan yağ dokusunun vücudun hemen her bölgesinde aynı yapıda yayılımını sağlar. Derin tabakadaki lobulleri çevreleyen, gevşek ve daha az organize fasya sistemine de **Scarpa fasyası** adı verilir. Yapısı bölgelere göre değişiklik gösterir. Camper fasyası ile oluşan yüzeysel bölge ile gevşek Scarpa fasyasının oluşturduğu derin bölge arasında, fazla göze çarpmayan ama histolojik ve radyolojik olarak rahatça gösterilebilen **Subkutan fasya** mevcuttur.

Subkutan fasya ile ayrılan yüzeysel yağ dokusunun kalınlığı değişmezken, derin tabakanın kalınlığı değişkenlik göstermektedir. Karın bölgesindeki değişik seviyelerde yapılan kesitlerde,bölgeler arasındaki kalınlık farklarının,daha çok derin yağ dokularının miktarına bağlı olduğu rahatça görülmektedir(Şekil 2. 2)(23).



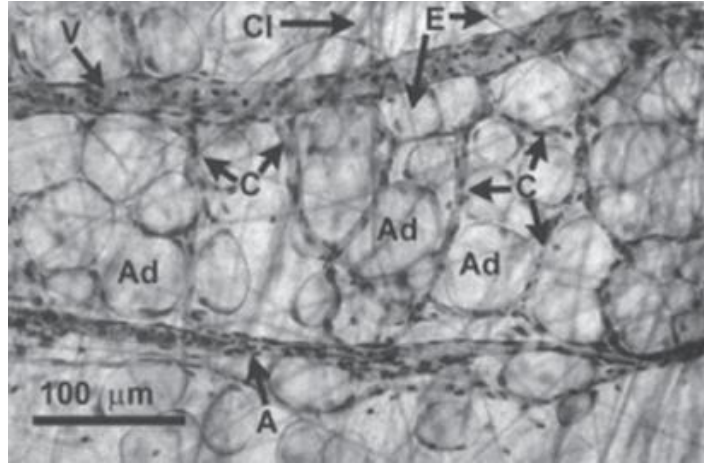
Şekil 2. 1 Camper Fasyası ve Scarpa fasyasının ilişkisi(Melvin A. Shiffman, Alberto Di Giuseppe, Liposuction Principles and Practice)



Şekil 2. 2 Abdominoplasti amelyatından sonra rezeke edilen dokuda, jansiyen moru kullanılarak yüzeyel fasya ve yüzeyel yağ dokularının düzenli dizilişi ok ile gösterilmiştir(Osman Oymak,Liposculture,Nobel Kitabevi,1997).

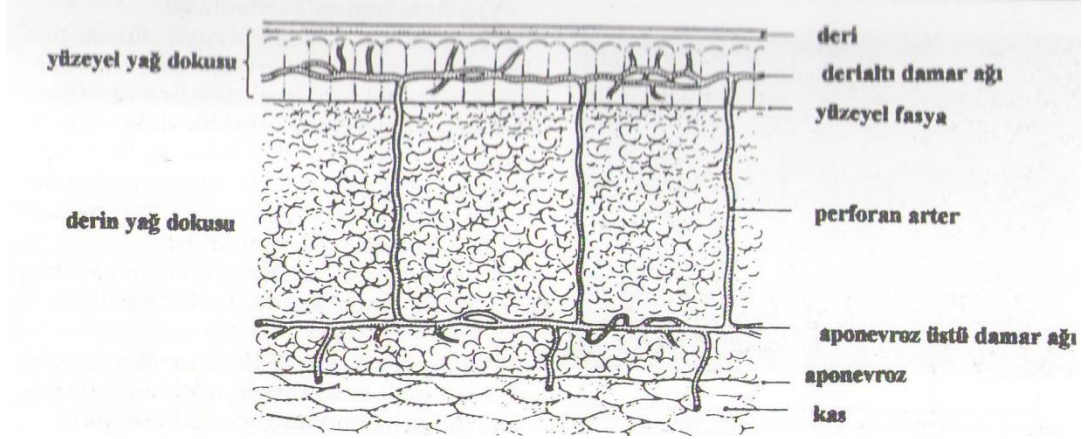
### 2. 2. 1. Yağ Dokusunun Kanlanması

Yağ dokusu, yapısının zayıf olması nedeniyle, travmalar ve cerrahi girişimlerden sonra sıkça nekrotik reaksiyonlar vermesinden dolayı kanlanması zayıf bir doku olarak kabul edilmiştir. Yağ dokusundan flep yapmak veya sadece bu dokuya yönelik cerrahi girişimlerden, hep vaskuler patern zayıflığı korkusu ile çekinilmiştir. Oysa günümüzde, her adipositin en az bir kapiller ile temasta olduğu bilinmektedir(şekil 2. 3).



Şekil 2. 3 Her adipositin bir kapiller ile temasını gösteren Fankels ve Orcein işaretleme ile yapılan yayma preparatı: Ad adiposit; C kollajen; E elastin, V kapiller damar. ( Melvin A. Shiffman, Alberto Di Giuseppe, Liposuction Principles and Practice)

Bu kapillerlerin kan dolaşım hızı, geniş lipid depolayan hücre zarının aktif metabolizmasını karşılayacak kadar hızlıdır. Kapillerleri besleyen damar ağı derin ve yüzeyel arter şebekeleri olarak ayrı ayrı düzenlenmiştir. Her iki sistemin birbirleri ile çoklu perforanlar vasıtası ile bağlantıları vardır. Yüzeyel şebeke, fasya süperfisyalsisin üstünde yer alır ve deri, deri altını besler. Yüzeyel yağ dokularında görülen hipertrofi ve bunun sonucu ortaya çıkan selülitten bu şebeke sorumlu tutulmaktadır(23).



Şekil 2. 4 Yağ dokusunun kanlanması(Osman Oymak,Liposculture,Nobel Kitabevi,1997)

## 2. 2. 2. Yağ Dokusunun Komponentleri

### Ekstrasellüler matriks

Yağ doku ekstrasellüler matriksi temel olarak doku kollajenleri büyüme faktörleri ve diğer protein yapıları ihtiva etmektedir. Yağ dokunun ekstrasellüler matriksi içerisinde 25'ten fazla kollajen bilinmesine rağmen bunlardan sadece tip 1'den tip 6'ya kadar olanlar çalışılmıştır. Bu kollajenlerden ağırlıklı olarak kırık kollajeni olan tip2 kollajen haricinde hepsi gösterilmiştir. Ayrıca araştırmacılar laboratuvar koşullarında taze liposakşın dokusundan izole edilmiş hücrelerinden üretilen tip 7-14-15-18-27'yi göstermişlerdir. Ekstrasellüler matriks büyüme faktörlerini de bulundurmaktadır. Endokrin fonksiyonlarına ilaveten hücreler yağ sekresyonuyla birlikte transforming growth faktör beta, fibroblast growth faktör diğer maddelerle salgılanır. Matriks proteinleri ve büyüme faktörleri gibi komponentlerinin daha iyi anlaşılması yağ greftlemesi gibi tekniklerin dizayn ve prosedürlerinin anlaşılmasını sağlar. Yağ greftlemede başarıyı arttıran faktörler angiogenesis ve adipojenik sürecin aydınlatılmasıyla ortaya konulmuş, yağ greftlemeyi bir sanattan bilime dönüştürmüştür.

### Hücresel Komponent

Yağ dokuda adipositlerin yanında çoklu hücre çeşitleri mevcuttur. Bu hücreler preadipositler, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, perisitler, fibroblastlar ve yağ kaynaklı kök hücreleridir(adipose derived stem cell=ADSC).

Çalışmalarda hücre popülasyonlarını ayırmada hücre yüzey işaret ekspresyonları kullanılmıştır. Örneğin yağ dokunun stromal fraksiyonundan köken alan hücreler CD31 ekspresyonu ile işaretlenmektedir. CD31+ hücreler endotelial hücreler tarafından yüksek miktarda eksprese edilirken CD31- hücreler yağ,kemik,kıkırdak ve sinire farklılaşabilirler(25).

Yağ dokunun hücresel komponentini de ikiye ayırmak mümkündür:

1. Adiposit içeren lipid inkluzyonları

2. Kök hücre kompartmanını(preadipositler) içeren stromal hücreler. Bu preadipositler olgun yağ hücrelerine dönüşürler. Greft sağ kalımında bu kompartmana dikkat edilmemesinin etkilediği düşünülmektedir(17).

Preadipositler CD34+ hücreler olup histolojik olarak 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay yöntemiyle işaretlenerek tespit edilir.

ADSC'lerin greft ile birlikte uygulamalarında ADSC'lerin akıbetinin ne olduğu bilinmemekle birlikte yağ greftindeki adipositlerin proliferasyonunda ve stromal hücre popülasyonu içinde farklılaşmayı desteklediği bilinmektedir(26).

İlave olarak liposakşın aspiratları dolaşımında mevcut olan immun hücreler(B ve T hücreleri, NK hücreleri, mast hücreleri, makrofajlar, monositler), hematopoetik kök hücreleri ve endotelial progenitör hücreleri de içerebilmektedir(25).

### **2. 3. Yağ Dokunun Fizyolojisi**

Yağ doku genel olarak cilt altında bulunmaktadır. Yapısal olarak önemli görevleri yanında mekanik koruma, ısı yalıtımı gibi görevleri bulunmaktadır.

Yağ dokusu vücudun en büyük enerji deposudur. Enerjiyi glikojen halinde depolayan diğer organlar ise karaciğer ve çizgili kastır. Beslenme aralıklı ve glikojen kaynağı sınırlı olduğuna göre büyük bir kalori deposunun bulunması gerekir. Trigliseritlerin yoğunluğu glikojene göre daha düşük ve kalori değerleri daha yüksek olduğundan (trigliseritler için 9. 3kcal/gr,karbonhidratlar için 4. 1kcal/gr) depolanabilmeleri için en uygun yer yağ dokusudur. Travmalardan vücudu koruyan bir bariyer görevi gördüğü gibi vücudun ısı yalıtımını da sağlar(1).

Ciltaltında fonksiyonlarına ilaveten; cilt dokusunu, altında yatan yapılara retinacula cutis adı verilen konnektif doku bantları ile bağlar ve onları içinde barındırdığı damar sinir ve lenfatiklerle destekler.

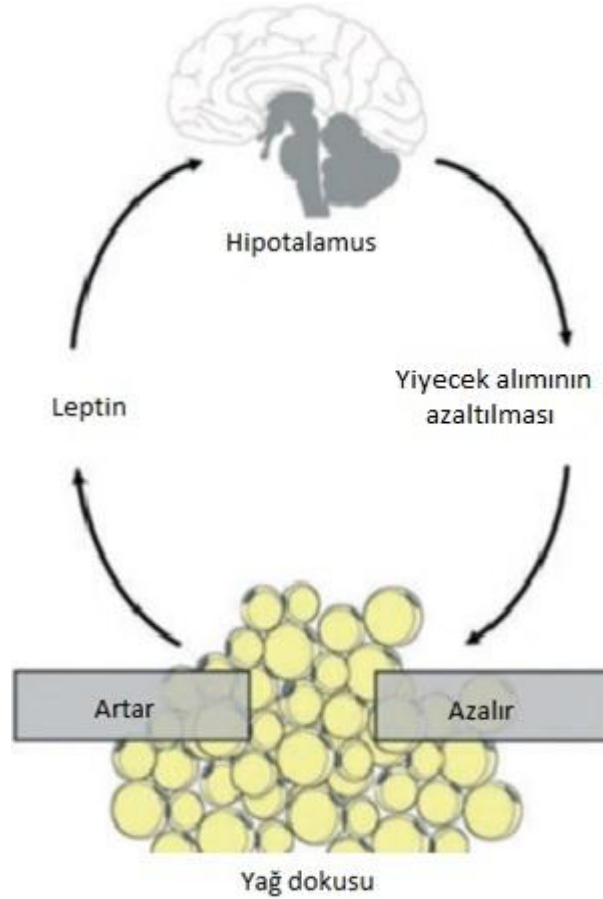
Vücutta büyük miktarlarda depolanmış olan yağ, mekanik fonksiyonlarına ilaveten enerji rezervi olarak da kullanılır. Yağ doku metabolizması fazla trigliseridlerin adipositlerde depolanması anlamına gelen **lipogenezis** ve vücuda yakıt olarak kullanılabilir hale gelmesi anlamına gelen **lipolizisi** içerir.

Yağ hücreleri besin yoluyla alınan yağı, serbest yağ asidi ve glukozdan sentezlenen trigliserid formunda depo eder. Yağ asitlerinin kandan emilimi trigliseridleri şilomikron ve VLDL(very-low-density lipoproteins=çok düşük yoğunluklu lipoproteinler)'den yağ asidi ve gliserole çeviren lipoprotein lipaz enzimi ile mümkün olur. Adipositlere emilimden sonra trigliseridler tekrar glukoz yardımı ile yağ asitlerinden sentezlenir. Glukozun yağ hücrelerine absorpsiyonu insülin bağımlıdır. Depolanmış trigliseridler serbestlenmesi için lipaz enzimi ile tekrar yağ asidi ve glikole dönüştürülürler.

1994 yılında '**obezite**' **geni (ob)** başarılı bir şekilde tanımlanmıştır. Bu genin ürünü olan **leptinin**(leptos:ince) vücut ağırlık regülasyonu görevinin keşfinden itibaren yoğun şekilde çalışmalar yapılmıştır. Sadece yağ dokuda üretilen ve salgılanan leptinin vücut ağırlığı regülasyonunda etkisi bulunmaktadır. Leptin salgılanması kontrollü bir süreç olarak karşımıza çıkmaktadır. Plazma leptin düzeyleri ve vücut kitle endeksi(BMI=body mass index) arasında lineer bir ilişki mevcuttur. Bu yüzden plazma leptin seviyesi yağ kitesini yansıtır ve ağırlık kaybı leptin üretimindeki düşmeyi göstermektedir.

Leptinin kesin önemi henüz net olmamakla birlikte tokluğu hipotalamik reseptörler aracılığıyla etkilemektedir. Leptin beyine periferel yağ depoları miktarıyla bilgi sağlayarak geri besleme(feedback) aracılığıyla besin alımını etkiler. İnsan obezitesi otolog leptin resistansına eşlik etmektedir. Leptin reseptörleri ayrıca santral sinir sistemi dışında da bulunmaktadır. Bu organlar kalp, akciğer, karaciğer, tiroid bezi olup leptin reseptörlerinin tam olarak fonksiyonları bilinmemektedir.





Şekil 2. 5 Leptin döngüsü

Yağ metabolizmasında çok sayıda hormonun etkili olduğu bilinmektedir. İnsülin ve glukokortikoidler hem leptin seviyelerini hem de lipogenezisi stimüle ederler. Katekolaminlerin salınımıyla sempatik sinir sisteminin aktivasyonu; leptin seviyelerinde düşmeye ve lipolizisin uyarılmasına neden olur. İlave olarak lipolizis glukagon, adrenokortikotropik hormon(ACTH), tiroid-stimulating hormon(TSH), büyüme hormonu(GH) ve vazopressin ile artmaktadır. Seks hormonları ise yağ dağılımında temel bir rol oynamaktadır(27).

### 2. 3. 1. Endokrin Organ Olarak Yağ Dokusu

Leptinin keşfi ile yağ dokunun fizyolojik rolü ile ilgili perspektif değişerek yağ dokunun endokrin fonksiyonu araştırılmaya başlanmıştır. Takip eden çalışmalar adipositlerin büyük sayılarda peptid hormonları ve sitokinleri ürettiği gösterilmiştir.

Bunlara **adipokinler** denilmektedir. Bu moleküller karaciğer ve kas gibi diğer dokulardaki enerji metabolizmasını etkilemektedir. Bunu nöroendokrin yollarını kullanarak beslenme ile ilişkili olarak yapmaktadırlar. Bazı adipokinler proinflamatuvar aktivite sergilerler. Örneğin TNF- $\infty$  ve IL-6'nın insülin rezistansına sebep olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular yağ dokunun obezite ve tip 2 diabeti içeren obezite ilişkili metabolik hastalıklarda ana organ olarak rol oynadığını göstermektedir(28).

Adipokinlerin içinde yer alan maddeler leptin, adiponectin, resistin, visfatin, RBP4 angiotensinogen ve VEGF'dür. Yağ hücreleri tarafından üretilen ve salgılanan bu maddelerin görevleri insülin etkisinin, obezite ve doyma merkezinin, arteriyel kan basıncının ve anjiogenezin düzenlenmesi olarak özetlenebilir. Aynı şekilde yağ hücrelerinden salgılandığı bilinen proinflamatuvar sitokinler TNF- $\infty$ , MCP-1, IL-6 ve IL-1 $\beta$ 'dir. Bunların görevleri lipoliz ve insülin etkisinin düzenlenmesi ve inflamatuvar hücresel olayların başlatılmasıdır. Anti-inflamatuvar sitokinler IL-4 ve IL-13 olup inflamasyonu azaltıp doku tamirini artırma görevi bulunur. Son olarak yağ hücrelerinden salgılanan akut faz proteinleri olan PAI-1, serum amiloid A ve CRP hemostaz ve immün olaylarda rol alırlar.

#### 2. 4. Yağ Grefti Uygulamaları

1800'lü yıllarda Neuber tarafından başlatılan yağ doku transferi fikri; 1980'li yıllarda liposakşın yöntemiyle aspire edilen yağın israf edilmeden, doku defektleri ve diğer anormallikleri düzeltmeye yarayan bir dolgu materyali olması fikrine dönüşmüştür. Cerrahlar için bu aspiratları kullanmak cazip bir fikir haline gelirken 1987 yılında Amerikan Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi topluluğunun otolog yağ grefti prosedürüne ilişkin yeni uygulamalar komitesinde alınan kararlar şunlardır:

- Otolog yağ enjeksiyonu tarihi ve bilimsel temellere sahip olan bir uygulamadır.
- Hala deneysel aşamada olan bir uygulamadır
- Yağ enjeksiyonunun değişken sonuçları mevcut olup, uzun süreli kontrollü klinik çalışmalar ile doğruluğu onaylanmış sonuçlara ulaşılmalıdır.
- Meme büyütme amaçlı yağ transferi göğüs kanserinin erken saptanmasını engellemektedir ve halk sağlığı için risk oluşturmaktadır.

Bu kararların ışığında başlayan günümüz yağ grefti uygulamaları gelişme ve uygulama alanları konusunda çeşitlilik göstermiştir.

#### **2. 4. 1. Otolog Yağ Grefti Endikasyonları**

Otolog yağ grefti kullanım alanları veya endikasyonları 2 ana alt başlık altında toplanabilir

**Yüz ve Çevresini İlgilendiren Alanlar:** Yüz ve çevresinde sıklıkla yağ grefti uygulamaları yapılan alanların başlıcaları nazolabial oluklar, ağız komissürlerinde kukla çizgisi görünümü,göz çukurlarının altı ve gözyaşı oluklarının belirginleşmesi, dudak büyütme,çene büyütme,malar büyütme,konjenital,travmatik ve cerrahi defektler, geniş tabanlı akne skarları, idiopatik lipodistrofi ve fasyal hemiatrofi olarak söylenebilir. Bu uygulama alanları daha da arttırılabilir.

**Yüz Dışındaki Alanlar:** Yüz dışındaki yağ grefti kullanım alanları ellerin gençleştirilmesi, vücut kontur defektleri, liposakşın veya travmaya bağlı çökmeler ve meme büyütme olarak özetlenebilir(30).

Yağ grefti kullanım alanları genel hatlarıyla bu başlıklar altında toplanabilirken yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda bu alanın genişleyebileceği görülmüştür.

Bu yeni endikasyonlardan en önemlisi postmastektomi meme rekonstrüksiyonudur. Günümüzde meme rekonstrüksiyonundaki yumuşak doku defektlerinde yağ grefti kullanımı geniş kabul görmüştür(31). Yağ grefti ile ilgili yeni klinik çalışmaların büyük kısmının meme rekonstrüksiyonu üzerine olduğunu söylenebilir.

Postmastektomi meme rekonstrüksiyonunda ana radyolojik sekel mikrokalsifikasyona ve palpabl şişliklere neden olan yağ nekrozudur. Yapılan çalışmalarda mikrokalsifikasyonların 11 ay sonra tespit edildiği ve 24 ay sonra hemen hemen tüm olgularda görüldüğü bildirilmiştir. Bu durumun oluşturduğu en büyük çekince postoperatif nüksün erken tanısında görüntüleme açısından sıkıntı meydana getirmesidir. Benzer şekilde yağ grefti uygulamalarının meme rekonstrüksiyonunda malignite rekürrensindeki etkisi sorgulanan bir durumdur. Teorik olarak adipoz kökenli kök hücrelerin varlığı ve bunların karsinojenik

etkinliği; mezenşimal hücrelerin epitelyal hücelere dönüşebileceği ve mezenşimal kök hücelerin karsinojenik hücelere dönüşebileceği bilinmelidir.

Rekonstruktif meme cerrahisinde yağ greftinin muhtemel endikasyonları şunlardır:

- Meme koruyucu cerrahi sonrası oluşan defektler
- Küçük memelerde yapılan meme koruyucu cerrahi sonrası total rekonstrüksiyon
- Flep veya implant ile rekonstrüksiyon sonrası oluşan kontur deformitelerinin düzeltilmesi
- Mastektomi ve radyoterapi sonrası deri ve ciltaltı yumuşak doku kalitesinin artırılması.
- Nipple rekonstrüksiyonu(33-35).

Yağ greftinin faydalı bulunduğu bir diğer konu postmastektomi ağrı sendromudur. Fabio ve arkadaşları ağrılı skarlara yapılan yağ enjeksiyonu sonrası hastaların şikayetlerinin azaldığını belirtilmişlerdir(36).

Yağ greftlerinin radyasyon uygulanmış hastalarda uygulandığı; skar, kontraktür gibi radyasyona bağlı komplikasyonları azalttığı bilinmektedir. Small ve arkadaşları postmastektomi meme rekonstrüksiyonunda radyasyon uygulanan alanlara bu sebeple kullanabilen bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir(37). Sarfati ve arkadaşları implant ile rekonstrüksiyon planlanan radyasyon almış hastalarda implant zeminin hazırlanmasında yağ greftinin faydalı olduğunu söyleyerek postmastektomi meme rekonstrüksiyonunda yeni bir alan göstermişlerdir(38).

Yağ grefti uygulamasının yanık iyileşmesini desteklediğini ve skarı azalttığı(39), radyoterapi sonucu oluşan skar ve fibrotik alanların doku kalitesini arttırarak fonksiyonel ve estetik açıdan önemli sonuçlar verdiği(40), ciltaltına uygulandığında dermis kalınlığını arttırarak cilt kalitesini arttırdığı bilinmektedir(41).

Ayrıca gluteal büyütme, yeniden şekillendirme, gluteal bölge ve alt ekstremitte deformitelerinin düzeltilmesi için yağ grefti sık kullanılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir(42,43).

Kronik alt ekstremitte ülserlerinde tek başına veya TZP ile kombine yağ greftleri uygulamalarının olumlu sonuçları da yeni bir endikasyon oluşturmuştur(3).

Karpal tünel sendromunda Impelman ve arkadaşlarının başarısız bir yağ grefti denemesi olmuş ve faydası olmadığı gösterilmiştir(44).

#### 2. 4. 2. Yağ Greftinin Sağkalımı

Yağ grefti sağkalımı hakkında farklı görüş ve çalışmalar bildirilmesine rağmen günümüzde standart yağ greftlemede sağkalımı etkileyen faktörler belirli başlıklar altında toplanabilmektedir. Bunlardan ilki donör alanın vaskülaritesinin az olması ve yüksek vaskülariteye sahip alıcı alandır. Yağ aspirasyonunun daha az basınçla aspire edilmesi de yağ greftinin sağkalımını önemli ölçüde arttırmaktadır. Bu amaçla Fournier tarafından geliştirilen şırınga ile aspirasyon daha az travmatik yöntem olarak bilinmektedir. Enjeksiyon tekniği olarak 2 milimetreden büyük kanüllerle enjeksiyon ve bu esnada yağı çoklu tabakalara yerleştirme de sağkalım için uygun tekniklerdir. Alıcı sahanın çok doldurulması(overcorrection) da greft sağkalımı için önemli bir faktör olup çok yüksek miktarlarda yağ nekrozunun gelişebileceği akılda tutulmalıdır.

Yağ grefti yaşayabilirliğinin en çok kabul gören teorisi alıcı reaksiyonu sonrası greftten arta kalan yağ dokusunu gösteren hücre sağkalım teorisidir. Önemli olan diğer faktörler ise anatomik bölge, alıcı alanın hareketlilik ve vaskülaritesidir(10).

Skouge nispeten vaskülaritesi daha zayıf olan alanlardan alınan yağ greftlerinin bu bölgedeki metabolik ihtiyaçlarının daha az olması nedeniyle yağ hücrelerinin sağkalımının daha iyi olduğunu belirtmiştir(45).

Baran ve arkadaşlarının alıcı alan ile ilgili deneysel çalışması bize silikon tabaka ile suni olarak alıcı sahada kapsül oluşumu dolayısıyla vasküler yatak oluşumunu sağladığını göstermiştir. Yağ greftlerinin makroskobik ve mikroskobik değerlendirmeleri de bu vaskülarizasyon artışının rezorpsiyon sürecini yavaşlattığını göstermektedir(46).

Eto ve arkadaşlarının invivo ve invitro yaptığı deneysel çalışmada yağ greftinin rezorpsiyon ve nekroz süreci ayrıntılı ve lokalize edilerek değerlendirilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak perilipinle boyanan in vivo ve in vitro hücre kültürü ile boyama gerçekleştirilen çalışmada perilipin tutan yaşayan adipositler ve nekroze giden ölü adipositlerin ayrımı yapılmıştır. Dolayısıyla yağ greftinin 3 zonu ortaya

çıkıştır. Bunlar, yaşayan zon(surviving zone),rejenerasyona uğrayan zon (rejuvenating zone), nekrotik zon(necrotic zone)'dur.

Bu zonlar periferden merkeze doğru uzanmış olup yaşayan zonda adipositlerin mevcut olduğu, rejenere olan zonda kök hücrelerin görüldüğü fakat adipositlerin izlenmediği,nekrotik zonda ise her ikisinin bulunmadığı belirtilmiştir. Süre olarak da ilk 24 saatte adipositlerin apoptozunun gerçekleştiği, kök hücrelerin 3 gün daha yaşayabildiği belirtilmiştir. 5-7 gün arasında ise prekürsör hücrelerin proliferasyonu ile çoğalan adipositler izlenmektedir. Bu proliferasyon yine periferden nekrotik zona doğru gerçekleşmektedir(47).

### **2. 4. 3. Yağ Doku Transferinde Donör Alan Tercihi**

Bazen cerrahın hiçbir seçeneği olmasa da elde edebildiği herhangi bir alandan yağ almak zorundadır. Bazı hastaların yağ elde edilecek hiçbir donör alanı bulunmaz. Yeterince elde etmek amacıyla çoklu donör alanlar kullanılmalıdır. Bu problemler az vücut yağı bulunan zayıf hastalarda oluşur.

Çoğu insanda, karın, kalçalar, lateral uyluk, derin uyluk, diz veya flank bölgesi yağ elde etme için kullanılabilir.

Pinski ve Roenigk uyluktan elde edilen yağ dokunun karın ve kalçadan alınandan daha uzun yaşayabilmektedir. Scarborough ve arkadaşları medial diz bölgesini tercih ederken, Katz yağ donörü için kalça bölgesini tercih etmektedir.

Liposakşın ile yağ elde etmeyi yüksek negatif basıncın yağ dokusuna olan zararlı etkisinden dolayı şırınga ile yağ elde etme çoğu klinisyen tarafından tercih edilir bir yöntem haline gelmiştir.

En iyi donör alan konusunda yeni çalışmalar yapılması gerekmele birlikte alıcı alan konusunda da uzun süreli sonuçlar bulunmamaktadır(30).

Donör alanla ilgili uluslararası tüm cerrahların belirttikleri tercihleri klinik bilgi ve tecrübelerine dayanmaktadır. Rohrich ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada vücudun sık kullanılan donör alanları incelenmiştir. Burada karın, uyluk, flank bölgesi ve diz bölgesi karşılaştırılmıştır. Yapılan in vitro kolorimetrik hücre proliferasyonu ölçümü ile viabilite analizi yapılmıştır. Bu örneklemelerde hem santrifüje edilmiş hem santrifüje edilmemiş adipositlerin viabilitesi arası anlamlı fark bulunmamıştır(48).

#### 2. 4. 4. Yağ Hazırlama Metodları

Yağ dokusu transfer ederken donör alan seçiminin etkisiyle ilgili az bilgiye sahipken yağ elde etme metodları yağ greftlemeyi belirgin olarak optimize etmektedir. Yağın enjekte edilmeden önceki elde edilme yöntemleri enjekte edilecek yağ dokudaki yaşayan adipositlerin oranını etkilemektedir.

İşlenmemiş yağ örnekleri 3 major komponent içermektedir:

- İntakt yağ hücreleri
- Sıvılaşmış yağ
- Seröanjinöz sıvı

Bu komponentler transplantasyon için maksimum hücre dansitesine ulaşmak için birbirinden ayrılmalıdır.

Etkisiz ve erken reabsorbsiyona sebep olan fraksiyonların ayrıştırılması sadece cerraha yaşayan yağ dokudan oluşan gerçek bir volüm oluşturmakla kalmaz, aynı zamanda inflamasyonu tetikleyen debris ve serbest yağları giderir. Bu aynı zamanda enjeksiyon sayısını azaltır ve bir sonraki enjeksiyon olasılığını azaltmaktadır.

Yağın olarak kullanılan ayrıştırma metodları değişik oranlarda ve sürelerde kullanılan santrifügasyon veya spontan sedimentasyondur. Spontan sedimentasyon 30-60 dakika sürerken santrifügasyon daha kısa süren bir işlemdir. Sedimentasyon aynı seansta başka işlemler yapılırken daha pratik bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yaşayan yağ hücrelerini karşılaştıran erken dönem çalışmalar sedimentasyon ve santrifügasyon arasında intakt adiposit sayılarında benzerlik olduğunu göstermiştir. Brandow ve Newman santrifügasyonun kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında adipositlerin mikroskobik yapısal bütünlüğünü azaltmadığını göstermiştir. Boschert ve arkadaşları santrifügasyon sonrası en yüksek konsantrasyondaki intakt adipositlerin spesmenin en alt tabakasında bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu konsantrasyonun kontrol örneklerine göre %250 artmış olduğu görülmüştür. Aynı araştırmacılar aynı zamanda serbest lipidlerin ve hasarlanmış adipositlerin daha yüzeysel tabakalarda biriktiğini göstermişlerdir. Fakat aynı çalışmada genel olarak belirtilen oranların altında santrifüjlemenin yağ greftinin

değerini azalttığı belirtilmiştir. Düşük oranda döndürmenin sebebi ise yağ hücrelerinin zarar görebilme ihtimalidir.

Ramon ve arkadaşları tüysüz farelerde yaptıkları çalışmada steril bezden geçirilerek geçirilmiş yağ greftlerinin 1500 devirde 5 dakika santrifüje edilmiş örneklerle karşılaştırdıklarında 4 ay sonra daha iyi sonuçlar elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Kan, serbest yağ ve nekrotik debrisleri yaşayan adipositlerden ayıran 3. metod ise santrifügasyon -sedimentasyon sonrası veya doğrudan örneklerin yıkanması işlemidir. Bazı uygulayıcılar steril su ile yıkamayı hipotonik ortamla maruziyete rağmen lizis olmadan iyi sonuçlar elde ettiğini söylemişlerdir. Diğer araştırmacılar ise salin ve %5 glukoz solüsyonu kullanılmasını önermişlerdir. Baran ve arkadaşları salin ile lobuler yağ greftlerini yıkamanın kontrol grubuna göre greft yaşayabilirliğini azalttığını belirtmişlerdir. Chajchir ve arkadaşları yıkamanın fibrinleri uzaklaştırdığını, bunun da yara yatağındaki adipositlerin stabilizasyonunu sağladığını belirtmişlerdir.

Sommer ve Sattler'in son zamanlardaki derleme makalesinde greftlerde yaşayabilen adiposit sayısı, greftin sürekliliğinin belirli bir işlem metoduyla açıkça ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Bu metodlara santrifügasyon hızı ve süresi; sedimentasyon ve yıkama işlemleri dahildir. Rose ve arkadaşları ise sedimentasyon yöntemini daha değerli bulmuşlar ve canlı adiposit sayısını daha arttırdığını söylemişlerdir(45).

Phanette ve arkadaşlarının inceleme makalesinde santrifügasyon ve yıkama ile ilgili çok sayıda çalışma karşılaştırılmıştır. Kanıt miktarının bir yöntemin diğerine üstün olduğunu desteklemediği sonucuna varmışlardır. Fakat santrifügasyon kullanıldığında 3000rpm(1200g) üzerinde kuvvetin daha çok hücresel zarar verdiğini göstermektedir(24).

Bu çalışmaların genel olarak sonuçları değerlendirildiğinde yağ grefti uygulamalarında viabilite değerlendirilmesinde kesin bir karara varılamamakla birlikte eğilim atravmatik tekniklerin adipositlere daha az zarar vereceği yönündedir.



### 2. 4. 5. Yağ Grefti Dondurarak Saklama Yöntemleri(Cryopreservation)

Yağ grefti dondurarak saklama yöntemi içinde barındırdığı soruları günümüzde yeni çözümlenmeye başlanmış bir konudur. Klinik uygulamalarında ve literatürde önemli çelişkiler bulunmaktadır. Dondurulmuş yağın klinik sonuçları doğrulanmıştır fakat kontrollü çalışmalar sık değildir. Alışılmış dondurma yöntemlerinden sonra yağ viabilitesi sonuçları birbirinden farklı ve sorgulanması gerekmektedir. Dondurma sıcaklığı ve saklama süreleri henüz literatürde uzlaşmaya varılamayan temel konulardır. Preadipositlerin ve adiposit kaynaklı kök hücrelerin anlaşılması bu yöntemdeki klinik yaklaşımı değiştirmiştir(45).

MacRae ve arkadaşlarının yaptığı ex-vivo çalışmada abdominoplasti materyali olarak alınan ve sıvı nitrojenle dondurularak -20 dercede 8 gün saklanan örneklerin 32 derecede inkubatörde tutulan örneklerle hücre mitokondri aktivitesi karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Bu da viabilitenin daha fazla olduğunu göstermiştir(8).

Pu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 10 bayan hastadan standart Coleman tekniği ile alınan yağ grefti örneklerinin kryoprotektif ajan eklendikten sonra aşamalı olarak 22 dereceden -30 derereceye dondurulmuştur. Spesmenlerin diğer yarısı kontrol grubu olarak saklanmıştır. G6PDH assay ve rutin histolojik inceleme ile viabilitesi araştırılan örneklerde kontrol grubuyla benzer viabilite ve adiposit sayısı izlenmiştir(12).

Son ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 16 bayan hastadan abdominal liposakşın ile alınan yağ örnekleri hızlı dondurma ile -15 ve -70 dereceye dondurularak 8 haftaya kadar belirli aralıklarda çözdürülerek incelenmiştir. 8 hafta sonunda G6PDH ve XTT testi ile incelenen yağ örneklerinin viabilitesinin azaldığı ve yaşayan adipositlerin her iki sıcaklıkta %5'inin yaşadığı izlenmiştir. Bu sıcaklıkların dondurarak saklama işlemi için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır(13).

Atik ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada 40 isviçre albino faresi inguinal bölgesinden alınan yağ doku 4 gruba ayrılmıştır. 1. grup direkt farenin skalp altına yağ doku transplante edilmiş,2. grup yağ dokusu kuru dondurulmuş,3. grup yağ dokusu gliserole batırılarak dondurulmuş,4. grup yağ dokusu ise sıvı nitrojen ile dondurulmuştur. -35 derecede 6 ay saklanan yağ dokular orijinal donörlerine

transplante edilmiştir. Sonuç olarak sıvı nitrojenle dondurulanlar direkt konulanlarla benzer viabiliteye sahip olup,diğer tekniklerde düşük viabilite saptanmıştır(49).

Schuller-Petrovic -20 dereceye yavaş dondurma sonrası kısa bekleme süresinin adipositleri etkilemediğini söylemişlerdir. Sommer ve Sattler -20 dercede 3 yıl saklanan yağ greftlerinde yaşayan adipositlerin varolduğunu söylemişlerdir. Liu ve arkadaşları -20 derecenin parsiyel dondurmaya gerçekleştirdiği ve metabolik aktiviteyi devam ettirdiğini, -130 derecenin hücre aktivitesini tamamen durdurduğunu söylemişlerdir. Çoğu laboratuvar doku ve hücreleri saklamak için -70 derece sıcaklığı uygun olarak kabul etmiştir(13).

#### **2. 4. 6. Yağ Transferinin Komplikasyonları**

Yağ transferinin birçok muhtemel komplikasyonu bulunmaktadır

##### **1. Absorpsiyon:**

Yağ absorpsiyonu yüksek basınçla alınmış,hasarlanmış, kanlı;üst abdomen, üst kalça gibi fibröz alanlar ve subskapular alandan alınan yağların kullanımı sonucu oluşur. Absorpsiyon yüzdesi %0-70 arası değişmekte olup yazarlar bu nedenle %30-50 arası aşırı doldurma(overcorrection) önermektedir. Optimal sonuçlar için aşırı manüplasyondan kaçınılarak küçük segmentlerde farklı alanlara yağın verilmesi gerekir. Memede gland altına ve pectoralis major kasının içine, kalçada gluteus maksimus kas doğrultusunda verilmesi gerekir. Enjeksiyondan önce kör kanüllerle tüneller açılarak yağın sıkışması engellenmelidir. Postoperatif hastanın aşırı egzersizden kaçınması gerekir.

##### **2. Enfeksiyon:**

Primer enfeksiyondan steril aseptik amelyathane tekniği, perioperatif intravenöz antibiyotik uygulaması preoperatif ve postoperatif oral geniş spektrumlu antibiyotik uygulamaları ile kaçınılabılır. Preoperatif tam kan sayımı hepatit b-c testi ,HIV testi yapılmalıdır. Sekonder mevcut enfeksiyonlar gözden geçirilmelidir.

Son zamanlarda **mikobakteri** enfeksiyonları yağ grefti ile ilişkili gözlenmektedir. Bu cerrahi aletlerin yetersiz asepsisinden kaynaklanmaktadır. Metal aletler otoklav ile plastik aletler gaz sterilizasyonundan geçirilmelidir.

### **3. Embolizm:**

Baldırların aşırı augmentasyonu küçük veya büyük safen venlere kompresyon yaparak trombose neden olabilmektedir. Oluşan bu trombus pulmoner emboliye sebep olabilir. Bu durumdan kaçınmak amacıyla her iki tarafa 60-100ml üzerinde yağ enjeksiyonundan kaçınmak gerekmektedir. Ayrıca ameliyat sonrası basınç uygulamasından kaçınılmalıdır.

Ayrıca göz uygulamalarında periorbital bölgede santripedal doğrultuda(göze doğru) uygulamadan kaçınılmalıdır.

El dorsumu uygulamalarında venoz akımın tersi yönünde uygulama yapılmalı ve aşırı miktarlardan kaçınılmalıdır. Künt ve yaklaşık 14gauge ebadında kanüller seçilmelidir.

Yanlışlıkla büyük damarlara girişte(juguler ven gibi) hava girişi olabilmektedir. Vasküler sisteme hava girişinin ölümcül miktarı 9ml/kg'dır.

### **4. Körlük:**

Periorbital uygulamalarda santripedal(göze doğru) enjeksiyonlarda görülür. Ayrıca kapsüler penetrasyon, retinal arter etrafı hematoma, seroma ve yağ depozitleri birikimi bu duruma neden olabilir. Yazarlar tarafından keskin kanüllerin kullanılmaması göze doğru enjeksiyondan kaçınılması, damar ve sinirlerin enjeksiyon öncesi işaretlenmesini önermektedirler.

### **5. Kist, psödokist, liponekrotik kistler:**

Kistler genellikle küçük ve sınırlı olup, özellikle el dorsumu yüz ve kadın-erkek genitalinde görülürler. Orta boyuttaki kistler yüzde memelerde ve baldırda orta miktarlarda yağ transferinde görülürler. Büyük miktarlarda yağ transferlerinde genellikle memelerde büyük kistler oluşur.

Küçük kistlerde intralezyoner triamcinolone enjeksiyonu uygundur, daha büyük kistlerde 2mm'lik kanüllerle kistler aspire edilerek yüzeysel kistlerde kompresyonla takip önerilebilir.

### **6. Kalsifikasyon:**

Kalsifikasyon yağ depozitleri ve kistlerde mevcut olabilirler. Kalsifikasyon kadın memelerinde sıkıntısı muhtemel göğüs kanserinde tanıyı zorlaştırmasıdır.

### **7. Ossifikasyon:**

Yağ depozitleri ve kistlerdeki kalsifikasyonların kemikleşmesidir. Özellikle hormonal anormallikte meydana gelirler.

### **8. Travmatik yağ nekrozu(meme):**

Genellikle memede görülmekle birlikte diğer bölgelerde de görülebilmektedir. Direkt ve indirekt travma(örneğin, pectoralis major kasının sıkıştırması) ile ağrısız bir kitle oluşumuyla ortaya çıkar. Cilde yapışık bir kabarıklık ve nipple retraksiyonu ile karsinomla karışır. Hastanın anamnezi sorgulanmalıdır. Yağ enjeksiyonu gland altı, kas içi veya kas altına yapılmalıdır.

### **9. Cilt nekrozu/sinüs formasyonu:**

Aşırı büyütme(over-augmentasyon) bu komplikasyona yol açabilir. 10-20ml yağ malar bölgeler, dudaklar, yanaklar ve çene için önerilmektedir. 150-350ml her memeye verilmesi gereken yağ miktarıyken 100-150 ml her kalçaya gluteus maximus doğrultusunda verilmelidir. 60-80ml erkek eksternal genitali için,120ml kadın eksternal genitalinde 3 noktaya verilmelidir. Bunlar pubik bölge ve her iki labia majördür. 20-30ml her iki el dorsumuna , 60-100ml her iki baldıra verilmesi gereken miktardır. Aşırı kompresyon sinüs formasyonu ile birlikte yağ ve cilt nekrozuna yol açar.

Intra-arteryel enjeksiyon da doku nekrozuyla sonuçlanabilmektedir.

### **10. Kompresyon atrofisi(basınç nekrozu) ve avasküler nekroz:**

Kompresyon atrofisi mega yağ transferleri ve sonrası fazla kompresyona bağlı oluşur. Aynı durum liposuction yapılan donör alanlara yapılan fazla kompresyon sonrası da görülebilir.

### **11. Asimetri:**

Uygun olmayan tekniklerle yapılan uygulamalarda oluşan absorpsiyon, hipertrofi ve atrofi gibi durumlarda meydana gelebilir.

### **12. Kanlı yağ doku, hematoma ve seroma:**

Hastanın preoperatif aspirin, NSAİİ ve  $\beta$ -bloker kullanım hikayesi araştırılmalıdır. Klein solüsyonu kullanımı da bu durumu azaltmaktadır. Alıcı alanda sadece insizyon sahalarına bu solüsyon uygulanmalıdır.

### **13. İyatrojenik yaralanma:**

Alıcı ve donör alanlarda bulunan sinir ve damarsal yapılar(fasyal sinir gibi) işlem esnasında yaralanabilir.

### **14. Lipomatöz formasyon(hipertrofi), simetrik/asimetrik lipomatozis:**

Greftlemeden birkaç ay veya yıllar sonra oluşabilmektedir. Göğüslerde, glutea ve peniste kitle şeklinde görülür. Mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte tek kürlük lipoaspirasyon ile düzeltilmesi mümkün bir durumdur.

### **15. Üriner traktta penil/üretal distorsiyon/taş bulgusu:**

Penil büyütmede fazla yağ birikimi üretraya bası yaparak üretal darlığa ve üriner taş bulgularına sebep olabilmektedir.

### **16. Psödotümör :**

Alıcı sahanın ödemi, zedelenmesi ve düzensizliği sonucu oluşur.

### **17. Cilt pigmentasyonu :**

Genellikle kanül giriş alanlarında görülen bir durumdur

### **18. Yağ migrasyonu :**

Tek alana yapılan fazla enjeksiyon sonrası görülebilir. Yağ enjeksiyon alanının üzerine yatma veya elbiselerin yaptığı bası sonucu oluşabilmektedir(45).

## **2. 5. Tümesent Solüsyonu ve Adrenalin Kullanımı**

### **2. 5. 1. Standart Tümesent Solüsyonu ve İçeriği**

Tümesent liposakşın, ciltaltı yağ dokusunun lidokain ve adrenalin içeren kristalloid bir solüsyonla sulandırılarak yapılan sakşın aracılı aspire edilmesi işlemidir.

Lokal tümesent solüsyonu ve mikrokanüller yardımıyla yapılan liposakşın konsepti ilk olarak 1987 yılında Klein tarafından rapor edilmiştir. Klein'in tümesent anesteziğini keşfi liposakşın alanında devrim yaratmıştır. Bu teknik mükemmel bir hemostaz, sıvı dengesi, genel anestezi ve ilişkili komplikasyonların azaltılmasını sağlamıştır. Tümesent anesteziğinin keşfiyle daha küçük mikrokanüllerle vücut şekillendirme etkisi, yağ dokunun tabakalarının hassas bir şekilde uzaklaştırılması gerçekleşmiştir.

Tümesent solüsyonu yaklaşık %10-30 kadarı lipoaspirasyon sırasında uzaklaştırılmış olup daha çok subkutanöz dokudan prosedür tamamlandıktan birkaç

saat sonra uzaklaştırılmış olur. Bu yavaş geri emilim lidokain eliminasyonunu saatler içerisinde olmasını sağlayarak toksik plazma düzeylerine ulaşmasını engeller. Ayrıca bu gecikmiş lidokain absorpsiyonu 18 saate kadar sürebilen postoperatif uzamış anesteziyi sağlayarak hastanın analjezik ihtiyacını azaltmaktadır.

Tümesent solüsyonundaki lidokainin anestezik etkisine ek olarak antibakteriyel etkisi de belirtilmiştir. Düşük dozlarda kullanılan lidokainin antibakteriyel etkisini tekzip eden çalışmalar da tümesent solüsyonundaki bu etkisini sorgulamıştır. Bu konuyla ilgili çalışmalar kesin olmamakla birlikte klinisyen hekimler tümesent teknikle elde ettikleri düşük enfeksiyon oranlarını lidokainin antibakteriyel etkisine atfetmişlerdir. Ayrıca bikarbonatın da yapılan çalışmalarda bu etkiyi arttırdığı ortaya çıkmıştır.

İnfiltrasyondan sonra optimal etkinin 15-30 dakika sonra olduğu saptanmıştır(50).

### **2. 5. 2. Tümesent Anestezisinin Formülasyonu**

Mikrokanül liposakşın için gereken tümesent sıvısının formülü sıklıkla %0.05-0.1\* lidokain içerir. Tipik standart 1litre salin solüsyonu içindeki %0.1'lik solüsyon 1000mg lidokain,10mEq sodyum bikarbonat,1:1,000,000-1:2,000,000\*\* konsantrasyonunda adrenalin içerir. %0.1'lik tam güçlü solüsyon boyun gibi hassas yerler veya abdomen, sırt gibi fibröz ve gergin alanlarda kullanılır. Daha büyük volümlerde lidokainin 35-55mg/kg üst limiti akılda tutulmalıdır. Bu durumlarda konsantrasyonlar değiştirilebilir. Yağ grefti donör alanına verilen solüsyonlarla ilgili yazarlar farklı formülasyonlar önermişlerdir. Coleman 0.5% lidokain ile 1:200,000 adrenalin kullanılmasını tavsiye ederken, Nordstrom donör alana 0.5% lidokain ile 1:80,000 adrenalin enjekte etmiştir. Cook ve arkadaşları donör alana 9 cc 2% lidokain ile 1:100,000 adrenalin ve 1 ml sodyum bikarbonat (8.4%) enjekte etmişlerdir. Tzikas 50 ml 2% lidokain, 1ml 1:1000 adrenalin , 12.5 ml sodyum bikarbonatı 1lt Ringer laktat içine karıştırarak kullanmıştır(22).

\*\*1/1000 adrenalin=1 ampul adrenalin=1mg/1ml=1000µg/ml

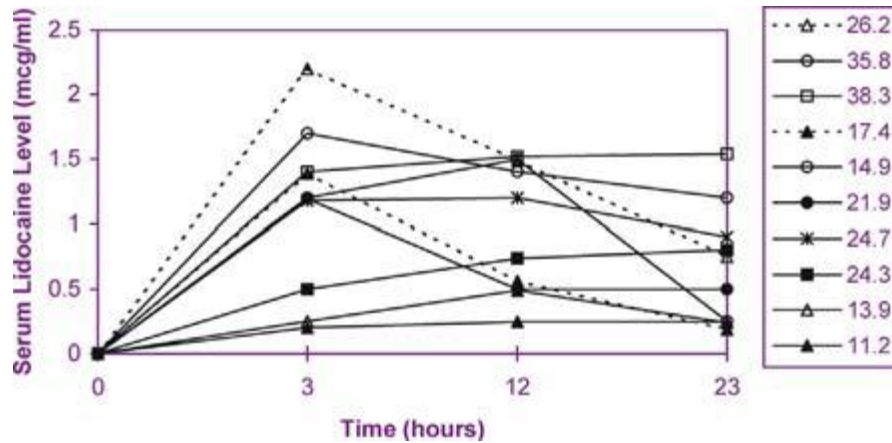
\*%2 lidokain=100mg/5ml=2gr/100ml

### 2. 5. 3. Tümesent Anestezisinin Farmakokinetiği

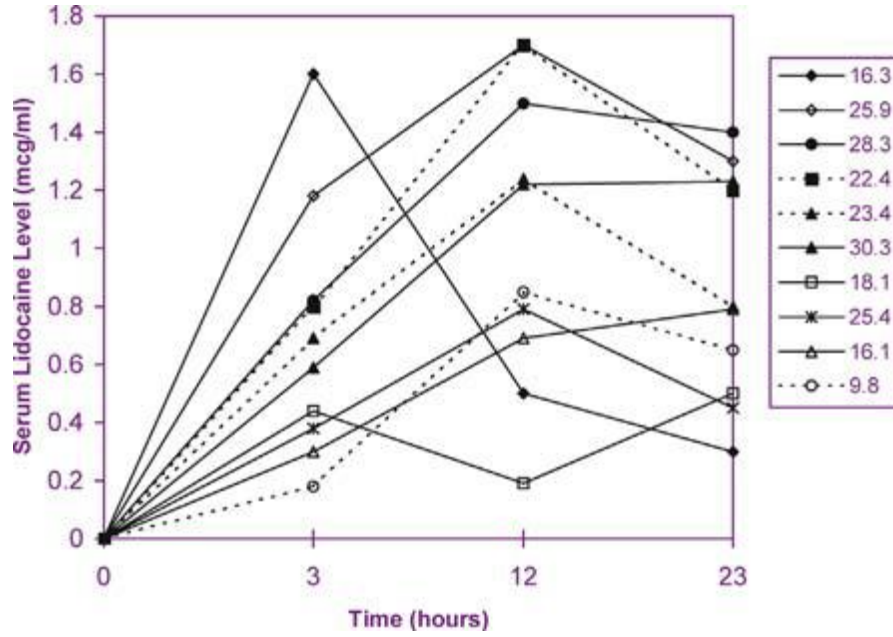
Günümüzde klinisyenlerin farklı uygulamalarına göre standart ve ultra dilüsyon uygulanmış lidokain ve adrenalin karışımları mevcuttur. Bu uygulamalar esnasında lidokainin 35mg/kg optimal terapötik eşik ve 55mg/kg güvenli terapötik sınırı dikkate alınmalıdır.

Tümesent anestezisinin tek kompartman modeline benzer şekilde davranmasının nedeni olarak subkutanöz yağ dokusundan yavaş emilimi olarak gösterilmiştir. Bununla ilgili değişik teoriler bulunmaktadır.

Lidokainin vücuttan uzaklaştırılması %5'inden az kısmı böbreklerden, diğer kısmı karaciğerden atılımı yapılır. Karaciğer atılım oranı 0.7'dir. Bu da her geçişte lidokainin %70'i atılıp %30'unun tekrar dolaşıma katıldığını gösterir(51).



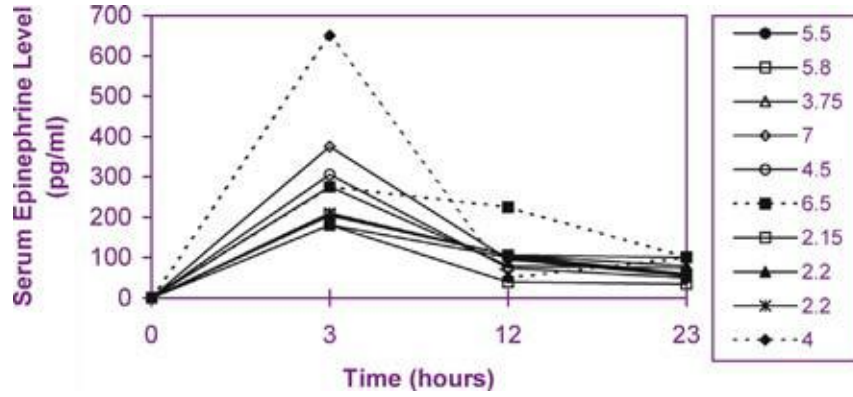
Şekil 2. 6 Tümesent liposakşın ile diğer estetik cerrahi uygulamalarının kombine edildiği hastalarda serum lidokain düzeyleri. Total lidokain düzeyleri(mg/kg) sağda listelenmiştir(Burk ve arkadaşları-Lippincott,Williams&Wilkins)



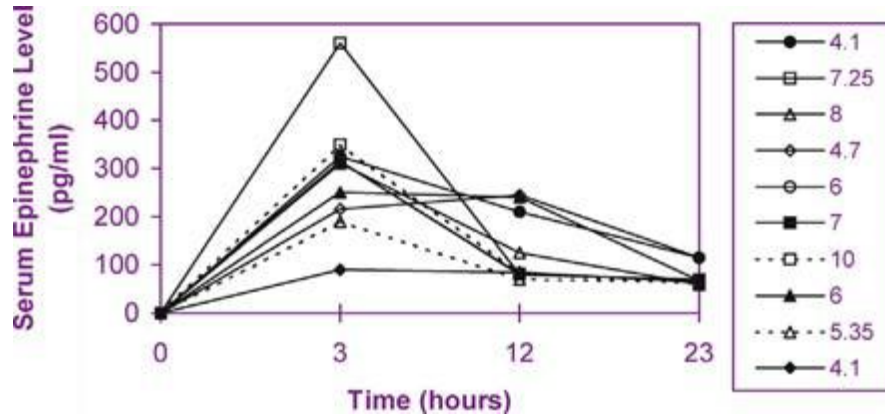
Şekil 2. 7 Sadece tümesent liposakşın uygulanan hastalarda serum lidokain düzeyleri. Total lidokain dozları(mg/kg) sağda listelenmiştir. 3 saatte tepe lidokain düzeyinde olan hastaya IV 50mg lidokain verilmiştir(Burk ve arkadaşları- Lippincott, Williams&Wilkins).

Adrenalin in farmakokinetiğinde ise lidokainin tek kompartman modelini taklit ettiği görülmektedir. Burk ve arkadaşlarının yaptığı 20 hastanın mevcut olduğu çalışmada 5mg'a kadar adrenalin dozları kullanılmıştır. Cmax değeri 5 defa üst normal değere 3 saat içinde ulaşmış olup normal değerlere 12 saatte dönüşmüştür.





Şekil 2. 8 Tümesent liposakşın ile diğer estetik cerrahi uygulamalarının kombine edildiği hastalarda serum adrenalin düzeyleri. Total adrenalin düzeyleri(mg) sağda listelenmiştir(Burk ve arkadaşları-Lippincott,Williams&Wilkins)



Şekil 2. 9 Sadece tümesent liposakşın yapılan hastalarda serum adrenalin düzeyleri. Total adrenalin düzeyleri(mg) sağda listelenmiştir(Burk ve arkadaşları-Lippincott,Williams&Wilkins)

#### 2. 5. 4. Adrenalin

Adrenalin vazokonstrüktör etkisiyle hemostazı arttıran ve lidokainin subkutanöz dokulardan hızlı sistemik absorpsiyonunu önleyen potent adrenerjik bir ajandır. Adrenalin dozu deneysel olarak saptanmış olup nihai belirlenen adrenalin dozu 0. 5-1mg/L (konsantrasyon olarak 1:2,000,000-1:1,000,000) düşük taşikardi insidansı ile tutarlı bir vazokonstrüksiyon oluşturmaktadır. Adrenalinin karışımdaki ilave etkisi ise lidokainin anestezi etkisini uzatması ve absorpsiyonu azaltarak yüksek lidokain dozlarına izin vermesidir. Bundan başka adrenalin kan kaybını

önemli miktarda azaltan dramatik bir hemostaz sağlar. Adrenalinin yüksek konsantrasyonlarda daha efektif hemostaz sağlamasıyla birlikte hastaların hipertansiyon ve taşikardi açısından monitorize edilmeleri gerekmektedir. Ayrıca tiroid ve kardiovasküler hastalıklar gibi altta yatan medikal nedenlerle adrenalin in daha düşük dozları da düşünülmelidir. İhtiyaç halinde küçük alanlarda çoklu seanslar halinde çalışılabilir. Adrenaline duyarlılık durumlarında klonidin ile premedikasyon hastalarda faydalı olabilir.

Lidokainin çözünürlüğü enjeksiyonu esnasında ağırlı olan asidik solüsyonlarla artmaktadır. Lidokaini sodyum bikarbonat ile tamponlamak ağrıyı azaltmaktadır. Çünkü asidik olmayan solüsyonlar adrenalinin spontan degradasyonuna sebep olarak anestezi solüsyonların cerrahinin ilk günü tekrar dağılımını(redistrübisyon) sağlar.

Adrenalinin beta blokörlerle birlikte eşzamanlı kullanımı istenmeyen alfa stimülasyon ile sonuçlanabilmektedir. Fakat bu durum klinik adrenalin uygulamalarında karşımıza çıkmamaktadır. Klinik pratikte adrenalin in absorpsiyonunun çok yavaşlaması ile belirgin bir problem olarak ortaya çıkar. Bu problem yapılmış büyük çalışmaların hiçbirinde morbidite ve mortalite nedeni olarak gösterilmemiştir. Sonuç olarak hastalar beta blokör dozlarına her zamanki dozlarında devam ederler. Ancak modifiye tümesent tekniği ve genel anestezi uygulandığında anesteziyolojist için propranolol kullanımından istenmeyen potansiyel adrenerjik stimülasyonu sebebiyle kaçınılması tavsiye edilir(52).

Katekolaminlerin yağ metabolizmasına sistemik etkisi iyi bilinmektedir. Adenilat siklazı uyararak ATP'den siklik AMP (cAMP) yapımını artırır, bu da lipolizi aktive etmektedir. Bu sistemik etkilerinin iyi bilinmesine rağmen adrenalinin lokal infiltrasyonda kullanımının yağ greftine etkisi ile ilgili çalışma sayısı azdır(15).

## 2. 6. Trombositten Zengin Plazma(TZP)=Platelet Rich Plasma(PRP)

Trombositlerin  $\infty$  granüllerinde depolanan ve ihtiyaç halinde salınan çok sayıda biyomoleküller mevcuttur. Bunları kısa başlıklar halinde toplarsak:

- Adeziv proteinler
- Pıhtılaşma faktörleri ve ilişkili proteinler
- Fibrinolitik faktörler ve ilişkili proteinler
- Proteaz ve antiproteazlar
- Büyüme faktörleri,sitokinler ve kemokinler
- Temel proteinler
- Antimikrobial proteinler
- Membran glikoproteinleridir.

Bu başlıkların içinde mitojenik faktörler(büyüme faktörleri)içinde yer alan platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), platelet-derived epidermal growth factor (PDEGF) ve insulin-like growth factor-1 (IGF-1) doku tamiri ile ilgili olanlarıdır. Bu faktörlerin çoğunluğu kemotaksisi, hücre proliferasyonunu ve maturasyonunu uyarır. PDGF güçlü bir kemoatraktan ve hücre proliferasyonu uyarıcısıdır. Ayrıca bunların hepsi potent anjiogenik faktörler ve endotelial hücre mitojenleridirler. TGF- $\beta$  kemik iyileşmesi açısından faydalı olan 2 halkalı bir polipeptittir. Etkisi latent formunun aktive olması ile düzenlenir. Matriks proteinlerinin üretimini arttırmasına rağmen anjiogeneziste negatif etkisi olabilmektedir. Çoğu büyüme faktörü megakaryositlerden salınırken, IGF-1 ve kemik modüle eden protein, IGFBP-3 endositoz ile yakalanarak depolanır. IGF-1 kendi spesifik hücre reseptörüne(IGF-I-R) bağlanan tek zincirli bir proteindir ve doğrudan kemik matriks formasyonunu, osteoblast ve prekürsörlerini uyarır(53).

Marx ve arkadaşları TZP'yi otojen kanın plazma fraksiyonunun trombosit konsantrasyonunun temel değerlerinin üstünde olan kısmı olarak tanımlar. TZP tam kanın santrifugasyonu sonucu kan komponentlerinin ağırlıklarına göre ayrılması ve trombositlerin konsantrasyonunun arttırılmasıyla yapılır. Bu otolog tam kan periferik venden alınır ve asit sitrat dekstroz solüsyonu A (ACD-A)

antikoagulanında saklanır. Aynı zamanda trombositten fakir plazma(TFP) aktivasyon ile fibrin yapıştırıcıya dönüşen ürün olarak oluşturulur.

Trombositlerin alfa granülleri içinde tamamlanmamış formlarında bulunan sitokinler ve büyüme faktörleri saklanır. Fizyolojik şartlarda trombositlerin aktivasyonu esnasında bu sitokinler ve büyüme faktörleri kendi biyoaktif durumlarına dönüşür ve pıhtılaşma sonrası 10 dakika süresince salınır. Daha önce sentezlenmiş olan büyüme faktörlerinin %95'ten fazlası ise 1 saat süresince salınır.

Bu işlem klinik olarak TZP'nin örneğin trombin gibi bir aktivatörle trombosit jel formasyonu şeklinde tekrar oluşturulabilir. Bu jel ilaç iletim sistemi gibi görev yapar,yüksek trombosit konsantrasyonları ve onların içerdiği büyüme faktörlerini-sitokinleri aktive eder. Bu büyüme faktörlerinden platelet derived growth faktör(PDGF), transforming growth factor-beta 1(TGF-beta 1),vascular endotelial growth factor(VEGF) ve epidermal growth factor(EGF) en önemlileri olarak olarak bilinmektedir. Vasküler büyüme uyarımını takiben makrofajlar bölgeye ulaşır kendi sitokinlerini ve büyüme faktörlerini salgırlar. Bu olay yeni, devam eden bir lokal doku onarımını ve yeniden büyümeyi başlatır(16).

TZP içindeki yüksek miktarda büyüme faktörlerinin ve proteinlerin kaynağının yüksek konsantrasyondaki trombosit miktarları olduğu düşünüldüğünde tam kan ile arasındaki konsantrasyon farkının anlaşılması her iki kan ürününün etki farkını bize açıklayacaktır(Şekil 2. 10)

Rutin CBC			Aynı donörden alınan tam kan örneğinin trombosit sayımı:	Rutin CBC			TZP kiti ile ayırma işleminden sonraki trombosit sayımı:
WBC	L	4.31		x10 <sup>3</sup> hücre/ µL	WBC	L	
RBC	L	4.29	x10 <sup>6</sup> hücre/ µL	HGB	L	0.0 *	g/dL
HGB	L	13.6	g/dL	HCT	L	2.6 *	%
HCT	L	40.1	%	MCV	L	75.2 *	fL
MCV	L	93.5	fL	MCH	L	0.1 *	pg
MCH	H	31.7	pg	MCHC	L	0.1 *	g/dL
MCHC	L	33.9	g/dL	CHCM	L	29.0 *	%
CHCM	L	32.5	%	CH	L	22.4 *	pg
CH	L	30.3	pg	RDW	H	28.4 *	%
RDW	H	12.5	%	HDW	H	4.78 *	g/dL
HDW	H	2.46	g/dL	PLT	H	3417 *	x10 <sup>3</sup> hücre/ µL
PLT	H	177	x10 <sup>3</sup> hücre/ µL	MPV	H	8.8 *	fL
MPV	H	10.3	fL				

177000/µl

3417000/µl

Tam kan örneğinden 19.31 kat fazla

Şekil 2. 10 TZP'nin alındığı aynı donörden alınan tam kan ile trombosit sayımlarının karşılaştırılması(TZP kitinin [www.tctmedikal.net](http://www.tctmedikal.net) resmi internet sitesinden alınmıştır)

2006 yılında Yi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada VEGF gen terapisi ile birlikte yağ grefti uygulaması yapılan 10 rat incelenmiştir. Bu ratlara VEGF gen terapisi hem lokal hem sistemik olarak uygulanmıştır. VEGF düzeyleri de 1-4-7-28. günlerde ölçülmüş olan ratlar 15 gün sonra greftleri çıkarılarak incelenmiştir. Mikroskopik olarak ve Von Willabrand işaretlemesi ile kapiller dansitesi incelenen ratlarda angiogenezin kontrol gruplarına göre yüksek olduğu, greft kalitesinin ve yaşayabilirliğinin daha yüksek olduğu saptanmıştır(20).

2011 yılında Park ve arkadaşlarının Yeni Zellanda tavşanlarında yaptığı çalışmada EGF ve kontrol grubu olarak salin ile birlikte inguinal bölgeden alınan yağ greftleri kulaklarına enjekte edilmiştir. Üç ay sonra eksize edilen yağ greftlerinde EGF verilmiş olan greftlerin sağkalım oranı ve neovaskularizasyonunun daha iyi olduğu tespit edilmiştir(2).

2007 yılında Craft ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada immünitesi baskılanmış farelere verilen insan kaynaklı yağ greftleri PDGF ile ve kontrol grubu olarak PDGF olmaksızın uygulanmıştır. Sonuç olarak PDGF'ün yağ doku yapısını koruduğu ve greft ağırlığını koruduğu gösterilmiştir(54).

Bu çalışmalar bize büyüme faktörlerinin tek tek ele alındığında bile greft sağkalımındaki etkisini göstermektedir. TZIP'nin tüm bu büyüme faktörlerini ihtiva ettiği gözönünde bulundurulduğunda yağ greftlerine olan etkisinin olumlu olabileceği sonucuna varılabilmektedir.

### 2. 6. 1. TZP İçindeki Büyüme Faktörleri ve Görevleri

Tablo 2. 1 TZP İçindeki büyüme faktörleri ve görevleri(Sommeling CE,et al.  
The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: A systematic review,  
Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery, 2012)

PDGF	Fibroblastlar,düz kas hücreleri,mezenkimal kök hücreleri ve osteoblastların kemotaksis ve çoğalmasının uyarılması; monosit, makrofaj ve nötrofillerin kemotaksisinin uyarılması;makrofajların aktivasyonu
TGF-b1	Matriks sentezi;keratinosit çoğalmasının regulasyonu ve kollajen üretiminin uyarılması
VEGF	Kan damarlarının geçirgenliğinin uyarılması, Endotel hücrelerinin oğması ve anjiogenezis; Lenfanjiogenezisin uyarılması
EGF	Keratinositlerin kemotaksisinin uyarılması; Epitelyal,mezenşimal hücrelerin ve fibroblastların çoğalmasının uyarılması; endotelyal kemotaksisin,oğmanın ve kemotaksisin uyarılması; kollajenz sekresyonunun düzenlenmesi

PDGF: platelet-derived growth factor, MSC: mesenchymal stemcells, TGF- $\beta$ 1: transforming growth factor-beta 1, VEGF: vascular endothelial growth factor, EGF: epidermal growth factor.

Bu büyüme faktörlerinden PDGF'nin 3 adet izomeri(PDGF $\alpha\alpha$ ,PDGF $\beta\beta$  ve PDGF $\alpha\beta$ ),TGF'nin 2 adet izomeri bulunmaktadır(TGF $\beta$ 1 ve TGF $\beta$ 2).

Bunlara ilave olarak TZP kanda bulunan hücre adezyon molekülleri olan fibrin, fibronektin ve vitronektin proteinlerini içerir. Bunlar kemik birleşmesi için hücre adezyon molekülleri olarak, kemik bağ dokusu ve epitelyal migrasyon için matriks görevi yaparlar(10).

### 2. 6. 2. TZP'nin Kullanım Alanları

Trombositten zengin plazma(TZP=PRP) bazı klinik disiplinlerde temel sitokinleri ve büyüme faktörlerini içermesine bağlı olarak doku rejenerasyonunu ve iyileşmeyi hızlandırması nedeniyle tercih edilmektedir. Erken çalışmalarda TZP, oral ve maksillofasyal cerrahide kemik greftlemede tanımlanmıştır. Bunun yanında ortopedik cerrahide kronik tendinopati ve krusiat ligaman tamiri gibi işlemlerde, kardiak cerrahide sternal kapama ve greft donör alanın hemostazında tanımlanmıştır. Son yıllarda TZP uygulamalarında yumuşak doku defektleri ve yağ grefti gibi doku rejenerasyonu gerektiren alanlarda kullanımına artan bir ilgi mevcuttur. Literatürde belirtilen çalışmaların büyük bölümü kronik diabetik yaralar,yara yeri iyileşmesi, yağ grefti ile kombine uygulamalar ve kemik iyileşmesi ile ilgili olanlardır(16).

Bu alanların dışında plastik cerrahiyi ilgilendiren bireysel çalışmalar da mevcuttur . Bunlardan Cho ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada ciltaltı TZP uygulanmış ratlarda cilt kırışıklıklarının azaldığı, ayrıca yapılan biyopsilerin analizi sonucu dermal tabakanın daha kalın olduğu, cilt gençleşmesinde etkili olan fibroblast proliferasyonu ve kollajen üretiminin artmış olduğu görülmüştür(55).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezinde (TİCAM) gerçekleştirildi. Çalışmaya başlamadan önce, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun ve Deney Hayvanları Araştırmaları Alt Komisyonunun 26. 01. 2012 tarih ve 252 numaralı kararı ile onayı alındı. Bu çalışma, herhangi bir kurum veya bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Çalışmada, 200–250 gram ağırlığında, 1 yaş civarında Sprague-Dawley cinsi 50 adet dişi sıçan kullanıldı. Bu hayvanlardan 10 dişi sıçan, TZP ve tam kan elde edilebilmesi için donör olarak kullanıldı. Cerrahi işlemler diğer 40 dişi sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma süresince tüm sıçanlar tek olarak ayrı kafeslerde barındırıldı. Gece gündüz döngüsüne maruz bırakıldı. Sınırsız standart yiyecek (kuru pellet) ve içme suyu sağlandı.

Kan alınması ve diğer cerrahi işlemler, intraperitoneal 100 mg/kg Ketamin-HCl (Ketalar®, Pfizer) ve 5 mg/kg Ksilazin-HCl (Rompun®, Bayer) ile sağlanan anestezi altında gerçekleştirildi. TZP ve tam kan için gereken kan dişi sıçanlardan intrakardiyak yolla elde edildi. Yağ grefti uygulanan sıçanlar takip süresi sonunda anestezi altında histolojik ve makroskopik incelemeler için greft eksizyonları yapıldıktan sonra, servikal dislokasyon ile sakrifiye edildiler.

Tüm cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından uygulandı. Yağ grefti tüm sıçanlarda aynı taraf(sağ) inguinal bölge yağ yastığından alındı. Greft alınması esnasında yağ yastığının hemen altındaki femoral arter-ven ve sinir paketinin zarar görmemesine özen gösterildi. Hayvanlar uygun çalışma ortamının sağlanabilmesi için; inguinal bölgeden greft alınırken sırtüstü; greft servikal dorsuma yerleştirilirken yüz üstü pozisyonda tespit tahtaları üzerine yerleştirildi. Gerekli insizyonların mortalite ve morbiditeyi arttırmamak amacıyla minimal olmasına özen gösterildi.

#### 3. 1. Deney ve Kontrol Grupları

Sıçanlar dört gruba ayrıldı (n=10).



Grup 1 (n=10): kontrol grubu, alınan otolog yağ greftinin alındığı fakat hiçbir muameleye uğramadan servikal dorsuma yerleştirilen grup

Grup 2 (n=10): adrenalin grubu, alınan otolog yağ greftinin 1/100000 adrenalin solüsyonuyla birlikte alıcı alana yerleştirildiği grup

Grup 3 (n=10): TZP grubu, alınan otolog yağ greftinin TZP solüsyonuyla birlikte alıcı alana yerleştirildiği grup

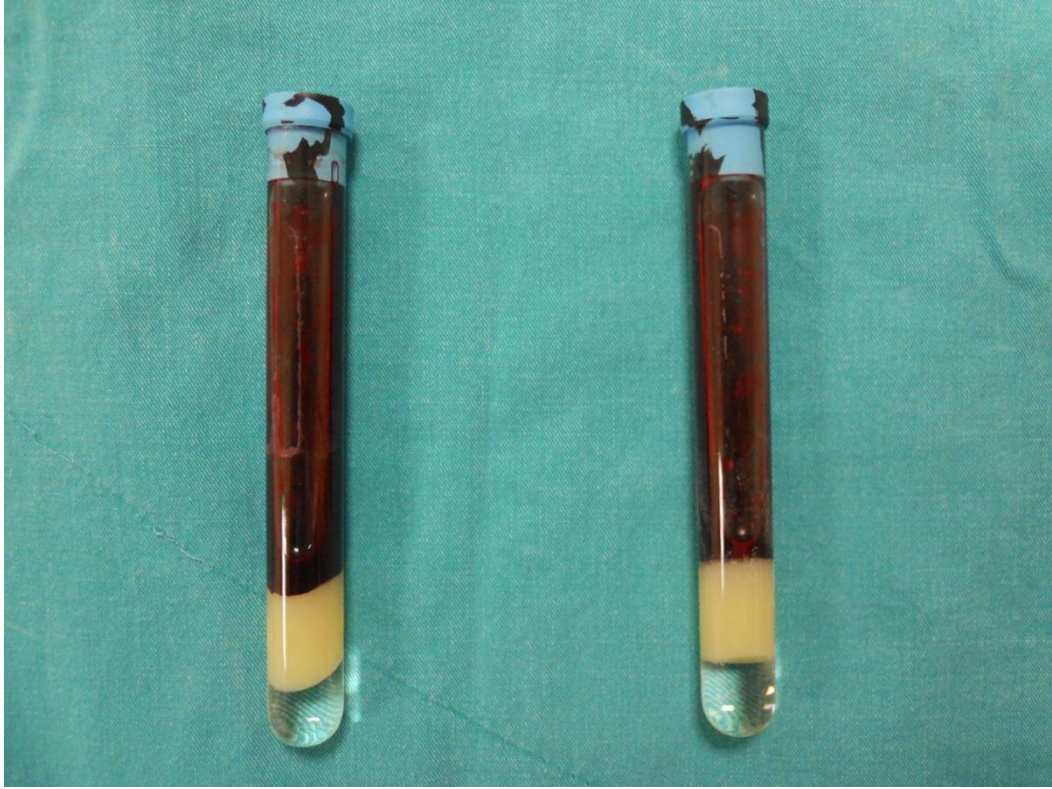
Grup 4 (n=10): tam kan grubu, alınan otolog yağ greftinin herhangi bir işlem uygulanmamış tam kan birlikte alıcı alana yerleştirildiği gruptur.

### 3. 2. TZP Elde Edilişi

Kan almak için ayrılan 10 dişi sıçanın, göğüs kılları traş edildikten sonra povidon iyodin ile bölgenin antisepsisi sağlandı. Kan 10cc'lik enjektör yardımıyla ile intrakardiak olarak alındı. Hazırlık aşamasında tüm işlemler steril olarak yapıldı. Hemolizi ya da trombosit aktivasyonunu engellemek için fazla güç uygulamasından kaçınıldı. Kan alınma işlemi sonrası zaman kaybetmeden TZP kitinin içinde mevcut olan tüplerin her birine(BD Vacutainer® CPT™ Cell Preparation Tube) 9cc kan atravmatik şekilde dolduruldu. Takiben Hettich Mikro 220R(Andreas Hettich GmbH & Co. KG) santrifüj cihazına yerleştirilerek 3200 devirde 8 dakika santrifüj işlemi uygulandı.



Şekil 3. 1 Hettich Mikro 220R Santrifüj Cihazı



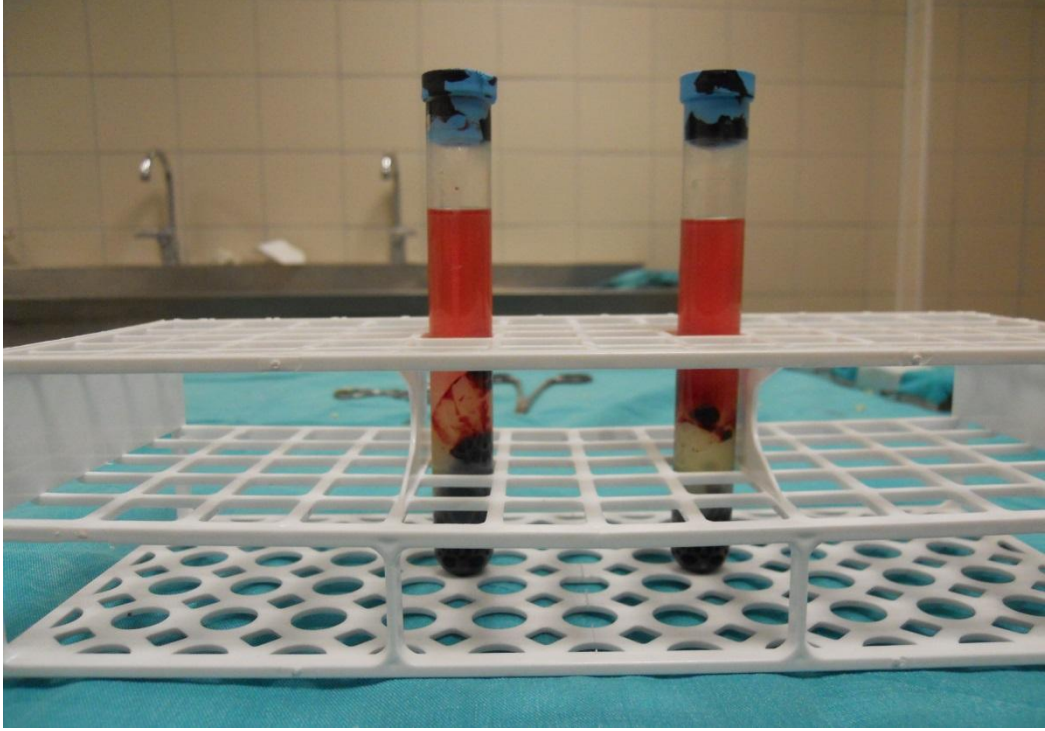
Şekil 3. 2 CPT Tüplerine uygun miktarda kan ile doldurulması

TZP hazırlanması için kullanılan hücre hazırlama tüpünde hazırda bulunan maddeler aşağıda belirtilmiştir:

- Sodyum sitrat solüsyonu(üst sıvı tabaka)
- Polyester jel(orta tabaka)
- Polisakkarit/Sodyum diatrizoat solüsyonu(FICOLL™ Hypaque™ solution)(alt sıvı tabaka)

Santrifuj sonrası tüplerde oluşmuş olan TZP, TFP(trombositten fakir plazma), eritrosit tabakalarının birbirinden ayrıştığı gözlemlendi. Bunların içerisinde dumanlı görünüme sahip olan TZP tabakasından kit içinde mevcut olan spinal ponksiyon iğneleri ile TZP ayrıştırıldı. 18cc kana karşılık yaklaşık 3cc TZP'nın elde edildiği gözlemlendi, daha sonra elde edilen bu miktar 1cc PPD enjektörlerine paylaştırılarak uygulamaya uygun hale getirildi.





Şekil 3. 3 CPT Tüplerinin santrifüj işlemi sonrası hali



Şekil 3. 4 TZP'nın PPD enjektörlerine çekilmiş son hali

### 3. 3. Sıçanda İnguinal Yağ Yastığı Anatomisi

İnguinal yağ yastığı rattaki en büyük yağ dokusudur ve bütün alt abdomen ve kasık bölgesini kaplamaktadır. Süperiordan kutanöz maksimus kasına birleşir, alt abdomende ve inferiorda süperior epigastrik damarların orijinleri arasında seyreder ve orta uyluk seviyesinden dize ulaşır. Medial sınırı suprapubik bölge, lateral sınırı rectus femorisi çaprazlayarak uyluğun anterior kısmına ulaşır ve lateral uyluk yağ dokusuna birleşir. Ratlarda inguinal yağ yastığının vasküler pedikülü orta uylukta femoral damardan ayrılan süperfisyel epigastrik damardır. Süperfisyel epigastrik arter yağ dokusu içerisinde 2 dala ayrılmaktadır(56).

### 3. 4. Cerrahi İşlem

Tüm cerrahi işlemler steril koşullarda gerçekleştirildi. İntraperitoneal anesteziyi takiben, sıçanların sağ inguinal ve servikal dorsal bölgeleri tıraş edildi. Sırt üstü pozisyonda tespit tahtasına yerleştirildikten sonra povidon iyodin ile cerrahi alan antiseptisi sağlandı. Girişim yapılacak cerrahi alan açık kalacak şekilde sıçanlar steril örtü ile örtüldü. Sağ inguinal bölgeden yapılan oblik insizyonla cilt açıldı ve hemen ciltaltından başlayan inguinal yağ yastığı keskin ve künt disseksiyonlarla zeminden femoral arter-sinir-ven paketi korunarak sıyrıldı. Süperiorda abdominal kaslardan inferiorda uyluk kaslarından tek parça halinde disseke edildi. Diseksiyon esnasında femoral arterin yağ yastığına uzanan süperfisyel epigastrik arter olarak adlandırılan dalı korunmaya çalışıldı. Ancak bir kısmında kesilmek zorunda kalındı. Bu kesme işlemi hemodinamiyi bozacak kanama veya hematoma oluşturmadı.

Sıçanların inguinal yağ yastıkçıklarından alınan yağ greftlerinin alınmasından sonra aşağıdaki farklı işlemler uygulanmıştır:

- Grup 1, kontrol grubu (n=10): Servikal dorsumda ciltaltı açılan poşa çıkarılan yağ grefti yerleştirilerek ek bir işlem yapılmadı.
- Grup 2, adrenalın grubu (n=10): Servikal dorsumda ciltaltı açılan poşa çıkarılan yağ grefti yerleştirilirken çıkarılmış yağ greftinin ¼ hacminde adrenalın solüsyonu ilave edildi.
- Grup 3, TZP grubu (n=10): Servikal dorsumda ciltaltı açılan poşa çıkarılan yağ grefti yerleştirilirken çıkarılmış yağ greftinin ¼ hacminde TZP ilave edildi.

- Grup 4, tam kan (n=10): Servikal dorsumda ciltaltı açılan poşa çıkarılan yağ grefti yerleştirilirken çıkarılmış yağ greftinin  $\frac{1}{4}$  hacminde herhangi bir işlem görmemiş tam kan ilave edildi.

Bu çalışmada verilecek değişken sıvıların volümlerinin oran olarak hesaplanmasının sebebi;

- Alınabilen yağ grefti hacimlerinin her sıçana göre değişken olması,
- Otolog olarak alınması sebebiyle greftin arttırılıp azaltılarak greft volumunun eşitlenmesinin sağlanamamasıdır.

Değişken sıvıların poşa verilmesi greftin yerleştirilmesinden sonra gerçekleştirildi, Böylece sıvının taşması önlenerek hacimsel yanlışığın önüne geçilmiş oldu. Alıcı saha olarak ratın dorsumu seçilmesinin sebebi subkutanöz doku ile kas arasında yağ doku bulunmaması ve buna bağlı olarak sonuçların daha doğru elde edilmesi olarak kabul edilmiştir(10,57).



Şekil 3. 5 Ratın sağ inguinal bölgesinin işlem öncesi temizliği sonrası tespit tahtasına yerleştirilmesi

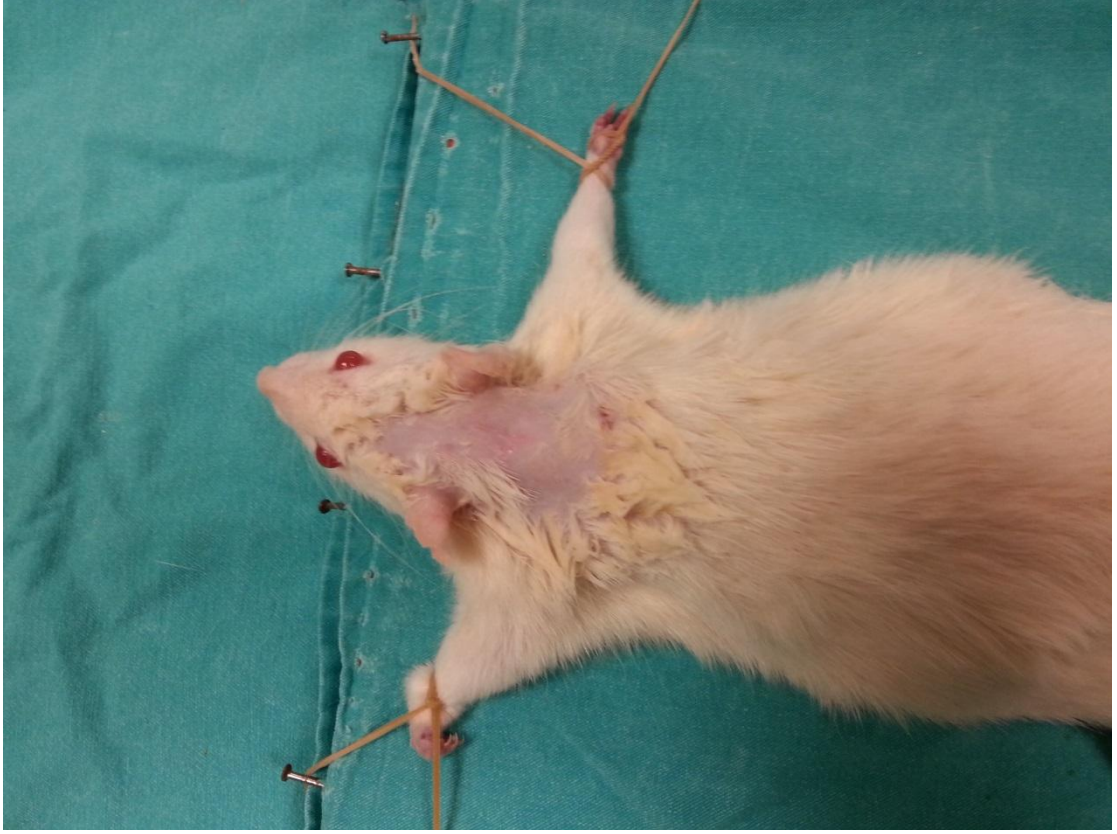




Şekil 3. 6 Ratın sağ inguinal bölge ciltaltından başlanarak femoral arter-sinir ven paketinin korunarak yağ yastığının diseksiyonu



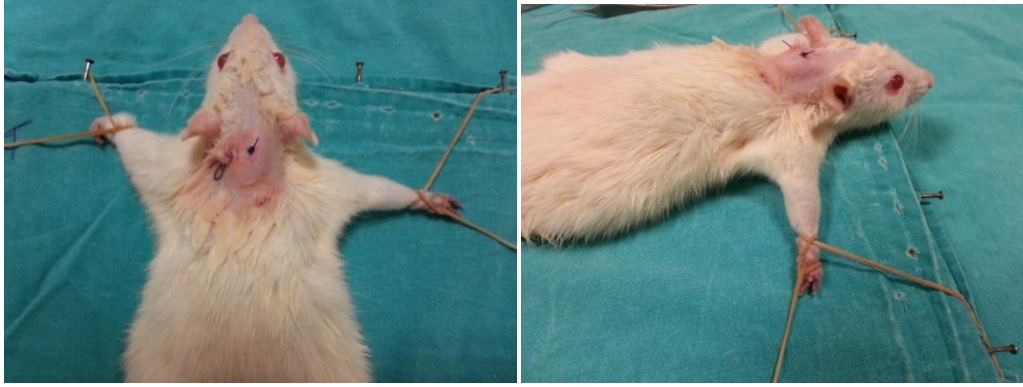
Şekil 3. 7 Donör cildin dikilmesi



Şekil 3. 8 Yüzüstü pozisyona alınarak servikal dorsumda belirlenen alıcı alanın bölge temizliği yapılarak hazırlanması



Şekil 3. 9 Alıcı bölgede hazırlanan ciltaltı poşa yağ greftinin yerleştirilmesi



Şekil 3. 10 İşlem sonrası ratın son hali

#### **Alıcı cildin dikilmesi**

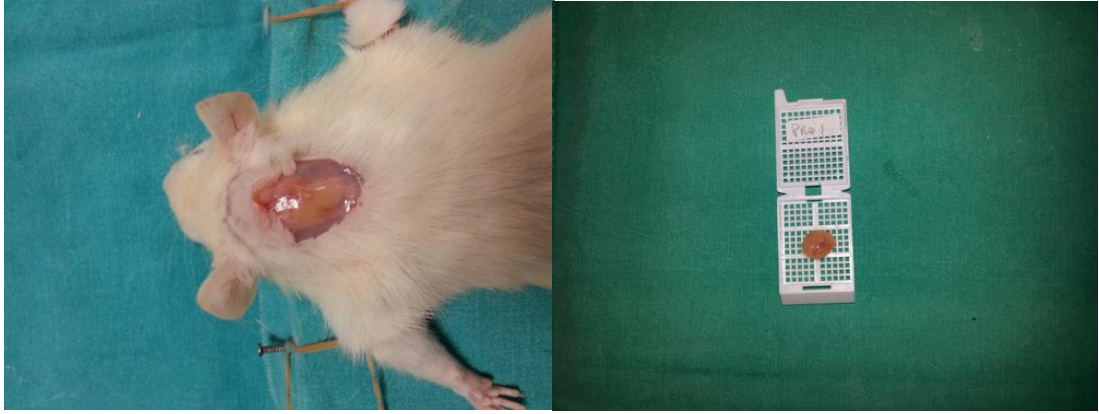
İşlem sonrasında donör ve alıcı alan cilt 4. 0 Polypropylene(PROLENE™-ETHICON) suture ile devamlı dikiş tekniği ile suture edildi. İnsizyon alanına povidon iyodin ile pansuman yapıp OpSite® sprej (Smith & Nephew) sıkıldı. Vücut ısıları korunarak anesteziden uyanmaları beklendi. Ameliyat sonrası dönemde insizyon alanlarına epitelizasyon tamamlanana kadar günlük povidon iyodin ile pansumana devam edildi.



## 4. BULGULAR

### 4. 1. Hacimsel Değerlendirme

Preoperatif ve postoperatif yağ grefti volümleri 5cc'lik enjektörler kullanılarak sıvı taşıma yöntemiyle ölçülmüştür(şekil 4. 2). Ölçülen bu hacimler not edilerek çalışma sonunda karşılaştırılmak üzere tablolar oluşturuldu.



Şekil 4. 1 Rat dorsumundan yağ greftinin eksizyonu(TZP 1. rat)



Şekil 4. 2 Eksize edilen yağ greftinin sıvı taşıma yöntemiyle ölçülmesi

Tablo 4. 1 Preoperatif ve postoperatif yağ grefti hacimleri

	<b>Kontrol</b>	<b>Adrenalin</b>	<b>TZP</b>	<b>Tam Kan</b>
<b><u>Preop. hacim</u></b>	0,6	0,4	0,6	0,4
<b>Postop.</b>	0,1	0,1	0,2	0,1
<b>hacim</b>	0,6	0,4	0,4	0,4
<b>(cc)</b>	0,1	0,1	0,2	0,3
	0,6	0,6	0,6	0,4
	0,2	0,3	0,2	0,2
	0,4	0,4	0,4	0,5
	0,1	0,2	0,3	0,1
	0,6	0,8	0,4	0,8
	0,1	0,3	0,2	0,2
	0,6	0,8	0,7	0,8
	0,1	0,3	0,3	0,4
	0,6	1,0	0,6	0,6
	0,2	0,3	0,2	0,5
	0,7	0,8	0,6	0,7
	0,2	0,2	0,2	0,2
	0,6	0,6	0,5	0,8
	0,1	0,2	0,1	0,2
	0,6	0,8	0,6	0,8
	0,1	0,2	0,3	0,3

Elde edilen postoperatif ve preoperatif hacimler aşağıdaki formülle değerlendirildi:

$$\text{Sağkalım oranı} = \frac{\text{6-12 hafta sonra eksize edilen yağ grefti hacmi}}{\text{konulan yağ grefti hacmi}}$$

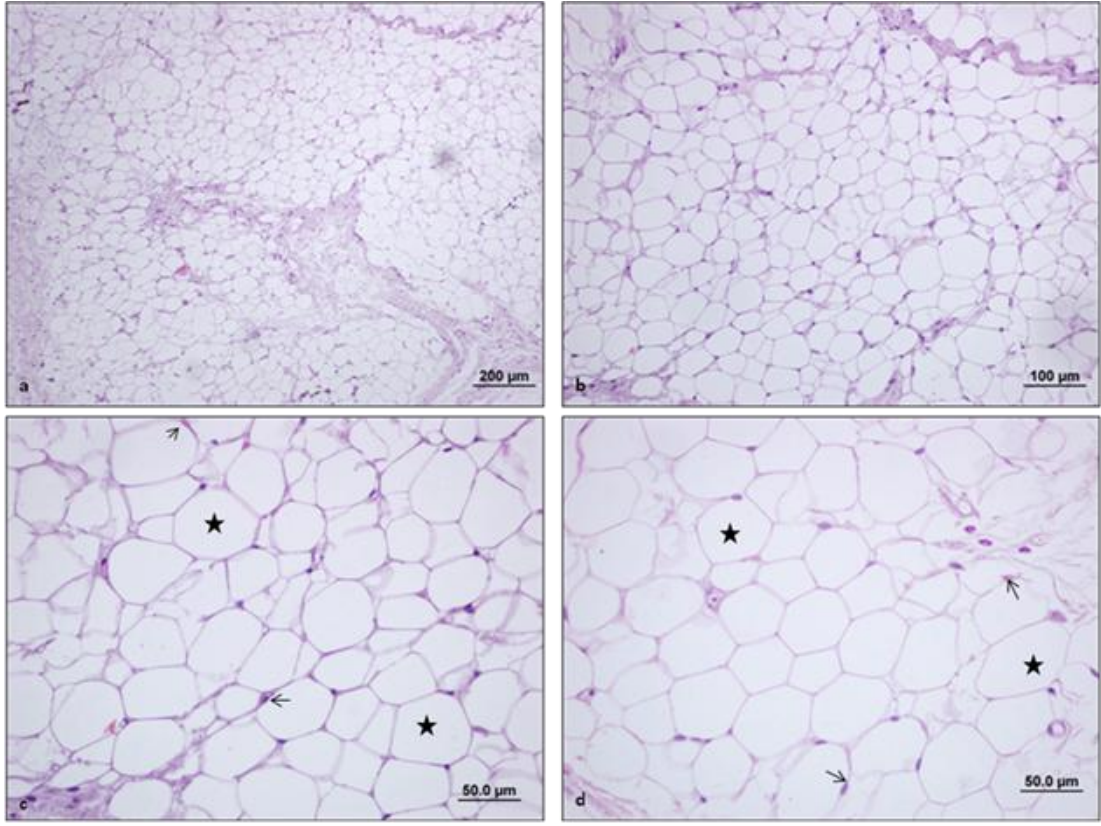
## 4. 2. Histolojik Değerlendirme

6. ve 12. Haftalarda kontrol, adrenalin, TZP ve tam kan grubundaki sakrifiye edilmiş tüm ratlardan alınan yağ grefti örnekleri incelenmek üzere Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilimdalına teslim edildi. Tüm spesmenler tek histolog tarafından incelenmiştir.

### Histolojik Teknik

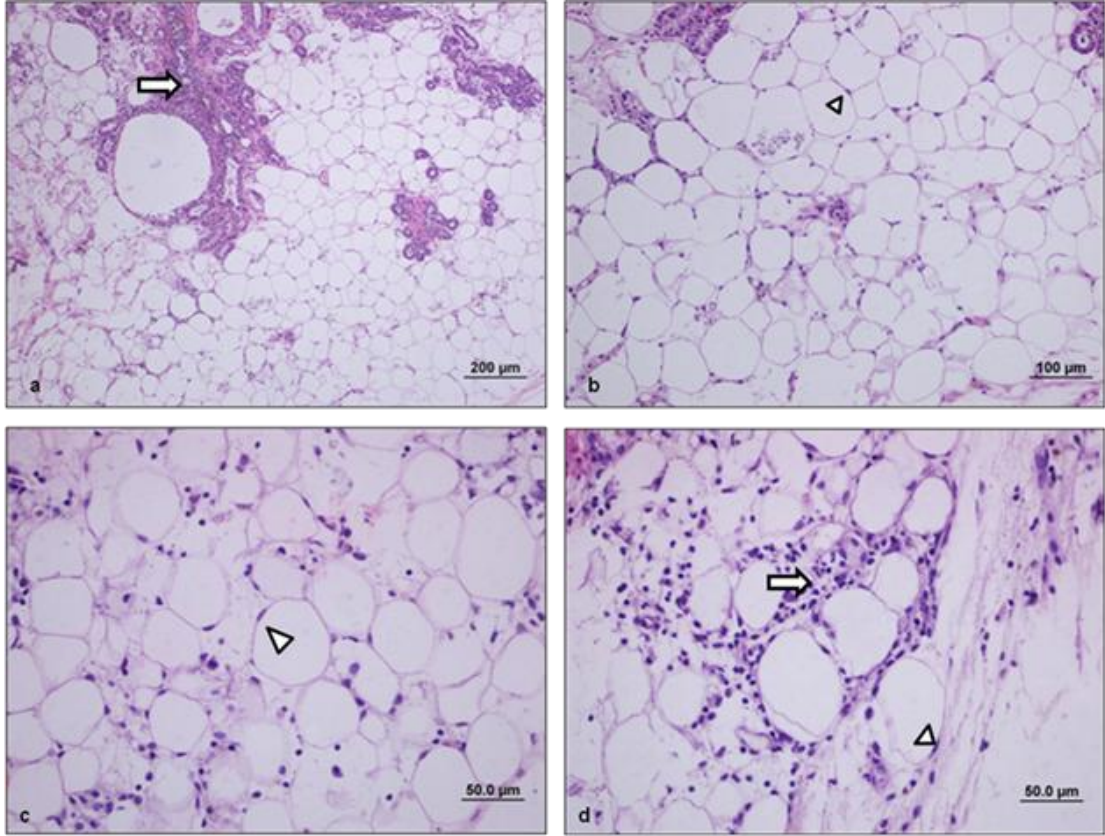
Alınan yağ dokusu örneklerinin % 10'luk formalin fiksatifinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70'lik, %80'lik, %90'lık ve %96'lık alkol serilerinde 45'er dakika bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'er dakika ksilolde bekletildi. Yağ dokusu örnekleri şeffaflanmalarının ardından etüv içinde 65°C'de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi. Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutularak, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45°C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında Hematoksilen-Eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilen ile 2 dakika ve Eosin ile 10 dakika boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'er dakika tutularak şeffaflandırıldı ve şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapıldı ve yağ dokusu örneklerini içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

### Histolojik Bulgular

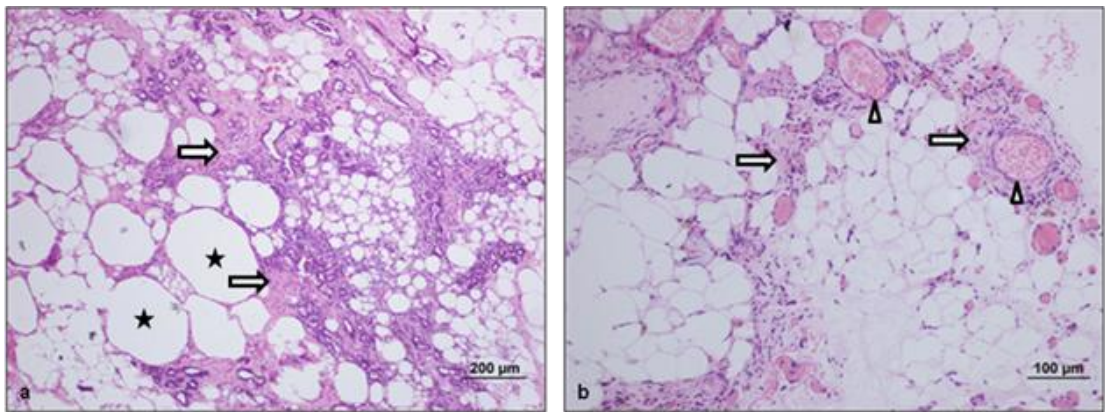


Şekil 4. 3 Kontrol grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Periferik yerleşimli çekirdekleriyle (→) normal yapıdaki yağ hücreleri görülmekte (\*). (a-d) (bar:200µm, bar:100µm, bar:50. 0µm, HE).

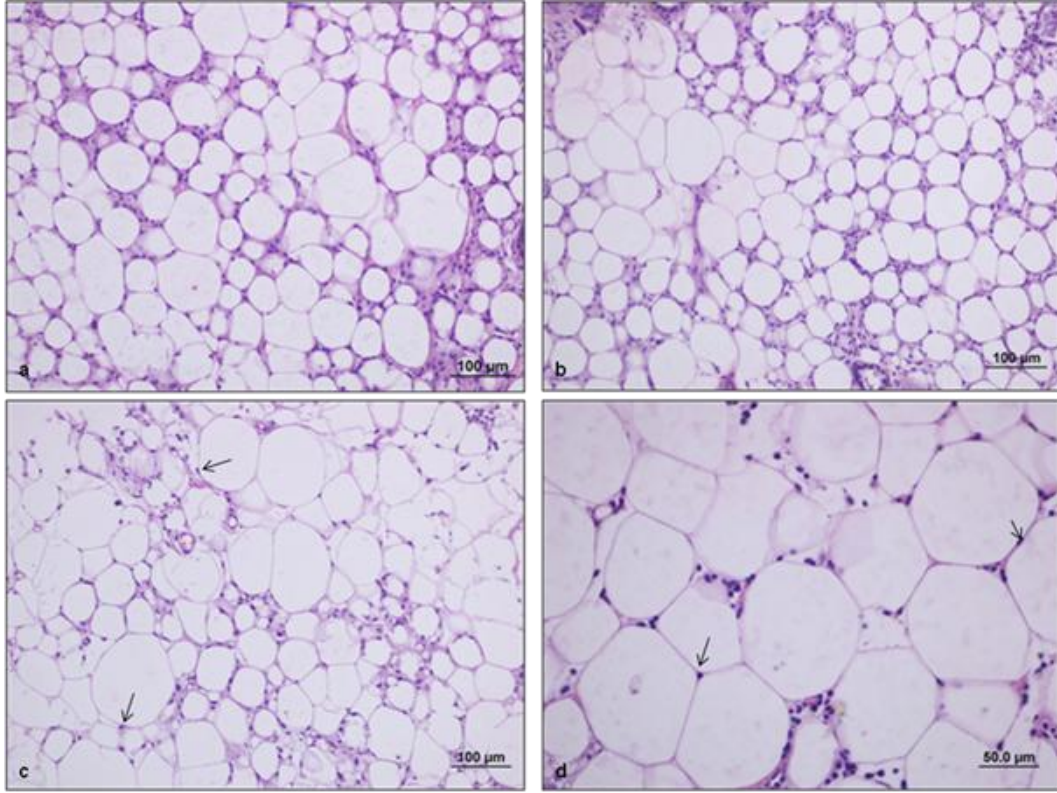




Şekil 4. 4 Tam kan grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Periferik yerleşimli çekirdekleriyle (►) normal yapıdaki yağ hücreleri görülmekle birlikte bazı bölgelerde hücresel infiltrasyon ve fibrozis dikkat çekmekte (→) (a-d) (bar:200µm, bar:100µm, bar:50. 0µm, HE).

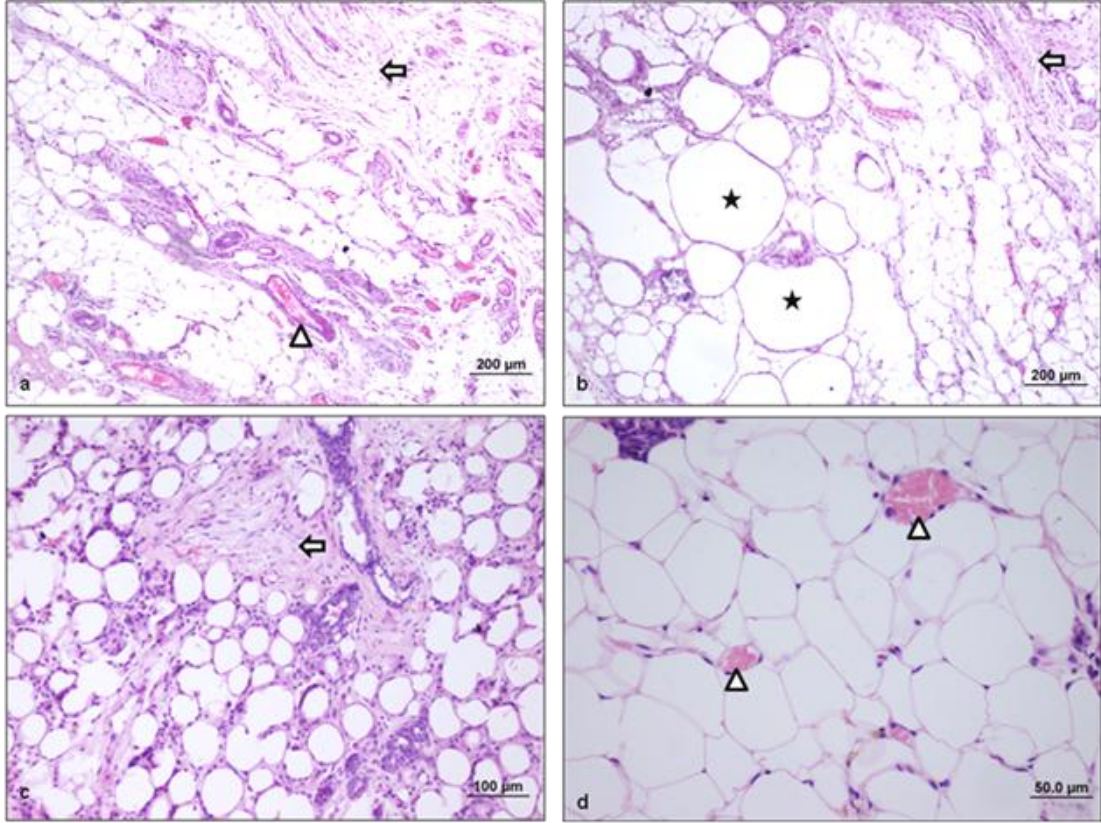


Şekil 4. 5 Tam kan grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı bölgelerde yoğun fibrozis (→), damar kongesyonu (►) ve düzensiz şekilli ve hipertrofik yağ hücreleri (\*) dikkat çekmekte (a-b) (bar:200µm, bar:100µm, HE).



Şekil 4. 6 TZP grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı alanlarda çok az da olsa hücresel infiltrasyon görülmekle beraber dokunun genelinde periferik yerleşimli çekirdekleriyle (→) normale yakın yapıdaki yağ hücreleri görülmekte. (a-d) (bar:100µm, bar:50. 0µm, HE).





Şekil 4. 7 Adrenalin grubu sıçanlarının yağ dokularının farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı alanlarda fibrozis (→) ve damar kongesyonu (▶) izlenmekte. Ayrıca birçok alanda hipertrofik yağ hücreleri dikkat çekmekte (\*) (a-d) (bar:200µm, bar:100µm, bar:50. 0µm, HE).

Ayrıca eksize edilen yağ grefti spesmenlerinde hücresel dejenerasyon konjesyon, fibrozis ve hücresel infiltrasyon incelenerek 0'dan 3'e kadar histolojik skorlama yapıldı.

Tablo 4. 2 Her rat için histolojik skorlama bulguları

<b>GRUPLAR n=10</b>	<b>Hücrel dejenerasyon</b>	<b>Konjesyon</b>	<b>Fibrozis</b>	<b>Hücrel İnfiltrasyon</b>
<b>Kontrol-1</b>	0	0	0	0
<b>Kontrol-2</b>	0	0	1	0
<b>Kontrol-3</b>	0	1	0	0
<b>Kontrol-4</b>	0	0	0	0
<b>Kontrol-5</b>	0	0	0	0
<b>Kontrol-6</b>	0	0	0	1
<b>Kontrol-7</b>	0	0	0	0
<b>Kontrol-8</b>	0	0	0	0
<b>Kontrol-9</b>	0	0	0	1
<b>Kontrol-10</b>	0	0	0	0
<b>TK grubu-1</b>	1	0	0	0
<b>TK grubu-2</b>	2	2	1	3
<b>TK grubu-3</b>	1	1	0	0
<b>TK grubu-4</b>	0	0	0	0
<b>TK grubu-5</b>	1	0	0	0
<b>TK grubu-6</b>	0	1	0	1
<b>TK grubu-7</b>	0	0	2	3
<b>TK grubu-8</b>	1	0	0	0
<b>TK grubu-9</b>	0	1	1	1
<b>TK grubu-10</b>	0	0	0	0
<b>TZP grubu-1</b>	0	0	0	0
<b>TZP grubu-2</b>	0	1	0	1
<b>TZP grubu-3</b>	1	0	1	0
<b>TZP grubu-4</b>	0	0	0	1
<b>TZP grubu-5</b>	1	0	0	1
<b>TZP grubu-6</b>	0	0	0	1
<b>TZP grubu-7</b>	0	0	1	0



Tablo 4. 2 Her rat için histolojik skorlama bulguları(Devam)

<b>GRUPLAR n=10</b>	<b>Hücresel dejenerasyon</b>	<b>Konjesyon</b>	<b>Fibrozis</b>	<b>Hücresel İnfiltrasyon</b>
<b>TZP grubu-9</b>	0	0	0	1
<b>TZP grubu-10</b>	0	0	0	0
<b>Adrenalin grubu-1</b>	1	0	0	0
<b>Adrenalin grubu-2</b>	0	1	1	0
<b>Adrenalin grubu-3</b>	1	0	1	0
<b>Adrenalin grubu-4</b>	1	0	0	1
<b>Adrenalin grubu-5</b>	1	1	0	1
<b>Adrenalin grubu-6</b>	1	1	0	1
<b>Adrenalin grubu-7</b>	1	0	2	0
<b>Adrenalin grubu-8</b>	0	0	0	0
<b>Adrenalin grubu-9</b>	1	0	0	1
<b>Adrenalin grubu-10</b>	0	0	2	0

#### 4. 3. Stereolojik Analiz

Ratların sakrifiye işleminin ardından alınan yağ greftlerinden 2 parafin bloğu hazırlandı. Her bloktan 3µm kalınlığında 2 kesit alındı.

Tüm preparatlar çizim tüpü ataşmanı bulunan ışık mikroskobu Nikon-ECLIPSE. E400 altında 10×'luk objektifle(×40 büyütme) sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle her hayvan için ortalama 20 adet(12-20) tarafsız sayım çerçevesi(frame) kullanılarak incelendi. Birim hacimdeki damar uzunluğu=Lengths in volüme= $L_v$  aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$L_v(\text{Yağ}) = 2 \cdot \frac{\sum Q_i}{\text{frame sayı} \times a/f}$$

- $L_v$ = length in volüme
- $\sum Q_i$ = 'frame'de sayılan kapillerlerin rakamsal değeri
- Frame sayısı
- $a/f$ = Gerçek sayım çerçeve alanı(58).

Formüle göre hesaplanmış olan birim hacimdeki damar uzunlukları aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Tablo 4. 3 Deney gruplarının  $L_v$  değerleri ( $L^{-2}$ =mm)

	<b>kontrol</b>	<b>TZP</b>	<b>TK</b>	<b>Adrenalin</b>
1. hayvan	8. 53	21. 2	30	30. 17
2. hayvan	6. 8	30. 8	25. 78	25. 3
3. hayvan	5	31. 2	20. 6	27. 68
4. hayvan	5. 4	45. 2	26. 8	28. 11
5. hayvan	5. 6	36. 4	25. 16	33. 75
6. hayvan	2. 3	35. 2	31. 6	27. 24
7. hayvan	4. 19	38	27. 6	25. 6
8. hayvan	6. 5	40. 8	27. 2	37. 64
9. hayvan	6. 4	37. 6	23. 2	29. 2
10. hayvan	6. 3	46	29. 2	33. 64

#### 4. 4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için IBM® SPSS® Statistics 20(© Copyright IBM Corporation 1989, 2011) programı kullanıldı. Survival rate,histolojik skorlama ve birim hacimdeki damar uzunluğu(length density) veri girişleri yapılarak analizi yapıldı.

Giriş yapılan verilerde grupların Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermediği değerlendirildi. Sağkalım oranları ve histolojik skorlama değerleri bazı gruplarda normal dağılım göstermediği için Kruskal-Wallis nonparametrik testi ile gruplar arası karşılaştırma yapıldı. Gruplara ait  $L_V$  değerleri normal dağılım gösterdiği için bu gruplar varyans analizi ile karşılaştırıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olduğu durumlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Yapılan analizde sıçanlardan alınan preoperatif ve postoperatif volümlerin sağkalım oranları Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. Gruplar arası anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ( $p=0.005$ ). Yapılan ikili karşılaştırmalarda kontrol-tam kan ( $p=0,041$ ), kontrol-TZP ( $p=0,005$ ) grupları arasında anlamlı fark olduğu izlendi. ( $p<0,05$ )

Ayrıca histolojik skorlama değerleri normal dağılım göstermemesi sebebiyle aynı şekilde Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi, gruplar arası fark araştırıldı. Dejenerasyon, konjesyon, fibrozis ve infiltrasyon açısından değerlendirilen grupların skorlamaları arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Tablo 4. 4 Skorlama değerlerinin gruplar arası fark olmadığını gösteren p değerleri

Skorlama	P değeri
Dejenerasyon	0,098
Fibrozis	0,376
İnfiltrasyon	0,561
Konjesyon	0,260

Tablo 4. 5 Deney Gruplarının Histolojik Skorlama Medyan ve Q1-Q3 Değerleri

Deney Grupları	Dejenerasyon Medyan(Q1-Q3)	Konjesyon Medyan(Q1-Q3)	Fibrozis Medyan(Q1-Q3)	İnfiltrasyon Medyan(Q1-Q3)
Kontrol	*	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0,25)
Adrenalin	1(0-1)	0(0-1)	0(0-1,25)	0(0-1)
Tam Kan	0,5(0-1)	0(0-1)	0(0-1)	0(0-1,5)
TZP	0(0-0,25)	0(0-0)	0(0-0,25)	0,5(0-1)

\*Dejenerasyon değerleri kontrol grubunda sabit olduğundan dışarıda bırakılmıştır

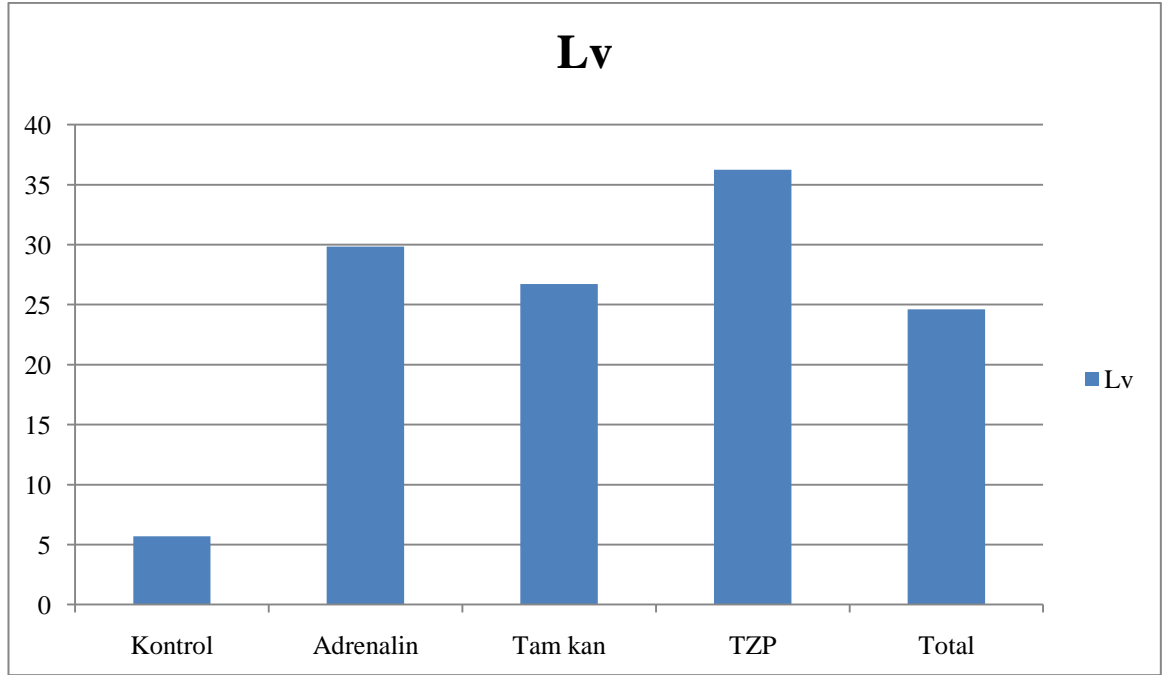
Tablo 4. 6 DeneY Gruplarının Sağkalım Oranı Medyan ve Q1-Q3 Değerleri

DeneY Grupları Sağkalım oranı	Medyan(Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> )
Kontrol	0,1667(0,1667-0,2976)
Adrenalin	0,3167(0,2500-0,4062)
Tam Kan	0,3304(0,2500-0,5625)
TZP	0,3810(0,3333-0,5000)

Eksize edilen yağ greftlerinde streolojik olarak incelenmiş olan birim hacimde damar uzunluğu( $Length\ density=L_v$ ) değerleri Shapiro-Wilk testi ile her bir grup için normal dağılım gösterdiği saptanması üzerine varyans analizi ile karşılaştırmalar yapıldı. Elde edilen sonuçta en az bir grubun diğerlerinden farklı olduğu gözlenmiştir( $p < 0,05$ ). Gruplar arası varyanslar homojen olmadığı için ikili karşılaştırmalar Games-Howell testi ile yapılmıştır.

Tablo 4. 7  $L_v$  Değerleri Gruplar Ortalamaları ve Standart Sapmaları

DeneY Grupları	Sayı	Ortalama	Standart Sapma
Kontrol	10	5,7020	1,67129
Adrenalin	10	29,8330	4,00130
Tam kan	10	26,7140	3,24715
TZP	10	36,2400	7,33018
Total	40	24,6223	12,39568



Şekil 4. 8 L<sub>v</sub> Değerleri Ortalamaları

Ardından Games-Howell ikili karşılaştırma testi ile gruplar birbirleri ile karşılaştırıldı. Test sonucunda kontrol ile adrenalin grubu arasında kontrol ile tam kan grubu arasında, kontrol ile TZP grubu arasında anlamlı farklılık saptanmıştır( $p < 0,05$ ). Ayrıca TZP ile tam kan grubu arasında da anlamlı fark olduğu görülmüştür( $p = 0,012$ ).

## 5. TARTIŞMA

Otolog yağ greftleri rekonstrüktif ve estetik cerrahide sıklıkla ticari ürünlerin yerine kullanılabilen doğal dolgulardır. Yağ dokusu hacim ve kontur defeklerinde tercih edilir bir yöntem olup, bunun sebebi hem bol hem de kolay elde edilebilir olmasındandır. Düşük antijenitesi ve donör alan morbiditesi de en önemli avantajlarındandır. Yağ grefti şeklinde yağ doku transferi yaygın bir teknik olmakla birlikte elde etme, hazırlama ve enjeksiyon aşamalarında farklılıklar göstermektedir(24,45).

Literatürde yapılmış yağ greftleri canlılığı ile ilgili benzer deneysel çalışmalar gözden geçirildiğinde ilk olarak in vivo ve in vitro çalışmalar olarak ayırma gidilmesi faydalı olacaktır. Bunlardan in vitro çalışmalar genel olarak yağ greftinin elde edilme,saklama yöntemini takiben doğrudan histolojik, immünhistokimyasal ve diğer viabilite incelemelerini içerir. Teknik olarak yaptığımız çalışmayla karşılaştırma imkanı bulunmayan bu yayınlar, klinik anlam olarak greftleme öncesi yağ doku canlılığını göstermesi bakımından değerlidir (12,13,14,18,20,33,55,59,60,61,62,63,64,65). Deneysel çalışmalarda kullanılan diğer yöntem ise in vivo olup yağ greftinin otolog veya heterolog olarak deney hayvanlarına transplante edildiği teknikleri içermektedir. Bu çalışmalarda kullanılan deney hayvanları rat, kobay, tavşan, fare ve atimik tüysüz farelerdir(nude mice). Literatürü incelediğimizde sıçan ve tüysüz fare modellerinin denek olarak daha çok kullanıldığı göze çarpmaktadır. Sıçan modelinin çalışmamızda kullanılmasının sebebi düşük maliyet olmakla birlikte, otolog yağ grefti elde edilmesinde her hayvandan eşit ve yeterli miktar alınmaması dezavantajdır. Ayrıca tavşan ve kobay modelleriyle karşılaştırıldığında hayvanın uzun süre yaşatılabilmesinde sıkıntı yaşanmaktadır. Atimik tüysüz farelerin kullanıldığı çalışmalar incelendiğinde bu çalışmaların tamamının xenogreft(heterogreft) olduğu, donör olarak insan liposakşın ve basit eksizyon materyalleri kullanılması sebebiyle rejeksiyonun minimale indirilmesi amaçlanmıştır(7,10,21,26,30,66,67,68). Bu şekilde yağ grefti miktarı açısından bu çalışmalarda sıkıntı önlenmeye çalışılmıştır. Sıçan ve fare deneklerinin kullanıldığı çalışmaların tamamında otolog donör alan inguinal bölgedir. Bu tercihin sebebi Green'in Sıçan Anatomisi isimli yayınında belirttiği gibi inguinal yağ yastığının bu hayvanlardaki en büyük yağ dokusu olmasındandır(56).

Yağ grefti elde etme teknikleri içerisinde düşünülmesi gereken 2 konu donör alan seçimi ve infiltrasyon tekniğidir. Bu tekniklerin etkinliği klinik olarak objektif değerlendirilememekle birlikte son değerlendirme hastanın memnuniyeti cerrahın gözlemi esasına dayanmaktadır(31,43,69,70,71). Asıl etkinliğin araştırılması yağ dokuda yapılan viabilite çalışmaları olup deneysel olarak yapılan bu çalışmalar az sayıda olsa da bize kantitatif bilgiler vermektedir.

Alıcı alan olarak fare, sıçan ve tüysüz farelerde kullanılan bölge tüm çalışmalarda hayvanın dorsum ve dorsal skalp bölgesidir. İstisna olarak Karacal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada alıcı alan epigastrik bölge olarak kullanılmıştır. Yaptığımız çalışmada sıçan dorsumun kullanılma nedeni olarak subkutanöz doku ile kas arasında yağ doku bulunmaması ve buna bağlı olarak sonuçların daha doğru elde edilmesi amaçlanmıştır(10,57).

Gerçekleştirilen bu çalışmada yağ greftleme sonrası eksizyon süreleri her grubun ilk yarısı(n=5) için 6 hafta ikinci yarısı(n=5) için 12 hafta olarak belirlenmiştir. Billing ve May'in yağ greftinin histolojisini zamana göre inceledikleri çalışma bu konuda bize yol göstermiştir. Bu çalışmaya göre yağ hücrelerinin proliferatif rejenerasyonunun 10. günde başladığı ve 30-60 günde bu sürecin geliştiği görülmüştür(Tablo 5.1).

Tablo 5.1 Zamana göre yağ greftinin histolojisi(Melvin A. Shiffman,Autologous fat graft, History of Autologous Fat Transplant Survival)

Zaman(Gün)	Histoloji
İlk 4 gün	Hücrel infiltrasyon: polimorfonükleer hücreler, plasma hücreleri, lenfositler, eosinofiller. Greftin damarları ile birlikte kırmızı kan hücreleri kümelenmiş , beyaz kan hücreleri diapedez aşamasında(kan hücrelerinin intakt damar duvarlarından geçmesi)Graft stromasındaki endotelial hücre ve fibroblastlarında dejeneasyon yok.
4. Gün	Küçük kan damarlarının fazla kırmızı kan hücresi ile dolmasıyla dilatasyonu ve diapedez yapmış beyaz kan hücreleri(küçük greft damarları ile alıcı kırmızı damar miktarı arası anastomozlar)Hücrel infiltratta eozinofil artışı. Yabancı cisim tipi dev hücreler sıklıkla görülmekte
10 gün	Nekrotik yağ doku alanları. Sıklıkla lobüllerin periferinde orijinal yağ hücrelerinin rejeneratif proliferasyonu-14-21 gün içinde lipid olarak büyüyen histosit benzer hücrelere çoğalan greft ve alıcı etrafındaki yağ hücreler. Daha sonra yağ hücreleri yıkılır. Sitoplazmalarına yağ olarak damlacık formasyonunu alan büyük histositlerin sayısı artar
30-60 gün	Büyük histositlerin sayı artışı 2 ayda pik yapar. Yağ globülleri sitoplazmada birleşir



Yağ greftinin yerleştirdikten sonraki eksizyon süreleri incelendiğinde literatürde değişkenlikler mevcuttur. Bu süreler çalışmaların amacına,kullanılan hayvanın türüne göre değişmektedir. Örneğin tavşan deneylerindeki eksizyon süreleri 1 aydan 12 aya kadar uzatılabilmektedir. Bu uzun süreler hayvanın dayanıklılığına ve işlem sonrası yaşayabilirliğine atfedilmiştir. Sıçan ve fare deneylerinde aynı süreler sözkonusu olmayıp,bu sürelerin uzadığı taktirde mortalitenin arttığı kendi çalışma tecrübemizde düşünülmüştür. Fare ve sıçan çalışmalarında yağ grefti eksizyon süreleri 2 hafta ile 24 hafta arası değişkenlik göstermektedir.

Yağ grefti viabilite incelemeleri makroskobik ve mikroskobik incelemeler olarak ayırmak mümkündür. Bunlardan makroskobik incelemeye dahil edilenler hacim ölçümü,ağırlık ölçümü; klinik çalışmalarda yapılan subjektif gözlemler, USG ve üç boyutlu görüntüleme yöntemleridir. Yaptığımız çalışmada deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan sıvı taşıma yöntemiyle greftleme öncesi ve greft eksizyon sonrası yağ hacimleri ölçülmüştür. Mikroskobik değerlendirmelerde histolojik, histomorfolojik değerlendirmeler ve immünohistokimyasal incelemeler ön plana çıkmaktadır. Histolojik ve histomorfolojik değerlendirmelerde yağ nekrozu, fibrozis, canlı adiposit sayısı, inflamasyon,fibrozis ve kapiller damar sayısı gibi parametreler incelenmektedir. Bu parametreler skorlama şeklinde yapılabildiği gibi stereolojik tekniklerle birim alanda canlı adiposit sayısı veya kapiller sayımı da yapılabilmektedir. Histolojik skorlama sonuçlarının istatistiksel olarak anlamlı olabilmesi için denek sayısının mevcut denek gruplarından daha fazla olması beklendiğinden kantitatif daha anlamlı sonuçlar elde etmek amacıyla stereolojik inceleme yoluna başvuruldu. Çalışmamızda daha önce literatürde çalışılmamış stereolojik bir parametre olan birim hacimdeki kapiller damar uzunluğu olan 'Length Density' değerleri ölçülmüştür. Üç boyutlu kantitatif bir veri olması sebebiyle sonuçların diğer iki boyutlu değerlendirmelere göre daha değerli olduğu düşünülmüştür. Diğer viabilite ölçüm teknikleri arasında XTT assay ile preadiposit gibi yağ hücre komponentlerinin işaretlenmesi, hücre içi G3PDH aktivitesi ölçümü ve glukoz transport testi ile intakt adipositlerin saptanması gibi spesifik testler bulunmaktadır.

Yağ grefti elde etme teknikleri içerisinde düşünülmesi gereken 2 konu donör alan seçimi ve infiltrasyon tekniğidir. Bu tekniklerin etkinliği klinik olarak objektif değerlendirilememekle birlikte son değerlendirme hastanın memnuniyeti cerrahın gözlemi esasına dayanmaktadır(31,43,69,70,71). Asıl etkinliğin araştırılması yağ dokuda yapılan viabilite çalışmaları olup deneysel olarak yeterli sayıda olmasa da bize kantitatif bilgiler vermektedir.

Yağ elde etme tekniklerinin karşılaştırıldığı deneysel bir çalışma Piasecki ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada farelerde inguinal yağ yastığından basit eksizyon, künt kanül ve keskin iğne ile yağ doku elde edilmiş ve viabiliteleri ölçülmüş basit eksizyonun viabilite açısından keskin iğne ve künt kanüle göre viabilite açısından üstün olduğu gösterilmiştir. Nguyen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da liposakşın sonrası santrifüje edilen ve basit eksizyon ile elde edilmiş yağ greftleri karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmada %67 ağırlık kaybı oranıyla liposakşın, %59 ağırlık kaybı oranıyla basit eksizyon değerlendirildiğinde; eksizyon ile yapılan yağ greftleme daha değerli bulunmuştur. Bu çalışmalar bizim de çalışmamızda uyguladığımız basit eksizyonun deneysel hayvan çalışmalarında etkinliği hakkında fikir vermektedir(72).

Diğer yağ elde etme teknikleri içinde yeralan uygulama, liposakşın veya basit eksizyon öncesi lokal infiltrasyon tekniğidir. Klinisyen açısından uygulama ve postoperatif hasta konforu konusunda büyük rahatlık sağlayan bu teknik konusunda viabilite değerlendirmesi ile ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. Bunlar tek başına adrenalin ve lidokain etkinliğini değerlendiren çalışmalar olduğu gibi her ikisinin birlikte viabiliteye olan etkisini gösteren yazarlar mevcuttur. Shoshani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, insandan %0.06 lidokain ve 1:1000000'lük adrenalin solüsyonu ile elde edilmiş ve kontrol grubu olarak saline ile elde edilmiş yağ greftleri tüysüz farelere verilmiş ağırlık ve hacim olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Keck ve arkadaşları yağ dokudan preadipositleri izole ederek lidokain, ropivakain ve bupivakainin hücre viabilitesini azalttığını görmüşlerdir. Aynı çalışma grubunun 2010 yılında yaptığı çalışmada bupivakain haricindeki lokal anesteziklerin preadiposit viabilitesini azalttığı gösterilmiş, ayrıca preadipositlerin matur adipositlere dönüşümünü engellediğini göstermiştir(24). Fındık ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı çalışmada kobaylara otolog 1:100000 adrenalin

solüsyonunda bekletilmiş yağ grefti, santrifüje edilmiş ve kontrol grubu olarak muamele edilmeden konulan yağ greftleri karşılaştırılmış hem hacim olarak hemde histolojik olarak santrifüje edilmiş ve adrenalın uygulanmış yağ greftlerinde anlamlı fark bulunamamıştır. Histolojik sonuçlar histolojik 0-5 arası skorlamalar şeklinde değerlendirilmiştir(15). Çalışmamızda adrenalın solüsyonu uygulaması Fındık ve arkadaşlarının benzer şekilde yapılmıştır. Kim ve arkadaşları 1:100000,1:200000 ve 1:400000 konsantrasyonlarındaki adrenalın karıştırılmış yağ dokularında ve kontrol grubuyla viabilite açısından anlamlı farklılık görmediklerini adrenalın etkisinin ihmal edilebilir olduğunu söylemişlerdir. Histolojik incelemeyi yaşayan adiposit sayımı ile yapmışlardır(73). Agostini ve arkadaşlarının yağ elde etme teknikleri içerisinde yeralan ıslak(Klein solüsyonu kullanılmıştır) ve kuru liposakşın tekniklerinin karşılaştırıldığı çalışmada 65 hastadan alınan lipoaspiratlar incelenmiştir. Bu örnekler çift delikli küt Coleman kanülleriyle ve 10cc'lik Luer Lok şırıngaları ile aspire edilmiş, sonrasında konvansiyonel histomorfometrik inceleme ve mitokondrial fonksiyon değerlendirme ile yağ dokunun korunabilirliği değerlendirilmiştir. Sonuç olarak 2 grup arasında fark saptanamamıştır. Bu çalışma in vitro direkt incelemeye dayanan bir çalışma olup,greftleme öncesi viabilite incelenmiştir. (63)Girard ve arkadaşları ise lidokain farklı klinik dozlarında ve adrenalinin 1/1000000 konsantrasyonu ile muamele edilmiş yağ dokunun in vitro viabilitesini ölçmüşlerdir. Farklı tedavilerden geçen lipoaspiratlardaki yağ kökenli kök hücreler kültüre edilmiştir. Bu hücrelerdeki büyüme faktörlerinin analizi ve laktat dehidrogenaz ile sitotoksisite ölçülen dokularda lidokaine 1-2 saat kadar maruziyetten 24 saat sonra hücre viabilitesini etkilediği belirtilmiştir. Adrenalinin hücre viabilitesine ve sitokin salınımına etkisi saptanamamıştır(64). Yaptığımız çalışmada adrenalinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hacimsel olarak etkisinin olmadığı fakat stereolojik incelemede  $L_v$  değerleri dikkate alındığında mevcut yağ greftinin kapiller damar uzunluklarının kontrol grubuyla farkının anlamlı olduğu söylenebilir. Yani hacimsel olarak yetersiz olsa da greft canlılığı açısından daha iyi olduğu konusunda bize yol göstermektedir.

Donör alan seçimi ile ilgili bilgiler genel olarak klinik tecübelere dayanmakla birlikte deneysel çalışmalar sınırlıdır. Rohrich ve arkadaşlarının uyluk, abdomen, flank ve diz bölgesinden Coleman yöntemiyle elde ettikleri yağ örneklerinin in vitro

olarak viabilitesi araştırılmıştır. Kolorimetrik hücre çoğalmasının kantitatif ölçülmesine dayanan viabilite ölçümü sonucunda bu bölgelerden alınan yağ dokuları arasında viabilite açısından önemli fark saptanmamıştır(48). Yaptığımız çalışmada alınan greftlerin deneklerin aynı bölgesinden alındığı için donör alan etkisi incelenmemiştir.

Yağ greftinin alıcı alana adaptasyonu esnasındaki neovaskularizasyonun kaynağı hakkında iki farklı görüş karşımıza çıkmaktadır. Bunlardan birincisi Zhao ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu deneysel çalışmada C57BL/6 ve C57BL/6-gfp farelerine çapraz yağ grefti uygulaması sonucu belli zaman aralıklarında alınan yağ greftlerinde immünhistokimyasal olarak boyama yapılmıştır. Bunun sonucu olarak işaretli(yeşil işaretli) C57BL/ 6-gfp olan farelerin yeşile boyanma özelliğinden faydalanarak yapılan bu çalışmada yağ greftinin vaskularizasyonunun alıcı yataktan kaynaklandığı saptanmıştır. Ayrıca alfa-düz kas aktin işaretleme ile neovaskularizasyon yağ greftinde gösterilmiştir(65). Aynı konudaki karşıt fikir ise Thanik ve arkadaşlarından gelmiş olup, yaptıkları çalışmada vaskularizasyonu sağlayan progenitor hücrelerin alıcı yataktan değil tam tersi buraya verilen lipoaspirattan kaynaklandığını göstermişlerdir(67). Bu çalışmanın Zhao ve arkadaşlarından farklı olarak insandan alınan lipoaspirattan fareye yapılmış bir işlem olmasıdır. Heterolog implantasyonun farklı sonuçlarının olabileceği gözönünde bulundurulmalıdır.

Yağ hazırlama teknikleri içerisinde yapılan klinik ve deneysel uygulamalarda santrifugasyon, sedimentasyon, pamuk gazdan veya metal elekten geçirme, serum ile yıkama gibi başlıca teknikler görülmektedir. Minn ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TRAM flep operasyonu yapılan hastalardan enjektör yardımı ile aspirasyon sonrası alınan aspiratlara 3 işlem uygulanmıştır. Santrifugasyon, metal elekten geçirme ve pamuk gazdan geçirilerek 3 grup halinde 18 tüsüz fareye enjekte edilmiştir. Greftlemeden 12 hafta sonra elde edilen greftlerin makroskopik olarak sağkalım oranları, histolojik analiz ve XTT ile kolorimetrik hücre proliferasyon analizi ile yağ hücresi viabilitesi ölçülmüştür. Sonuç olarak metal elek grubunun yağ hücre viabilitesi daha düşük ve inflamatuvar hücre sayısı daha yüksek bulunmuştur(7). Benzer bir çalışma Ramon ve arkadaşları tarafından da yapılmış olup pamuk havlu ile süzmenin santrifüjlemeden daha etkili olduğu gösterilmiştir(74). Rohrich ve

arkadaşlarının görüşü de benzer şekilde santrifügasyonun implantasyon öncesi erken incelemede viabiliteyi arttırmadığı yönündedir(55). Khater ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 51 bayan hastadan liposakşın yöntemiyle alınan yağ dokular 3400rpm'de 3 dk santrifüje ve santrifüje etmeden serum ile yıkama yapılan 2 grup halinde incelenmiştir. Histolojik ve immunhistokimyasal olarak incelenen örneklerde santrifüje edilmemiş olanlarda daha çok yaşayan preadiposit saptanmıştır, serumla yıkamanın daha olumlu sonuçlar gösterdiği belirtilmiştir(17). Yine Fındık ve arkadaşlarının kobaylarda yaptığı deneysel çalışmada santrifügasyon işleminin kontrol grubuna göre anlamlı etkisi olmadığı gözlenmiştir(15). Xie ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada sağlıklı vücut şekillendirme nedeniyle yağ aspirasyonu materyalleri 1000-4000rpm arası değişik hızlarda santrifüje edilerek incelenmiş histolojik ve glukoz tranport test ile yağ doku viabilitesi bakılarak santrifüj hızının destrüktif etkisine bakılmıştır. Sonuç olarak hız arttıkça lineer bir şekilde viabilitenin azaldığı saptanmıştır(75). Smith ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise insandan alınan adipoz doku immünesi baskılanmış farelere verilmiş, hazırlık aşamasında santrifügasyon, ringer laktat ve salin ile yıkama ve bunların santrifügasyonla kombinasyonları denenmiştir. Hiçbirşey uygulanmayan kontrol grubuyla viabilite açısından anlamlı fark saptanamamıştır (76). Ramon ve arkadaşları ise santrifügasyon ve steril pamuk havlu ile konsantrasyon işlemi yaparak bu iki işlemi karşılaştırmışlar volumetrik sonuçlarında farklılık gözlenmeyip histolojik açıdan fibrozis pamuk havlu uygulanan grupta daha az gözlenmiştir(77). Zhu ve arkadaşlarının çalışmada ise benzer şekilde 22 donörden alınan yağ greftleri yerçekimi ile ayrıştırma(sedimentasyon), Coleman santrifügasyonu, yıkama ile eşzamanlı filtreleme yöntemleri işlemlerinden geçirilmiştir. Sonuç olarak örneklerde sıvı içeriği ve kan hücrelerinin azaldığı,fakat yıkama,filtrleme yapılan örneklerde kan hücreleri ve serbest yağ içeriğinin anlamlı olarak daha düşük ve adiposit viabilitesinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır(78). Allen ve arkadaşlarının santrifügasyon sonucu oluşan yüksek ve düşük dansiteli yağ greftlerinin erişkin FVB farelerine verilmesi sonucu elde edilen sonuçlar yüksek dansiteli greftlerin daha çok sayıda progenitör hücre ve yüksek miktarda büyüme faktörü içerdiği yönündedir(66). Yaptığımız çalışmada tam kan kullanılarak yağ grefti uygulanan grupta yağ dokuda bulunan kan komponentlerini uzaklaştırmayı amaçlayan santrifügasyon ve diğer

süzme tekniklerinin aksine süzülmeden konulan yağ greftinin viabilitesini modellemek amaçlanmıştır. Ayrıca tam kanın içinde TZP kadar konsantrasyon düzeylerde olmasa da büyüme faktörlerinin varlığının olumlu etkisinin olduğu istatistiksel sonuçlara göre söylenebilmektedir. Bu düşüncenin oluşmasında TZP'nin de bir kan ürünü olması etkilidir. Kanın yağ grefti viabilitesine olan etkisiyle ilgili 2 farklı görüş mevcuttur. Bunlardan Illouz, Krulig ve Lewis'in yayınlarında enjekte edilen yağda kan bulunmasının makrofajları stimüle ederek hücrelerin uzaklaştırılmasına sebep olduğu belirtilmiştir. Bu durumda hücrelerin serum fizyolojik ile yıkanmasının bu sorunu çözeceğini savunmuşlardır. Skouge ve arkadaşları da aksine yıkamanın fragil adipositlerin viabilitesini düşürebileceğini söylemiştir(45). Çalışmamızda kontrol grubuna göre tam kanın hem hacimsel hem  $L_v$  değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olması yağ grefti üzerine olumlu etkisini desteklemektedir. Fakat bu etki daha önce de belirtildiği gibi konsantrasyon trombosit miktarına atfedilen çeşitli büyüme faktörlerinin yüksekliği sebebiyle TZP'nin varolan olumlu etkisi kadar olmamıştır. TZP'nin trombosit konsantrasyonu tam kana göre yaklaşık 19 kat fazladır(Şekil 2. 10). Bu bilginin çalışmamızın sonuçlarıyla korelasyonu açıkça izlenmektedir.

Yağ grefti hazırlama metodlarına elde edilme işleminden sonra grefte ilave edilen trombosit zengin plazma(TZP), bazı growth faktörler ve benzeri materyallerin kullanımı dahil edilebilir.

TZP'nin yanında, TZP'nin içerdiği büyüme faktörlerinin yağ viabilitesine olan etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bunlardan Park ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada EGF'nin, Craft ve arkadaşlarının PDGF'nin, Yi ve arkadaşlarının VEGF'nin yağ viabilitesine olumlu etkilerini gösterdikleri çalışmalar bu büyüme faktörleri TZP'nin de içerdiği düşünülerek bize bu özel kan ürününün etkisi hakkında yol göstermektedir(2,20,54). Hamed ve arkadaşları ise eritropoietin ve VEGF'nin yağ doku viabilitesine etkisi araştırmışlar eritropoietinin histolojik olarak viabiliteye daha etkili olduğu, hacimsel anlamda farkının olmadığını göstermişlerdir (79). Hong ve arkadaşları ise insülin ve  $\beta$  fibroblast growth faktörü birlikte kullanarak yağ greftlerinde histolojik olarak kist formasyonu ve fibrozisin daha az olduğunu görmüşlerdir(80). Bu faktörler tek tek ele alındığında yağ greftine olan olumlu

etkileri bize mevcut faktörlerin hepsini içeren TZP'nin yağ grefti viabilitesindeki üstünlüğünü göstermektedir.

Cervelli ve arkadaşlarının TZP ile yağ grefti ile kombine uygulamasında(10ml yağ greftine 0,3-0,5cc) klinik çalışmada postoperatif klinik gözlemler ve 3 boyutlu CT ile incelemeler sonucu memnuniyet verici sonuçların elde edildiği bildirilmiştir. Bu çalışma vaka bildiri şeklinde olup subjektif veriler içerdiği söylenebilir(81).

Por ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada 12 tüysüz fareye insandan alınan yağ greftlerinin yine insandan alınan TZP ile kombine edilerek (0,8cc yağ grefti+0,2cc TZP) dorsumuna transplante edilmiştir. 16 hafta sonra yapılan eksizyon sonrası hacim,ağırlık ve histolojik derecelendirme yapılan yağ greftlerinde kontrol grubuna göre ölçülen parametrelerde anlamlı fark bulunamamıştır(10). Yaptığımız çalışmada yağ greftinin otolog uygulanması ve TZP kan donörü olarak homolog donör kullanılması avantaj olarak değerlendirilmiştir.

Fraga ve arkadaşlarının yaptığı benzer çalışmada Yeni Zellanda tavşanlarının skapular bölgesinden alınan ve kulağa alıcı saha olarak konulan yağ greftleri incelenmiştir. 0,8gr yağ doku+1ml TZP ile birlikte konulan deney grubu ve kontrol grubu karşılaştırılmıştır. 30 tavşan 6 ay sonra greftleri eksplore edildikten sonra spesmenlerin ağırlık ölçümü ve histolojik değerlendirmesi yapılmıştır. Sonuç olarak ağırlık ölçümlerinin TZP grubunda daha yüksek olduğu histolojik olarak da kontrol grubuna göre damar sayısında artış,nekroz ve fibroziste azalma izlenmiştir(82). Fraga ve arkadaşlarının yaptığımız çalışmaya göre avantajı TZP için otolog donör kullanmalarıdır. Hayvan çalışmalarında, özellikle küçük hayvanlarda TZP ve trombinin hazırlanmak için gereken kanı aynı hayvandan almak mümkün olamamaktadır. Dolayısıyla böyle deneylerde kullanılan TZP ve trombin otolog değil homolog hazırlanmaktadır. Bu nedenle oluşabilecek immün reaksiyonlara bağlı deneylerde yanlış negatif sonuçların olabileceği akılda tutulmalıdır(83). Ayrıca donör alandan yeterli yağ eksizyonu problemi olmaması sebebiyle eşit miktarda yağ doku alınmış olup greftlerin eksplorasyonu sonrası hacimleri doğrudan karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada ise ilk hacimlerin farklı olması sebebiyle sağkalım oranları hesaplanarak karşılaştırma yapılabilmektedir. Nakamura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 344 erkek Fischer sıçanlarında TZP uygulanan ve uygulanmayan

yağ grefti gruplarında yağ grefti yaşayabilirliği incelenmiştir. Burada yağ grefti inguinal bölgeden otolog olarak alınmış olup TZP uygulanan gruplarında kan homolog olarak elde edilmiştir. 10-20-30-120. günlerde transplante edilen yağ greftleri incelenen deneklerde histolojik olarak her iki grubun ilk 20 güne kadar adiposit morfolojisinin normal olduğu 20-30 gün sonra normal adipositlerin kontrol grubunda azaldığı izlenmiştir. Kapiller sayısı ve granulasyon artışı TZP grubunda belirgin olarak arttığı izlenmiştir(57). Yaptığımız çalışmayla bu çalışmanın TZP'nin homolog olarak alınması ve yağ greftinin otolog alınması bakımından benzerlik göstermiştir. Ayrıca TZP aynı şekilde hacimsel olarak %20 -%80 oranında kullanılması çalışmamızla benzerlik göstermiştir. Çalışmada eksizyon sonrası hacimsel değerlendirme yapılmamakla birlikte makroskobik gözlem yapılmıştır.

Yaptığımız çalışmada TZP'nin histolojik skorlama haricinde hem kontrol grubuna hem de adrenalın,tam kan grubuna olan farklılığı istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Hacimsel olarak sağkalım oranlarının farklılığı ve  $L_v$  değerlerinin ortalamaları kendisine en yakın viabilite sonuçları mevcut olan tam kan grubuna göre daha yüksek olduğu görülmektedir(Şekil 4. 8).

Meme rekonstrüksiyonu nedenli veya tek başına meme büyütme amacıyla yağ grefti uygulamaları günümüzde yaygınlaşmıştır. TZP'nin bu uygulamalarda kullanımı da klinik olarak büyütmeyi arttırmak hücresel kayıpları azaltmak,kist oluşumunu ve mikrokalsifikasyonu azaltmayı amaçlamaktadır(84). Salgarello ve arkadaşlarının yaptığı klinik çalışma bize bu konuda karşıt bir fikir vermiştir. Yaptıkları klinik çalışmada 42 bayan hastaya sadece Coleman tekniği ile yağ grefti uygulaması yapılan kontrol grubu ve yağ grefti+TZP uygulanan grup karşılaştırılmış. Klinikte belli periyotlarda USG ve mammografiler ile takip edilen hastalarda TZP'nin liponekroz oranı ve ilerisi için yağ grefti ihtiyacı açısından üstünlük sağlamadığı gösterilmiştir(85).

Small ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada meme rekonstrüksiyonu yapılan radyasyon uygulanmış ve uygulanmamış hastalarda yağ grefti yaşayabilirliği karşılaştırılmıştır. 3 boyutlu görüntüleme sistemiyle volüm analizi yapılan hastalarda radyasyonun volüm retansiyon yüzdesini ve rezorpsiyon oranını değiştirmedığı saptanmıştır. Bu durum yağ greftinin radyoterapi alan hastalarda efektif kullanılabilirliğini bize göstermiştir(37).



TZP dışında yağ grefti viabilitesine etkisi olabileceği başka etken maddelerle farklı deneysel çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan birisi Ayhan ve arkadaşlarının insülin ve  $\beta 1$  blokör uyguladıkları otolog yağ greftlerinde  $\beta 1$  blokörün viabiliteye olan olumlu etkisini gösterdikleri çalışmadır. Bu çalışmada aynı zamanda hacimsel değerlendirme sıvı taşıma yöntemiyle yapıldığı belirtilmiştir. Çalışmada  $\beta 1$  blokörün cAMP'yi hücre membranında adenilat siklazı bloke ederek inhibe ettiği lipogenezisi arttırdığı varsayılmıştır(86). Ayrıca albümin(87) ve matriks metalloproteinazın yağ viabilitesine olumlu etki ettiği yönünde çalışmalar mevcuttur(68).

Eto ve arkadaşlarının yağ greftinin rezorpsiyon ve nekroz sürecini inceleyen çalışmasında süre olarak da ilk 24 saatte adipositlerin apoptozunun gerçekleştiği, kök hücrelerin 3 gün daha yaşayabildiği belirtilmiştir. 5-7 gün arasında ise prekürsör hücrelerin proliferasyonu ile çoğalan adipositler izlenmektedir. Bu proliferasyon yine daha önce belirtildiği gibi periferden nekrotik zona doğru gerçekleşmektedir. Bu durumda preadipositlerin ve aynı zamanda yağ doku kaynaklı kök hücrelerin(ADSC) etkinliği yağ grefti uygulamalarının bu doğrultuda ilerlemesi gerektiğini ve bu konunun irdelenmesini bize göstermiştir. (47)

Günümüzde kök hücre ile kombine yağ grefti uygulamaları estetik cerrahi ve meme rekonstrüksiyonunda sıklıkla kullanılmaktadır. Malignite sonrası rekonstrüksiyonda kök hücre kullanımı yaygın olmasına rağmen multipotent etkinliği olan bu hücrelerin kullanımı konusunda hala tartışmalar sürmektedir. Kök hücre etkinliğinin gösteren deneysel çalışmalar da yağ grefti ile kombine uygulamaları desteklemektedir. Park ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada otolog yağ grefti yapılan farelerde eşzamanlı yağ dokudan izole edilen kök hücrelerin(ADSC) verilmesinin etkileri incelenmiştir. Bu uygulamanın yağ greftinin sağkalım oranı ve adipoz hücre dansitesinin kontrol grubuna göre arttırdığı görülmüştür(88). Butala ve arkadaşları ise endojen kök hücre terapisi ile düşük dansiteli yağ greftinin viabilitesini arttırmışlar,hatta yüksek dansiteli yağ grefti ile aynı seviyeye getirmişlerdir. Fakat bu kök hücre terapisi yağ dokudan değil farenin kendi kanından izole edilen progenitör kök hücreler ile yapılmıştır(89).

Yi ve arkadaşları endotelial progenitör hücrelerin yağ grefti viabilitesine etkisini incelemişlerdir. Yağ grefti ve endotelial progenitör kök hücreleri(umbilikal kord kanı) için insan donörü kullanılmış olup tüysüz farelere enjekte edilmiştir.

Yaşayan yağ hacmi ve yağ vasküler dansitesinde artış bu çalışmada viabilite açısından anlamlı bulunmuştur(90).

2012 yılında Wang ve arkadaşları tarafından yapılan klinik bir çalışmada 8 hastadan klasik liposuction ile alınan aspiratlar incelenmiştir. Bunun sonucunda adipositlerde yüzde 19.7±3.7 apoptozis ve yüzde 1.1±0.3 nekroz izlenmiştir; stromal vasküler fraksiyon hücrelerinde yüzde 22.0±6.3 apoptozis ve yüzde 11.2±1.9 nekroz gözlenmiştir; stromal vasküler fraksiyon hücrelerinde yağ hücrelerine göre daha yüksek oranda nekroz izlenmiştir(p<0.05). Stromal vasküler fraksiyon hücrelerinin arasında yüzde 51.1±3.7’inde CD90+/CD45-, yüzde 7.5±1.0’inde CD105+/CD45- ve yüzde 26.4±3.8’inde CD34+/CD31- ekspresyonu mevcuttur. CD34+/CD31- yağ kaynaklı kök hücreler CD105+ /CD45- yağ kaynaklı kök hücrelerle karşılaştırıldığında daha düşük nekroz ve apoptozis oranları mevcuttur. Sonuç olarak yağ kaynaklı kök hücreler adipositlere göre daha yüksek apoptozis ve nekroz oranlarına sahiptir. Bununla birlikte nekroz ve apoptoz miktarları adipoz kaynaklı kök hücrelerin subpopulasyonları arasında da farklılık göstermektedir(91). Yağ grefti elde etmede standart liposuction tekniklerinin uygulandığı gözönüne alındığında bu bilgiler çalışmaları açısından klinisyenlere faydalı olacaktır.

Yağ enjeksiyon tekniğinin viabiliteye olan etkisini Nguyen ve arkadaşları mikro-enjeksiyon adını verdikleri bir teknikle açıklamışlardır. Ratların dorsumuna iki taraflı olarak yaptıkları yağ grefti uygulamasında; bir tarafa 17gauge Byron kanülüyle diğer tarafa 20-23-25 gauge kalınlığında daha ince kanüllerle enjeksiyon yapılmıştır. 12 hafta sonra histolojik ve hacimsel değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda ince kanüllerin viabiliteye olumsuz etkisi gösterilmemiştir. Mikro-enjeksiyon tekniğini ise daha küçük alanlara, cildin yüzeysel tabakalarına daha az travmatik olarak uygulanabileceğini yazar önermektedir(92). Ayrıca Karacaoğlu ve arkadaşları yaptıkları deneysel hayvan modelinde subkutanöz, submüsküler, supramüsküler tabakalara enjekte edilen yağ greftlerinin viabilitelerini karşılaştırmışlar; supramüsküler tabakaya yapılan enjeksiyonun yağ grefti sağkalımını anlamlı bir şekilde arttırdığını göstermişlerdir(93).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada otolog yağ grefti uygulamasında yağ grefti yanısıra uygulanan adrenalin, TZP ve tam kan kullanımının yağ grefti viabilitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Uygulama sonrası eksize edilen yağ greftleri hacimsel, histolojik ve stereolojik olarak incelendi. Hacimsel değerlendirmede implantasyon öncesi ve implantasyondan 6-12. haftalar sonrası hacimler ölçülerek sağkalım oranları hesaplandı. Bu oranların istatistiksel analizinde TZP ve tam kan uygulanan greftlerin hacimsel olarak kontrol grubuyla farkının anlamlı olduğu değerlendirildi ( $p < 0,05$ ).

Histolojik skora sonuçlarının istatistiksel analizinde kontrol, adrenalin, TZP ve tam kan grupları arasında anlamlı farklılık izlenmedi ( $p > 0,05$ ).

Stereolojik değerlendirmede grupların length density ( $L_v$ ) değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiş ve ikili karşılaştırmalar sonucu TZP, adrenalin ve tam kan gruplarının kontrol grubu ile aralarındaki farklılığın anlamlı olduğu görülmüştür ( $p < 0,05$ ). Ayrıca tam kan ile TZP grubunun da kendi aralarındaki farklılığın anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p = 0,012$ ).

Adrenalin solüsyonu uygulanan grubun hacimsel olarak kontrol grubundan farklı olmadığı fakat  $L_v$  değerlerinin açısından farklılığın anlamlı olduğu gözlemlendi; bu da adrenalinin hacimsel bir farklılık yaratmadığını fakat greft canlılığına olumlu bir etki oluşturduğunu bize göstermiştir ( $p > 0,05$ ).

Yapılan bu değerlendirmeler ışığında TZP ve tam kan gruplarının viabilite açısından ön plana çıktığı bunlar arasında da TZP uygulamasının ortalama değerler ve median değerler dikkate alındığında viabilite açısından daha değerli olduğu görülmüştür.

### KAYNAKLAR

1. Junqueira L. C, Carneiro J. , Kelley R. O. Temel histoloji. İç:Aytekin Y,editör. Yağ dokusu. İstanbul:Barış Kitabevi/Appleton&Lange;1998. s. 119
2. Park B, Kong JS, Kang S, Kim YW. The Effect of Epidermal Growth Factor on Autogenous Fat Graft. *Aesthetic Plast Surg.* 2011 Oct;35(5):738-744
3. Cervelli V,Gentile P, Grimaldi M. Regenerative Surgery: Use of Fat Grafting Combined with Platelet-Rich Plasma for Chronic Lower-Extremity Ulcers, *Aesth Plast Surg* (2009) 33:340–345
4. Phulpin B, Gangloff P, Tran N, Bravetti P, Merlin JL, Dolivet G. Rehabilitation of Irradiated Head and Neck Tissues by Autologous Fat Transplantation,*Plast Reconstr Surg.* 2009 Apr;123(4):1187-97
5. Salemi S, Rinaldi C, Manna F, Guarneri GF, Parodi PC. Reconstruction of lower leg skin ulcer with autologous adipose tissue and platelet-rich plasma,*J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008 Dec;61(12):1565-7
6. Chan CW, McCulley SJ, Macmillan RD. Autologous fat transfer e a review of the literature with a focus on breast cancer surgery,*J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008 Dec;61(12):1438-48
7. Minn KW, Min KH, Chang H, Kim S, Heo EJ. Effects of fat preparation methods on the viabilities of autologous fat grafts, *Aesthetic Plast Surg.* 2010 Oct;34(5):626-31
8. MacRae JW, Tholpady SS, Ogle RC, Morgan RF. Ex vivo fat graft preservation: effects and implications of cryopreservation,*Ann Plast Surg.* 2004 Mar;52(3):281-2

9. 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
10. Por YC, Yeow VK, Louri N, Lim TK, Kee I, Song IC. Platelet-rich plasma has no effect on increasing free fat graft survival in the nude Mouse, *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009 Aug;62(8):1030-4
11. Fraga MF, Helene A Jr, Nakamura F, Lellis RF, Kikuchi W, Esteban D. Comparative study of the integration and viability of autonomised and nonautonomised autologous fat tissue grafts e experimental model in rabbits, *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008 Sep;61(9):1044-8
12. Pu LL, Coleman SR, Cui X, Ferguson RE Jr, Vasconez HC. Cryopreservation of Autologous Fat Grafts Harvested With the Coleman Technique, *Ann Plast Surg.* 2010 Mar;64(3):333-7
13. Son D, Oh J, Choi T, Kim J, Han K, Ha S, Lee K. Viability of Fat Cells Over Time After Syringe Suction Lipectomy, *Ann Plast Surg.* 2010 Sep;65(3):354-60
14. Grewal N, Yacomotti L, Melkonyan V, Massey M, Bradley JP, Zuk, Freezing Adipose Tissue Grafts May Damage Their Ability to Integrate into the Host, *Connect Tissue Res.* 2009;50(1):14-28
15. Findik H, Aydin E, Beyhan G, Uzunismail A, The effects of different harvesting techniques, adrenaline, and centrifuge on the survival of fat grafts, *Eur J Plast Surg* (2007) 30:75–79
16. Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review, *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013 Mar;66(3):301-11
17. Khater R, Atanassova P, Anastassov Y, Pellerin P, Martinot-Duquennoy V. Clinical and Experimental Study of Autologous Fat Grafting After Processing by Centrifugation and Serum Lavage, *Aesthetic Plast Surg.* 2009 Jan;33(1):37-43
18. Stevenson T. R, Whetzel T. P, Repair and Grafting of Dermis, Fat and Fascia, In: Mathes SJ, editor. *Plastic surgery.* 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006. Volume 1, p:576

19. Coleman SR. Structural Fat Grafting: More Than a Permanent Filler, *Plast Reconstr Surg.* 2006 Sep;118(3 Suppl):108S-120S
20. Yi CG, Xia W, Zhang LX, Zhen Y, Shu MG, Han Y, Guo SZ. VEGF gene therapy for the survival of transplanted fat tissue in nude mice *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2007;60(3):272-8
21. Kaufman MR, Bradley JP, Dickinson B, Heller JB, Wasson K, O'Hara C, Huang C, Gabbay J, Ghadjar K, Miller TA. Autologous Fat Transfer National Consensus Survey: Trends in Techniques for Harvest, Preparation, and Application, and Perception of Short- and Long-Term Results *Plast Reconstr Surg.* 2007 Jan;119(1):323-31
22. Kaufman MR, Miller TA, Huang C, Roostaeian J, Wasson KL, Ashley RK, Bradley JP. Autologous Fat Transfer for Facial Recontouring: Is There Science behind the Art?, *Plast Reconstr Surg.* 2007 Jun;119(7):2287-96
23. Oymak O, *Liposculture*, İç: Oymak O, editör, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 199. s. 3-8
24. Gir P, Brown SA, Oni G, Kashefi N, Mojallal A, Rohrich RJ. Fat Grafting: Evidence-Based Review on Autologous Fat Harvesting, Processing, Rejection, and Storage *Plast Reconstr Surg.* 2012 Jul;130(1):249-58
25. Tholpady SS, Llull R, Ogle RC, Rubin JP, Futrell JW, Katz AJ. Adipose Tissue: Stem Cells and Beyond, *Clin Plast Surg.* 2006 Jan;33(1):55-62
26. Doornaert MA, Declercq H, Stillaert F, Depypere B, Van de Walle I, Cornelissen M, Blondeel P. Intrinsic Dynamics of the Fat Graft: In Vitro Interactions between the Main Cell Actors *Plast Reconstr Surg.* 2012 Nov;130(5):1001-9
27. Hanke C. V, Sattler G, Sommer B, *Textbook of Liposuction*, İç: Podda M, Kaufmann R, Bergfeld D, editör, Development, anatomy, and physiology of adipose tissue. Abingdon, Oxon, UK: Informa Healthcare; 2007, s. 14-15
28. Kang K, *White Adipose Tissue as an Endocrine Organ*, İç: Shiffman M. A, editör, *Autologous Fat Transfer: Art, Science, and Clinical Practice*, Heidelberg: Springer-Verlag; 2010:37-40

29. Shiffman M. A, History of Autologous Fat Transfer1 İç: Shiffman M. A, editör, Autologous Fat Transfer: Art, Science, and Clinical Practice, Heidelberg: Springer-Verlag; 2010:3-5
30. Klein A. W, Tissue Augmentation in Clinical Practice,İç: Narins R. S,editör, Fat Transfer with Fresh and Frozen Fat,Microlipoinjection, and Lipocytic Dermal Augmentation,New York,London:Taylor&Francis Group;2006,s. 9
31. De Blacam C, Momoh AO, Colakoglu S, Tobias AM, Lee BT. Evaluation of Clinical Outcomes and Aesthetic Results after Autologous Fat Grafting for Contour Deformities of the Reconstructed Breast Plast Reconstr Surg. 2011 Nov;128(5):411e-418e
32. Rietjens M, De Lorenzi F, Rossetto F, Brenelli F, Manconi A, Martella S, Intra M, Venturino M, Lohsiriwat V, Ahmed Y, Petit JY. Safety of fat grafting in secondary breast reconstruction after cancer,J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2011 Apr;64(4):477-83
33. Gutowski KA; ASPS Fat Graft Task Force. Current Applications and Safety of Autologous Fat Grafts: A Report of the ASPS Fat Graft Task Force,Plast Reconstr Surg. 2009 Jul;124(1):272-80
34. Bernard RW, Beran SJ. Autologous Fat Graft in Nipple Reconstruction ,Plast Reconstr Surg. 2003 Sep 15;112(4):964-8
35. Pearl RA, Leedham SJ, Pacifico MD. The safety of autologous fat transfer in breast cancer: Lessons from stem cell biology,J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2012 Mar;65(3):283-8
36. Caviggioli F, Maione L, Forcellini D, Klinger F, Klinger M. Autologous Fat Graft in Postmastectomy Pain Syndrome,Plast Reconstr Surg. 2011 Aug;128(2):349-52
37. Small K, Choi M,Levovitz C, BA; Lee C,Karp N, Fat Graft Survival in the Radiated Breast Compared to Non-Radiated Breast: Volume Measurement Using 3D Imaging, Supplement to Plastic and Reconstructive Surgery Vol. 130, No. 5S-1
38. Sarfati I, Ihrai T, Kaufman G, Nos C, Clough KB. Adipose-tissue grafting to the post-mastectomy irradiated chest wall: Preparing the ground for implant reconstruction,J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2011 Sep;64(9):1161-6.

39. Sultan SM, Barr JS, Butala P, Davidson EH, Weinstein AL, Knobel D, Saadeh PB, Warren SM, Coleman SR, Hazen A. Fat grafting accelerates revascularisation and decreases fibrosis following thermal injury, *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012 Feb;65(2):219-27
40. Phulpin B, Gangloff P, Tran N, Bravetti P, Merlin JL, Dolivet G. Rehabilitation of Irradiated Head and Neck Tissues by Autologous Fat Transplantation, *Plast Reconstr Surg*. 2009 Apr;123(4):1187-97
41. Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C, Breton P, Foyatier JL, Braye F, Damour O. Improvement of Skin Quality after Fat Grafting: Clinical Observation and an Animal Study, *Plast Reconstr Surg*. 2009 Sep;124(3):765-74
42. Perén PA, Gómez JB, Guerrerosantos J, Salazar CA, Gluteus augmentation with fat grafting *Aesthetic Plast Surg*. 2000 Nov-Dec;24(6):412-7.
43. Pereira LH, Radwanski HN, Fat grafting of the buttocks and lower limbs, *Aesthetic Plast Surg*. 1996 Sep-Oct;20(5):409-16.
44. Impelmans B. E, Miles J, Burke F. D, The use of free fat grafts in recalcitrant carpal tunnel: a retrospective study, *Eur J Plast Surg* (2001) 24:12–17
45. Kim N, Rose J. G, Fat Processing Techniques in Autologous Fat Transfer, İç: Shiffman M. A, editör, *Autologous Fat Transfer: Art, Science, and Clinical Practice*, Heidelberg: Springer-Verlag; 2010:391-95
46. Baran CN, Celebioğlu S, Sensöz O, Ulusoy G, Civelek B, Ortak T. The Behavior of Fat Grafts in Recipient Areas with Enhanced Vascularity, *Plast Reconstr Surg*. 2002 Apr 15;109(5):1646-51
47. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, Yoshimura K. The Fate of Adipocytes after Nonvascularized Fat Grafting: Evidence of Early Death and Replacement of Adipocytes, *Plast Reconstr Surg*. 2012 May;129(5):1081-92
48. Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In Search of Improved Fat Transfer Viability: A Quantitative Analysis of the Role of Centrifugation and Harvest Site, *Plast Reconstr Surg*. 2004 Jan;113(1):391-5
49. Atik B, Oztürk G, Erdoğan E, Tan O. Comparison of Techniques for Long-Term Storage of Fat Grafts: An Experimental Study *Plast Reconstr Surg*. 2006 Dec;118(7):1533-7



50. Shiffman M. A, Liposuction Principles and Practice, İç: Shiffman M. A, Giuseppe A. D, ed. , Tumescent Technique, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006, s. 72-75
51. Iyer S. , Raskin B. I, Liposuction Principles and Practice İç: Shiffman M. A, Giuseppe A. D, ed. , Liposuction with Local Tumescent Anesthesia and Microcannula Technique, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006, s. 61-70
52. Parish T. D, Liposuction Principles and Practice, İç: Shiffman M. A, Giuseppe A. D, ed. , Pharmacokinetics of Tumescent Anesthesia, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006, s. 54-60
53. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT, Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration, *Thromb Haemost.* 2004 Jan;91(1):4-15.
54. Craft RO, Rophael J, Morrison WA, Vashi AV, Mitchell GM, Penington AJ. Effect of local, long-term delivery of platelet-derived growth factor (PDGF) on injected fat graft survival in severe combined immunodeficient (SCID) mice, *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009 Feb;62(2):235-43
55. Cho JM, Lee YH, Baek RM, Lee SW, Effect of platelet-rich plasma on ultraviolet b-induced skin wrinkles in nude mice, *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011 Feb;64(2):e31-9.
56. Nasir S, Aydin MA, Karahan N, Altuntaş S, Fat tissue as a new vascular carrier for prefabrication in reconstructive surgery: experimental study in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008 Jul;61(7):799-806.
57. Nakamura S, Ishihara M, Takikawa M, Murakami K, Kishimoto S, Nakamura S, Yanagibayashi S, Kubo S, Yamamoto N, Kiyosawa T, Platelet-rich plasma (PRP) promotes survival of fat-grafts in rats. *Ann Plast Surg.* 2010 Jul;65(1):101-6
58. Howard C. V, Reed M. G, *Unbiased Stereology: Three Dimensional Measurement in Microscopy*, 2nd ed. QTP Publications; 2005
59. Ferguson RE, Cui X, Fink BF, Vasconez HC, Pu LL. The viability of autologous fat grafts harvested with the LipiVage system: a comparative study. *Ann Plast Surg.* 2008 May;60(5):594-7

60. Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study. *Plast Reconstr Surg.* 2008 Sep;122(3):932-7.
61. Pu LL, Coleman SR, Cui X, Ferguson RE Jr, Vasconez HC. An alternative method for harvest and processing fat grafts: an in vitro study of cell viability and survival. Gonzalez AM, Loboeki C, Kelly CP, Jackson IT. *Plast Reconstr Surg.* 2007 Jul;120(1):285-94.
62. Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plast Reconstr Surg.* 2004 Jan;113(1):391-5
63. Agostini T, Lazzeri D, Pini A, Marino G, Li Quattrini A, Bani D, Dini M, Wet and dry techniques for structural fat graft harvesting: histomorphometric and cell viability assessments of lipoaspirated samples *Plast Reconstr Surg.* 2012 Aug;130(2):331e-339e.
64. Girard AC, Atlan M, Bencharif K, Gunasekaran MK, Delarue P, Hulard O, Lefebvre-d'Hellencourt C, Roche R, Hoareau L, Festy F, New insights into lidocaine and adrenaline effects on human adipose stem cells, *Aesthetic Plast Surg.* 2013 Feb;37(1):144-52
65. Zhao J, Yi C, Li L, Zheng Y, Wu K, Liang L, Xia W, Guo S. Observations on the Survival and Neovascularization of Fat Grafts Interchanged between C57BL/6-gfp and C57BL/6 Mice *Plast Reconstr Surg.* 2012 Sep;130(3):398e-406e
66. Allen RJ Jr, Canizares O Jr, Scharf C, Nguyen PD, Thanik V, Saadeh PB, Coleman SR, Hazen A, Grading lipoaspirate: is there an optimal density for fat grafting? *Plast Reconstr Surg.* 2013 Jan;131(1):38-45.
67. Thanik VD, Chang CC, Lerman OZ, Allen RJ Jr, Nguyen PD, Saadeh PB, Warren SM, Levine JP, Coleman SR, Hazen A. A Murine Model for Studying Diffusely Injected Human Fat, *Plast Reconstr Surg.* 2009 Jul;124(1):74-81
68. Kuramochi D, Unoki H, Bujo H, Kubota Y, Jiang M, Rikihisa N, Udagawa A, Yoshimoto S, Ichinose M, Saito Y, Matrix metalloproteinase 2 improves the transplanted adipocyte survival in mice, *Eur J Clin Invest.* 2008 Oct;38(10):752-9

69. Botti G, Pascali M, Botti C, Bodog F, Cervelli V. A Clinical Trial in Facial Fat Grafting: Filtered and Washed versus Centrifuged Fat, *Plast Reconstr Surg*. 2011 Jun;127(6):2464-73
70. Kuran I, Tumerdem B. ,A new simple method used to prepare fat for injection *Aesthetic Plast Surg*. 2005 Jan-Feb;29(1):18-22
71. Xie Y, Zheng DN, Li QF, Gu B, Liu K, Shen GX, Pu LL, An integrated fat grafting technique for cosmetic facial contouring, *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010 Feb;63(2):270-6
72. Piasecki JH, Gutowski KA, Lahvis GP, Moreno KI, An experimental model for improving fat graft viability and purity. *Plast Reconstr Surg*. 2007 Apr 15;119(5):1571-83.
73. Kim IH, Yang JD, Lee DG, Chung HY, Cho BC. Evaluation of centrifugation technique and effect of epinephrine on fat cell viability in autologous fat injection, *Aesthet Surg J*. 2009 Jan-Feb;29(1):35-9
74. Ramon Y, Shoshani O, Peled IJ, Gilhar A, Carmi N, Fodor L, Risin Y, Ullmann Y, Enhancing the take of injected adipose tissue by a simple method for concentrating fat cells, *Plast Reconstr Surg*. 2005 Jan;115(1):197-201
75. Xie Y, Zheng D, Li Q, Chen Y, Lei H, Pu LL, The effect of centrifugation on viability of fat grafts: an evaluation with the glucose transport test *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010 Mar;63(3):482-7
76. Ramon Y, Shoshani O, Peled IJ, Gilhar A, Carmi N, Fodor L, Risin Y, Ullmann Y. Enhancing the Take of Injected Adipose, Tissue by a Simple Method for Concentrating Fat Cells, *Plast Reconstr Surg*. 2005 Jan;115(1):197-201
77. Smith P, Adams WP Jr, Lipschitz AH, Chau B, Sorokin E, Rohrich RJ, Brown SA, Autologous human fat grafting: effect of harvesting and preparation techniques on adipocyte graft survival, *Plast Reconstr Surg*. 2006 May;117(6):1836-44.
78. Zhu M, Cohen SR, Hicok KC, Shanahan RK, Strem BM, Yu JC, Arm DM, Fraser JK. Comparison of Three Different Fat Graft Preparation Methods: Gravity Separation, Centrifugation, and Simultaneous Washing with Filtration in a Closed System *Plast Reconstr Surg*. 2013 Apr;131(4):873-80

79. Hamed S, Egozi D, Kruchevsky D, Teot L, Gilhar A, Ullmann Y  
Erythropoietin improves the survival of fat tissue after its transplantation in  
nude mice, *PLoS One*. 2010 Nov 15;5(11):e13986.
80. Hong SJ, Lee JH, Hong SM, Park CH, Enhancing the viability of fat grafts  
using new transfer medium containing insulin and beta-fibroblast growth  
factor in autologous fat transplantation. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010  
Jul;63(7):1202-8
81. Cervelli V, Palla L, Pascali M, De Angelis B, Curcio BC, Gentile P,  
Autologous platelet-rich plasma mixed with purified fat graft in aesthetic  
plastic surgery. *Aesthetic Plast Surg*. 2009 Sep;33(5):716-21.
82. Pires Fraga MF, Nishio RT, Ishikawa RS, Perin LF, Helene A Jr, Malheiros  
CA, Increased survival of free fat grafts with platelet-rich plasma in rabbits, *J  
Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010 Dec;63(12):e818-22
83. Özbayoğlu A. C, Deneysel sıçan siyatik sinir ezilme tarzı yaralanma  
modelinde sinir rejenerasyonunda trombosit zengin plazmanın  
etkileri, *Tıpta Uzmanlık Tezi*, 2008
84. Alexander R. W, Fat Transfer with Platelet-Rich Plasma for Breast  
Augmentation ,İç: Shiffman M. A, editör, *Autologous Fat Transfer: Art,  
Science, and Clinical Practice*, Heidelberg: Springer-Verlag; 2010:257
85. Salgarello M, Visconti G, Ruscioni A, Breast fat grafting with platelet-rich  
plasma: a comparative clinical study and current state of the art. *Plast  
Reconstr Surg*. 2011 Jun;127(6):2176-85
86. Ayhan M, Senen D, Adanali G, Görgü M, Erdoğan B, Albayrak B. Use of Beta  
Blockers for Increasing Survival of Free Fat Grafts, *Aesthetic Plast Surg*. 2001 Sep-  
Oct;25(5):338-42
87. Kaminski M. V, De Vaughan R. M. L, Fat Autograft Retention with Albumin,  
İç: Shiffman M. A, editör, *Autologous Fat Transfer: Art, Science, and  
Clinical Practice*, Heidelberg: Springer-Verlag; 2010:123-132
88. Park D. K, Ji Y. H, Dhong E. S, Gu J. H, Yoon E. S, Transplantation of Rat  
Adipose-Derived Stem Cells (ASCs) to Improve the Survival of Autologous  
Aspirated Fat Grafts *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Vol. 9,  
No. 2, pp 69-74 (2012)

89. Butala P, Hazen A, Szpalski C, Sultan SM, Coleman SR, Warren SM. Endogenous Stem Cell Therapy Enhances Fat Graft Survival *Plast Reconstr Surg*. 2012 Aug;130(2):293-306
90. Yi C, Pan Y, Zhen Y, Zhang L, Zhang X, Shu M, Han Y, Guo S. Enhancement of Viability of Fat Grafts in Nude Mice by Endothelial Progenitor Cells, *Dermatol Surg*. 2006 Dec;32(12):1437-43
91. Wang WZ, Fang XH, Williams SJ, Stephenson LL, Baynosa RC, Wong N, Khiabani KT, Zamboni WA. Analysis for Apoptosis and Necrosis on Adipocytes, Stromal Vascular Fraction, and Adipose-Derived Stem Cells in Human Lipoaspirates after Liposuction, *Plast Reconstr Surg*. 2013 Jan;131(1):77e-85e
92. Nguyen PS, Desouches C, Gay AM, Hautier A, Magalon G. Development of micro-injection as an innovative autologous fat graft technique: The use of adipose tissue as dermal filler, *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012 Dec;65(12):1692-9
93. Karacaoglu E, Kizilkaya E, Cermik H, Zienowicz R, The role of recipient sites in fat-graft survival: experimental study *Ann Plast Surg*. 2005 Jul;55(1):63-8

