



T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK
BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ULTRASON İLE ÖNKOŞULLAMANIN YAĞ
GREFTİ
YAŞAYABİLİRLİĞİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Grv. Dr. Arif YILMAZ

PLASTİK ESTETİK ve REKONSTRÜKTİF
CERRAHİANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Necmettin KARASU

AFYONKARAHİSAR
2021

**T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**

TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ

ANABİLİM DALI

**ULTRASON İLE ÖNKOŞULLAMANIN YAĞ GREFTİ
YAŞAYABİLİRLİĞİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş. Gör. Dr. Arif YILMAZ

DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Necmettin KARASU

AFYONKARAHİSAR 2021

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

KABUL ONAY SAYFASI

Tez Başlığı: Ultrason ile Önkoşullamanın Yağ Grefti Yaşayabilirliğine Etkisinin Araştırılması

Tezi Hazırlayan: Arş. Gör. Dr. Arif YILMAZ

Tez Savunma Tarihi:30.03.2021

Tez Kabul Tarihi:30.03.2021

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Necmettin KARASU

İş bu çalışma jürimiz tarafından PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

ÜYE

Dr. Öğr. Üyesi Necmettin KARASU
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve
Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

ÜYE

Doç. Dr. Bilsev İNCE
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve
Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

ONAY

DEKAN

Prof. Dr. Necip BECİT

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini her zaman benimle paylaşan, destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM'a ve Dr. Öğr. Üyesi Necmettin KARASU'ya saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Üniversite yıllarından beri her zaman yanımda olan meslektaş olmaktan gurur duyduğum Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uzmanı Op. Dr. Osman Serdar BERK'e, asistanlık sürecinde bana yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Hatice Cansu KIŞ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım sürecinde süresi çok uzun olmasa da birlikte çalıştığımız asistan arkadaşlarım Dr. Aydın BAĞDAT'a, Dr. Kemal Cemre BOZA'ya ve Dr. Berker UÇAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık süreci boyunca beraber çalıştığım tüm hemşire, servis personeli, ameliyathane personeli arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Aynı klinikte çalışmasak da asistanlığım boyunca birlikte güzel vakitler geçirdiğimiz Dr. Osman GERÇEK'e, Dr. Serkan SADIÇ'a, Dr. Bilal Atilla BEZEN'e, Dr. Kamil TAŞKAPILI'ya, Dr. Bilge Kağan YILMAZ'a ve Dr. Ayşe YALÇINKAYA YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelmemde büyük emeği olan, desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen sevgili annem, babam, ablam ve kardeşime sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu yorucu ve yoğun süreç içerisinde desteğini her zaman yanımda hissettiğim, bir ömrü beraber paylaşacağım hayat arkadaşım Dr. Gizem ÖZDOĞAN'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMALAR.....	V
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.YAĞ DOKUSUNUN GENEL ÖZELLİKLERİ	4
2.1.1.EMBRYOLOJİ – HİSTOLOJİ.....	4
2.1.1.1.Beyaz Yağ Dokusu	5
2.1.1.2. Kahverengi Yağ Dokusu	6
2.1.2. FİZYOLOJİ	7
2.1.3. ANATOMİ.....	7
2.1.3.1. Apikal tabaka	8
2.1.3.2. Manto tabakası.....	9
2.1.3.3. Derin tabaka	9
2.2. YAĞ GREFTİ.....	9
2.2.1. TARİHÇE.....	9
2.2.2. YAĞ GREFTİ SAĞKALIMINI ARTIRMAK İÇİN YAPILAN ÇALIŞMALAR	11
2.2.3. YAĞ GREFTİ KULLANIM ALANLARI	12
2.2.4. YAĞ GREFTİ YAŞAYABİLİRLİĞİNİN MEKANİZMASI.....	15
2.2.5. YAĞ GREFTİ ELDE ETME, HAZIRLAMA VE ENJEKSİYON YÖNTEMLERİ	18
2.3. TERAPÖTİK ULTRASON	20
2.3.1. ULTRASONUN ETKİLERİ.....	21
2.3.1.1. Termal Etkiler.....	22
2.3.1.2. Termal Olmayan Etkiler	22
2.3.2. TERAPÖTİK ULTRASON VE HAYVAN DENEYLERİ	23
3. GEREÇ YÖNTEM	24
3.1. DENEY PROTOKOLÜ VE DENEY GRUPLARI.....	24
3.2. CERRAHİ TEKNİK	29
3.3. TERUS UYGULAMASI	34
3.4. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME	37
3.4.1. HİSTOLOJİK TAKİP-BOYAMA	37
3.4.1.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü	38
3.4.1.2. İmmunohistokimyasal Boyama Protokolü	39
3.4.1.3. TUNEL Boyama Protokolü.....	40

3.4.2. PREPARATLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE GÖRÜNTÜ ANALİZİ	42
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	43
4. BULGULAR	44
4.1. MAKROSKOPİK BULGULAR	44
4.2. HİSTOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR	46
5. TARTIŞMA	70
6. SONUÇ.....	75
ÖZET	76
ABSTRACT	77
7. KAYNAKÇA.....	78



KISALTMALAR

- PRP:** Platelet Rich Plasma
EGF: Epidermal Growth Factor
VEGF: Vascular Endotelial Growth Factor
TERUS: Terapötik Ultrason
MZK: Mezenkimal Kök Hücre
VLDL: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
TAG: Triaçilgliserol
HZ: Hertz
MHZ: Megahertz
NO: Nitrik Oksit
SVF: Stromal Vasküler Fraksiyon
TBS: Tris Buffer Salin
HRP: Horseadish Peroxidase
AEC: 3-Amino-9-Ethycabazole
PBS: Phosphate Buffered Saline
µm: mikrometre
TdT: Terminal deoxynucleotidyl transferase
DAB: 3,3'-diaminobenzidine
ADC: Anti-Digoxigenin Conjugate

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Yağ Grefti Hacim Ağırlık Değişim Yüzdesi.....	44
Tablo 2. Yağ Grefti Sağkalım Yüzdesi.....	45
Tablo 3. Rat Ağırlık Değişim Yüzdesi	46
Tablo 4. Histolojik Değerlendirmede Kist Yüzdesi	49
Tablo 5. Histolojik Değerlendirmede Fibrozis Yüzdesi.....	50
Tablo 6. Histolojik Değerlendirmede İnflamasyon Yüzdesi	51
Tablo 7. İmmunohistokimyasal Değerlendirmede Pecam Yüzdesi	52
Tablo 8. Gruplara göre Pecam yüzdeleri	53
Tablo 9. Gruplar arasında çoklu karşılaştırmada anlamlı çıkan Pecam sonuçları (TUKEY HSD)	53
Tablo 10. İmmunohistokimyasal değerlendirilmede Tunel Yüzdesi.....	58
Tablo 11. İmmunohistokimyasal Değerlendirmede Perilipin Yüzdesi	63
Tablo 12. Gruplara göre Perilipin yüzdelерinin dağılımı	64
Tablo 13. Gruplar arasında çoklu karşılaştırmada anlamlı çıkan Perilipin sonuçları (TUKEY HSD)	64

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Beyaz Yağ Doku Hücrelerinin Histolojik Görüntüsü.	6
Şekil 2. Yağ Dokusunun Anatomik Görüntüsü(17)	8
Şekil 3. Hücre sağkalım teorisi şematik görünüm(39)	16
Şekil 4. Greft dönüşüm teorisi şematik görünüm(39)	17
Şekil 5. Yağ grefti sonrası 3 bölgenin şematize edilmiş hali(39).....	18
Şekil 6. Anestezi Altında Supin Pozisyonunda Yatan Ratta Greft Alınacak Alanın Hazırlanması.....	25
Şekil 7. Anestezi Altında Prone Pozisyonunda Alıcı Alanın Hazırlanması	26
Şekil 8. Anestezi Altında TERUS Uygulaması Yapılacak Olan Rat.....	27
Şekil 9. TERUS Cihazının Ayarlanmış Hali (BTL-4000 Smart & Premium, BTL Türkiye, Ankara, Turkey	29
Şekil 10. Alınan Yağ Greftlerinin Hassas Terazi İle Tartımı (Mettler Toledo PL-E Portable Balances)	30
Şekil 11. Arşimet'in Taşıma Prensibi ile Yağ Grefti Hacmi Ölçümü	31
Şekil 12. Sağ İnguinal Bölgeden Greft Toplanması, Yağ Dokusuna Giden Pedikülün Koterize Edilme İşlemi	32
Şekil 13. Standardizasyon İçin 1.5x1.5 cm Silikon Tabakanın Cilt Altına Yerleştirilmesi	33
Şekil 14. Greft Uygulaması Ardından Cilt Sütürizasyonunun Görüntüsü ..	34
Şekil 15. TERUS Açık İken Yapılan Uygulama.	35
Şekil 16. TERUS Kapalı İken Yapılan Uygulama	35
Şekil 17. Standardizasyon Amaçlı TERUS Cihazının Başlığını Şekli Ni Kağıt Üzerine Aktarma İşlemi, Öndeki Kare Şeklinde Alansa Yağ Grefti Uygulanacak 1.5x1.5 cm Kadar Alanı Temsil Etmekte.....	36
Şekil 18. Çalışma Sonunda Eksize Edilecek Yağ Grefti İçin Ratların Sırtında Açılan İlk İnsizyona Dik Olan İnsizyon	36
Şekil 19. Eksize Edilecek Yağ Grefti Görülmekte	37
Şekil 20. HE x4 Büyütme. Yıldız: Yağ Kistleri, Ok Başları: Yağ Vakuolleri, Oklar: Mononükleer Hücreler F: Fibrozis Alanları A: Çekirdekli Canlı Adipositler	47
Şekil 21: HE x10 Büyütme Yıldız: Yağ Kistleri Oklar: Lipid Vakuollerini Kuşatan Mononükleer Köpüksü Hücreler (Histiositler) Çarpı İşaretleri: Kan Damarları F: Fibrozis Alanları A: Adipositler	48
Şekil 22. Grup 1 PECAM boyaması.....	54
Şekil 23. Grup 2 PECAM boyaması.....	54
Şekil 24. Grup 3 PECAM boyaması.....	55
Şekil 25. Grup 4 PECAM Boyaması	55
Şekil 26. Grup 5 PECAM boyaması.....	56
Şekil 27. Grup 6 PECAM boyaması.....	56
Şekil 28. Grup 7 PECAM boyaması.....	57
Şekil 29. Grup 1 TUNEL boyaması	59
Şekil 30. Grup 2 TUNEL boyaması	59
Şekil 31. Grup 3 TUNEL boyaması	60
Şekil 32. Grup 4 TUNEL boyama	60

Şekil 33. Grup 5 TUNEL boyama	61
Şekil 34. Grup 6 TUNEL boyama	61
Şekil 35. Grup 7 TUNEL boyama	62
Şekil 36. Grup 1 Perilipin boyama	65
Şekil 37. Grup 2 Perilipin boyama	66
Şekil 38. Grup 3 Perilipin boyama	66
Şekil 39. Grup 4 Perilipin boyama	67
Şekil 40. Grup 5 Perilipin boyama	67
Şekil 41. Grup 6 Perilipin boyama	68
Şekil 42. Grup 7 Perilipin boyama	68



1.GİRİŞ ve AMAÇ

Yağ grefti uygulamaları plastik, estetik ve rekonstrüktif cerrahide sıkça kullanılmaktadır ve son zamanlarda kullanım sıklığı artmıştır. Birçok kullanım sebebi olmakla birlikte; estetik kaygı ile yüzdeki yaşlanma ve çökmelerde hacim restorasyonu için, rekonstrüksiyon amacıyla meme kanserinin eksize edildiği memeye hacim katmak için, kök hücre içeriği nedeniyle skarların tazelenmesi gibi birçok amaçla kullanılmaktadır (1).

Yağ grefti uygulamalarının avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Otolog olması, antijenik olmaması, uyumluluğunun iyi olması, yabancı madde içermemesi en büyük avantajlarından sayılabilir. Ancak enjekte edildiği bölgede hangi oranda yaşayabileceğinin önceden kestirilememesi, greft olarak uygulanan yağın bir kısmının absorbe olması, kist formasyonuna dönüşmesi dezavantajlarının başında gelmektedir (2).

Yağ grefti uygulamalarında yağ grefti yaşayabilirliği değişken olmaktadır. Bu yaşayabilirliğe etki eden birçok etken bulunmaktadır. Yağ greftinin elde edilme yöntemi, iskemiye maruz kaldığı süre, alıcı yatağın vaskülaritesi, kişinin mevcut sistemik hastalıkları etkenlerin sadece bir kaçıdır (3).

Yağ greftinin ilk kullanıldığı 1890'lı yıllardan bu yana teknoloji ve tıptaki gelişmelerle beraber yağ grefti yaşayabilirliğini artırmaya yönelik çalışmalar çoğalmaya başlamıştır (4). Platelet rich plasma (PRP) gibi endojen madde kullanılması, epidermal growth factor (EGF), vasküler endotelial growth factor (VEGF) gibi büyüme faktörlerinin kullanımı, botulinum toksin gibi ekzojen madde kullanımı, mikroporasyon ile alıcı sahanın önkoşullanması gibi birçok yöntem denenmiş ve hala herkes tarafından kabul edilen bir konsensus oluşmamıştır (2,5-7).

Yağ greftinin yüzde olarak yaşayabilirliğinin fazla olması alıcı alanın vaskülaritesi ve canlı olarak transfer edilen adiposit miktarına bağlı olduğu düşünülmektedir (8). Transfer edilen yağ greftinin tüm koşullar uygun olarak yapılsa bile neden bir kısmının absorbe olduğu tam olarak bilinmemektedir. Yağ greftinin yaşama mekanizmasını açısından en çok kabul gören teori Peer'in hücrelerin sağkalımı teorisidir. Bu teoride transfer esnasında canlı adiposit sayısının fazlalığının nihai olarak yaşayan yağ greftinin hacmen fazla olacağına dikkat çekmektedir. Her ne kadar canlı adiposit sayısının fazla olması yağ grefti yaşayabilirliğini artırsa da alıcı alanın vaskülaritesinin nihai sağkalıma büyük bir etkisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (5).

Alıcı sahanın önkoşullanması daha çok flep cerrahisinde kullanılmakla beraber opere edilecek sahaya yapılacak operasyonun başarısını artırmaya yönelik yapılan işlemlerin tümü önkoşullama olarak düşünülebilir. En sık ve en başarılı olan ve klinikte kullanımı olan örneği; cerrahi geciktirme yöntemi ile flep önkoşullamasıdır (9). Yağ grefti yapılacak sahaya operasyon öncesi ve sonrası tatbik edilecek her türlü işlem önkoşullama olarak düşünülebilir. Botulinum toksin enjeksiyonu, mikroporasyon gibi invaziv yöntemler, terapötik ultrason (TERUS) tatbiki gibi medikal yöntemler olarak önkoşullama gerçekleştirilebilir (5,7,10).

Terapötik ultrason (TERUS) fizik tedavi ve rehabilitasyon ünitelerinde derin doku ısıtıcısı olarak kullanılan bir alettir. Pratik olarak kullanımının kolay olması, invaziv bir girişim ihtiyacı olmaması, maliyetinin düşük olması, tekrar tekrar kullanılabilir olması ve dokunun yenilenmesinin kolaylaştırması TERUS'un avantajlarındandır. TERUS'un inflamasyonu azalttığı ve bölgenin kanlanmasını artırdığına yönelik çalışmalar mevcuttur. TERUS hücre zarı geçirgenliğini artırarak kalsiyum iyonlarının hücre içine geçişi ile etki göstermektedir. Bazı çalışmalarda da TERUS uygulanan alanda kan akımının arttığına dair bulgular mevcuttur (11). Son yıllarda ultrasonik dalgalar kullanılarak lipoliz ile sonuçlanan işlemlerin olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (12).

Çalışmamız, TERUS'un inflamasyonu azaltması ve vaskülariteyi artırması yağ grefti yaşayabilirliği açısından olumlu etkiye sebep olabileceği düşünülerek planlanmıştır. TERUS'un bu etkilerinin ratlarda yağ grefti yaşayabilirliğine etkisini araştırmak çalışmamızın temel amacıdır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.YAĞ DOKUSUNUN GENEL ÖZELLİKLERİ

2.1.1.EMBRİYOLOJİ – HİSTOLOJİ

Yağ dokunun genel olarak kas ve kemik gibi mezodermden köken aldığı kabul edilir. Primitif endoderm ile ektoderm arasındaki hücre tabakasının göçü ile mezodermin farklılaşması başlar. Bu tabaka gelişen embriyoda ön-arka, dorsal-ventral aksta yayılır ve aksiyal, paraaksiyal, orta ve yan mezoderm plaklarını oluşturur. Paraaksiyal mezoderm somitlere ayrıldıktan sonra, aksiyel iskelet gövdenin kaslarını oluşturur. Lateral plak mezodermi ise uzuvların kas ve iskeletini oluşturur (13).

Mezenkimal kök hücre (MZK) insan kemik iliğinde tanımlanmış ve farklılaşan mezodermi modellemede kullanılmıştır. MZK, adiposit, osteoblast, kondrosit, myoblast ve konnektif dokuya farklılaşabilir. MZK ile olgun adiposit arasında belli olmayan birçok basamak mevcut olmasına rağmen MZK'nin adipoblastların oluşmalarına yol açtığı inanılır. Bu adipoblastlardan uygun uyarı ve koşullarda beyaz ve kahverengi adipositlere dönüşüm olmaktadır (13).

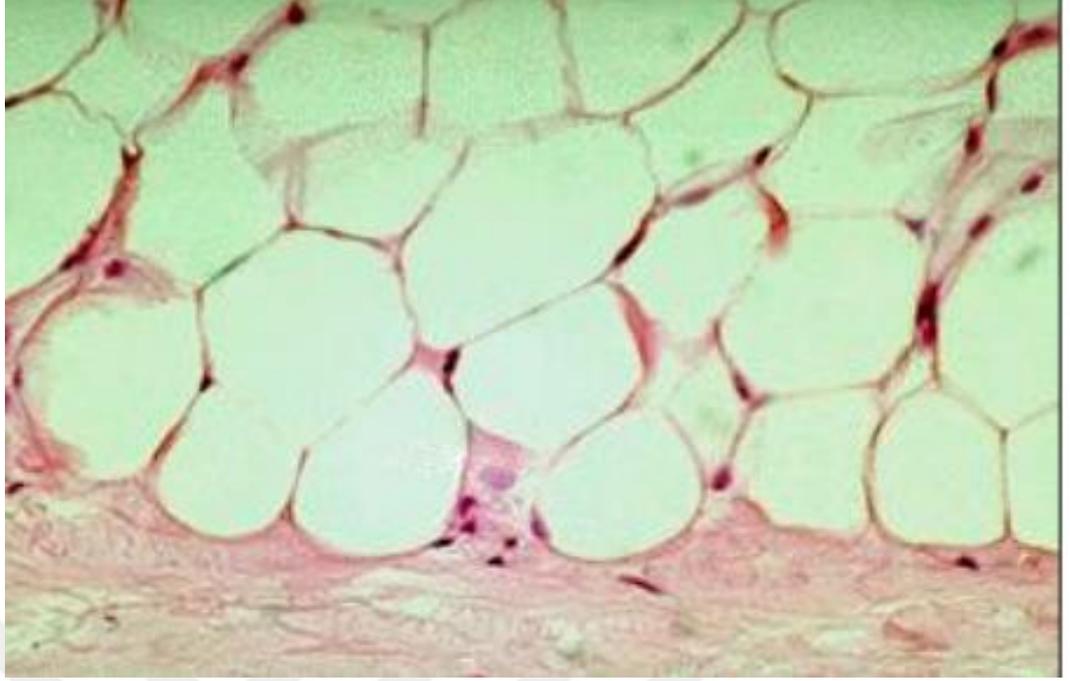
Yağ doku birçok adiposit içeren gevşek konnektif doku olarak özelleşmiş yapıdır. Yağ doku depolanmış hazır enerji kaynağı, yalıtım, hacim doldurma gibi fonksiyonlara sahiptir. Obezite gibi durumlar hariç insan vücudunun ağırlık olarak %10-15'ini yağ doku oluşturur. Lipitlerin sentez ve depolanması yağ dokunun görevlerindedir. Yağ sentezi; kandan direk alınan yağ öncülleri ile ya da adiposit içindeki karbonhidratlarla yapılabilmektedir. Adipositler, damarlara yakın olarak tek ya da küme şeklinde toplanırlar ve birbirine fibröz septalarla bağlanıp üzüm salkımına benzer yapıyla bağlanıp yağ dokuyu oluştururlar. İki tip yağ hücresi bulunur; beyaz (uniloküler) ya da kahverengi (multiloküler). Bu iki tipin damarlanması, histolojik görüntüsü ve rengi farklıdır (14,15).

Beyaz yağ doku; daha çok bulunan, 70 µm ile daha büyük ortalama çapa sahip yağ doku hücreleridir. Tek bir uniloküle yağ damlacığı bulundurur, bu yağ damlacığı hücre gelişirken küçük damlacıkların toparlanmasıyla oluşur.

Kahverengi yağ dokusu; embriyoda ya da yenidoğanda vücudun belli yerlerinde bulunan yağ doku türüdür. Ortalama çapı 60 µm'ye ulaşır ve sitoplazması multiloküledir ve birçok küçük yağ damlacıkları içerir.

2.1.1.1.Beyaz Yağ Dokusu

Adipositler nötral yağ olarak bilinen trigliseritlerin depolanması, sentezi ve dolaşıma verilmesi görevlerinde spesifiktirler. İnsulin gibi hormonlar, adipoz dokuyu innerve eden sempatik sistem, bu görevlerin organizasyonunu sağlar. Adipoz doku içerisindeki yağlar membrana bağlı olmayan lipid parçacıkları şeklinde depolanır. Enerji ihtiyacı olduğu zaman yağ dokusu yağı, yağ asidi şeklinde dolaşıma verir. Diyetle alınan yağ dolaşıma suda çözünen lipoprotein form olan şilomikronlar aracılığıyla katılır. Karaciğerde üretilen çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) ve diyetle alınan şilomikronlar yağ hücrelerine kapillerler aracılığıyla ulaşır. Lipoprotein lipaz yağ doku hücrelerinde bulunan enzimdir, şilomikron ve VLDL'den yağ asidi ve gliserolları ayırır ve bu maddeler yağ hücre sitoplazmasına alınır. Alınan bu maddeler düz endoplazmik retikulumda yeniden esterleştirilir ve yağ olarak depolanır. Dağınık mitokondri, küçük bir golgi kompleksi, iskeletal filamanlar yağ hücre sitoplazmasındaki diğer organellerdir. Adipositler steroid hormon salgılanmasında, sitokin salgılanmasında, hipotalamus üzerinde etki gösteren leptin salgılanmasında görevlidirler (14).



Şekil 1. Beyaz Yağ Doku Hücrelerinin Histolojik Görüntüsü.

2.1.1.2. Kahverengi Yağ Dokusu

Kahverengi yağ dokusu, yüksek vaskülaritesi ve mitokondrilerdeki lipokromların renklendirmesiyle olan karakteristik kahverengi rengi ile tanınır. Yenidoğanlarda ağırlığın %2'si olarak bulunurken, erişkin çağlara doğru yüzdesi azalır. Kış uykusuna yatan hayvanlarda kahverengi yağ hücre oranı fazladır. İnsanlarda kahverengi yağ dokusu ısı üretimi ve ısı dengesini sağlamakta görevlidir. Daha küçük ve köşeli olan kahverengi yağ hücrelerinin nükleusları daha çok santralde yerleşiktir. Sitoplazma birçok lipid damlacığı içerir ve bu damlacıklar hücreye multiloküle görüntü verir. Aynı zamanda yuvarlak iyi gelişmiş kristalleri olan birçok büyük mitokondri bu vakuollerin etrafını sarar. Yağ damlacıklarının etrafını saran mitokondri yağ asitlerinin oksidasyonu ile ısı üretiminde rol oynar. Glikojen agregatları sitoplazma içinde bulunur. Hücre zarı birçok kapillerle temas halindedir. Kahverengi yağ hücresi sempatik sinir sistemi ile direk innerve olur ve noradrenerjik nonmiyelinize aksonlar hücre membranının etrafında sıkı ilişki içerisinde görülür. Beyaz yağ hücresi gibi kahverengi yağ

hücresi de primitif mezenkimal hücreden köken alırlar. Soğuk iklim koşulları beyazın aksine kahverengi hücreleri aktive eder (14).

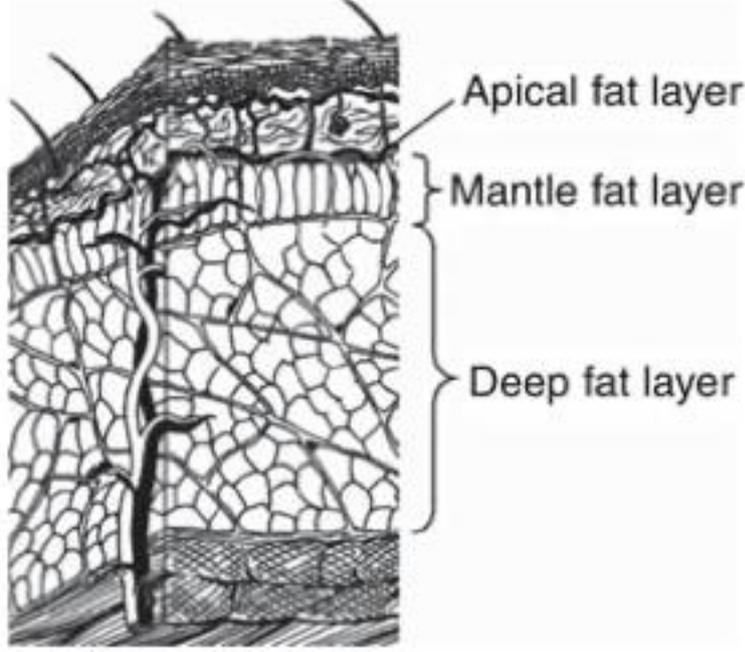
2.1.2. FİZYOLOJİ

Adipoz dokunun ana hücreleri olan adipositler, triaçilgliserol (TAG) şeklinde enerji depolamak için özelleşmiş hücrelerdir. Aynı zamanda yağ dokusu birçok peptid ve faktör salgılar ve parakrin, endokrin etkileri ile endokrin organ olarak işlev görür. Adipoz doku fibroblast, adiposit prekürsörleri, endotelial hücreler gibi birçok hücre tipini barındırır. Obez insanlarda makrofaj ve lökosit gibi inflamatuvar hücreler de bulunabilir. Adipositler, adipoz dokunun hacmen %80-90'ını, hücre sayısı olarak da %60-70'ini oluşturur.

Adipoz dokunun TAG düzeyi enerji durumunu yansıtır. Vücudun glikojen depolama kapasitesi görece düşük ve sınırlı olduğundan, uzun dönem enerji alımı ve harcanması arasındaki değişiklik adipositlerde depolanan TAG miktarına yansımaktadır. Adipositlerin TAG içeriği yağ mobilizasyonu ve yağ depolanması arasındaki dengeye yansımaktadır. Yağ mobilizasyonu beta adrenerjik stimülasyon ile kolayca uyarılır. Fakat yağ mobilizasyonunda yemekten sonra baskılanan ve uzun süreli açlıkta artan diüurnal ritm olması bu düzenlemenin daha çok insülin konsantrasyonundaki değişikliklerden kaynaklandığını düşündürmektedir. Yemekten sonra yağ depolanması daha çok insülin stimülasyonuna bağlı olmaktadır. İnsülin, lipoprotein lipaz aktivitesini artırır ve dolaşımdaki TAG'lerin hidrolizini, yağ asitlerinin hücreye alınıp yeniden esterleşmesini aktive etmektedir. Yağ depolanması ve mobilizasyonu egzersiz kapasitesi ve içeriğine de bağlıdır. Matür adipositler ise preadiposit olarak bilinen prekürsörlerde TAG birikmesiyle oluşurlar (16).

2.1.3. ANATOMİ

Yağ dokunun anatomisine baktığımızda dokunun yüzeyelden derine; apikal, manto ve derin tabaka olmak üzere 3 farklı tabakasının bulunduğunu görülür.



Şekil 2.Yağ Dokusunun Anatomik Görüntüsü (17)

2.1.3.1. Apikal tabaka

Bu tabaka retiküler dermis altında bulunur ve kıl folikülü ve ter bezleri ile sarılmıştır. Aynı zamanda tekal ve periadneksiyal tabaka olarak da adlandırılır. Bu tabakanın altındaki vasküler ve lenfatik ağ bu tabakayı sınırlandırmaktadır. Diyetteki meyve ve sebzenin kalitesi ile değişmekle birlikte bu tabaka karotenoidleri içerir ve sarı renkte görünmeye meyillidir. Bu tabakadaki nöral vasküler ve lenfatik yapıların zarar görmemesi için liposuctionda bu tabakanın zarar görmemesi önemlidir. Bu tabakanın liposuctionla yoğun hasarı postoperatif seroma, eritem, hiperpigmentasyon veya tam kat deri nekrozuna sebep olabilir. 8-10 mm'lik büyük kanüller kullanıldığında bu durum daha sık yaşanan bir komplikasyonken; 2-3 mm'lik kanüllerin daha çok kullanıldığı dönemde bu komplikasyon gittikçe azalmıştır (17).

2.1.3.2. Manto tabakası

Dermal yapıları kuşatan yağ tabakasının altında anatomik olarak ayrı organize olmuş süperfisiyal yağ tabakası bulunmaktadır. Bu tabakaya manto tabakası denir ve anatomik olarak columnar şekilli yağ hücreleri daha fazla bulunur. Fasya benzeri fibröz doku ile derin tabakadan ayrılmıştır. Burun köprüsünde, göz kapağında, peniste, tırnak yatağında bu tabaka bulunmamaktadır.

Bu tabaka derinin travmaya cevap verme yetisine katkıda bulunur. Dışarıdan gelen basıncın geniş alana yayılmasını sağlar (17).

2.1.3.3. Derin tabaka

Alttaki kas fasyası ve manto zonu arasında derin yağ tabakası bulunur. Kalınlığı ve şekli cinsiyete, kişinin genetik yapısına, diyet içeriğine göre değişir. Liposculpture için en uygun tabakadır. Bu tabakada yağ hücreleri inciler halinde düzenlenir ve inciler de küreciklerde toplanır. Bu kürecikler yumurta paketindeki yumurta gibi fibröz septalarla paketlenmişlerdir. Tanjansiyel ve oblik fibröz plana göre düzenlenmişlerdir.

Histolojik olarak tanjansiyel plan kalın ve altta yatan kas fasyasına paraleldir. Liposuction yaparken bu durumun göz önünde bulundurulması gereklidir.

Oblik plan daha incedir ve tanjansiyel fibröz septalar arasında bağlantı yaparlar. Yağ globüllerini birbirleri ile bağlantılı halde tutarlar. İnce olmasına rağmen kastan cilde dik uzanımlarının da önemli kozmetik sonuçları vardır; sellülite sebep olurlar (17).

2.2. YAĞ GREFTİ

2.2.1. TARİHÇE

Yağ greftinin serüveni bir asırdan önceki zamana dayanmaktadır. Yağ grefti ile ilgili ilk cerrahi deneyim 1893'te Neuber adlı Alman cerrahın çalışması ile başlamaktadır. Ostemiyelite bağlı yüzdeki bir defekt için üst ekstremiteden yağ doku ile yaptığı rekonstrüksiyonu yazmıştır. Bu operasyondan yaklaşık 2 sene sonra Czerny postmastektomi skarına bir lipomu transfer ederek simetriyi sağlamaya çalışmıştır. Lexer isimli cerrah I. Dünya savaşında orbitasında ateşli silaha bağlı defekt olan hastayı lokal flep, yağ grefti ve kıkırdak grefti ile onarmış ve ardından çalışmalarını 'Die freien Transplantationen' isimli kitapta toplamıştır. 'En blok' yağ grefti popüler olarak kullanıldığı için uzun dönem sonuçlar ortaya çıktıkça yağ greftlerindeki rezorbsiyon ve yağ kistleri dikkati çekmiştir (4).

Peer 1950 li yıllarda otolog yağ greftinin kaderini araştırmış ve 1 yıl sonra yağ hücrelerinin bir kısmının öldüğünü, bir kısmının yerini fibröz dokunun aldığını raporlamıştır (8).

Liposuctionun Paris'te birbirinden bağımsız iki cerrah tarafından keşfi ile karın, bel bölgesinden fazla yağlar aspire edilmiş ve tüm dünyaya bu teknik hızla yayılmıştır. Liposuctionla alınan yağın greft olarak başka bir yere enjekte edilmesi fikri de yeni bir ilgi odağı olmuştur.

1926 yılında Charles C. Miller 'Canulla İmplants' adını verdiği kitabı yayınlamış ve nazolabial oluğa, semer burun deformitesine, kazayağı çizgilerine kanülle yağ enjeksiyonu yapmış ve bunu kitabında tarif etmiştir; ancak yeterince popüler olamamıştır.

1980'lerin sonunda Arjantinli Abel Chajchir yaptığı yağ grefti uygulamalarının uzun süreli sonuçlarını paylaşmıştır. Adipositlerin manüpülasyonla zarar görmemesine, salin ile yıkayıp ölü hücreleri ve debrisı uzaklaştırmaya ve iyi vaskülarize bir alıcı yatağa greftin yerleştirilmesine dikkat çekmiştir.

1990'ların sonunda Sydney Coleman yağ aspirasyonunu sistematize etmiş ve 3 mm künt uçlu kanül ve 10 mm enjektör ile düşük negatif basınç altında adipositleri travmatize etmeden aspirasyonunu ve santrifüj yöntemi ile aspiratı saflaştırmayı tariflemiştir. 18 g kanülle çoklu tüneller açarak iyi vaskülarize bir alana enjeksiyonu önermiş ve bu işlemleri 'liposculpture' olarak tanımlamıştır. 2005'te Coleman yağ grefti ile alakalı ilk kitabını yayınlamış ve birçok klinik olguda yağ grefti endikasyonu olduğunu tecrübelerine dayanarak anlatmıştır (18,19).

2000'li yıllarda lipoasprattan başka hücre türlerine de dönüşebilen adiposit kaynaklı kök hücre (ADSC) keşfedilmiş. Aynı zamanda lipoaspiratlardan elde edilen ADSC'lerin, endotel (progenitör) hücrelerin, T hücrelerin, B hücrelerinin, mast hücrelerinin ve adipoz doku makrofajlarının bir kaynağı olan stromal vasküler fraksiyonu (SVF) tanımlanmıştır (20,21).

2006 yılında Coleman ve Mazzola 'Fat Injection from Filling to Regeneration' adlı kitabı yayınlamışlardır (22). Yaklaşık 100 yılı aşkın bir süre önce başlanan yağ grefti uygulamaları kullanımı giderek artmakta ve bu konuyla ilgili çalışmalar devam etmektedir.

2.2.2. YAĞ GREFTİ SAĞKALIMINI ARTIRMAK İÇİN YAPILAN ÇALIŞMALAR

Yağ grefti uygulamalarının en büyük dezavantajı greftin yaşayabilirliğinin önceden tahmin edilememesidir. Çalışmaların bir kısmı yağ grefti yaşayabilirliğini artırmaya yönelik olanlardan oluşmaktadır.

Billur ve arkadaşları alıcı sahanın mikroporasyonla damarlanmasını artırarak yağ greftinin yaşayabilirliğini artırmayı hedeflemişlerdir (5). Nakamura ve arkadaşları yağ grefti üzerine PRP'yi eklemişler ve PRP'nin yağ grefti yaşayabilirliğine olumlu etkisi olduğunu histolojik olarak raporlamışlardır (2). Yiğit ve arkadaşları ratlarda alıcı sahaya hirüdin uygulayarak yağ grefti

yaşayabilirliğinin nasıl olacağını incelemişler ve anlamlı fark bulamamışlardır (23). Seçer ve arkadaşları ratlar üzerinde oral yolla kullanılan astaksantin maddesinin yağ grefti yaşayabilirliğine etkisini araştırmışlar ve sonucu olumlu olarak yorumlamışlardır (24). Çin ve arkadaşları sıçanlarda rosmarinik asit uygulamasının yağ grefti yaşayabilirliğine etkisini araştırmışlar ve sonucu olumlu yönde raporlamışlardır (25). Halen tam olarak mekanizması anlaşılammış olan yağ grefti uygulamaları için daha birçok çalışma yapılacağı aşikar gözükmektedir.

2.2.3. YAĞ GREFTİ KULLANIM ALANLARI

Greft operasyonu, kan dolaşımına sahip olmayan bir dokunun, vücudun başka bir yerine taşınması olarak tanımlanabilir. Taşınan dokunun içeriğine göre deri grefti, kıkırdak grefti veya yağ grefti adını alır. Greftin kendine ait bir damarı olmadığı için alıcı alandaki damarlar ile beslenip canlılığını devam ettirir.

Greft olarak yağ dokusu kullanılmaya neredeyse 1 asır önce başlanmış ve plastik estetik ve rekonstrüktif cerrahlar için ilgi çekici olma özelliğini kaybetmemiştir. Yağ grefti kullanım alanları ve yağ grefti yaşayabilirliği ile ilgili çalışmalar giderek artmıştır.

Yağ grefti meme rekonstrüksiyonunda ve meme büyütme operasyonunda sıkça kullanılmaktadır. Tekrarlanabilir olması, donör saha morbiditesinin az olması ve içerdiği ADSC sayesinde dokuya verdiği canlandırıcı etki göz önünde bulundurulduğunda ideale yakın bir hacim genişletici olarak düşünülebilir. Meme büyütmede, implant ile büyütülmüş memenin revizyonlarında, rekonstrüksiyon yapılmış memenin skarlarında, asimetric memelerin simetrisini yakalamada kullanılmaktadır (26). Memeye yapılan yağ enjeksiyonunun yaşayabilirliğinin bilinmemesi, sonucun öngörülebilirliğini azaltsa da tekrar uygulanabilir olması, implant gibi yabancı bir materyal olmaması otojen yağ grefti kullanılmasının tercih sebebi olarak düşünülebilir.

Skar dokusunun gündelik hayatı zorlaştırıcı etkileri yağ grefti kullanımı ile azaltılabilir. Bu etkinin azaltılması için birçok girişim yapılsa da tam olarak etkili olunamamıştır. Klinger ve arkadaşları skarlara enjekte edilen yağ greftlerinin skarın sertliğini azalttığını gösteren çalışma yapmışlardır. Yağ greftinin bu etkisinin ADSC aracılığı ile olduğunu öne sürmüşlerdir. Yaptıkları çalışmada deprese skarın tedavisi ve skarın deprese volümünün artırılmasının kozmetik etkiye pozitif katkısı gösterilmiştir (27). Farelerde yağ grefti ile yapılan çalışmada yağ greftinin deride kollagen sentezini uyardığı ve dermisi kalınlaştırdığı görülmüş ve deri kalitesinin artırdığı şeklinde yorumlanmıştır (28).

Yanık travması herkesin karşılaşabileceği ve karşılaşıldığı zaman kısa ve uzun dönem komplikasyonlarının yönetiminin zor olduğu olgulardır. Brongo ve arkadaşları, yanık skarına yağ grefti uygulaması yapmış ve hastaları takiplerinde hem hasta konforunun arttığını hem de histolojik olarak yeni kollajen depolanması, neoanjiogenezis, dermal hiperplazi ve doku yenilenmesinin olduğunu göstermişlerdir (29). Bruno ve arkadaşları yanık skarına yağ enjeksiyonu sonrasında histolojik olarak normal dokuya yaklaşımın dramatik olduğunu göstermişlerdir (30).

İyonizan radyasyonun tedavi amaçlı kullanımı uzun ya da kısa süreli yaralara sebep olabilmektedir (31). Radyasyonun sebep olduğu deri hasarı 3 şekilde karşımıza çıkabilir; akut radyodermatit, kronik radiodermatit ve radyasyonla ilişkili prüritik erüpsiyon (32). Rigotti ve arkadaşları radyasyon dermatiti olan hastaların tedavisi için lipoaspirattan elde ettikleri ve ADSC içeren Stromal vasküler fraksiyon enjeksiyonu yapmışlar ve hastaların iyileşmesine katkıda bulduklarını göstermişlerdir (31).

HIV ile bağlantılı komplikasyonlardan olan lipodistrofi; batında, memenin cilt altı bölgesinde, servikal dorsal bölgede (bufalo hörgücü benzeri) yağ depolanması, aynı zamanda ekstremitelerde, kalçada, yüzde yağların atrofisi ile karakterize bir klinik tablodur (33). Bu hastalarda yüzdeki yağ doku eksikliklerini gidermek için Mori ve arkadaşları yüze yağ enjeksiyonunu Coleman'ın 'Facial

Recontouring with Lipostructure' (18) çalışmasında tarif ettiği şekilde uygulamış ve tatmin edici sonuçlar elde etmişlerdir (34).

Yaşlanmanın ve uzun süre yerçekimine maruz kalmanın gözle görülen en büyük etkisi yüz bölgesinde olmaktadır. Yağ yastıkçıklarının yer değiştirmesi, atrofiye uğraması, deri kalitesinin azalması, yüz bölgesinde gözle görülebilecek istenmeyen etkilere yol açmaktadır (1). Yüz gençleştirmede yağ grefti uygulaması içeriğindeki ADSC nedeniyle eksilen hacmin yerine konması için kullanılabilir. Tonard ve arkadaşları yağ enjeksiyonunu yüz gençleştirmede kullanmışlar ve içerisindeki ADSC'lerin yüzün yenilenmesine katkısı olduğunu düşünmüşlerdir (35).

Yaşlanmanın rahatsız edici belirtilerinden biri de el görünümünde olmaktadır. Dorsaldeki venlerin belirginleşmesi, tendon ve kemiklerin görünür olması, güneş ışığına maruziyet sonucu pigmentasyonların oluşması, dermisin atrofiye uğraması el yaşlanmasının başlıca belirtilerindendir. Yaşlanmış ele yağ enjeksiyonu uygulaması ile hacim katmak elin daha genç görünmesini sağlamaktadır (36).

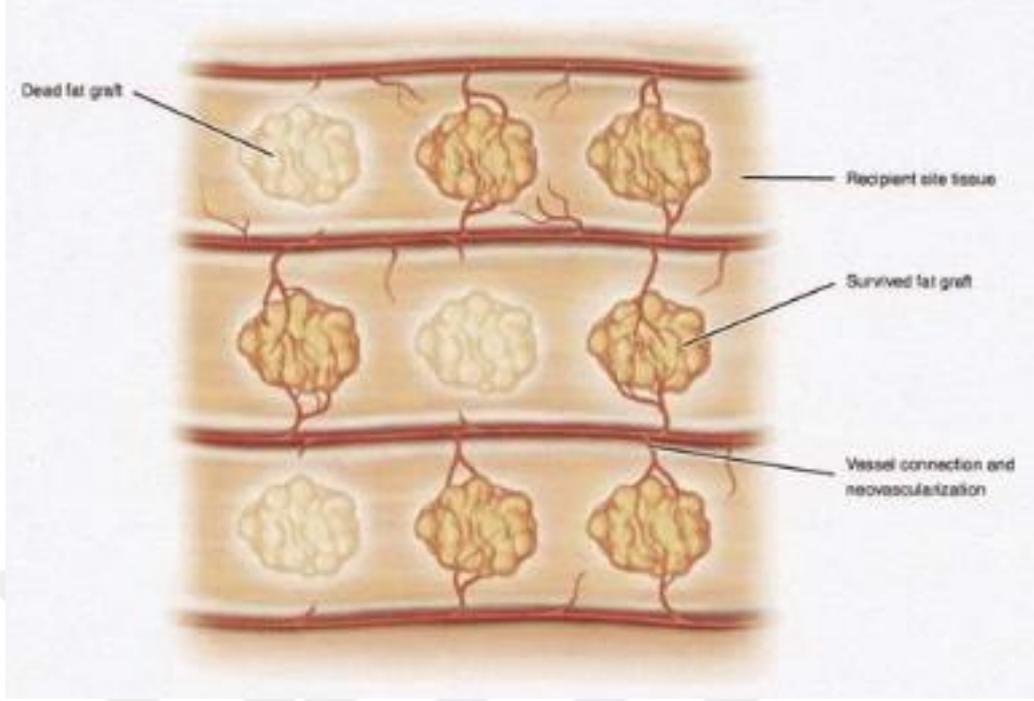
Rinoplasti operasyonlarında yağ grefti kullanımı hacim restorasyonu için kullanılabilir. Wen-Pin Kao ve arkadaşları asya ırkından hastalara dorsumu yükseltmek ve burnu göreceli uzatmak için burun dorsumuna yağ enjeksiyonu yapmışlar ve hastaları memnuniyetini ölçmüşler ve hasta memnuniyetinin daha yüksek olduğunu saptamışlardır (37).

Son zamanlarda sıkça yapılan cerrahi prosedürlerden biri haline gelen 'Brazilian Butt Lift' olarak tanınan cerrahi, özünde gluteal bölgeye yağ grefti uygulamasıdır. Hastanın kum saati görünümüne yaklaşması, gluteal bölgenin sarkıklığının ortadan kaldırılması ve hacminin artırılması operasyonun temelini oluşturur. Liposuction ile yağ greftinin kombine edilerek istenmeyen alanlardan yağın elde edilmesi ve gluteal bölgeye enjekte edilmesi ile sıkı ve hacimli bir popo ve incelmış bel görüntüsü elde edilebilir (38).

2.2.4. YAĞ GREFTİ YAŞAYABİLİRLİĞİNİN MEKANİZMASI

Yağ grefti operasyonu cerrahlar tarafından sıkça gerçekleştirilmesine rağmen yağ greftinin yaşayabilirliğinin gerçek mekanizması tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Peer tarafından 1950’de kurgulanan hücre sağkalım teorisi yağ grefti yaşayabilirliği ile ilgili en eski teorilerden biridir (39). Yağ grefti kullanımı arttıkça sağkalım ile ilgili araştırmalar artmış ve iki kutup arasında toplanmışlardır. Bunlardan biri greft sağkalım teorisi iken, diğeri greft dönüşüm teorisidir. İki teori de greft sağkalımının nasıl olduğunu tam olarak aydınlatabilmiş değildir (39).

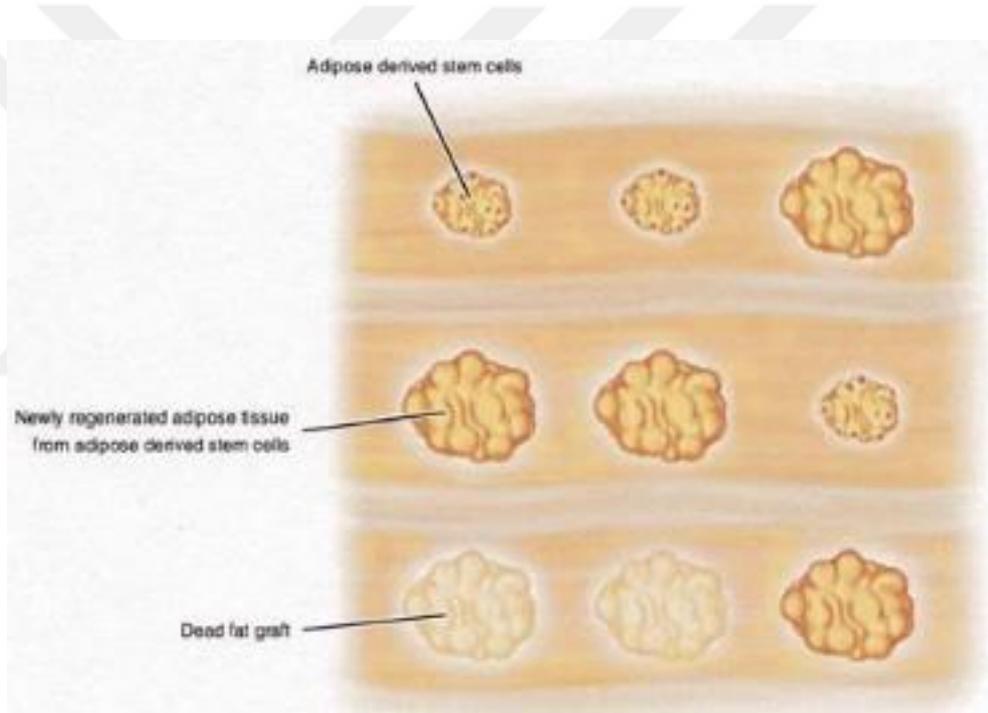
Peer, çalışmasında operasyon sonrası 1. yıl sağkalımı yaklaşık %50 olarak bulmuştur. Çalışmada yağ grefti ve alıcı alandaki damarlar arasında erken dönemde oluşan anastomozlar sağkalımın temelini oluşturmaktadır. Greft işleminin başarısı için alıcı sahaya yerleştirilen yağ hücrelerinin canlılığının en yüksek seviyede olmasının önemine değinmiştir. Yağ greftinin atravmatik teknikle alınmasını, serum, debris ve kan hücrelerinden arındırılmasını ve yağ hücrelerinin mümkün olduğunca saf hale getirilmesini önermiştir (8). Carpenada ve Ribeiro yerleştirilen greftin alıcı alandaki vaskülarize alanda 1.5 ± 0.5 mm’lik kısmının plazmatik imbibisyon ile beslenip canlı kaldığını göstermiştir (40). Bundan dolayı çok sayıda tüneller oluşturarak az miktarda yağ greftinin verilmesi önerilmiştir.



Şekil 3. Hücre Sağkalım Teorisi Şematik Görünüm(39)

Bu gelişmelerden sonra Zhao ve arkadaşları transgenik fareler üzerinde yağ greftleri ile ilgili deneysel çalışma yapmışlardır. Rastgele birbiri ile eşleştirilmiş iki grup transgenik fare kullanmışlardır. Çiftler birbirinden yağ grefti alacak şekilde planlanmış ve her fareye diğerinden 0.2 ml yağ grefti farelerin sırtlarında açılan cebe yerleştirilmiştir. 3. Gün, 7. Gün, 2.hafta, 4. Hafta, 2. Ay ve 4. Ay doku örnekleri alınıp immünohistokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Yapılan CD34 immünohistokimyasal boyama ile verici yağ greftlerinin alıcı kaynaklı damarlarla sağkaldığını ortaya koymuşlardır. Farklı zamanlarda alınan örneklerde greftlerin yara iyileşme aşamalarından (inflamasyon, proliferasyon, maturasyon) geçtiği gözlemlenmiştir (41). Bu çalışma yağ greftlerinin revaskülarizasyon sonrası hayatta kaldığını göstermekle beraber sağkalımın anlaşılmasına büyük katkı sağlamıştır. Bu çalışmayı temel olarak kullanan birçok deneysel çalışma türetilmiş ancak bu çalışmalar klinik gözlemleri tam olarak açıklayacak hale gelememiştir (39).

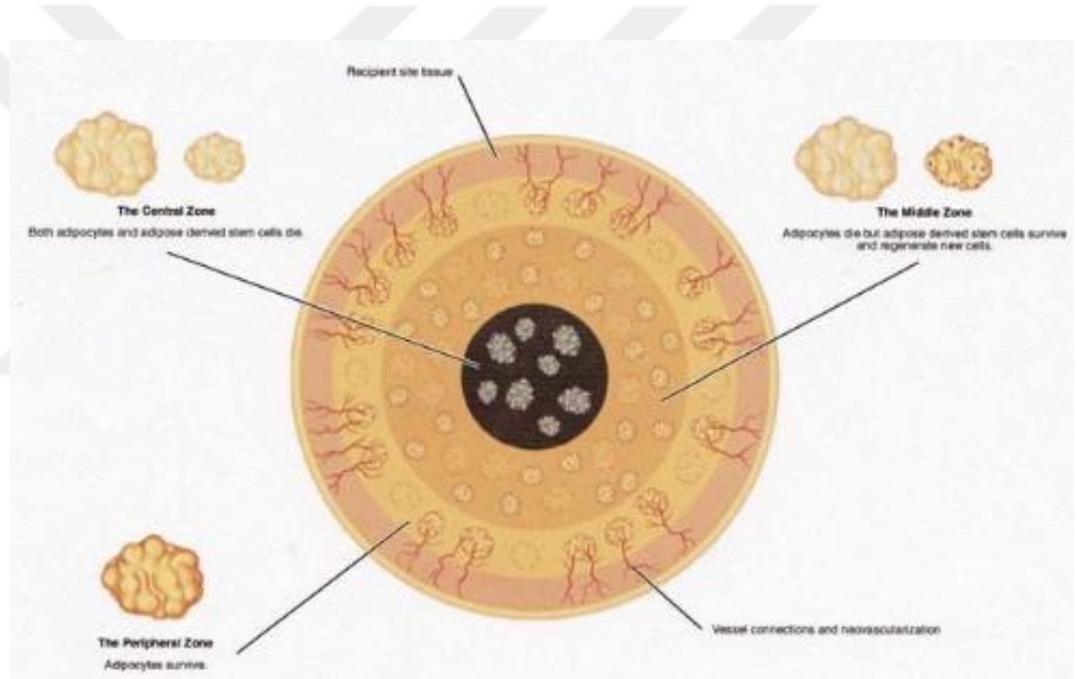
Yoshimura ve arkadaşları farelerin kasıklarındaki yağ yastıkçıklarını cerrahi olarak iskemiye tabi tutup farklı hipoksi derecelerinde adipositlerin değişimlerini incelemişlerdir. Şiddetli iskeminin adipositlerde dejeneratif değişiklikler yaptığını gözlemlemişlerdir (42). Adipositler iskemi modelinde canlılıklarını yitirirken ADSC'ler canlılıklarını devam ettirip doku onarımı sürecini başlatmışlardır. Eto ve arkadaşları çalışmalarında adipositlerin erken ölümünü ve ADSC'lerin aktivasyon ve rejenerasyonu ile yeniden ortaya çıktıklarını kanıtlamışlardır (43). Bu bulgulardan yola çıkarak Yoshimura ve arkadaşları greft dönüşüm teorisini ortaya çıkarmışlardır. Yağ greftinin sağkalım aşamasında hücresele bir dönüşüm olduğunu ve bu dönüşümün dinamik bir süreç olduğunu açıklamışlardır.



Şekil 4. Greft Dönüşüm Teorisi Şematik Görünüm(39)

Araştırmada yağ hücrelerinin çoğunun ilk 24 saatte öldüğü alıcı dokuya 300 µm mesafedeki yağ hücrelerinin bazılarının canlı kaldığı gösterilmiştir. ADSC sayısının 3. günde anlamlı olarak arttığını, 7. günde yağ hücrelerinin onarım ve rejenerasyonunu başladığını göstermişlerdir. Buradan yağ dokunun dinamik bir rejenerasyon döngüsünden geçtiğini anlamışlardır. Greftte dıştan içe 3 tabaka gözlemlenmiştir. En içteki tüm hücrelerin öldüğü santral tabaka, ortadaki

ADSC'lerin canlı kaldığı adipositlerin öldüğü orta tabaka, en dıştaki adipositlerin ve ADSC'lerin canlı kaldığı periferal tabakadır. Orta tabakada 3. günden başlayan rejenerasyon süreci, 7. günde adipogeneze döner ve 3. ayda sona erer. Lipid damlacıkları makrofajların fagositozu ile ortadan kaldırılır ve bu süreç damlacığın çapının büyüklüğüne bağlı olarak yavaş ilerler. Eğer lipid damlacığının çapı büyükse rezorpsiyon olmadan kist oluşumu gözlenebilir. Santral tabaka olan hem adipositlerin hem ADSC'lerin öldüğü tabaka skar ve kist formasyonu ile iyileşir. Nihai hacim replase edilen adiposit miktarı ile ilgilidir. Eğer greft olarak kullanılan yağ doku küçük çaplı yağ damlacıkları içeriyorsa rezorpsiyon 3. ayda sona erer ve daha sonrasında greftte hacim değişikliği beklenmez (43).



Şekil 5. Yağ Grefti Sonrası 3 Bölgenin Şematize Edilmiş Hali (39)

2.2.5. YAĞ GREFTİ ELDE ETME, HAZIRLAMA VE ENJEKSİYON YÖNTEMLERİ

Yağ grefti operasyonu yapılmaya başlandığından beri yağ greftinin nasıl elde edilmesi ve nasıl transfer edilmesi gerektiği, hangi yöntemle daha iyi bir sonuca ulaşılacağı hep merak konusu olmuş ve halen sorulara cevap bulunamamıştır. Donör alanın hangi bölge olacağı, hangi kanül ile greft

toplanacağı, hangi bölgelere hangi kanül ile greft verileceği ve bunun gibi birçok soru hala cevaplanmayı beklemektedir (44).

Li ve arkadaşları, kadın hastaların farklı bölgelerinden (flank, üst ve alt abdomen, iç ve dış uyluk bölgeleri) yağ grefti elde etmişler ve bu yağ greftlerini farelere enjekte ederek 12 hafta sonunda histolojik olarak bulguları karşılaştırmışlar. Donör alan değişmesine rağmen ağırlık, hacim ve histolojik olarak (bütünlük, kist, inflamasyon, fibrozis ve neovaskülarizasyon) değişiklik saptamamışlar. Aynı zamanda SVF ölçümlerinde de farklılık gözlemlememişler. Bundan yola çıkarak yazar donör alan tercihini hastanın isteğine bırakmayı önermiştir (45). Benzer şekilde Small ve arkadaşları yaptıkları retrospektif çalışmada abdomen ve uyluk bölgesinden yağ elde edilen ve meme rekonstrüksiyonu için kullanılan hastalarda sağkalan hacim açısından fark belirtmemişlerdir (46).

Tsekouras ve arkadaşları 40 kadın donörün katıldığı çalışmada uyluk dışından elde edilen yağ greftlerinde SVF hücre sayımının iç uyluk, abdomen, bel ve diz içi bölgelerinden daha fazla olduğunu raporlamışlardır. Yine iç ve dış uyluk bölgesinin ADSC'lerinin de diğer bölgelerden daha fazla olduğunu raporlamışlardır (47).

Donör alan seçiminden sonra yağ grefti toplama tekniği gelmektedir. Bu teknikler; direk eksizyon, manuel aspirasyon ve aspirasyon yapan cihazlara bağlı yapılan yağ grefti eldesidir. Greftin direk eksizyonundan ziyade liposuction ile eldesi daha çok kullanılmaktadır ve bu teknikte negatif basınç ihtiyacı vardır. Yüksek vakumla basınç ve konvansiyonel liposuctionun adiposit yapısını bozduğu ve adipositlere daha çok travmatik olduğu bilinmektedir (48).

Liposuction yapılacak kanül çapı ile ilgili araştırmalar da bulunmaktadır. Erdim ve arkadaşları 6 mm deliği olan kanülle yaptıkları yağ greftinin yaşayabilirliğini 4 mm ve 2mm'lik kanülle yaptıkları ile kıyaslamışlar ve 6 mm kanülle yaptıkları yağ greftlerinin yaşayabilirliğini daha çok bulmuşlardır (49).

Benzer şekilde Özsoy ve arkadaşları 4mm, 3mm, 2mm deliği olan liposuction kanüllerini karşılaştırmışlar ve 4 mm kanülle yaptıkları yağ greftinde daha çok canlı adiposit olduğunu keşfetmişlerdir (50).

Yağ grefti donör alanına lokal anestezi veya liposuction solüsyonu enjeksiyonu da araştırılmıştır. Donör alana herhangi bir enjeksiyon yapmadan kuru teknikle yağ grefti elde etmenin kanamayı artırdığı ve aspire edilen hacmin %20-50'sinin kan olduğunu gösteren çalışma mevcuttur (51). Ardından tümesan teknik Klein tarafından tanımlanmış ve büyük hacimlerde enjeksiyon ve liposuction yapılırken aspirattaki kan hacmini %1'lere kadar düşürmüştür (52). Vazokonstriktör madde olsun ya da olmasın lokal anestezi eklenerek elde edilen yağ greftinin uzun dönem sağkalımında anlamlı bir fark bulunmamıştır (53). Birçok araştırma olmasına rağmen yağ grefti operasyonu için henüz bir fikir birliği oluşmamıştır ve bu konuda daha çok araştırmanın klinik ve deneysel olarak yapılması gerekmektedir.

2.3. TERAPÖTİK ULTRASON

İnsan kulağı 20-20.000 hertz (HZ) frekans arasındaki ses dalgalarını işitebilir. 20.000 HZ frekans üzerindeki ses dalgalarına ultrason adı verilmektedir (54).

Ultrasonun gelişiminde en önemli zaman diliminden birisi piezoelektrik kristallerinin 1880'de Jacques Curie tarafından keşfidir. Curie alternatif elektrik akımına maruz kalan kristallerin titreştiğini ve ses dalgaları yaydıklarını keşfetmiştir (55).

Ultrasonik dalgaların keşfi, denizaltındaki tehditlerin ses dalgaları ile tespiti fikrini ortaya çıkarmış ve 2. Dünya Savaşı'nda SONAR adı verilen su altındaki tehlikeleri tarayan sistem bulunmuştur. İlerleyen zamanda ultrasonik dalgalara maruz kalan küçük balıkların öldüğü görülmüş ve bu olay ultrasonik dalgaların biyofiziksel etkilerinin araştırılmasına sebep olmuştur (55). Aradan uzun zaman

ve çalışmalar geçtikten sonra 1930’larda klinikte ultrason kullanılmaya başlanmıştır ve kullanımı günümüze kadar artarak devam etmiştir (54,55).

Kristal ya da seramik gibi bazı katı maddelerin yani piezoelektrik kristallerinin elektriksel akımla uyarılması sonucu uygulamanın karşı tarafında mekanik bir stres oluşması olayına piezoelektirik olay denmektedir. Ultrasonun transduserinin içinde bulunan piezoelektrik kristallerde meydana gelen tekrarlı osilasyonlar hava, su ve insan dokularından yol katedebilen ultrasonik ses dalgalarının üretilmesine sebep olur (54). Ultrasondan yayılan ses dalgaları dokunun direncine bağlı olarak ısı enerjisine çevrilir.

Frekans her saniyede tamamlanan dalga dizilerinin sayısıdır ve birimi mHz’ dir. Yoğunluk, dokudaki etkisidir ve birimi W/cm²’dir. Terapötik amaçlı kullanılan ultrasonda frekans 0.8- 3 megahertz (mHz) arasında değişmektedir. Dalga şekli sürekli ya da aralıklı olarak değişir.

Ultrason sıkıştırılabilen ortamda dalgalar halinde yayılma gösterir, dalgaların yayılma hızı yaklaşık 100 m/sn’dir. Dokuların akustik dalgalara geçirgenliğe akustik empedans denmektedir. Akustik empedans ve yoğunluk doğru orantılıdır. Akustik empedansları aynı olmayan dokuların arasında bulunan ortak yüzeylerde enerjinin yansıdığı görülür. Yoğunluk absorpsiyon katsayısı yüksek olan dokularda, ultrasonun özgün bir ısı artışına yol açacağı bilinmektedir.

Ultrasonun dokuya penetrasyonu, frekansa ve dokunun türüne göre değişmektedir. Özellikle frekans arttıkça penetrasyon azalır. Us dalgası kasta 1- 2 cm penetre olabilirken kemikte 1 mm’den az, yağda ise 7 – 8 cm penetre olabilmektedir.

2.3.1. ULTRASONUN ETKİLERİ

TERUS yüksek frekanslı akustik enerji yoluyla dokuda termal olan ve termal olmayan etki ile kullanılır. Ultrason dalgalarının dokuda yol aldıkça enerjilerinin bir kısmını kaybetmesine atenüasyon denir. Atenüasyon; absorpsiyon, sinyal ayrılması ve yön değiştirme mekanizmasıyla olur. Ultrason dalgaları absorbe edildikçe ısıya dönüşür. Frekans arttıkça atenüasyon da artar, böylece 1 MHz bir sinyal, düşük atenüasyon nedeniyle 3 MHz sinyale göre daha derin dokuya nüfuz eder (11).

Ultrason dokunun ısısını, kan akımını, doku metabolizmasını, kollajen dokunun esneyebilme yeteneğini ve membran permeabilitesini artırmaktadır. Bu etkilerinin termal ve termal olmayan şekillerde dokularda gösterir.

2.3.1.1. Termal Etkiler

Canlı dokularda TERUS etkileri en çok termal etkiler olarak görülmektedir. Dokunun ısınması ile ortaya çıkan etkiler iki yolla oluşmaktadır. Birinci yol; ultrason enerjisinin homojen dokuda emilerek ısıya dönüşmesi şeklindedir. Protein oranına ve dokunun akustik empedansına göre emilim değişir. İkinci yol; mekanik etkileşim ile ısının ortaya çıkmasıdır. Özellikle birbirine yakın dokuların temas yüzeyinde TERUS enerji etkisine bağlı oluşan sıkışma ve gevşeme hareketleri ile beraber ısınma ve mikro masaj etkisi oluşturmaktadır. Dokuda yol alan TERUS dalgalarının etkisiyle moleküler yoğunlukta titreşim tarzında artıp azalmalar meydana gelir. Doz ve şiddetin artması ile periyodun bir yarısında sıkışan moleküller diğer yarısında aniden gevşeyip, patlamaya benzer etki yaratır ve bu etki TERUS'un kavitasyon etkisidir (11). Bu kavitasyon etkisi ile de yağ dokunun hacmen azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (56).

2.3.1.2. Termal Olmayan Etkiler

Ultrasonun vücut sıvılarında yol açtığı hareket hücre membran permeabilitesini artırır. Bu olay, hem arter hem venlerde vazodilatasyona sebep

olur ve bu bölgeye kan akımı artar. TERUS uygulanan bölgede protein sentezi ve rejenerasyon sürelerinde hızlanmalar oluşur.

TERUS hücre zarının geçirgenliğini artırarak kalsiyumun hücre içine geçişine sebep olur (57–59). Kalsiyum iyonları gen ekspresyonunun regülasyonunu ve hücre metabolizmasını düzenleyen hücre içi haberci olarak hareket eder (60). TERUS kalsiyumun mast hücrelerine, nötrofillere ve makrofajlara girişini aktive ederek inflamasyonu azaltır, fibroblast ve endotel hücre aktivitesini artırır, proliferatif fazı stimüle eder. TERUS endotel hücrelerine kalsiyum girişini sağlayarak anjiogenezi artırır (61,62). Bu şekilde nitrit oksit (NO) sentaz daha fazla NO oluşumunu katalize eder. Bu durum da sitokin ve VEGF gibi anjiogenik faktörlerin daha fazla üretimi ile sonuçlanır (60). Yapılan başka çalışmalarda da TERUS uygulamasının uygulanan alanda belirgin kan akımında artışa neden olduğu gösterilmiştir (63).

TERUS değişken yoğunlukta kullanıldığı zaman; yağlı dokunun azaltılması, kollajen sentezini uyararak cildi sıkılaştırmak için kullanılabilceği tarif edilmiştir. Yağ doku azaltıcı etkisini hem termal hem de termal olmayan etkileri ile gösterdiği tarif edilmiştir. Yağ dokusu üzerindeki termal etkisi koagülasyon nekrozuna sebep olmaktadır (64–66).

2.3.2. TERAPÖTİK ULTRASON VE HAYVAN DENEYLERİ

Terapötik ultrason, hayvanlarda birçok çalışmada kullanılmıştır. Tendon iyileşmesinde, yara iyileşmesinde, deri fleplerinin yaşayabilirliğinin artırılmasında denenmiştir (10,57,62). Uygulamanın birçok değişeni mevcuttur. TERUS'un gücünün ve uygulama zamanının değiştirilerek etkinliğinin ölçülmesi, bazı çalışmalarda yer almıştır (67,68). Başka bir çalışmada da TERUS'un doz ve zaman aralığı konusunda net bir bilgi mevcut olmadığı belirtilmektedir (69).

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. DENEY PROTOKOLÜ VE DENEY GRUPLARI

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu onayı (AKUHADYEK-202-20 Referans no'lu araştırma-49533702/250 onay numarası) alınarak yapılmıştır. Etik kurul onayının ardından Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) Koordinasyon Müdürlüğü'nden destek alınmıştır. (Proje No: **20.TUS.008**) Projenin deney aşaması Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Ana Bilim Dalı ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamız tek kör randomize bir çalışma olarak tasarlanmıştır. Çalışmada 42 adet Wistar Albino cinsi 2-3 aylık erkek rat (ortalama ağırlık 256.9 ± 54.4 gr) kullanılmıştır. Hayvanlar rastgele her grupta 6 hayvan olacak şekilde 7 gruba ayrılmıştır. Tüm gruplarda yağ grefti olarak kullanılacak donör alan standardizasyon amacıyla sağ inguinal bölge ve alıcı alan ise interskapular bölgenin cilt altı dokusu olarak belirlenmiştir.



Şekil 6. Anestezi Altında Supin Pozisyonunda Yatan Ratta Greft Alınacak Alanın Hazırlanması



Şekil 7. Anestezi Altında Prone Pozisyonunda Alıcı Alanın Hazırlanması

Deney hayvanlarının hepsi standart fiziki şartların mevcut bulunduğu 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık, 20-24 derece sıcaklığındaki 6'lı kafeslere yerleştirildi. Denekler standart laboratur yemi ile ad-libitum şeklinde beslendi.

Hayvanlara yapılacak her işlem öncesinde intramuskuler 50mg/kg ketamin ve 5 mg/kg xylazine enjeksiyonu ile uyutuldu. Anestezinin derinliği parmak kısırtma testi ile değerlendirildi.



Şekil 8. Anestezi Altında TERUS Uygulaması Yapılacak Olan Rat

Tüm hayvanlar el ve ayakları tespit edildikten sonra işleme tabi tutuldu. 8 hafta takip süresi sonrasında yağ grefti materyalleri deneklerden toplandı. Anestezi altında dekapitasyon işlemi ile hayvanlar sakrifiye edildi.

Deney Grupları

1. Kontrol Grubu
2. Preop TERUS
3. Preop TERUS Sham
4. Preop + Postop TERUS
5. Preop + Postop TERUS Sham
6. Postop TERUS
7. Postop TERUS Sham

Deneklere yapılacak TERUS zamanlamasına göre denekler 7 gruba ayrıldı.

1. Grup: Kontrol grubu olarak belirlendi ve sadece yağ grefti operasyonu uygulandı.

2. Grup: Yağ grefti operasyonundan 1 hafta önce başlamak üzere günlük TERUS makinesi açık iken TERUS uygulamasına tabi tutuldu. 1 haftalık TERUS uygulamasından sonra yağ grefti operasyonu gerçekleştirildi.

3. Grup: Yağ grefti operasyonundan 1 hafta önce başlamak üzere günlük ultrason makinesi kapalı iken uygulamaya tabi tutuldu. 1 haftalık TERUS probu ile masaj uygulamasından sonra yağ grefti operasyonu gerçekleştirildi. Bu grupta ultrason probunun masaj etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

4. Grup: Yağ grefti operasyonundan 1 hafta önce başlamak üzere günlük TERUS makinesi açık iken ultrason uygulamasına tabi tutuldu. 1 haftalık uygulama sonrası yağ grefti operasyonu gerçekleştirildi. Greft operasyonunun ardından 1 hafta günlük TERUS makinesi açık iken ultrason uygulaması yapıldı.

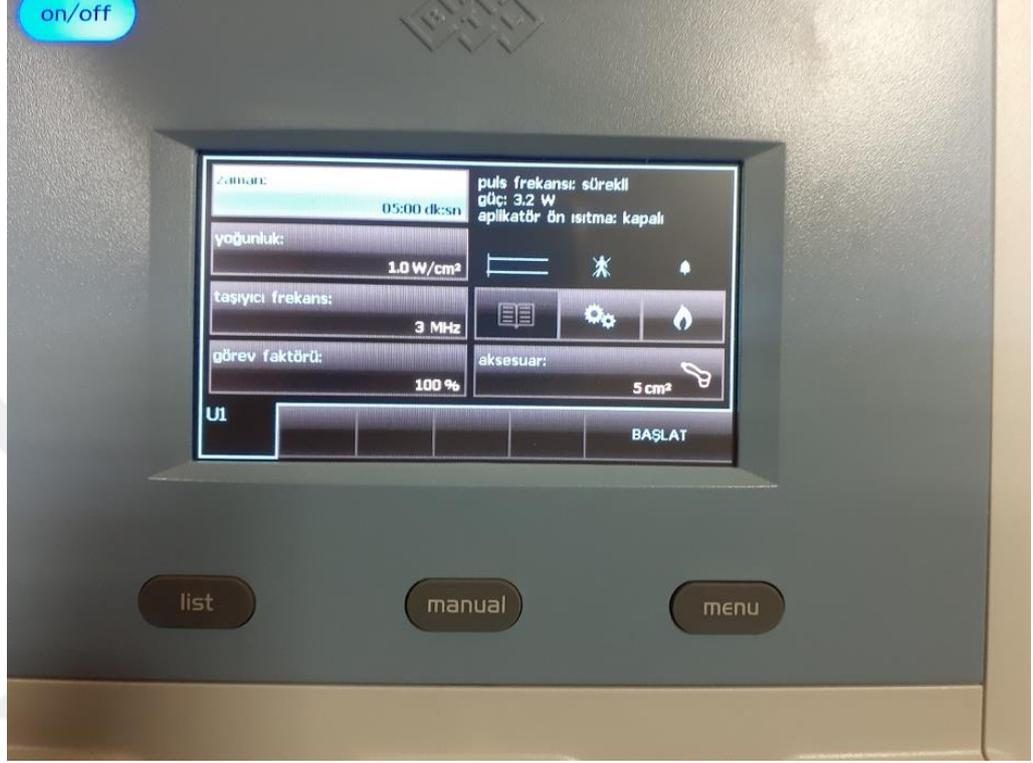
5. grup: Yağ grefti operasyonundan 1 hafta önce başlamak üzere günlük TERUS makinesi kapalı iken masaj uygulamasına tabi tutuldu. 1 haftalık uygulama sonrası yağ grefti operasyonu gerçekleştirildi. Greft operasyonunun ardından 1 hafta günlük TERUS makinesi kapalı iken masaj uygulaması yapıldı. Bu grupta ultrason probunun masaj etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

6. grup: Yağ grefti operasyonundan sonra başlamak üzere 1 hafta günlük TERUS makinesi açık iken ultrason uygulamasına tabi tutuldu.

7. grup: Yağ grefti operasyonundan sonra başlamak üzere 1 hafta günlük TERUS makinesi kapalı iken masaj uygulamasına tabi tutuldu. Bu grupta da ultrason probunun masaj etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Deney hayvanları kafeslerine ayrılıp gündelik yaşantılarına alıştıktan sonra preop TERUS ve masaj uygulanacak hayvanlara uygulamaları günlük yapıldı. Ardından tüm hayvanların yağ grefti operasyonu yapıldı. Operasyon sonrası

ultrason ve masaj uygulanacak deneklere TERUS uygulamaları yapıldı ve sonrasında hayvanlar greft matürasyonu için bekleme alındı.



Şekil 9. TERUS Cihazının Ayarlanmış Hali (BTL-4000 Smart & Premium, BTL Türkiye, Ankara, Turkey)

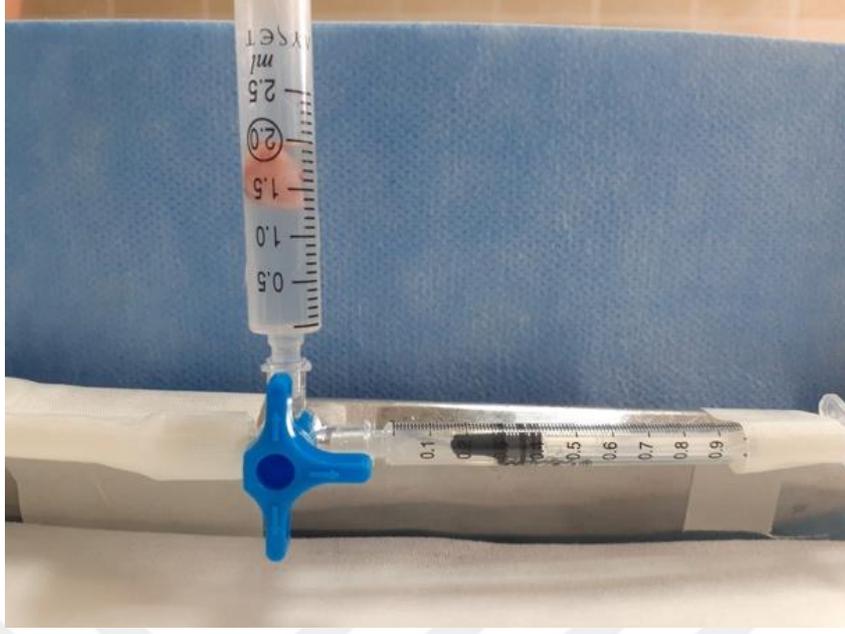
3.2. CERRAHİ TEKNİK

Anestezi uygulamasını takiben hayvanların inguinal ve sırt bölgesi traş edildi. Hayvanlar önce supin pozisyonda yatırılıp ekstremiteleri sabitlendikten sonra; sağ inguinal bölgede çalışıldı. Inguinal bölge povidon iyotla steril edildi. Sterilizasyon sonrası inguinal ligamana paralel insizyon açıldı ve künt diseksiyonlarla femoral pedikül görülerek yağ grefti etraftaki dokulardan diseke edildi. Grefti besleyen epigastrik arter ve ven görüldü ve koterize edilerek yağ dokusu elde edildi. Greftin ağırlığı ölçüldü, ardından hacmi Arşimet'in taşıma

prensibi ile ölçüldü. Greft ıslak gazlı bezde saklandı. İnguinal bölgedeki kesi emilebilir suturela suture edildi.



Şekil 10. Alınan Yağ Greftlerinin Hassas Terazi ile Tartımı (MettlerToledo PL-E PortableBalances)



Şekil 11. Arşimet'in Taşırma Prensibi ile Yağ Grefti Hacmi Ölçümü



Şekil 12. Sağ İnguinal Bölgeden Greft Toplanması, Yağ Dokusuna Giden Pedikülün Koterize Edilme İşlemi

Hayvanlar alıcı bölgenin hazırlanması için prone pozisyona alındı ve ekstremiteleri sabitlendi. Genel temizlik ve örtünme işlemi sonrasında interskapular bölgede yatay 1.5 cm'lik cilt insizyonu yapıldı ve steril hazırlanan 1.5x1.5 cm lik silikon tabakanın yerleştirilebileceği kadar cilt altı doku diseke edildi. Ardından yağ grefti, açılan ciltaltı poşa yerleştirilerek cilt kesisi suture edildi. Deney hayvanları derlenmeleri için kafeslerine alındı.



Şekil 13. Standardizasyon İçin 1.5x1.5 cm Silikon Tabakanın Cilt Altına Yerleştirilmesi



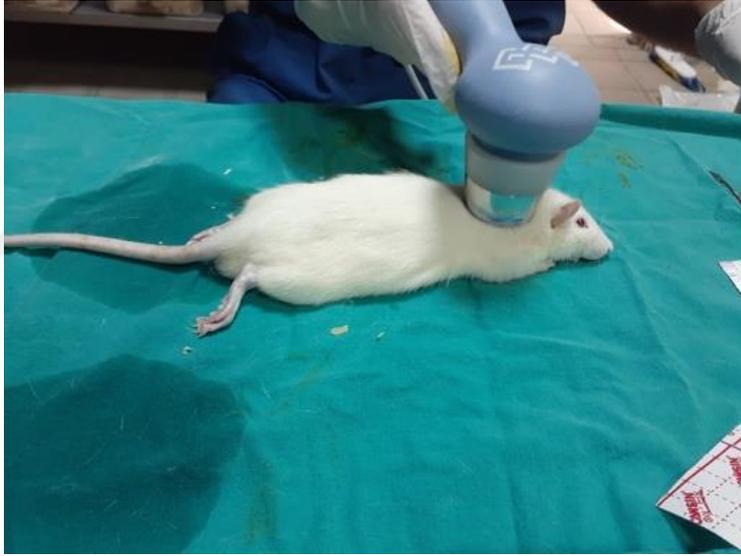
Şekil 14. Greft Uygulaması Ardından Cilt Sütürizasyonunun Görüntüsü

3.3. TERUS UYGULAMASI

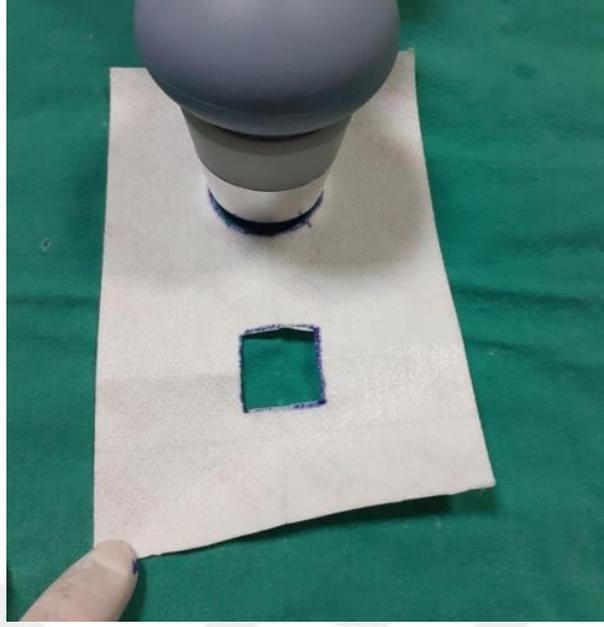
Hayvanlara TERUS uygulamadan önce ultrason probunun büyüklüğü kalemle flaster üzerine çizildi ve bu çizimden flaster kesilerek bir kalıp oluşturuldu. TERUS uygulaması BTL-4000 Smart & Premium, BTL Türkiye, Ankara, Turkey cihazı ile gerçekleştirildi. Hayvanların sırt bölgeleri bu kalıba uygun traşlanarak standardizasyon sağlanmaya çalışıldı. Ardından ultrason probunun uygulandığı yer kalem ile işaretlendi. TERUS 5 dk 1 w/cm² yoğunlukta taşıyıcı frekansı 3MHz ve görev faktörü %100 olacak şekilde dairesel hareketlerle probunun kendi ağırlığı ile hayvanların sırt bölgesine uygulandı. Sham gruplarına ise aynı prob aynı dairesel hareketlerle makine kapalı iken uygulanarak masaj etkisinin karşılaştırılması planlandı.



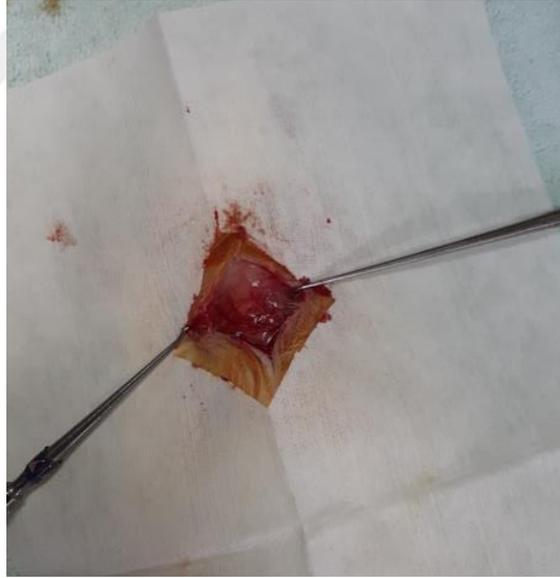
Şekil 15. TERUS Açık İken Yapılan Uygulama.



Şekil 16. TERUS Kapalı İken Yapılan Uygulama



Şekil 17. Standardizasyon Amaçlı TERUS Cihazının Başlığını Şeklini Kağıt Üzerine Aktarma İşlemi, Öndeki Kare Şeklinde Alansa Yağ Grefti Uygulanacak 1.5x1.5 cm Kadar Alanı Temsil Etmekte



Şekil 18. Çalışma Sonunda Eksize Edilecek Yağ Grefti İçin Ratların Sırtında Açılan İlk İnsizyona Dik Olan İnsizyon



Şekil 19. Eksize Edilecek Yağ Grefti Görülmekte

3.4. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

3.4.1. HİSTOLOJİK TAKİP-BOYAMA

Alınan yağ dokuları %10'luk nötral formol fiksativine konularak 4 gün süreyle fikse edildi. Daha sonra doku etiketlemesi yapılarak 1 gece akarsu altında bırakıldı. Sudan alınan dokular sırası ile %70, %80, %90'luk ve saf alkollerde birer saat bekletildikten sonra ksilene+alkol karışımında 45 dakika ve iki kez ksilende 45'er dakika bekletildi. Ardından sıvı parafin içerisinde 1 saat bekletildikten sonra parafin bloklara gömüldü.

Bu bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Rutin boyama için normal lam üstüne, immunohistokimyasal incelemeler için polilizinli lam üzerine kesitler alındı. Normal lamlara alınan kesitler deparafinize edildikten sonra genel değerlendirme için Hematoksilen-Eozin boyama prosedürü uygulandı. Polilizinli lamlar üzerine alınan kesitler deparafinize edildikten sonra Perilipin (bs-3789R

1/50), Pecam-1 (H-3) (sc-376764, 1/100) antikorları ile immunohistokimyasal olarak boyandı. Boyanan kesitler ışık mikroskobu altında incelendi.

Tunel yöntemi ile apoptozis değerlendirmesi için parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesilen dokular polilizinli lamlar üzerine alındı. Daha sonra alınan kesitler deparafinize edilerek, Apop Tag Plus Peroxidase İn Situ Apoptosis Kit (S7101) protokolüne göre apoptozis boyaması yapıldı. Boyanan kesitler ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

3.4.1.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü

1- Deparafinizasyon ;

- 65 °C lik etüvde bir gece bekletme.
- Ksilen 2 saat

2- Rehidratasyon;

- Azalan alkol serilerinde bekletme (her birinde 1 dk)
- Distile suda 5 dakika

3- Boyama;

- Hematoksilen 3 dakika (Bekletme sonrasında akarsuda bolca yıkandı.)
- Eozin 1,5 dakika

4-Dehidratasyon;

- Artan alkol serisinde bekletilmeksizin yıkama işlemi yapıldı.
- Ksilen solüsyonunda bekletildi.

5- Entellan ile kapatma.

3.4.1.2. İmmunohistokimyasal Boyama Protokolü

1-Deparafinizasyon;

- 65°C lik etüvde bekletme (1 gece)
- Ksilen (2 saat)

2-Rehidratasyon;

- Azalan alkol serilerinin (%96, %90, %80, %70) her birinde 1 dk
- Distile su (5 dk)

3-Antijen Retrieval;

- Sitrat buffer (pH 6.0) ile mikrodalgada 20 dakika kaynatma.
- Sitrat buffer içinde dışarıda 20 dakika soğutma.
- Tris Buffer Salin (TBS) ile yıkama (2 kez).

4- Peroksit Blok

- %3 Metanol + Hidrojen peroksitte bekletme (12 dakika)
- TBS ile yıkama (2 kez).
- Hidrofobik kalem (PAP -PEN) ile doku çevrelerinin çizilmesi.

5- Protein Blok

- Protein Large Volume Blok (oda sıcaklığında 10 dk)
- TBS ile yıkanma (2 kez).

6-Primer Antikor uygulaması;

- Primer antikorların verilen ölçülerde dilüe edilerek damlatılması.
- +4°C 1 gece inkübasyon.
- Oda ısısında 10 dakika bekletme.
- TBS ile yıkama (3 kez).

7-Sekonder Antikor uygulaması

- “Primary Antibody Enhancer” solüsyonunda bekletme (10 dakika).
- TBS ile yıkama (2 kez).
- “ Horseradish Peroxidase (HRP) conjugate” ile oda sıcaklığında bekletme (15dakika).
- TBS ile yıkama (4 kez).

8-Renklendirme;

- 3- Amino-9-Ethylcabazole Chromogen (AEC) solüsyonunda bekletme (10-12 dakika).
- TBS ile yıkama (2 kez).

9-Zıt Boyama

- Mayers Hematoksilen (1dk).
- Distile su ile yıkama (2 kez).

10-Kapatma

- Su bazlı kapatma solüsyonu ile kapatma.

3.4.1.3. TUNEL Boyama Protokolü

Yağ greftlerindeki apoptotik hücreleri tespit etmek amacıyla ticari TUNEL kiti alınarak boyama yapıldı.

1-Deparafinizasyon;

- 65°C lik etüvde bekletme (1 gece)
- Ksilen (2 saat)
- 5 dk Phosphate- Buffered Saline (PBS)’te yıkandı

2- Taze hazırlanmış Proteinase K (20 µg / mL) ile 15 dakika muamele

3- 2x 2 dk dH2O ile yıkama.

4- PBS içinde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile oda sıcaklığında 5 dakika süreyle endojen preoksidaz blokajı uygulama.

5- 2 x 5 dk. PBS ile yıkama.

6- Dengeleme tamponu uygulama.

- Kesitin etrafındaki fazla sıvı hafifçe çekildi
- Örneğin üzerine 75 µL Equilibration Buffer uygulandı.
- Oda sıcaklığında en az 10 saniye inkübe edildi.

7- 55 µL Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) enzim uygulama.

8- 37 ° C' de nemli bir etüv içerisinde 1 saat inkübasyon.

9- Durdurma/ Yıkama Tamponu Uygulama.

- 15 saniye çalkalndı.
- 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

10- 3x 1 dk PBS ile yıkama.

11- Anti-Dıgoxıgnenin Conjugate (ADC) uygulaması.

- Fazla sıvı hafifçe çekildi ve etrafı dikkatlice kurutuldu.
- Herbir kesite 65 µL ADC uygulandı
- Oda sıcaklığında 30 dakika nemli bir odada inkübe edildi.

12. 4 x 2 dk PBS ile yıkama.

13- 3,3'-diaminobenzidine (DAB) kromojen uygulama (75 µL / 5 cm²).

- Oda sıcaklığında 3 ila 6 dakika boyunca beklendi.
- Optimum boyama süresini belirlemek için mikroskop altındaki slayta bakarak renk gelişimi izlendi.

14- 3x 1 dk dH2O ile yıkama.

15- Oda sıcaklığında 10 dakika boyunca metil yeşili ile zıt boyama uygulama.

16- 3x 1 Saf alkolde 10 kez batırma çıkarma uygulaması.

17- Xyleneden geçirilerek kapatma solüsyonu ile kapatma.

3.4.2. PREPARATLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE GÖRÜNTÜ ANALİZİ

Görüntü analizi için analiz programı Nikon NIS 4.2 Image Analysis Software programı kullanılmıştır. HE ile boyanan preparatlar 10X'lik büyütme (Nikon E-600 Işık Mikroskobu) ile değerlendirilmiştir.

İmmünohistokimyasal olarak boyanan dokuların değerlendirilmesi H skoru kullanılarak yapılmıştır. 20x'lik büyütmede her preparatta yağ hücreleri sayılmıştır. Yağ hücrelerine, boyanma şiddetlerine göre +1, +2, +3 ve boyanmayan hücrelere 0 değerleri verilerek her preparatta 500'er hücre sayılmıştır.

H skoru: (I+1) x Boyanan Hücre Sayısı (70)

HE ile boyanan kesitlerde histopatolojik skorlama yapılmıştır. 10x büyütme altında ışık mikroskobunda kist oluşumu, inflamasyon, fibrozis parametreleri değerlendirilmiştir. Burada dokunun etkilenme şiddetine göre; 0 = yok, 1 = minimal varlık, 2 = minimal –orta düzeyde varlık, 3 = orta düzeyde varlık, 4 = orta-yüksek düzeyde varlık şeklinde skorlama yapılmış, elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Ölçümler ve değerlendirmeler sonucu elde edilen veriler IBM SPSS paket programı 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statisticsfor Windows, Version 21.0. New York, USA) kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ve Q-Q grafikleri yardımıyla incelendi. Varyans homojenliği incelenirken Levene testi kullanıldı. Tüm parametrik varsayımları sağlayan değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normal dağılıma uygun olmayan ancak varyans homojenliğini sağlayan durumlarda Welch ANOVA analizi kullanıldı. Gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda Tukey HSD testi kullanıldı. Nitel değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında çapraz tablolardan faydalanıldı ve Pearson Ki-kare testi kullanıldı. Bütün istatistik değerlendirmelerde $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Ratların ve yağ greftlerinin, çalışma başında, çalışma sonunda ağırlık, hacim ölçümleri yapıldı ve aşağıdaki formüllere göre değerlendirilerek istatistiksel analiz yapıldı. (71)

$$\text{Yağ Grefti Sağkalım Yüzdesi} = \frac{\text{8. hafta eksize edilen yağ grefti hacmi}}{\text{0. gün yağ grefti hacmi}} \times 100$$

$$\frac{\text{hacim}}{\text{ağırlık}} \text{değişim yüzdesi} = \frac{\left(\text{son} \frac{\text{hacim}}{\text{ağırlık}} \right) - \left(\text{ilk} \frac{\text{hacim}}{\text{ağırlık}} \right)}{\text{ilk} \frac{\text{hacim}}{\text{ağırlık}}} \times 100$$

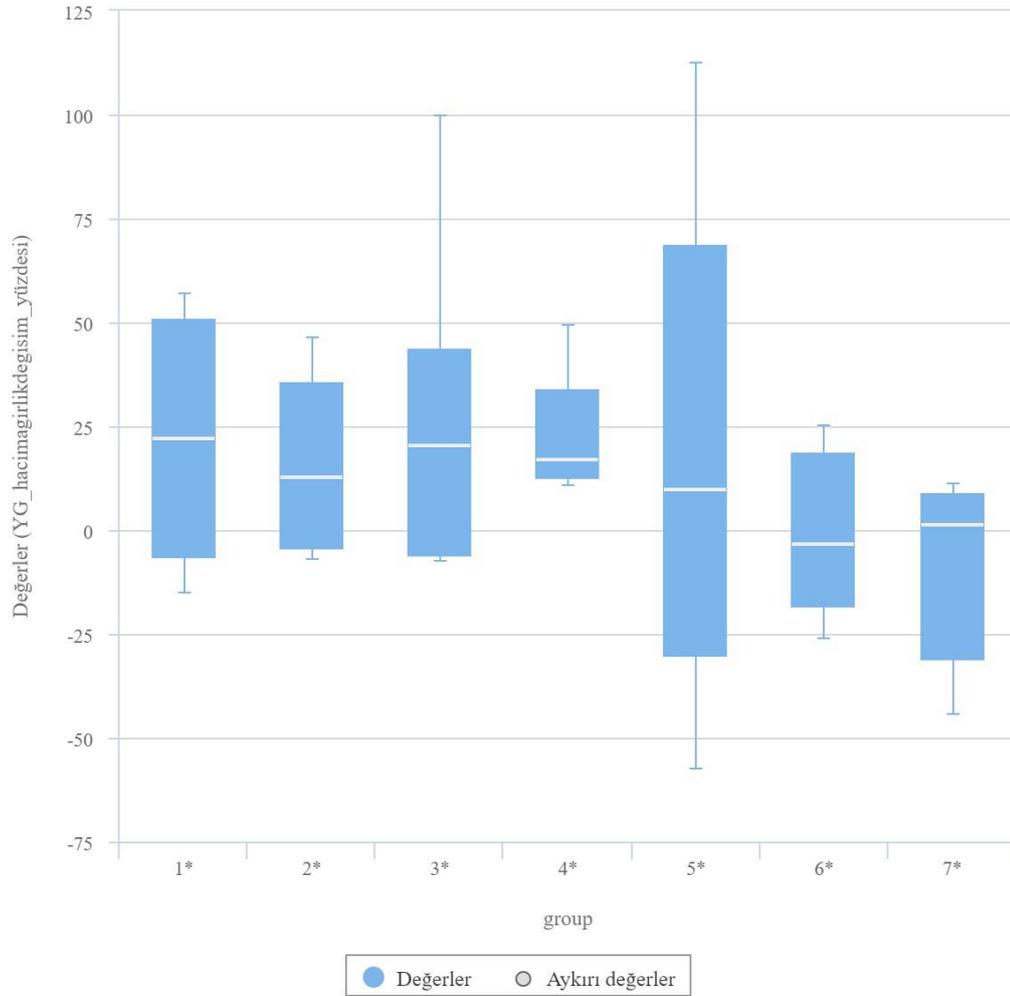
$$\text{Ratların ağırlık değişim yüzdesi} = \frac{\text{son ağırlık} - \text{ilk ağırlık}}{\text{ilk ağırlık}} \times 100$$

4. BULGULAR

4.1. MAKROSKOPİK BULGULAR

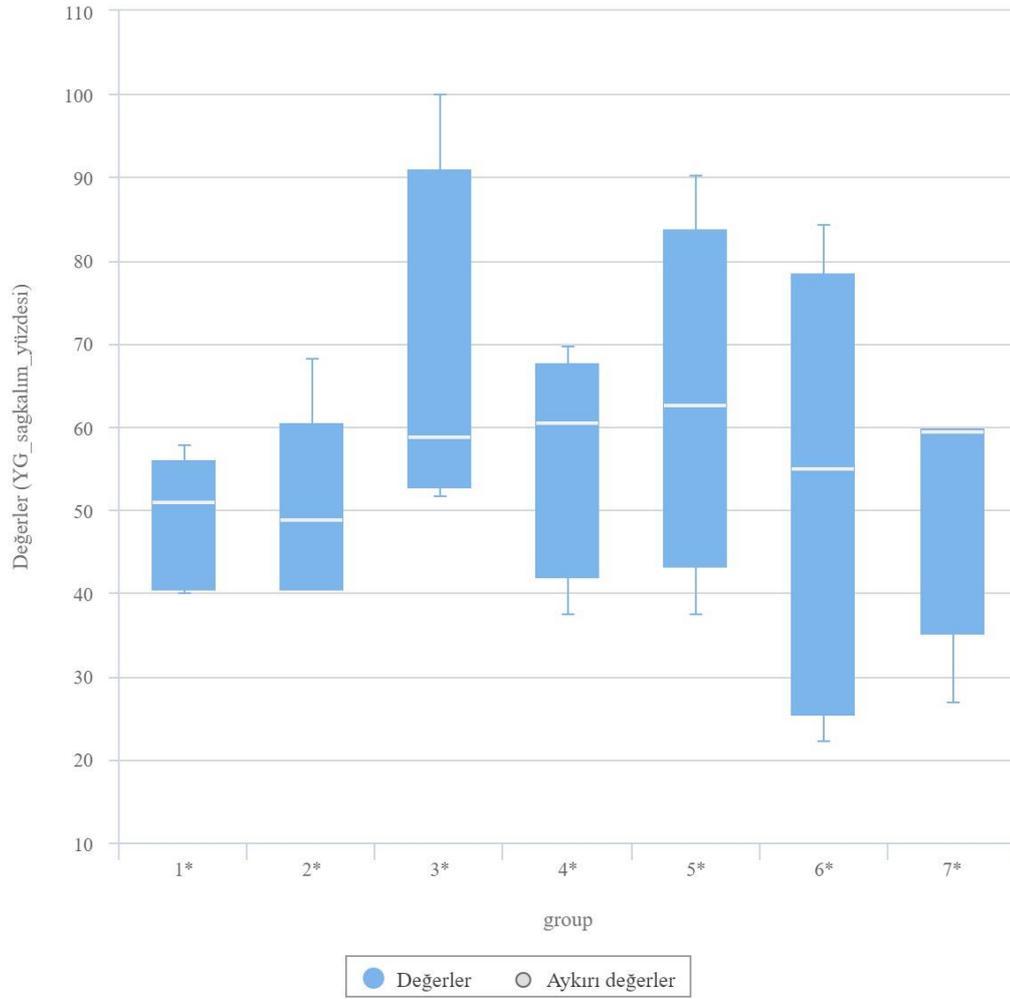
Deney hayvanlarının cerrahi uygulamaları bittikten sonra 8 hafta süresince yağ grefti olgunlaşması için beklendi. Anestezi komplikasyonu nedeniyle 2 adet deney hayvanında kayıp yaşandı ve kaybedilen denekler çalışma dışında bırakıldı. Deney hayvanlarında apse, enfeksiyon, hematoma, seroma gibi komplikasyon gözlenmedi.

Tablo 1. Yağ Grefti Hacim Ağırlık Değişim Yüzdesi



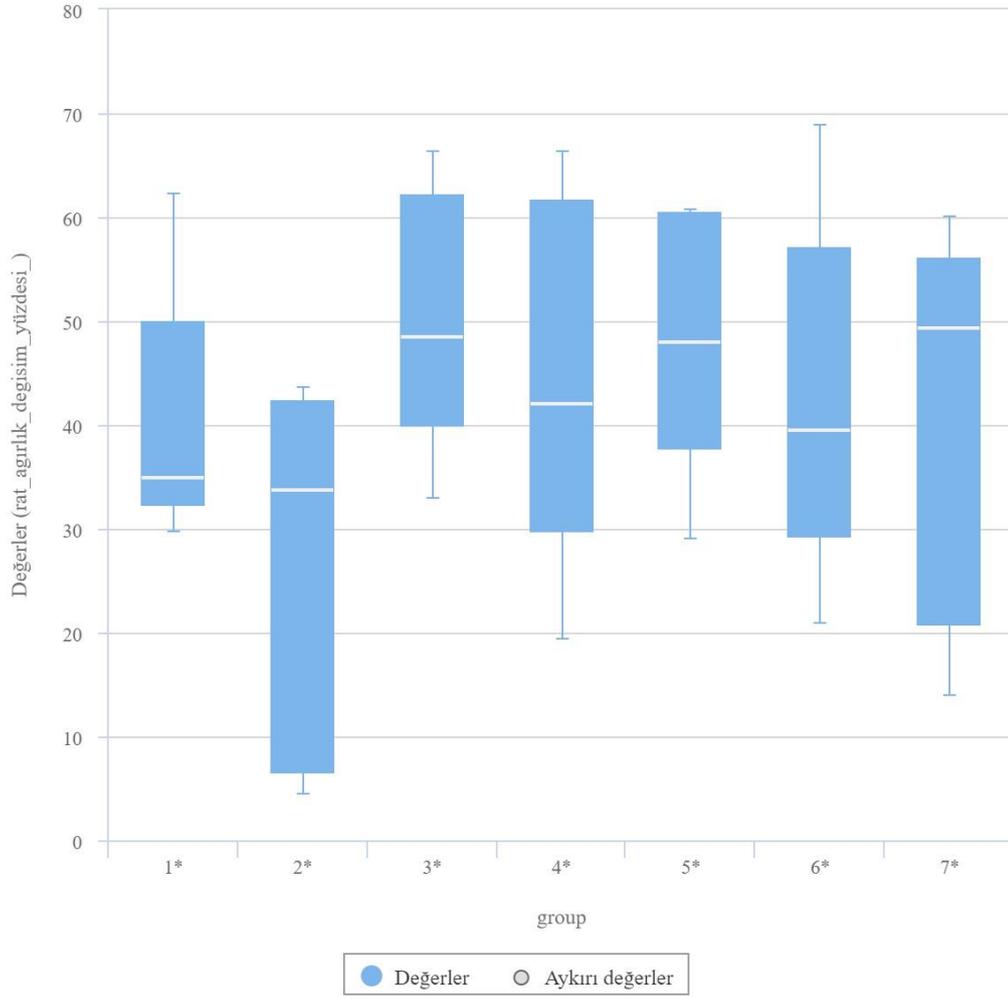
Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında yağ grefti hacim ağırlık değişim yüzdesi ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.614$) (Tablo-1).

Tablo 2. Yağ Grefti Sağkalım Yüzdesi



Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında yağ grefti sağ kalım yüzdesi ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.451$) (Tablo-2).

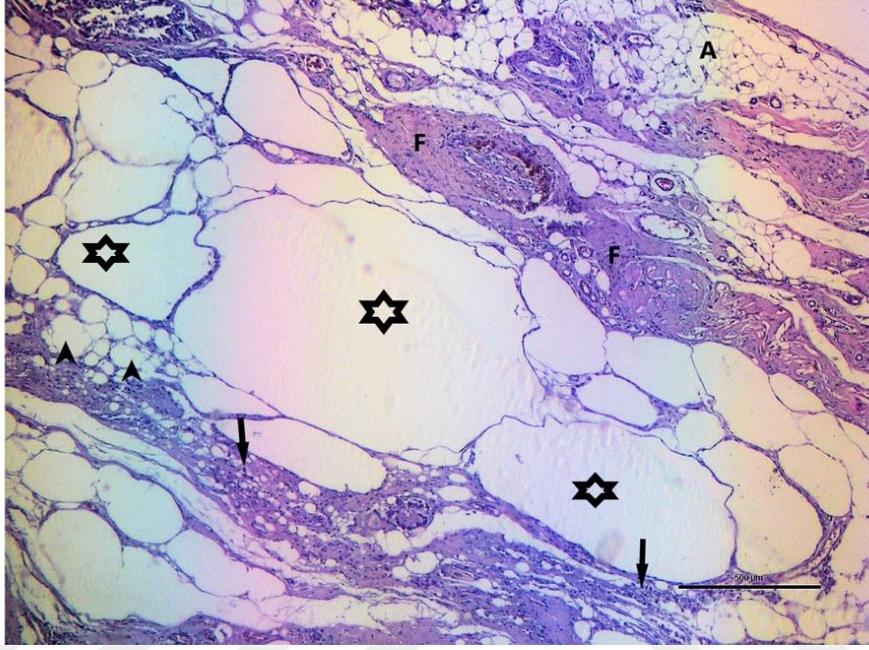
Tablo 3. Rat Ağırlık Değişim Yüzdesi



Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında ratların ağırlık değişim yüzdelerinin ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p=0.311$) (Tablo-3).

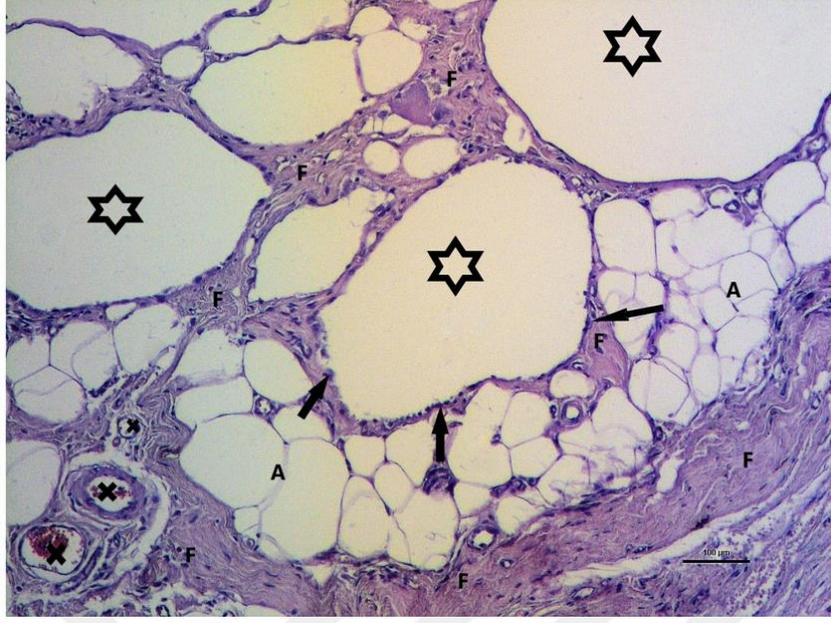
4.2. HİSTOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında kist ve fibrozis değişkenlerinin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p=0.361$).



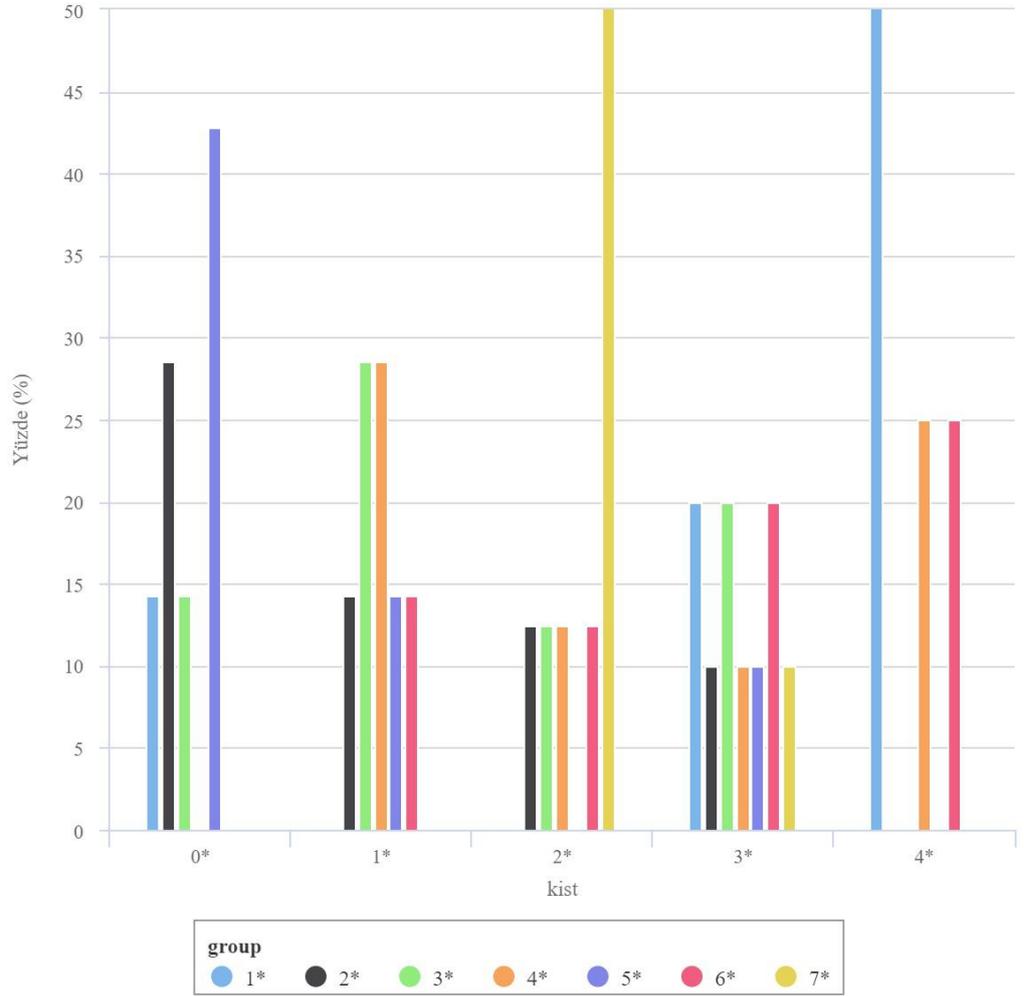
Şekil 20. HE x4 Büyütme. Yıldız: Yağ Kistleri, Ok Başları: Yağ Vakuolleri, Oklar: Mononükleer Hücreler F: Fibrozis Alanları A: Çekirdekli Canlı Adipositler

Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında kist ve inflamasyon değişkenlerinin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p=0.347$).



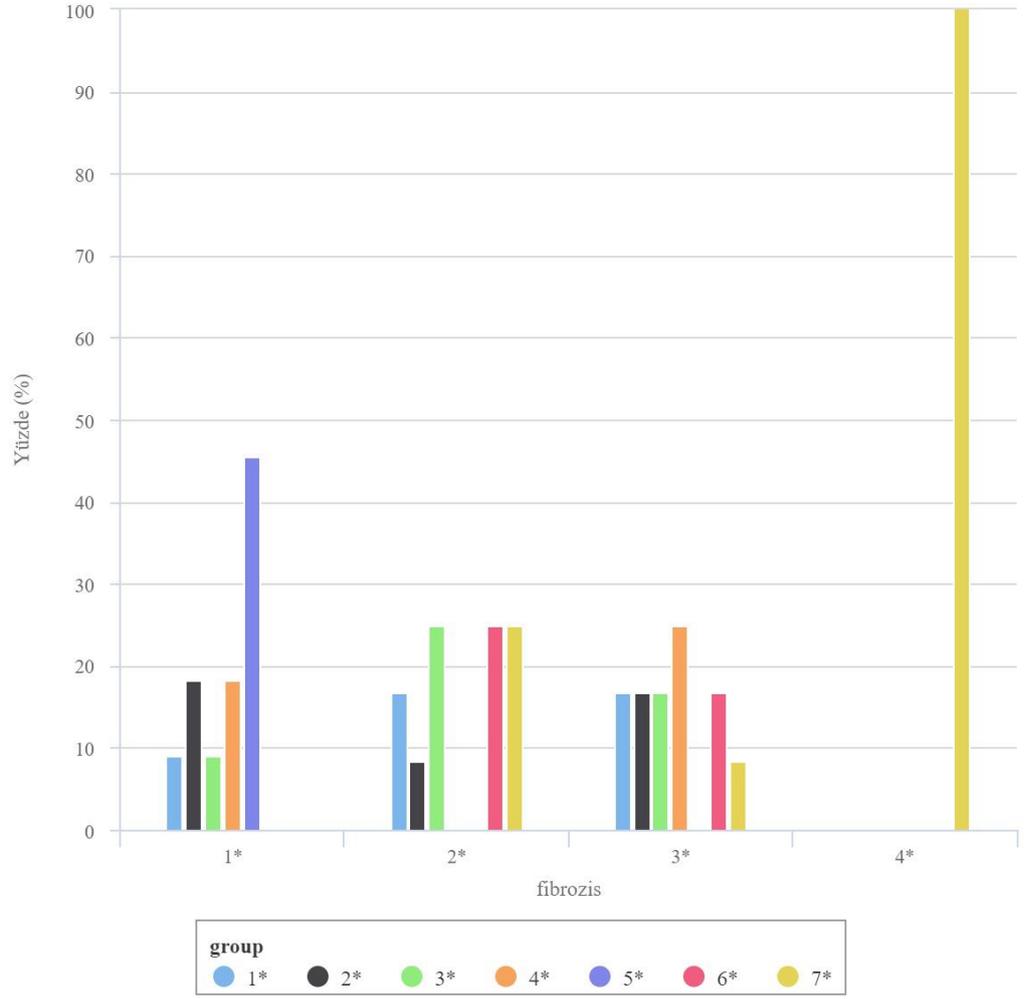
Şekil 21: HE x10 Büyütme Yıldız: Yağ Kistleri Oklar: LipidVakuollerini Kuşatan Mononükleer Köpüksü Hücreler (Histiyoitler) Çarpı İşaretleri: Kan Damarları F: Fibrozis Alanları A: Adipoitler

Tablo 4.Histolojik Değerlendirmede Kist Yüzdesi



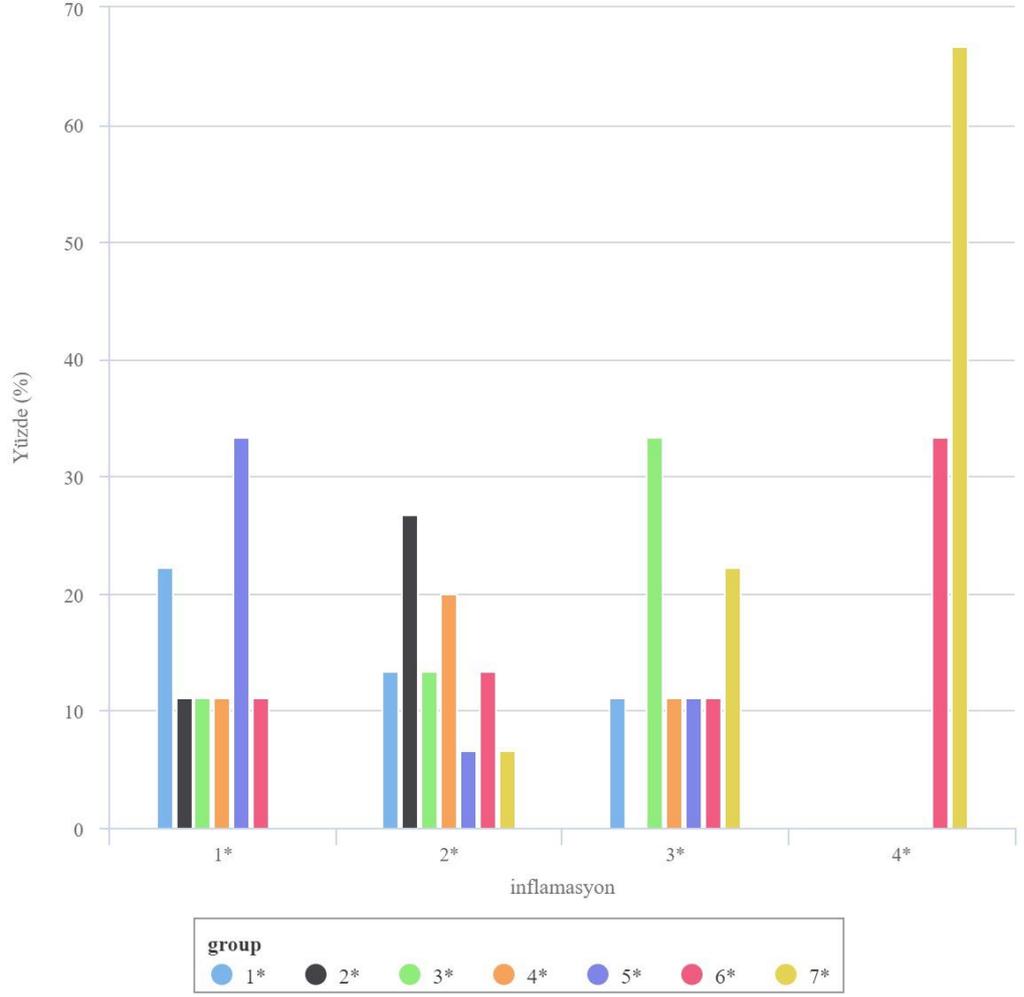
Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında kist oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.199$) (Tablo-4).

Tablo 5. Histolojik Değerlendirmede Fibrozis Yüzdesi



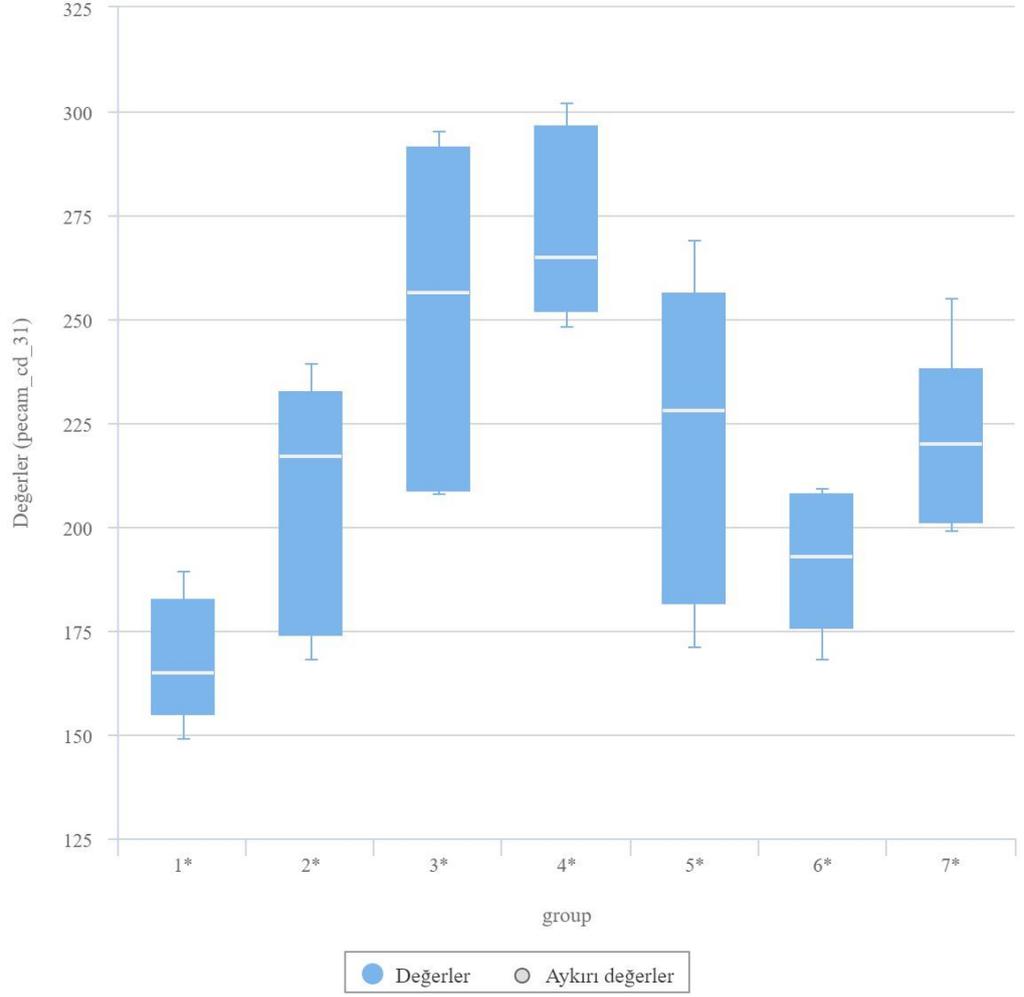
Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında fibrozis oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.070$) (Tablo-5).

Tablo 6. Histolojik Değerlendirmede İnflamasyon Yüzdesi



Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında inflamasyon oluşumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.318$) (Tablo-6).

Tablo 7. İmmünohistokimyasal Değerlendirmede Pecam Yüzdesi



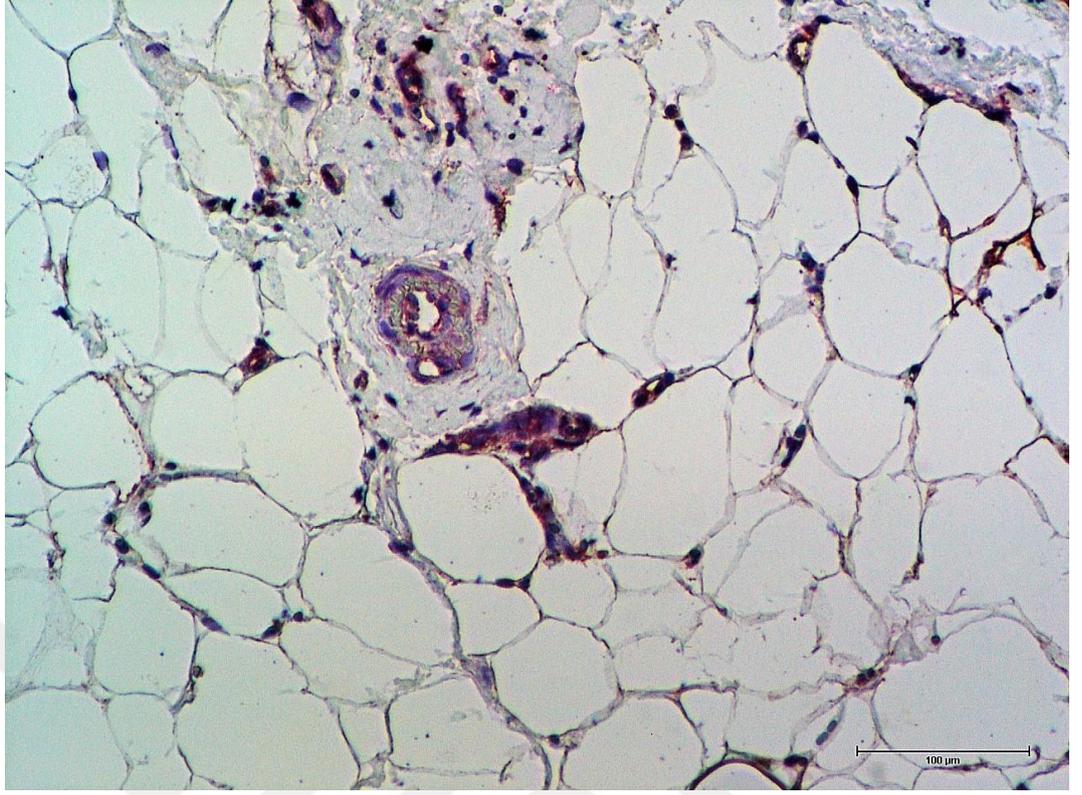
Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında pecam ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p < 0.001$). Bu anlamlılık 3. ve 1. grup ($p < 0.001$), 4. ve 1. grup ($p < 0.001$), 4. ve 2. grup ($p = 0.014$), 6. grup ve 3. grup ($p = 0.022$), 6. grup- 4. grup ($p = 0.002$) grupları arasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Tukey HSD) (Tablo-7).

Tablo 8. Gruplara göre Pecam yüzdeleri

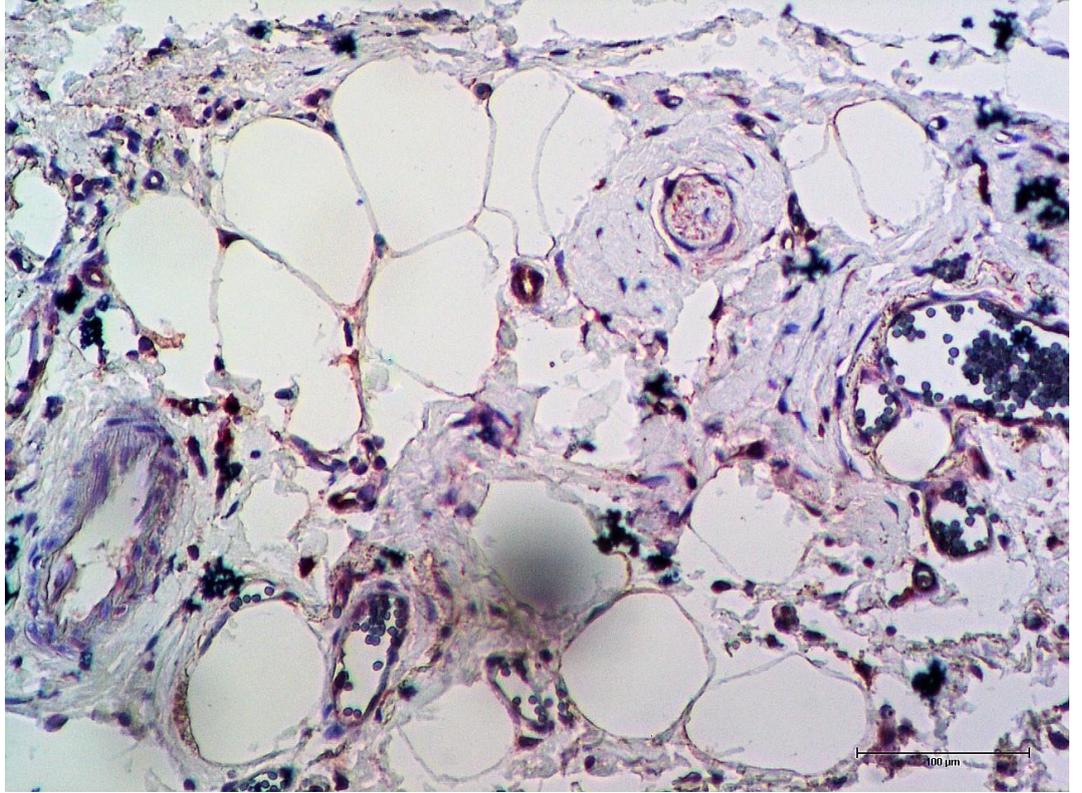
Pecam yüzdeleri (%)	Kontrol	Preop TERUS	Preop TERUS Sham	Preop+Postop TERUS	Preop+Postop TERUS Sham	Postop TERUS	Postop TERUS Sham	p
n	5	5	6	6	6	6	6	
Ortalama ±SD	168.0 ±15.19	206.0 ±30.53	252.50 ±38.20	272.40 ±23.13	220.60 ±39.29	192.0 ±17.11	219.60 ±22.10	<0.001
Min-Max	149.0 -189.0	168.0 -239.0	208.0 -295.0	248.0 -302.0	171.0 -269.0	168.0- 209.0	199.0- 255.0	

Tablo 9. Gruplar arasında çoklu karşılaştırmada anlamlı çıkan Pecam sonuçları (TUKEY HSD)

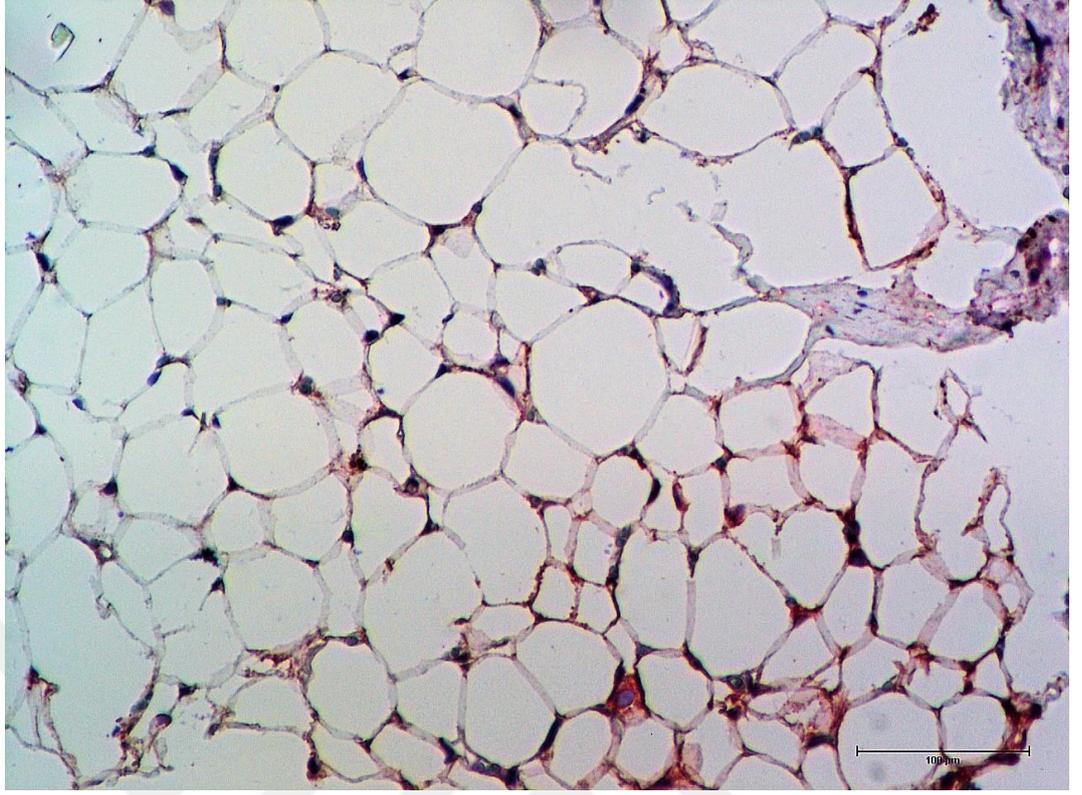
Gruplar	p
1-3	<0.001
1-4	<0.001
3-1	<0.001
4-1	<0.001
4-6	<0.001
6-4	<0.001



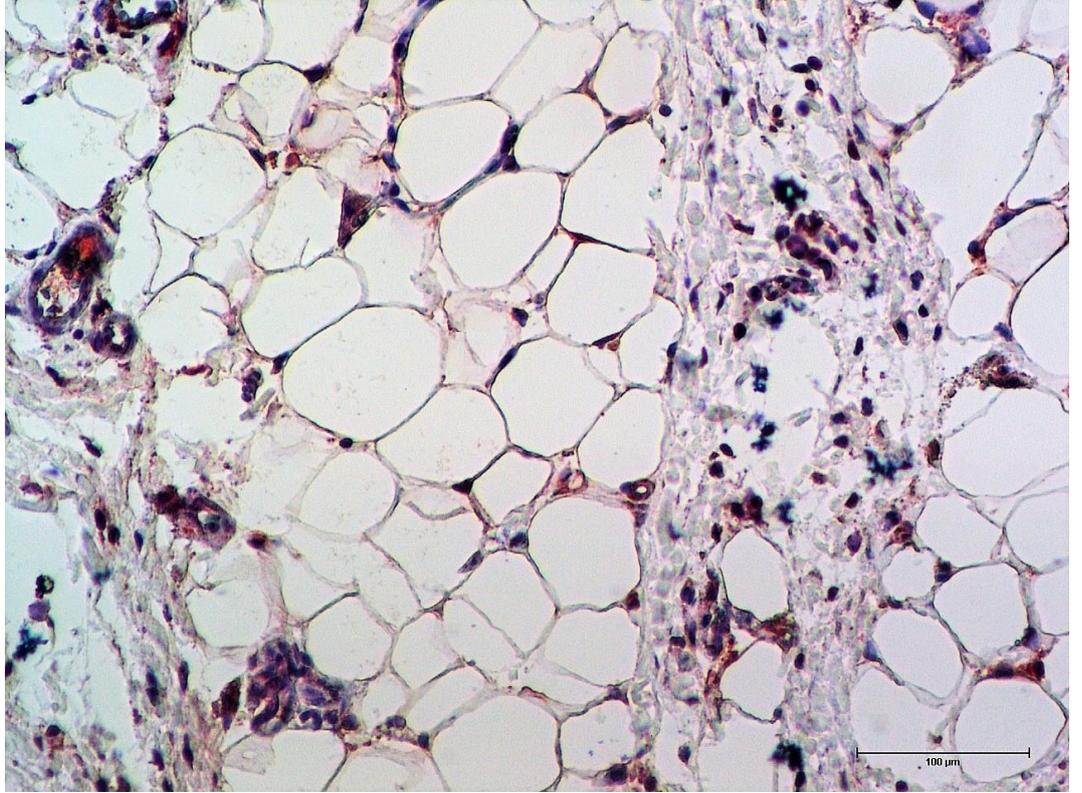
Şekil 22. Grup 1 PECAM boyaması



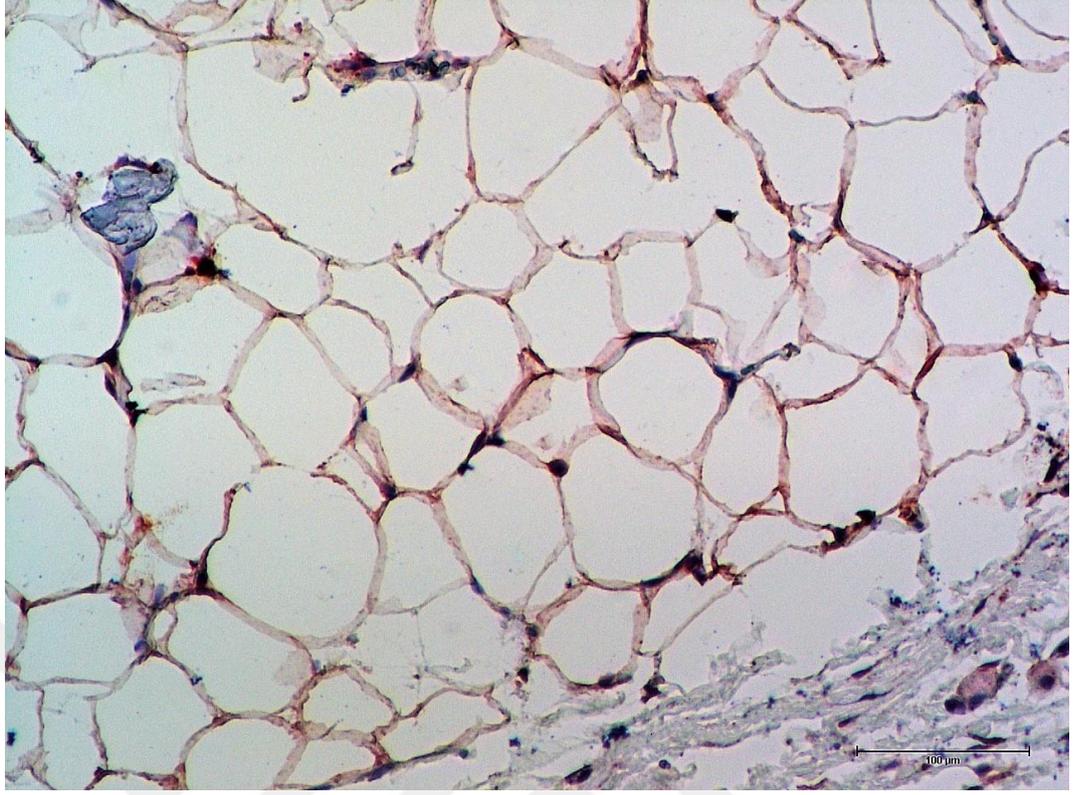
Şekil 23. Grup 2 PECAM boyaması



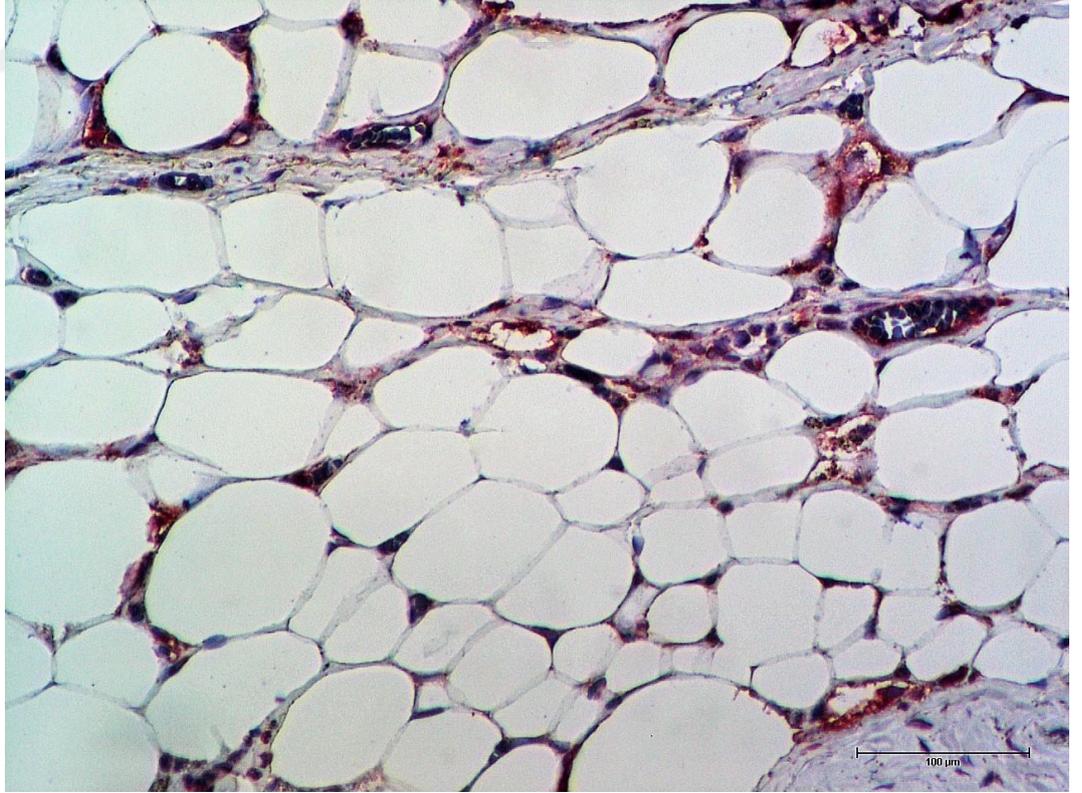
Şekil 24. Grup 3 PECAM boyaması



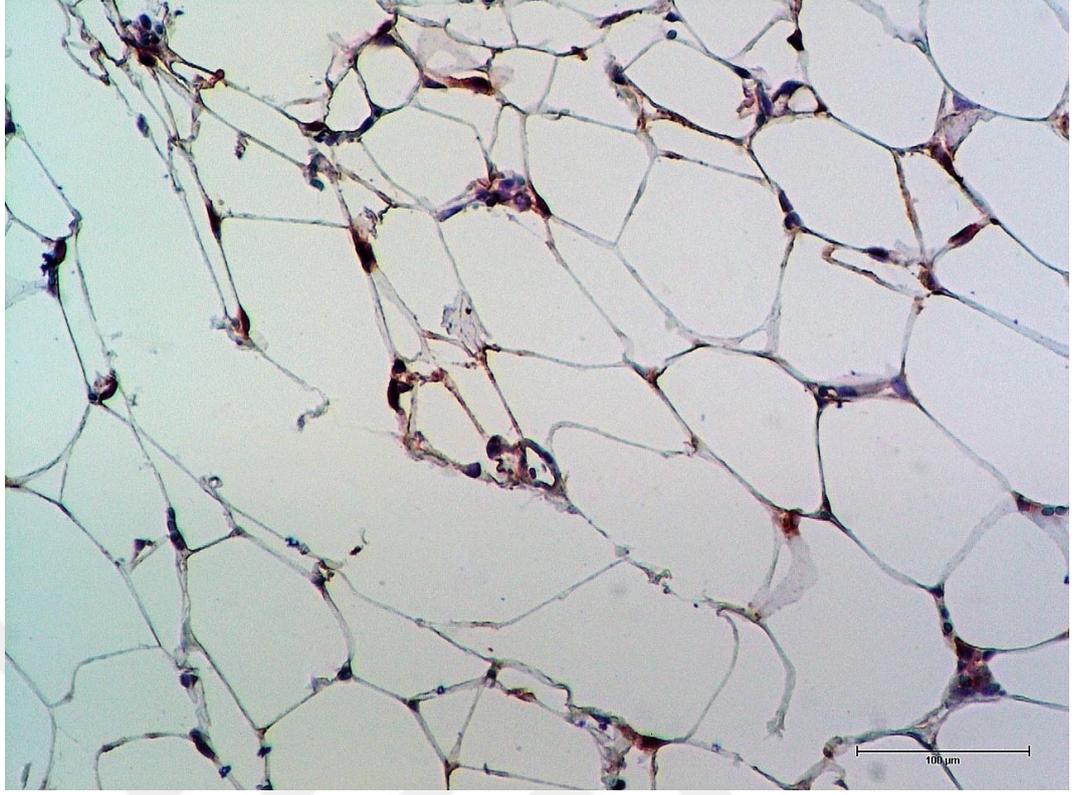
Şekil 25. Grup 4 PECAM Boyaması



Şekil 26. Grup 5 PECAM boyaması

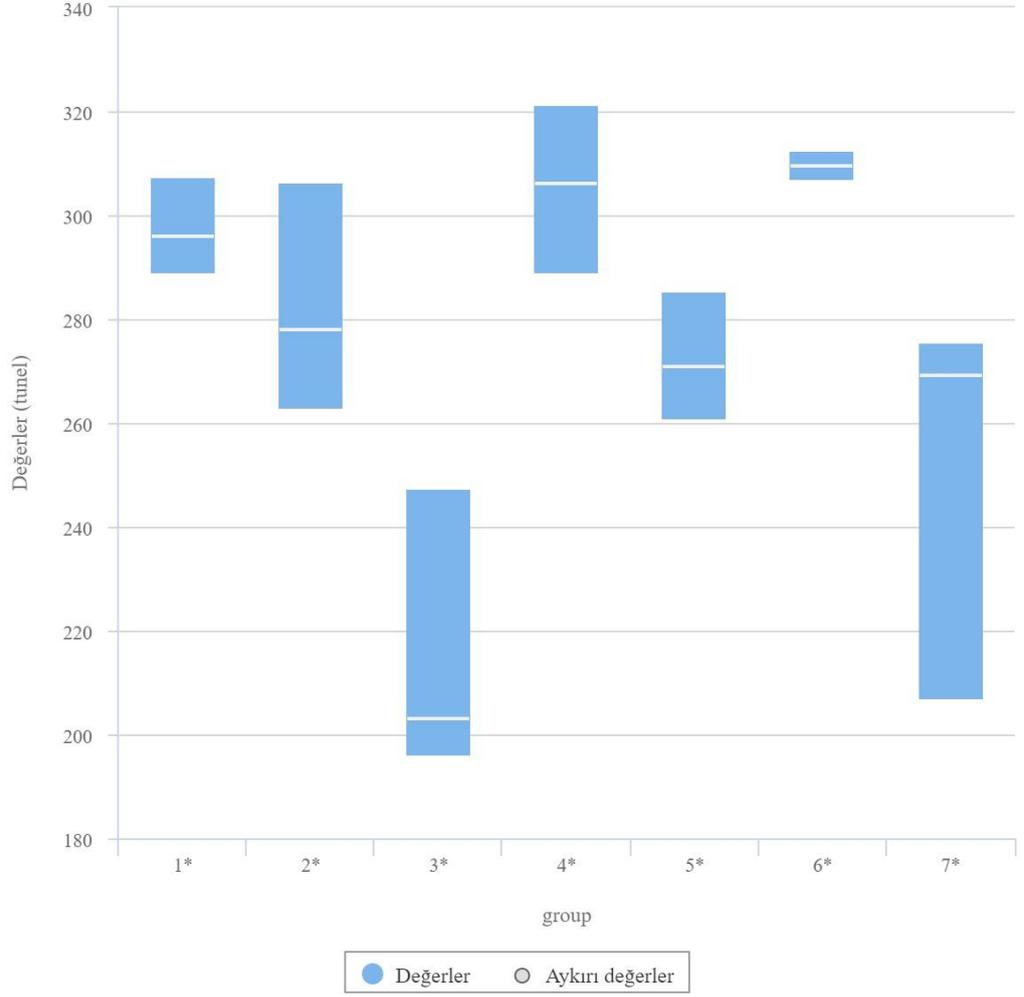


Şekil 27. Grup 6 PECAM boyaması

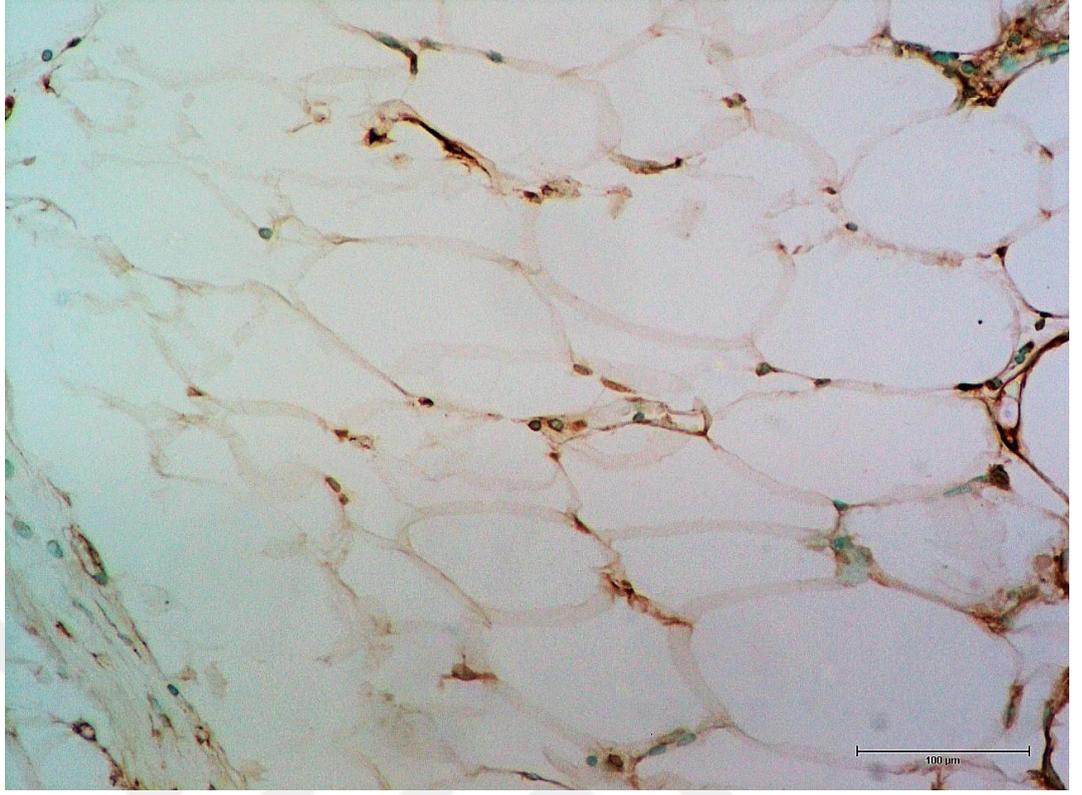


Şekil 28. Grup 7 PECAM boyaması

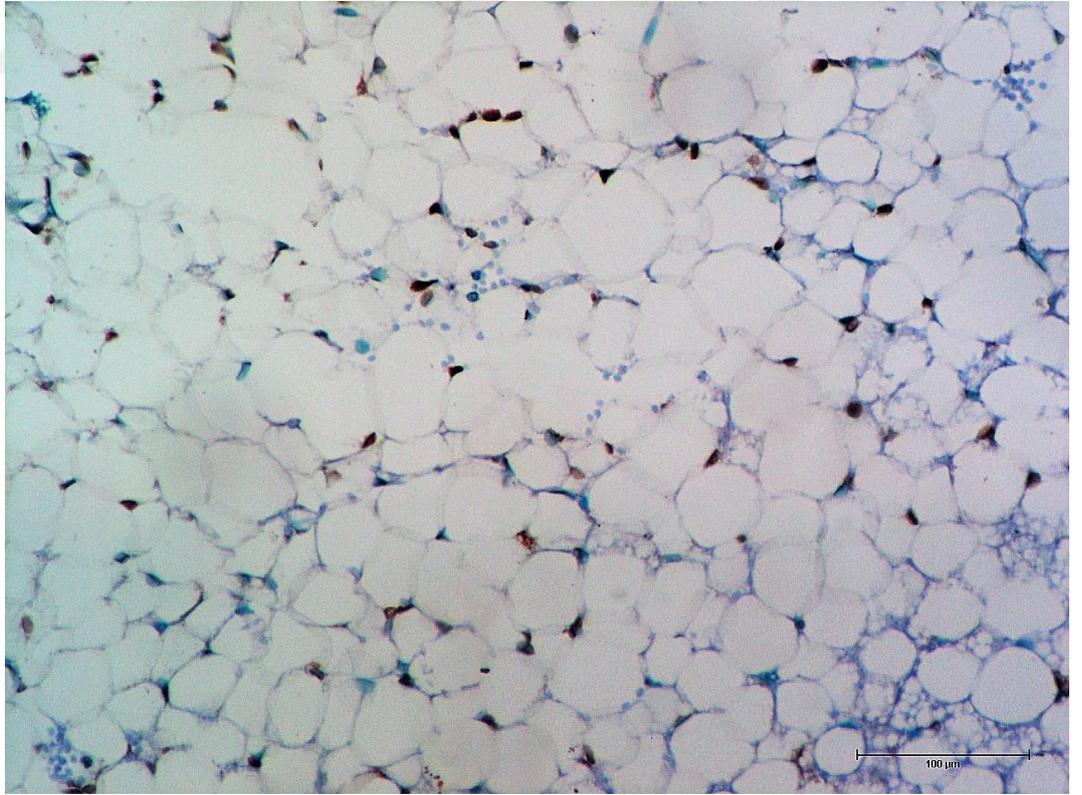
Tablo 10. İmmunohistokimyasal değerlendirilmede Tünel Yüzdesi



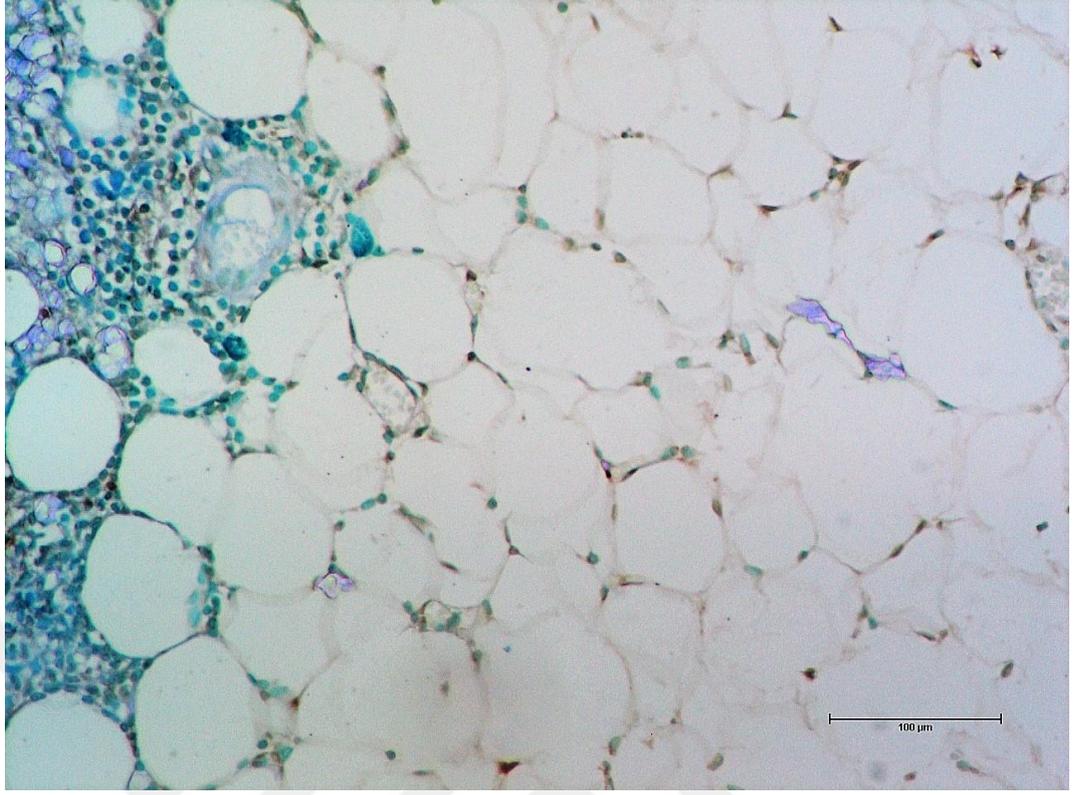
Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında tünel ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p=0.002$). Bu anlamlılık 3. grup ve 1. grup ($p=0.007$), 3. grup ve 2. grup ($p=0.031$), 4. grup ve 3. grup ($p=0.003$), 6. grup ve 3. grup ($p=0.006$) grupları arasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Tukey HSD) (Tablo-8).



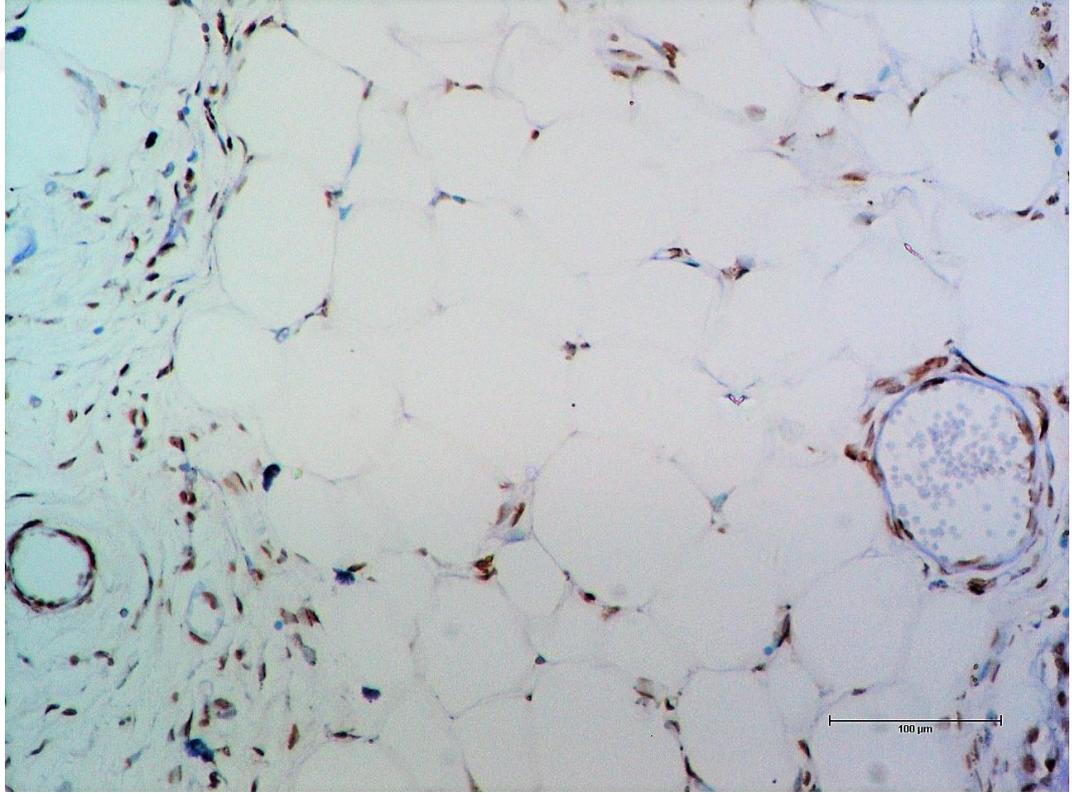
Şekil 29. Grup 1 TUNEL boyaması



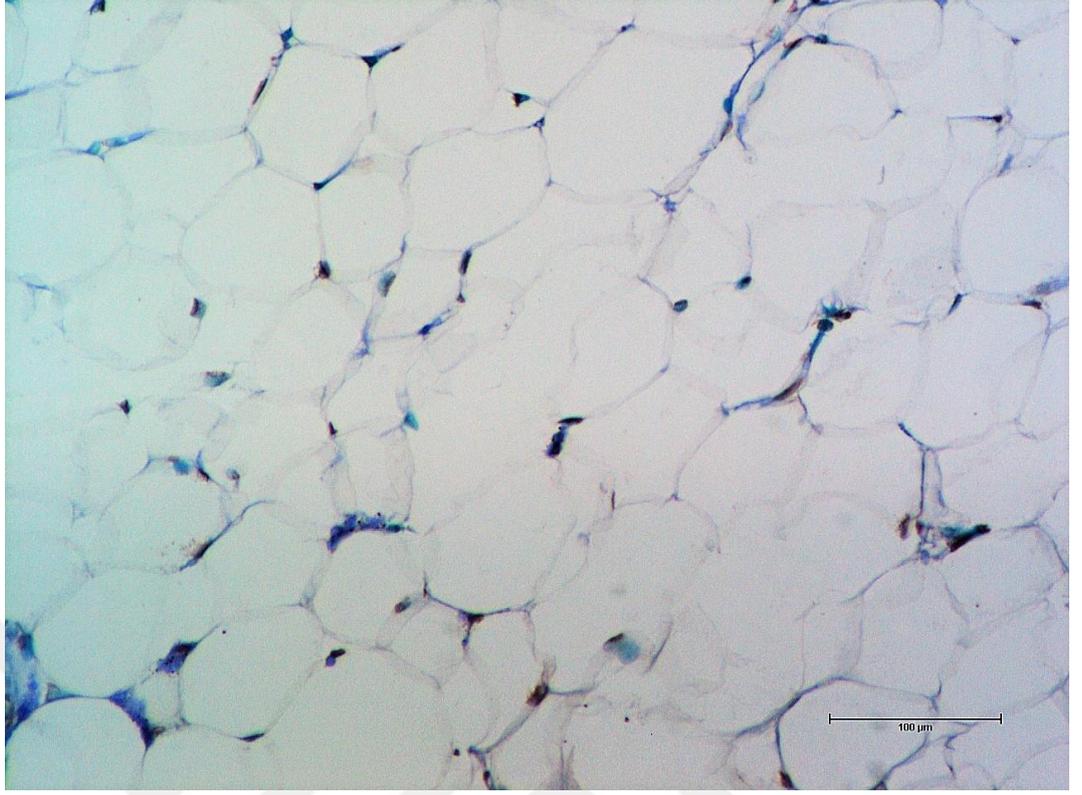
Şekil 30. Grup 2 TUNEL boyaması



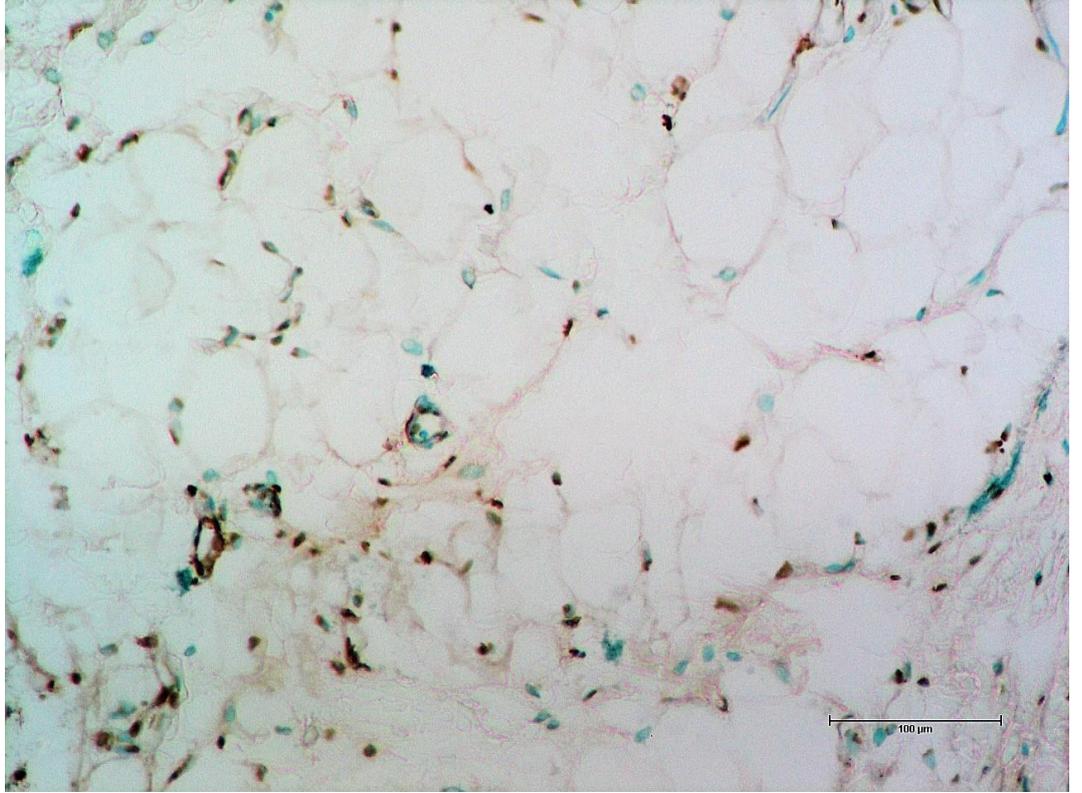
Şekil 31. Grup 3 TUNEL boyaması



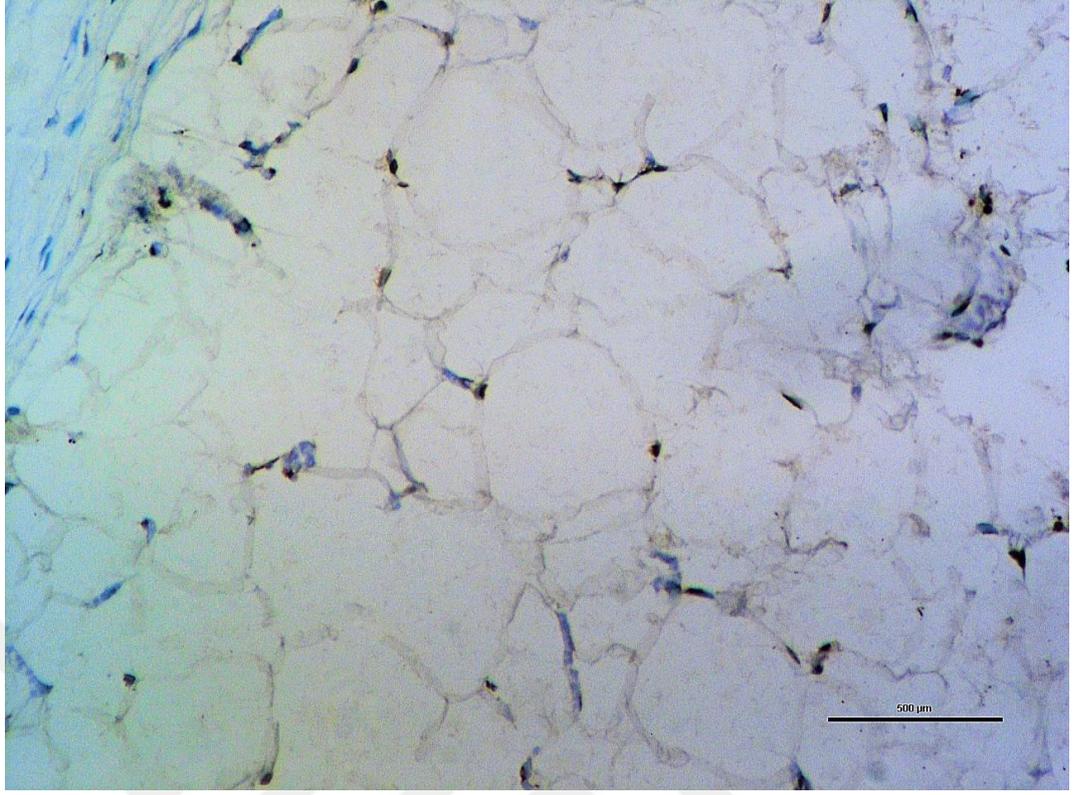
Şekil 32. Grup 4 TUNEL boyama



Şekil 33. Grup 5 TUNEL boyama

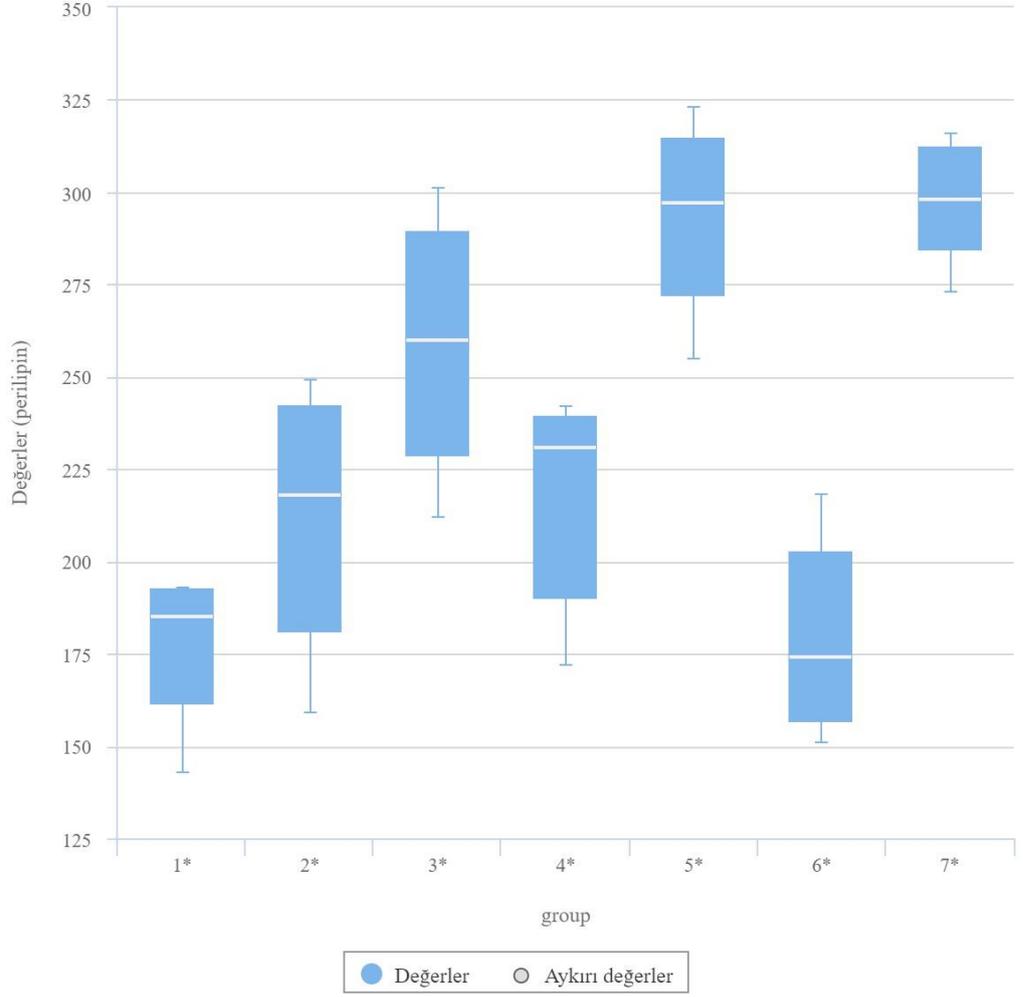


Şekil 34. Grup 6 TUNEL boyama



Şekil 35. Grup 7 TUNEL boyama

Tablo 11. İmmünohistokimyasal Değerlendirmede Perilipin Yüzdesi



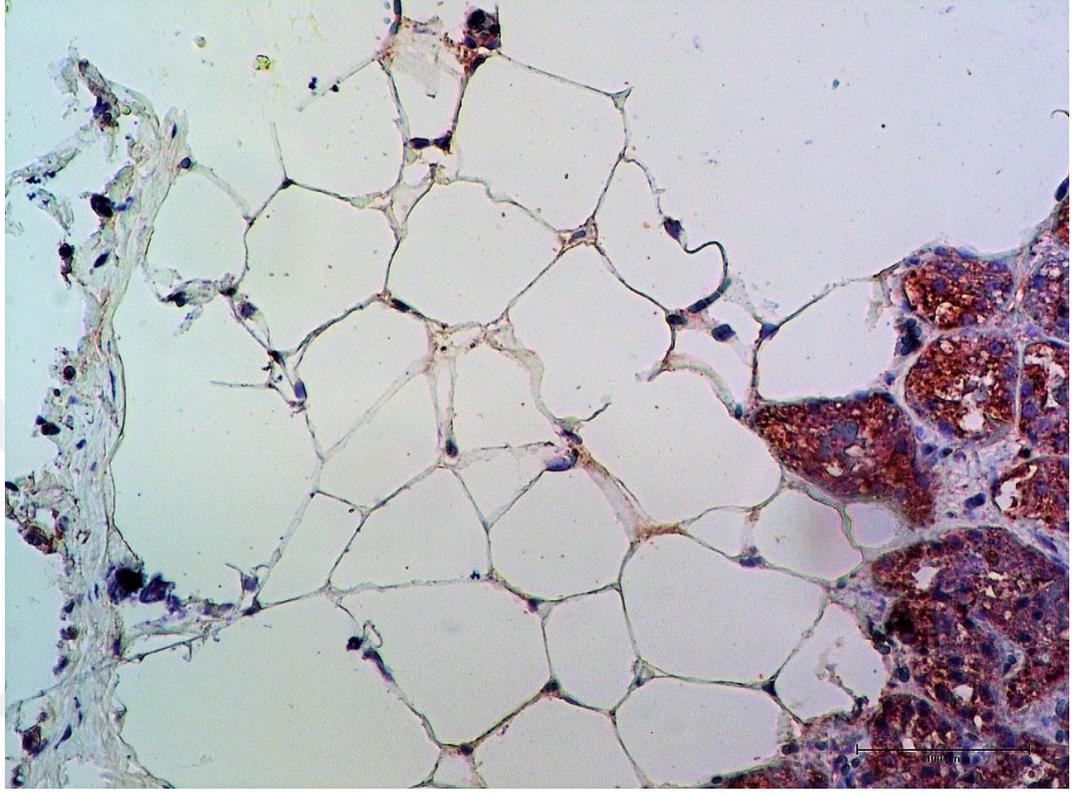
Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında perilipin ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p < 0.001$). Bu anlamlılık 3. grup ve 1. grup ($p < 0.001$), 5. grup ve 1. grup ($p < 0.001$), 7. grup ve 1. grup ($p < 0.001$), 5. grup ve 2. grup ($p < 0.001$), 7. grup ve 2. grup ($p < 0.001$), 6. grup ve 3. grup ($p < 0.001$), 5. grup ve 4. grup ($p = 0.002$), 7. grup ve 4. grup ($p = 0.001$), 6. grup ve 5. grup ($p < 0.001$), 7. grup ve 6. grup ($p < 0.001$) grupları arasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Tukey HSD) (Tablo-9).

Tablo 12. Gruplara göre Perilipin yüzdelерinin dağılımı

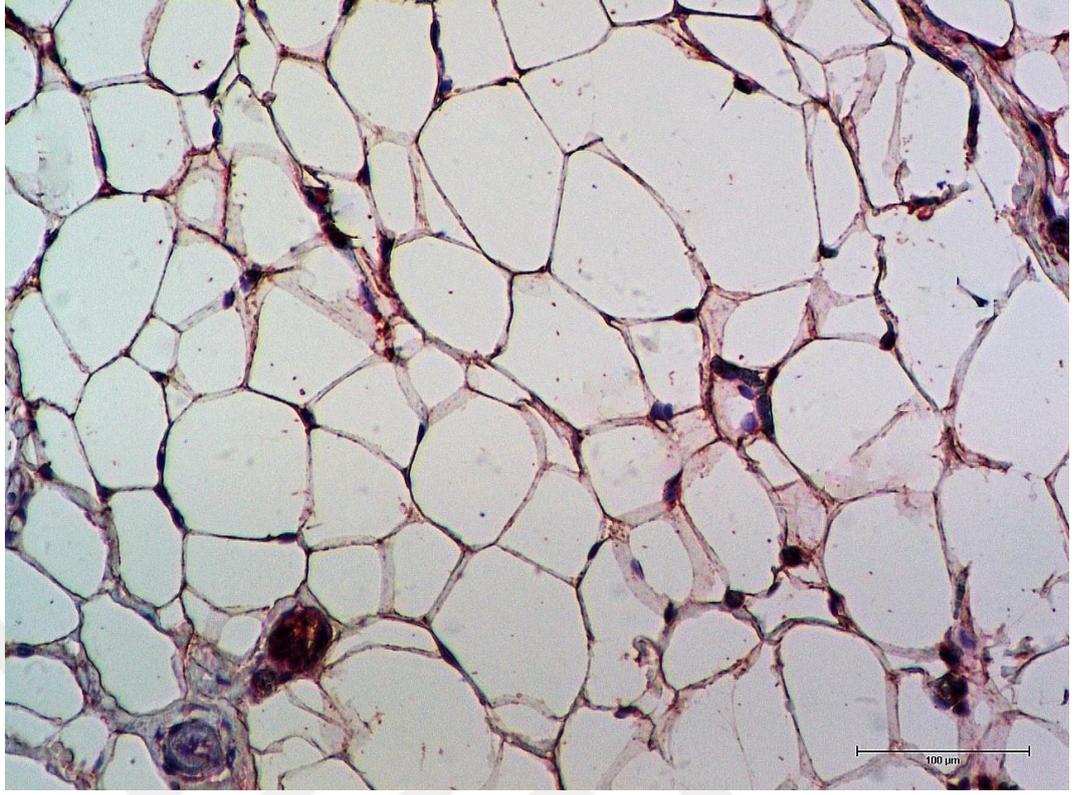
Perilipin yüzdeleri (%)	Kontrol	Preop TERUS	Preop TERUS Sham	Preop+Postop TERUS	Preop+Postop TERUS Sham	Postop TERUS	Postop TERUS Sham	p
n	5	5	6	6	6	6	6	
Ortalama±SD	178.60 ±20.59	212.80 ±34.71	258.67 ±32.53	217.80 ±28.65	294 ±25.9	178.40 ±25.89	298.20 ±16.22	<0.001
Min-Max	143.0 -193.0	159.0 -249.0	212.0 -301.0	172.0 -242.0	255.0 -323.0	151.0- 218.0	273.0- 316.0	

Tablo 13. Gruplar arasında çoklu karşılaştırmada anlamlı çıkan Perilipin sonuçları (TUKEY HSD)

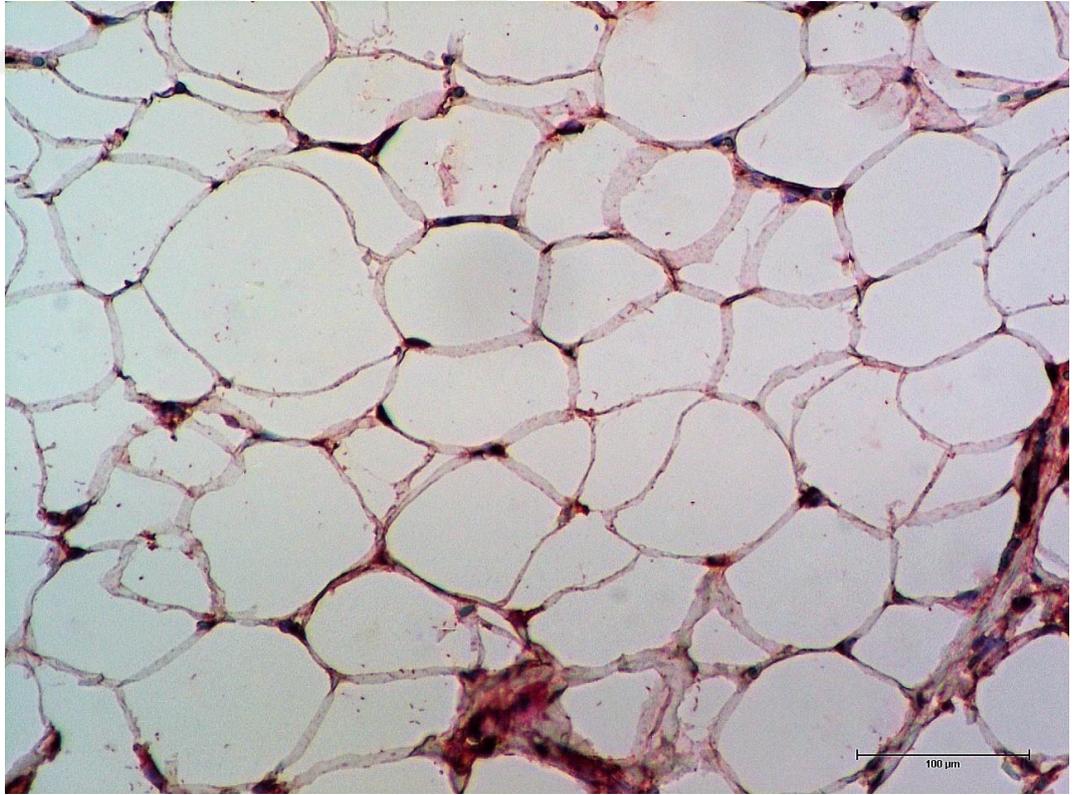
Gruplar	p
1-3	<0.001
1-5	<0.001
1-7	<0.001
2-5	<0.001
2-7	<0.001
3-1	<0.001
3-6	<0.001
4-5	<0.002
4-7	<0.001
5-1	<0.001
5-2	<0.001
5-4	<0.002
5-6	<0.001
6-3	<0.001
6-5	<0.001
6-7	<0.001
7-1	<0.001
7-2	<0.001
7-4	<0.001
7-6	<0.001



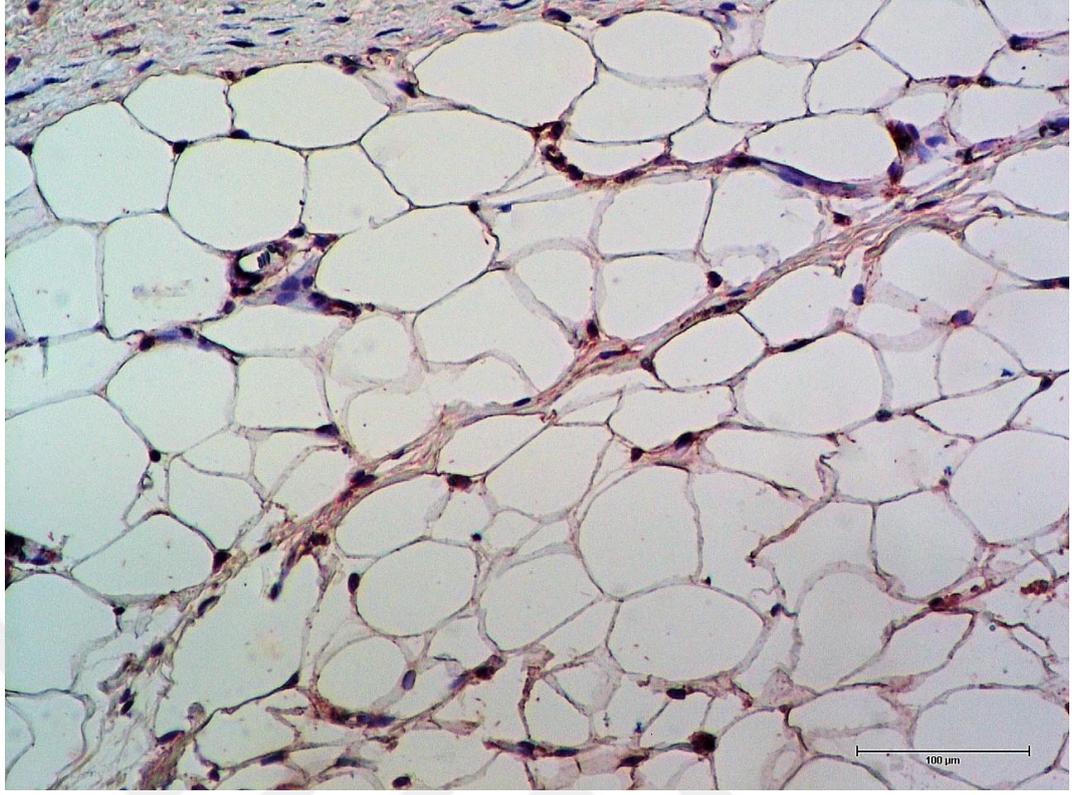
Şekil 36. Grup 1 Perilipin boyama



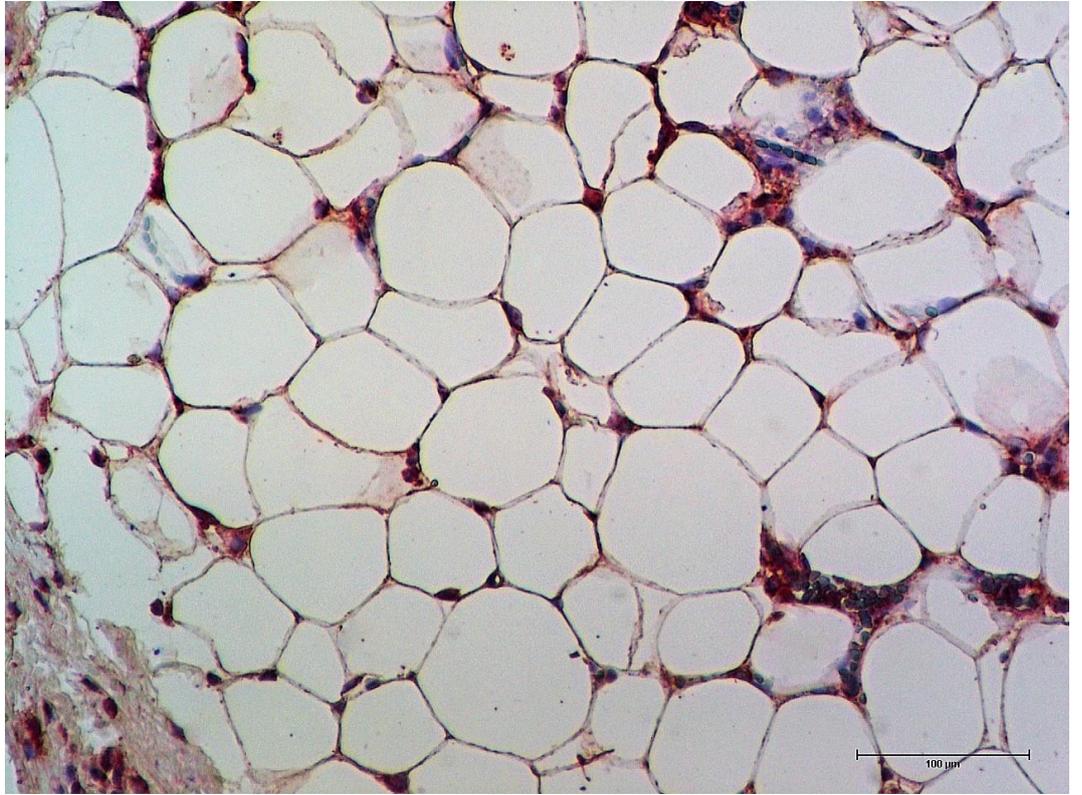
Şekil 37. Grup 2 Perilipin boyama



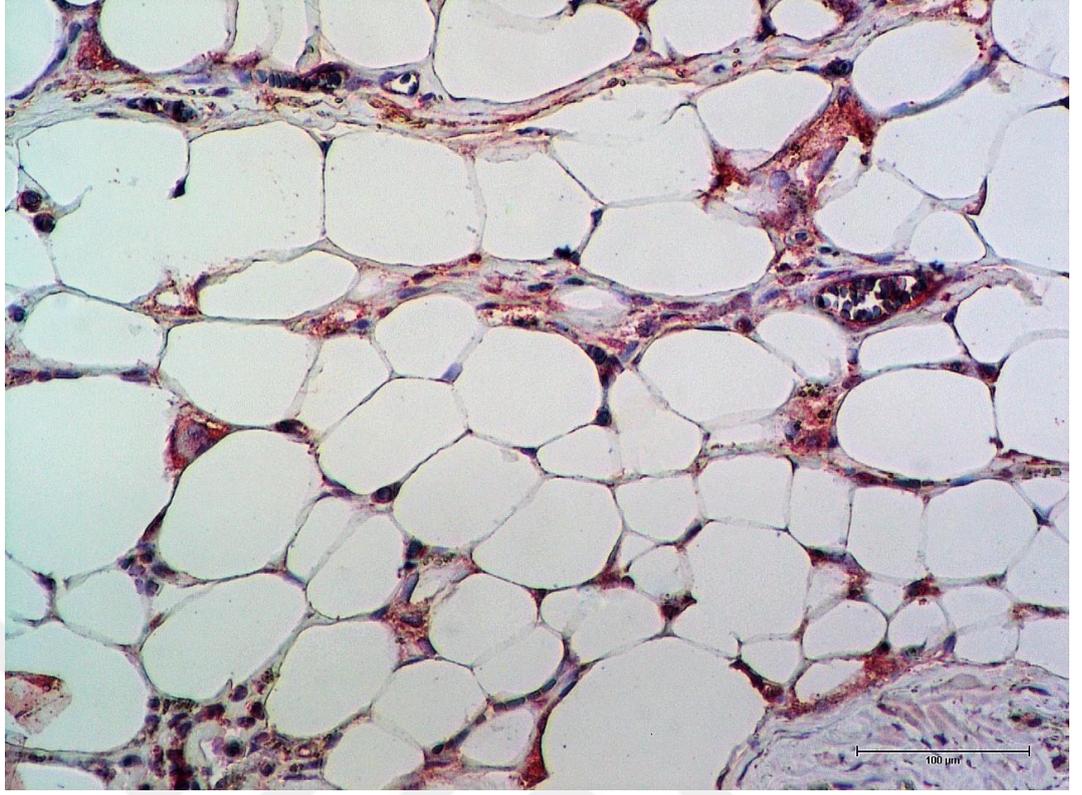
Şekil 38. Grup 3 Perilipin boyama



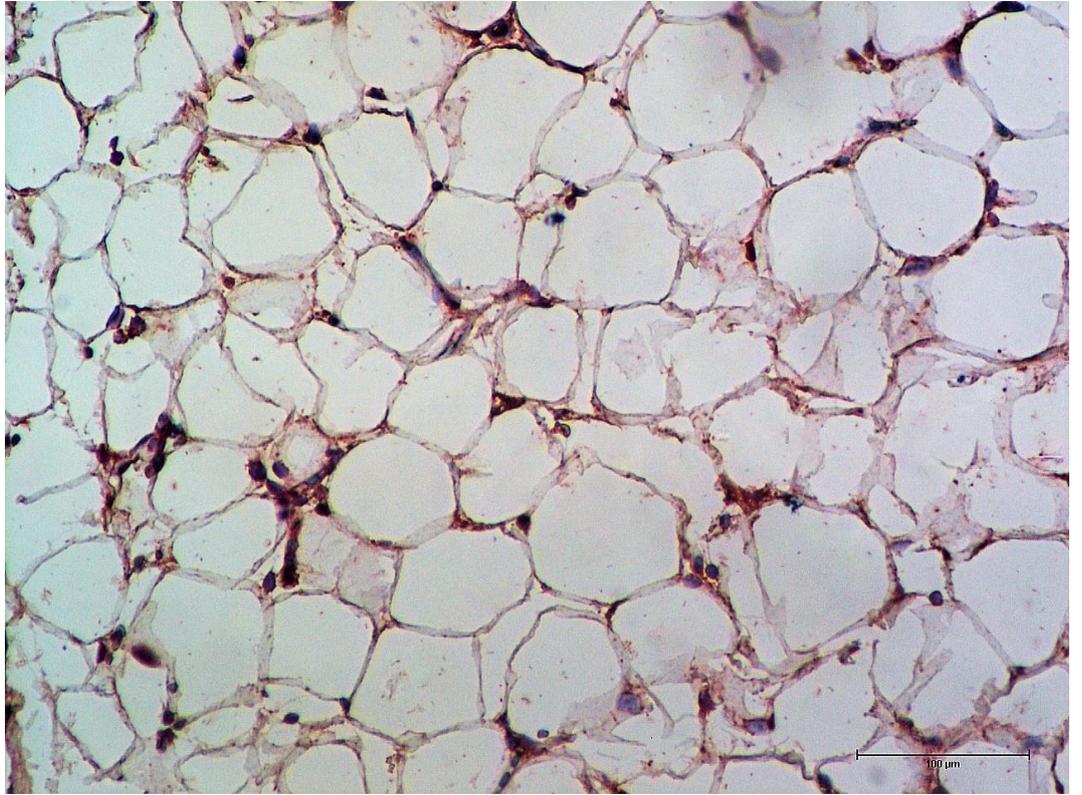
Şekil 39. Grup 4 Perilipin boyama



Şekil 40. Grup 5 Perilipin boyama



Şekil 41. Grup 6 Perilipin boyama



Şekil 42. Grup 7 Perilipin boyama

Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında perilipin ve pecam değişkenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon yoktur ($r=0.3202$, $p=0.057$).

Yapılan analizler sonucunda gruplar arasında perilipin ve tunel değişkenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon yoktur ($r=-0.3853$, $p=0.093$).



5. TARTIŞMA

Günümüzde plastik estetik ve rekonstrüktif cerrahi bilim dalında yağ greftinin kullanım sıklığı giderek artmaktadır. Düşük maliyetli olması, kolay elde edilmesi, biyouyumluluğu, avantajları arasında sayılmaktadır. Yaşayabilirliğinin öngörülememesi, operasyon sonrasındaki hacmin tahmin edilememesi yağ grefti operasyonlarının en büyük dezavantajıdır (1,2).

Yağ grefti ile ilgili çalışmalar neredeyse bir asır önce Neuber'in göz altındaki defekte üst ekstremiteden aldığı yağı transferiyle başlamıştır. Daha sonra rekonstrüktif amaçla benzer ameliyatlar yapılmıştır. Sonrasında transfer edilen yağın tamamının yaşamadığı farkedilmiştir. Yağın total eksizyonu ve transferi ile başlayan yağ grefti uygulamaları, liposuctionun keşfi ile boyut değiştirmiştir. Bilim dünyasının ilgisini çeken yağ greftleri konusunda birçok çalışma yapılmış ve hala yapılmaya devam etmektedir (4).

Greft olarak verilecek yağın hangi bölgeden elde edileceği, hangi teknikle elde edileceği, elde edilen yağın nasıl saflaştırılacağı, daha sonra hangi teknikle greft olarak kullanılacağı hakkında tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Hangi teknik uygulanırsa uygulansın greft olarak verilen yağın ne kadarının yaşayabileceğinin öngörülememesi de büyük bir dezavantajdır. Çalışmalar bu dezavantajı ortadan kaldırmak adına yoğunlaşmaya başlamıştır.

Yağ grefti yaşayabilirliği ile ilgili Peer hücre yaşayabilirliği teorisini ortaya atmıştır. Yaşayan adipositlerin kırmızı kan hücrelerinden ve debrislerden arındırılarak greft olarak kullanılmasının önemine dikkat çekmeye çalışmıştır (8).

Carpaneda ve Riberiro transfer edilen yağ greftinin vaskülarize alandan 2 mm uzak olan kısmının plasmatik imbibisyon sayesinde canlı kaldığını, bundan dolayı çoklu tünellere greft yerleştirilmesini ve tünellere küçük miktarlarda greft transfer edilmesini savunmuşlardır (40). Zhao ve arkadaşları transgenik fareler üzerinde alıcı ve verici dokuların immunohistokimyasal olarak farklı boyayarak yağ grefti uygulaması yapmışlar ve alıcıdan neovaskülarizasyonla yeni damarların oluştuğunu ve grefti beslediğini gözlemlemişler (41).

Suga ve arkadaşları farelerin inguinal yağ depolarına giden damarlara müdahale ederek değişken derecede iskemi hasarı oluşturup hayvanları gözlemlemişler. Adipositlerde dejenerasyon ve nekroz görmekle beraber, angiogenesis, adipogenesis ve hücrelerin arttığını farketmişler. ADSC'lerin canlı kaldığı ve rejenerasyonun bu hücrelerden kaynaklandığını ortaya koymuşlardır (42). Eto ve arkadaşları yaptıkları hayvan çalışmasında adipositlerin erken öldüklerini ancak ADSC'lerin 3 güne kadar yaşadığını ve rejenerasyonun bu şekilde oluştuğunu açıklamışlardır. Çalışmalarında enjekte edilen yağ greftini 3 bölgeye ayırmışlar. Bunlar; en içteki bölge adiposit ve ADSC'lerin öldüğü nekrotik zon, orta bölge adipositlerin öldüğü ADSC'lerin canlı kaldığı rejenerasyon zonu, en dıştaki bölge de adipositlerin plasmatik imbibisyon ve etraftaki damarlardan beslenerek canlı kaldığı yaşayan zon olarak açıklamaya çalışmışlar. Yağ greftindeki ADSC'nin de önemine dikkat çekmişlerdir (43). Yoshimura ve arkadaşları ADSC ve progenitör hücreler ile adipogenesisin başlayacağını ancak lipid kalıntılarının makrofajlarca emiliminin 9 aya kadar sürebileceğini belirtmişlerdir. Merkezdeki ölü hücrelerin skar dokusuna ve kist formasyonuna döneceğini ve bu olayın 12 aya kadar uzayabileceğini açıklamışlardır (72).

Li ve arkadaşları, 6 kadın hastanın 5 farklı bölgesinden (flank, üst ve alt abdomen, iç ve dış uyluk) liposuction ile yağ grefti elde edip farelerin sırt bölgesine enjekte etmişler. Alınan farklı bölgelerdeki yağ yaşayabilirliği ve SVF miktarını karşılaştırmayı amaçlamışlar. Bölgeler arasında hem SVF açısından hem de yağ yaşayabilirliği açısından anlamlı fark bulamamışlardır. Bölgenin seçiminin

hastaya bırakılabileceğinden bahsetmişlerdir (45). Çalışmamızın uygulamasında ratların inguinal bölge yağ dokusuna erişiminin nispeten kolay olmasından dolayı inguinal bölge donör alan olarak tercih edilmiştir. Standardizasyon amacıyla da deney hayvanlarının sağ inguinal bölgesi cerrahi alan olarak kullanılmıştır.

Peer total yağ eksizyonu ile yapılan greft uygulamasında canlı adiposit sayısı fazla olsa da yağ yaşayabilirliğinin az olduğunu tariflemiştir (8). Liposuctionun keşfi ile yağ elde edildikten sonra donör alan morbiditesinin azalması ve daha fazla yağ elde edilmesi açısından büyük bir gelişme yaşanmıştır. Klein dokulara sıvı ve anestezi madde vererek liposuctionda tümesan tekniği tanımlamış. Bu teknikte yağ eldesinin daha kolay, daha az ağrılı ve daha az kanamalı olmasını bir avantaj olarak düşünmüştür (73). Coleman ise düşük basınçla liposuction yapılarak yağların eldesinin daha çok yağ yaşayabilirliğine sebep olacağını tariflemiştir. Yaptığı bu işlemde; düşük basınçlı enjektör ile yağ grefti elde etmiş, elde edilen bu greftleri küçük hacimlerde birçok plana vererek tarif ettiği yöntemi 'Coleman tekniği' olarak adlandırmıştır (18). Her ne kadar güncel bilgiler çoklu tünellere az miktarda yağ grefti verilmesi gerektiğini söylese de; bizim çalışmamızda ratlarda vakum uygulamasının maliyeti ve uygulamanın standardize olmamasından dolayı eksizyonel yöntemle yağ grefti elde edilip en-blok transferi gerçekleştirilmiştir.

Yıkama ile, yerçekimi etkisi ya da santrifüj yapılarak saflaştırma işlemi gerçekleştirilebilir. Bozkurt ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı çalışmada; saflaştırma için kullanılan santrifüj zamanını karşılaştırmış ve ortalama G kuvveti 698.75 veya 2500 rpm olan 4 dakikalık santrifüj işleminin yağ grefti yaşayabilirliğine pozitif etkisinin diğer gruplara göre daha iyi olduğunu tarif etmişlerdir (74).

Yağ greftinin yaşayabilirliğinin kök hücre uygulamaları ile artacağına dair yayınlar mevcuttur. Butala ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada elde ettikleri yağa göre hayvanları yüksek dansiteli, düşük dansiteli ve düşük dansiteli yağa progenitör hücre çağırıcı eklenmiş olarak 3 gruba ayırmışlar.

Yaptıkları çalışmada; düşük dansiteli yağa ekledikleri progenitör hücre çağırıcının yağ grefti yaşayabilirliğine anlamlı etkisinin olduğunu ortaya koymuşlardır (75).

Yağ grefti elde edilip hazırlandıktan sonra alıcı alanın vaskülaritesinin iyi olması da yaşayabilirliği önemli ölçüde etkilemektedir. İyi vaskülarize olan bir alana küçük boyutlarda yağ grefti transfer etmenin iyi sonuçları olduğu düşünülmektedir. Guerrero ve arkadaşları yaptıkları hayvan çalışmasında yağ greftlerini farklı hacimlerde olacak şekilde kas içine ve cilt altına yerleştirmişler. Kasta hem klinik hem de mikroskopik olarak daha iyi sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir (76). Bu çalışma kanlanması daha iyi olan bir alanda yağ greftinin daha çok yaşadığını göstermektedir.

Sezgin ve arkadaşları mikroporasyon yöntemi ile ratların yağ grefti verilecek alanlarını önkoşullamaya tabi tutmuşlar. Mikroporasyon yaptıkları bölgenin kanlanmasını bu yöntemle artırmışlar. Transfer ettikleri yağ greftinin bu bölgede daha çok yaşadığını göstermişlerdir (5). Biz de bu bilgiler ışığında vaskülaritesi artan dokunun yağ grefti yaşayabilirliğini artıracak olduğunu düşünerek TERUS ile yağ grefti yapılacak bölgeye önkoşullama yapılmasını planladık. Amacımız, TERUS ile alanın vaskülaritesinin artırılarak yağ grefti yaşayabilirliğini artırmaktır. Yaptığımız çalışmada; TERUS'un vaskülariteyi artırdığını saptadık ancak 4. ve 6. grupta elde edilen sonuçlar ışığında yağ yaşayabilirliğinin azalmasını TERUS'un yağ dokusunu azaltmasıyla ilişkilendirdik. Bill ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile sonuçlarımız benzer olarak saptanmıştır (56).

Yücel ve arkadaşları; ratlarda yaptıkları çalışmada iskemik flep modeli tasarlamışlar. TERUS uyguladıkları grupta flep nekrozunun daha az olduğunu göstererek vaskülaritenin ultrason ile arttığını tespit etmişlerdir (10). Berk ve arkadaşları yaptıkları rat çalışmasında; TERUS ve transkutanöz elektrik uygulaması ile flep yaşayabilirliğini araştırmışlar ve nekrozun azaldığına dair bulguları paylaşmışlardır (77).

Biz de çalışmamızda; ratlarda TERUS kullanılarak yapılan önkoşullama ile yağ grefti yaşayabilirliğini araştırmayı amaçladık. Yapılan TERUS uygulaması ile alıcı alanda vaskülariteyi artırıp transfer edilen yağ greftlerinin yüzde olarak yaşayabilirliğini artırmayı hedefledik. Çalışmamızda elde edilen veriler ışığında 2. 4. ve 6. gruplarının pecam artışı TERUS'un damarlanmayı artırması ile ilişkili olduğu saptandı. Bu damarlanma artışı literatürdeki çalışmalarla paralel bulundu (78).

Literatürde TERUS benzeri ultrasonografik cihazlarla yağ dokusunun azaltılması ile ilişkili yayınlar mevcuttur (65). TERUS uygulanan yağ dokusunda kavitasyon oluşmakta ve membran geçirgenliğini değiştirmektedir. Aynı zamanda TERUS'un yağ hücrelerinin metabolizmasını artırarak yağ dokusunu da azalttığı gösterilmiştir. Biz de çalışmamızda yağ grefti yapılan alanlarda pecam değeri ile vaskülaritenin arttığını görmekle beraber perilipin değerleri ile canlı yağ dokusunun beklendiği kadar artmadığını tespit ettik. Bu yağ dokusu azalması ile ilişkili olarak literatüre uygun bulgular elde ettik (56).

Farcic ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; tenotomi sonrası ratlara farklı zamanlarda TERUS uygulayarak kollajen dizilimini karşılaştırmışlar. Beş dakika TERUS uygulanan ratların kollajen diziliminin diğer gruplara göre daha anlamlı sonuç verdiğini göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda aynı sürede uygulama yaparak alıcı alanın önkoşullamasını planladık. Ancak TERUS'un kollajen yerine yağ dokusuna etkisini araştırdığımız için bu çalışma ile paralel bir sonuç elde edemedik (67).

Noble ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; hem sham grubu hem de TERUS uygulaması yapılan gruptaki hastaların kan akımında artış belirlemişler (63). Bizim çalışmamızda TERUS kapalı olarak uyguladığımız grupta kan akımının artışını masaj etkisine bağlayabiliriz. Aynı zamanda TERUS kapalı olarak uyguladığımız grupta perilipin düzeyini artmış bulmamızın sebebi bu damarlanma artışına bağlanmıştır.

6. SONUÇ

Yağ grefti uygulamaları plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahinin temel alanlarından biridir. Bu alanda yapılacak ve yapılmış çalışmaların kıymeti göz ardı edilemez.

Çalışmamızda, TERUS uygulamasının yağ grefti yaşayabilirliğine etkisini araştırdık. Bulgularımızda TERUS uygulamasının damarlanmayı artırdığını gördük. Fakat TERUS'un damarlanmanın haricinde yağ dokuyu küçültücü etkisinden dolayı yağ grefti yaşayabilirliğine iyi yönde etki etmeyebileceğini tespit ettik. Postoperatif TERUS yapılan grupta yağ yaşayabilirliğinin azalmasını TERUS'un yağ dokuyu küçültücü etkisi olarak yorumladık.

TERUS ile önkoşullamanın; yağ grefti operasyonunda önkoşullama olarak damarlanmayı artırmak amaçlı kullanılabilceğini ancak postoperatif kullanılmasının yağ grefti yaşayabilirliğini azaltacağını düşünmekteyiz.

Kontrol grubu ve masaj gruplarının arasındaki anlamlı farktan dolayı masaj uygulaması ile yağ grefti yaşayabilirliğini artıracağımızı düşündük.

TERUS ve yağ grefti ile ilgili daha çok denek üzerinde daha çok karşılaştırmalı çalışmaların yapılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

ÖZET

Son yıllarda plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahi operasyonlarında yağ grefti kullanımı oranı giderek artmaktadır. Bu uygulamanın birçok avantajı olmasına rağmen hangi oranda yağ greftinin sağkalacağının bilinmemesi büyük bir dezavantajdır. Mevcut çalışmalar bu dezavantajı azaltmaya yoğunlaşmıştır. Çalışmamızın amacı; TERUS uygulamasının yağ grefti yaşayabilirliğine etkisini araştırmaktır.

Çalışmamızda 42 adet Wistar Albino tipi erkek rat kullanıldı. Yağ grefti donör alanı sağ inguinal bölge, alıcı alan ise interskapular cilt altı bölge olarak belirlendi. Deney hayvanlarının sırt bölgeleri standardize edilerek TERUS uygulaması planlanan zamanlara göre uygulandı. Yağ grefti operasyonu yapıldıktan sonra hayvanlar takip edildi ve sonrasında histolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

8 hafta sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek sırt bölgesinden yağ greftleri eksize edildi ve histolojik incelemeye tabi tutuldu. Makroskopik bulgularda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Histolojik ve immunohistokimyasal bulgularda TERUS'un damarlanmayı artırdığı ancak yağ yaşayabilirliğini artırmadığı ortaya çıktı. Bu etkinin TERUS'un yağ hücrelerini küçültücü etkisi ile alakalı olabileceği düşünüldü. Preoperatif ve postoperatif masaj uygulaması yaptığımız 5. grupta yağ grefti yaşayabilirliği diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.

Sonuç olarak yağ grefti uygulaması için TERUS uygulaması vaskülariteyi artırma amaçlı kullanılabilir. Ancak TERUS uygulamasının yağ grefti sağkalımında olumlu yönde etkisi gözlenmemiştir.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF PRECONDITIONING WITH ULTRASOUND ON FAT GRAFT SURVIVAL

In recent years, use of fat grafts in plastic reconstructive and aesthetic surgery operations has been increasing. Although it has many advantages, there is not much evidence about its survival rates. Current studies are focused on increasing the survival rate of fat grafts. This study aims to evaluate ; the effect of TERUS application on fat graft survival.

In our study, 42 male Wistar Albino rats were used. The fat graft donor site was determined as the right inguinal region and the recipient site was determined as the interscapular subcutaneous region. The recipient sites were standardized for TERUS application.

At the end of 8 weeks, animals were sacrificed and fat grafts were excised from the recipient site and immunohistochemical-histological examinations were performed with specimens. There was no statistically significant difference in macroscopic measurements. Histological and immunohistochemical findings revealed that TERUS increased vascularization of fat grafts but did not increase survival rates. These results interpreted as TERUS may affect fat cells shrinking. The mean fat graft survival rate of the preoperative-postoperative sham group was statistically significantly higher than other groups. This may indicate that only the massage effect of TERUS without ultrasonic energy might be useful on the survival of the fat grafts. Future studies with large sample sizes are needed about TERUS and its massage effect.

As a result, although TERUS application can be used to increase vascularity of fat graft, it is not increased the fat graft survival rate.

7. KAYNAKÇA

1. Simonacci F, Bertozzi N, Grieco MP, Grignaffini E, Raposio E. Procedure, applications, and outcomes of autologous fat grafting. *Ann Med Surg.* 27 Haziran 2017;20:49-60.
2. Nakamura S, Ishihara M, Takikawa M, Murakami K, Kishimoto S, Nakamura S, Kishimoto S, Yanagibayashi S, Kubo S, Yamamoto N, Kiuosawa T, Platelet-Rich Plasma (PRP) Promotes Survival of Fat-Grafts in Rats: *Ann Plast Surg.* Temmuz 2010;65(1):101-6.
3. Pinski KS, Roenigk HH. Autologous Fat Transplantation. *J Dermatol Surg Oncol.* 1992;18(3):179-86.
4. Mazzola RF, Mazzola IC. History of Fat Grafting. *Clin Plast Surg.* Nisan 2015;42(2):147-53.
5. Sezgin B, Ozmen S, Bulam H, Omeroglu S, Yuksel S, Cayci B, vd. Improving fat graft survival through preconditioning of the recipient site with microneedling. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* Mayıs 2014;67(5):712-20.
6. Hu Y, Jiang Y, Wang M, Tian W, Wang H. Concentrated Growth Factor Enhanced Fat Graft Survival: A Comparative Study. *Dermatol Surg.* Temmuz 2018;44(7):976-84.
7. Baek RM, Park SO, Jeong EC, Sik Oh H, Kim SW, Minn KW, vd. The Effect of Botulinum Toxin A on Fat Graft Survival. *Aesthetic Plast Surg.* 01 Haziran 2012;36(3):680-6.
8. Peer LA. LOSS OF WEIGHT AND VOLUME IN HUMAN FAT GRAFTS: WITH POSTULATION OF A "CELL SURVIVAL THEORY". *Plast Reconstr Surg.* Mart 1950;5(3):217-30.
9. Gersch RP, Fourman MS, Dracea C, Bui DT, Dagum AB. The Delay Phenomenon: Is One Surgical Delay Technique Superior? *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 23 Ekim 2017 [a.yer 04 Ocak 2021];5(10).
10. Yücel S, Günay GK, Ünverdi ÖF. Effects of Ultrasound-Assisted Preconditioning on Critically Ischemic Skin Flaps: An Experimental Study. *Ultrasound Med Biol.* 01 Mart 2020;46(3):660-6.
11. Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A Review of Therapeutic Ultrasound: Biophysical Effects. *Phys Ther.* 01 Temmuz 2001;81(7):1351-8.
12. Weinstein Velez M, Ibrahim O, Petrell K, Dover JS. Nonthermal Pulsed Ultrasound Treatment for the Reduction in Abdominal Fat. *J Clin Aesthetic Dermatol.* Eylül 2018;11(9):32-6.
13. Wassermann F. The development of adipose tissue. İçinde: *Comprehensive Physiology American Cancer Society;* 2011 s. 87-100.
14. Ovalle WK, Nahirney PC. Connective Tissue. İçinde: *Netter's Essential Histology [İnternet].* 3. bs Philadelphia, PA: Elsevier; 2021 [a.yer 04 Ocak 2021]. s. 55-75.

15. Colaianni G, Colucci S, Grano M. Anatomy and Physiology of Adipose Tissue. İçinde: Lenzi A, Migliaccio S, Donini LM, editörler. Multidisciplinary Approach to Obesity: From Assessment to Treatment Springer International Publishing; 2015 s. 3-12.
16. Ergün A. Yağ Dokusu ve Yağ Hücreleri. Türkiye Klin Tıp Bilim Derg. 2005;25(3):412-20.
17. Kaminski M, Vaughan R. The Anatomy and Physiology Metabolism/Nutrition of Subcutaneous Fat. İçinde 2006. s. 17-25.
18. Coleman SR. Facial Recontouring with Lipostructure. Clin Plast Surg. 01 Nisan 1997;24(2):347-67.
19. Coleman SR. Long-Term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. Aesthetic Plast Surg. 01 Eylül 1995;19(5):421-5.
20. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, vd. Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies. Tissue Eng. 01 Nisan 2001;7(2):211-28.
21. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, vd. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell. 2002;13(12):4279-95.
22. Sydney R. Coleman, Riccardo F. MAzzola Fat injection : from filling to regeneration Quality Medical Publishing Inc.,St. Louis Mo., 2009.
23. Dr Polat Yiğit. Tıpta Uzmanlık Tezi, Alıcı Sahanın Hirüdin ile Önkoşullamının Yağ Grefti Yaşayabilirliğine Etkisi. [Ankara]; 2015.
24. Dr Mert Seçer. Tıpta Uzmanlık Tezi, Otolog Yağ Greftlerinin Sağkalımında Astaksantin Etkisi. [Eskişehir]; 2018.
25. Cin B, Ciloglu NS, Omar S, Kaya Terzi N. Effect of Rosmarinic Acid and Alcohol on Fat Graft Survival in Rat Model. Aesthetic Plast Surg. Şubat 2020;44(1):177-85.
26. Khoobehi K. Fat grafting to the breast. İçinde: Body Contouring and Liposuction. Philadelphia, PA; 2013 s. 43-55.
27. Klinger M, Marazzi M, Vigo D, Torre M. Fat injection for cases of severe burn outcomes: a new perspective of scar remodeling and reduction. Aesthetic Plast Surg. Mayıs 2008;32(3):465-9.
28. Mojallal A, Lequeux C, Shipkov C, Breton P, Foyatier J-L, Braye F, vd. Improvement of Skin Quality after Fat Grafting: Clinical Observation and an Animal Study. Plast Reconstr Surg. Eylül 2009;124(3):765-74.
29. Brongo S, Nicoletti GF, La Padula S, Mele CM, D'Andrea F. Use of Lipofilling for the Treatment of Severe Burn Outcomes. Plast Reconstr Surg. Ağustos 2012;130(2):374e.
30. Bruno A, delli Santi G, Fasciani L, Cempanari M, Palombo M, Palombo P. Burn Scar Lipofilling: Immunohistochemical and Clinical Outcomes. J Craniofac Surg. Eylül 2013;24(5):1806-14.
31. Rigotti G, Marchi A, Galiè M, Baroni G, Benati D, Krampera M, vd. Clinical Treatment of Radiotherapy Tissue Damage by Lipoaspirate Transplant: A Healing Process Mediated by Adipose-Derived Adult Stem Cells. Plast Reconstr Surg. 15 Nisan 2007;119(5):1409-22.
32. Hymes SR, Strom EA, Fife C. Radiation dermatitis: Clinical presentation, pathophysiology, and treatment 2006. J Am Acad Dermatol. 01 Ocak 2006;54(1):28-46.

33. Lo JC, Mulligan K, Tai VW, Algren H, Schambelan M. "Buffalo hump" in men with HIV-1 infection. *The Lancet*. 21 Mart 1998;351(9106):867-70.
34. Mori A, Lo Russo G, Agostini T, Pattarino J, Vichi F, Dini M. Treatment of human immunodeficiency virus-associated facial lipoatrophy with lipofilling and submalar silicone implants. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 01 Kasım 2006;59(11):1209-16.
35. Tonnard P, Verpaele A, Peeters G, Hamdi M, Cornelissen M, Declercq H. Nanofat Grafting: Basic Research and Clinical Applications. *Plast Reconstr Surg*. Ekim 2013;132(4):1017-26.
36. Hoang D, Orgel MI, Kulber DA. Hand Rejuvenation: A Comprehensive Review of Fat Grafting. *J Hand Surg*. Mayıs 2016;41(5):639-44.
37. Kao W-P, Lin Y-N, Lin T-Y, Huang Y-H, Chou C-K, Takahashi H, vd. Microautologous Fat Transplantation for Primary Augmentation Rhinoplasty: Long-Term Monitoring of 198 Asian Patients. *Aesthet Surg J*. 01 Haziran 2016;36(6):648-56.
38. O'Neill RC, Abu-Ghname A, Davis MJ, Chamata E, Rammos CK, Winocour SJ. The Role of Fat Grafting in Buttock Augmentation. *Semin Plast Surg*. Şubat 2020;34(1):38-46.
39. Pu LLQ. Mechanisms of Fat Graft Survival. *Ann Plast Surg*. Ağustos 2016;77:S84.
40. Carpaneda CA, Ribeiro MT. Percentage of graft viability versus injected volume in adipose autotransplants. *Aesthetic Plast Surg*. 01 Aralık 1994;18(1):17-9.
41. Jianhui Z, Yi C, Li L, Zheng Y, Wu K, Liang L, vd. Observations on the Survival and Neovascularization of Fat Grafts Interchanged between C57BL/6-gfp and C57BL/6 Mice. *Plast Reconstr Surg*. 09 Mayıs 2012;130:398e-406e.
42. Suga H, Eto H, Aoi N, Kato H, Araki J, Doi K, vd. Adipose tissue remodeling under ischemia: death of adipocytes and activation of stem/progenitor cells. *Plast Reconstr Surg*. Aralık 2010;126(6):1911-23.
43. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, vd. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg*. Mayıs 2012;129(5):1081-92.
44. Fontes T, Brandão I, Negrão R, Martins MJ, Monteiro R. Autologous fat grafting: Harvesting techniques. *Ann Med Surg*. 13 Kasım 2018;36:212-8.
45. Li K, Gao J, Zhang Z, Li J, Cha P, Liao Y, Lu F, Wang G, Selection of donor site for fat grafting and Cell isolation, *Aesth Plast Surg*, 2013 37:153-158
46. Small K, Choi M, Petruolo O, Lee C, Karp N, Is There an Ideal Donor Site of Fat for Secondary Breast Reconstruction? | *Aesthetic Surgery Journal* | Oxford Academic 2014 34(4) 545-550
47. Tsekouras A, Mantas D, Tsilimigras DI, Moris D, Kontos M, Zografos GC. Comparison of the Viability and Yield of Adipose-Derived Stem Cells (ASCs) from Different Donor Areas. *In Vivo*. 11 Ocak 2017;31(6):1229-34.
48. Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson REHJ, Vasconez HC. Autologous Fat Grafts Harvested and Refined by the Coleman Technique: A Comparative Study. *Plast Reconstr Surg*. Eylül 2008;122(3):932-7.

49. Erdim M, Tezel E, Numanoglu A, Sav A. The effects of the size of liposuction cannula on adipocyte survival and the optimum temperature for fat graft storage: an experimental study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 01 Eylül 2009;62(9):1210-4.
50. Özsoy Z, Kul Z, Bilir A. The Role of Cannula Diameter in Improved Adipocyte Viability: A Quantitative Analysis. *Aesthet Surg J*. 01 Mayıs 2006;26(3):287-9.
51. Strong AL, Cederna PS, Rubin JP, Coleman SR, Levi B. The Current State of Fat Grafting: A Review of Harvesting, Processing, and Injection Techniques. *Plast Reconstr Surg*. Ekim 2015;136(4):897-912.
52. Klein JA. Anesthesia for Liposuction in Dermatologic Surgery. *J Dermatol Surg Oncol*. 1988;14(10):1124-32.
53. Weichman KE, Warren SM. Effects of Lidocaine Plus Epinephrine and Prilocaine on Autologous Fat Graft Survival. *J Craniofac Surg*. Temmuz 2012;23(4):1019.
54. Ganidağlı E, Güzel R. Terapötik Ultrason ve Diz Osteoartritinde Etkinliği. *Arşiv Kaynak Tarama Derg*. 01 Haziran 2013;22(2):170-83.
55. Fyfe MC, Bullock MI. Therapeutic Ultrasound: Some Historical Background and Development in Knowledge of its Effect on Healing. *Aust J Physiother*. 01 Ocak 1985;31(6):220-4.
56. Zhou B, Leung BYK, Sun L. The Effects of Low-Intensity Ultrasound on Fat Reduction of Rat Model. *BioMed Res Int*. 23 Ağustos 2017;2017:e4701481.
57. Cunha A da, Parizotto NA, Vidal B de C. The effect of therapeutic ultrasound on repair of the achilles tendon (tendo calcaneus) of the rat. *Ultrasound Med Biol*. 01 Aralık 2001;27(12):1691-6.
58. Dinno MA, Dyson M, Young SR, Mortimer AJ, Hart J, Crum LA. The significance of membrane changes in the safe and effective use of therapeutic and diagnostic ultrasound. *Phys Med Biol*. Kasım 1989;34(11):1543-52.
59. Mortimer AJ, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on calcium uptake in fibroblasts. *Ultrasound Med Biol*. 1988;14(6):499-506.
60. Doan N, Reher P, Meghji S, Harris M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on cell proliferation, protein synthesis, and cytokine production by human fibroblasts, osteoblasts, and monocytes. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg*. Nisan 1999;57(4):409-19; discussion 420.
61. Young SR, Dyson M. Macrophage responsiveness to therapeutic ultrasound. *Ultrasound Med Biol*. 1990;16(8):809-16.
62. Young SR, Dyson M. Effect of therapeutic ultrasound on the healing of full-thickness excised skin lesions. *Ultrasonics*. Mayıs 1990;28(3):175-80.
63. Noble JG, Lee V, Griffith-Noble F. Therapeutic ultrasound: the effects upon cutaneous blood flow in humans. *Ultrasound Med Biol*. Şubat 2007;33(2):279-85.
64. Jewell ML, Solish NJ, Desilets CS. Noninvasive Body Sculpting Technologies with an Emphasis on High-Intensity Focused Ultrasound. *Aesthetic Plast Surg*. 01 Nisan 2011;35(5):901.
65. Mazzoni D, Lin MJ, Dubin DP, Khorasani H. Review of non-

invasive body contouring devices for fat reduction, skin tightening and muscle definition. *Australas J Dermatol.* 2019;60(4):278-83.

66. Sklar LR, El Tal AK, Kerwin LY. Use of Transcutaneous Ultrasound for Lipolysis and Skin Tightening: A Review. *Aesthetic Plast Surg.* 01 Nisan 2014;38(2):429-41.

67. Farcic S.T, Baldan S.C., Machado P. F.Caffaro,M.A.L, Casaratto A. R., Masson B.F., Collagen Fibers in the Healing Process of Rat Achilles Tendon Rupture Using Different Times of Ultrasound Therapy | *Advances in Wound Care* 2018, 114-120

68. Byl NN, McKenzie A, Wong T, West J, Hunt TK. Incisional wound healing: a controlled study of low and high dose ultrasound. *J Orthop Sports Phys Ther.* Kasım 1993;18(5):619-28.

69. Robertson J. V. , Dosage and treatment response in randomized clinical trials of therapeutic ultrasound *Physical Therapy inSport* 2002. 3. 124-133

70. Sahin Z, Acar N, Ozbey O, Ustunel I, Demir R. Distribution of Notch family proteins in intrauterine growth restriction and hypertension complicated human term placentas. *Acta Histochem.* Mayıs 2011;113(3):270-6.

71. Mehmet Uzuner. Tıpta Uzmanlık Tezi Sıçanlarda Topikal Melatonin Uygulamasının Otolog Yağ Greftlerinin Sağ Kalımı Üzerine Etkinliğinin Araştırılması: Eskişehir 2017

72. Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Aoi N. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. *Regen Med.* 01 Kasım 2011;6:33-41.

73. Klein JA. The Tumescent Technique: Anesthesia and Modified Liposuction Technique. *Dermatol Clin.* 01 Temmuz 1990;8(3):425-37.

74. Bozkurt M, Şirinoğlu H., Güvercin E., Filinte T.G., Filinte D, The effects of the centrifugation speed on the survival of autogenous fat grafts in a rat model: *Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery: Vol 50, No 3* 2016, 161-166

75. Butala P, Hazen A, Szpalski C, Sultan SM, Coleman SR, Warren SM. Endogenous Stem Cell Therapy Enhances Fat Graft Survival. *Plast Reconstr Surg.* Ağustos 2012;130(2):293-306.

76. Guerrerrosantos J, Gonzalez-Mendoza A, Masmela Y, Gonzalez MA, Deos M, Diaz P. Long-term survival of free fat grafts in muscle: an experimental study in rats. *Aesthetic Plast Surg.* Ekim 1996;20(5):403-8.

77. Dr. Osman Serdar Berk, Ratlarda MC. farlane flep modelindetranskutanöz elektrik sinir stimülasyonu ve ultrason uygulanarak ön koşullamanın flep yaşamı üzerine etkileri [Kayseri 2021

78. Young SR, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis. *Ultrasound Med Biol.* 1990;16(3):261-9.