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

KIKIRDAK DEFEKTLERİNİN ONARIMINDA YAĞ GREFTİ KULLANIMI

Dr. Vugar ALAKBAROV

UZMANLIK TEZİ

BURSA - 2013

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

KIKIRDAK DEFEKTLERİNİN ONARIMINDA YAĞ GREFTİ KULLANIMI

Dr. Vugar ALAKBAROV

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof.Dr. Selçuk AKIN

BURSA – 2013

İÇİNDEKİLER

Özet……..……..…….. II

İngilizce Özet…...…….…….. IV

Giriş...…….. 1

Kıkırdak dokusu

I. Kıkırdak Dokusunun Histolojisi..... 2

II. Kıkırdak Rejenerasyonu……..…… 7

III. Kollajen…….……...…….... 8

Perikondrium…….……..……..... 10

Yağ Dokusu…..…….……... 10

I. Yağ Dokusunun Histolojisi…….…….... 10

II. Yağ Grefti…….…….……..... 17

Gereç ve Yöntem…….……..…..… 19

Bulgular…….……..……..……..…… 29

Histolojik Değerlendirme……..…. 33

Tartışma ve Sonuç…….……..…. 39

Kaynaklar…….……..…….. ……...……. 44

Teşekkür……..…….. 53

Özgeçmiş…….. 54

ÖZET

İnsan vücudunun önemli bir destek dokusu olan kıkırdakta ortaya çıkan doku kaybının rekonstrüksiyonu her zaman zor bir durumdur. Kıkırdak defektlerinde, hiyalin kıkırdak yerine fibröz kıkırdak gelişimi yaranın daha kronikleşmesine, ilerleyen dönemde artrozis veya skar dokusu oluşumu gibi sonuçlara yol açmaktadır. Son zamanlarda kök hücre ile ilgili yapılan araştırmalar , doku defektlerinin kısmen de olsa bir sorun olmaktan çıkmasını sağlamıştır. Doku mühendisliğindeki gelişmeler ile artık yağ dokusundaki kök hücreler zenginleştirilmekte ve yağ dokusuyla birlikte transfer edilmektedir. Transfer edilen yağ dokusu dolgunluk yaratmakla birlikte, kök hücreler vücudun gereksinim duyduğu hücrelere dönüşmekte ve yeni doku oluşumu için başarıyla kullanılmaktadır. Kıkırdak doku, organizmada rejenerasyon kabiliyeti en zayıf dokulardan biridir. Son zamanlar da çeşitli bölgelere doku yenileme amaçlı kullanılan kök hücreden zengin yağ gretleri uygulaması üzerine bir çok araştırmalar yapılmaktadır. Yağ greftleri uygulaması ile kıkırdak onarımı mümkün olduğunda, bu hem donör alan morbiditesini azaltacak, hem de donör alan sorununu çözecektir.

Çalışmamızda bu durumu göz önüne alarak kıkırdak defektlerinin onarımı için kök hücreden zengin yağ dokusunu kullanmaya karar verdik. Bunun için, 10 adet, beyaz Yeni Zelanda türü tavşan üzerinde çalışıldı. Tavşanların sağ kulağı deney grubu ve sol kulağı kontrol grubu olarak kullanıldı. Her iki kulakta cilt ve perikondrium flep şeklinde kesilerek kaldırıldı. Flep kaldırıldıktan sonra 1x1 cm boyutlarında kıkırdak dokusu eksize edildi. Sağ kulaktaki defektli alana kasık bölgesinden aldığımız yağ grefti uygulandı. Kontrol grubu olarak belirlediğimiz sol kulaktaki kıkırdak defektine bir işlem yapılmadan üzerindeki flep kapatıldı.

Tavşanlar 8 hafta süre ile takip edildi. Tavşanların kulaklarından

a yakın kapandığı görüldü. İstatistik olarak (Mann-Whitney testi) deney grubunda medyan kıkırdak rejenerasyon düzeyi 60,89 mm^2 iken, kontrol grubunda medyan kıkırdak rejenerasyon düzeyi 38,40mm^2 bulundu (P <0.05). Histolojik değerlendirmede deney grubunda, defekt bölgesinde minimal düzeyde perikoçıkarılan 1.2x1.2 cm'lik kıkırdak doku parçaları üzerinde milimetrik ölçüm yapıldı (image J programı ile) ve sonuçlar karşılaştırıldı. Kontrol grubunda kıkırdak defektinin tam kapanmadığı, deney grubunda ise kıkırdak defektinin tam yada tamndrium kaynaklı kıkırdak benzeri yeni doku oluşumu saptandı.

Sonuç olarak kıkırdak defektlerinin kapatılmasında yağ grefti uygulamasının etkili olabileceğini ve bunun için daha ileri deney ve araştırmalar gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Kıkırdak defekti, yağ grefti, rejenerasyon, kök hücre.

SUMMARY

Use of Fat Graft for Repair of Cartilage Defects

Reconstruction of cartilage tissue defects which is an important connective tissue of human body has always been a difficult condition. Development of fibrous cartilage rather than hyaline cartilage ends up with wound chronicity in cartilage defects and results scar formation or artrosis in subsequent periods. Recent researchs upon stem cells prohibited tissue defects count as problems. Enriching stem cells in adipose tissue and them within adipose tissue are possible with advances in tissue engineering. The transferring of adipose tissue creates fullness, stem cells transform into cells which are needed and can be used for producing new tissue. The cartilage tissue is one of the weakest regenerative tissue of human body. Recently, many studies has been made on stem cell rich adipose tissue grafts for tissue regeneration for solving the problem of donor area, especially decreasing morbidity of donor area when cartilage repair is possible with fat graft.

Considering this situation, we decided to use stem cell enriched adipose tissue in our research. 10 white New Zeland type rabbits used. The right ear of rabbits in the experimental group was used. For the control group left ear was chosen. The perichondrium and skin cut and removed as flaps in both ears. After removing flaps, excised size of 1x1cm cartilage. Fat graft was taken from the groin area, used on the right ear defect, which is decided as experimental group. The flap located over the tissue defect without any intervention in the left ear, which is decided as control group.

The rabbits had been followed for 8 weeks. Millimetric measurement were made (with image J program) on the size of 1x1 cm. Cartilage tissu fragments extracted from both ears of rabbits and the results were

compared. The defects were not repaired in control group, but in experimental group the defects were repaired partially or completely. Statistically (Mann-Whitney test) while the level of median cartilage in experimental group was 60,89mm^2 and in control group the level of median cartilage was 38,40mm^2 ($P<0,05$). In histological evaluation, perichondrium derived new cartilage tissue was detected in experimental group.

We think that the fat graft is effective for repairing cartilage defects but further research and experiments are necessary.

Key words: Cartilage defects, fat graft, regeneration, stem cell.

GİRİŞ

Kıkırdak, insan vücudunda önemli görevleri olan bir destek bağ dokusudur. (1,2). Kıkırdağın %70-75 kısmı su, %15-20 kısmı kollajen ve %2-10 kısmı proteoglikandır. Kıkırdağın gerilim direncini kollajen, esnekliğini ise proteoglikan oluşturur. Eklemlerde yükün dağılmasında, yüklerin tendon ve kemik arasında aktarılmasında ve dış yapılara esnek bir destek sağlamasında önemli rol oynayan, özelleşmiş bir bağ dokusudur (1,3-6). Bu önemli dokunun konjenital yokluğunda, travmatik veya cerrahi kaybında, fonksiyon bozuklukları ve estetik kusurlar ortaya çıkar (2). Kıkırdak doku kemik dokudan daha yumuşak ve esnek bir yapıya sahiptir ve yapısında damar ve sinir bulunmaz. Kıkırdak hücreleri difüzyon yoluyla etraftaki bağ dokulardan beslenirler (4,5).

Kıkırdak defektlerini onarmak için, en sık başvurulan yöntem, otojen kıkırdak transplantasyonudur (2,3,7). Otojen kıkırdak kullanımı, ilk kez 1896 yılında, Koenig (7) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu uygulamanın modern çağa taşınması ise, 1940 yılında, Lyndon Peer (7) sayesinde olmuştur. Otojen greftlerin, büyüyebildiği veya küçük partiküller halinde yerleştirilse bile, yaşayabildiği gösterilmiştir (3). Ama zamanla rezorbe olmaları, donor alanlarının sınırlı olması, bazı donor alan morbiditeleri ve alındıkları yerde defekt kalması gibi sakıncalar, araştırmacıları yeni seçenekler bulmaya zorlamıştır (2).

Lester (8) 1959 yılında, kıkırdaktan ayrılan perikondriumun, yeni kıkırdak dokusuna neden olduğunu bildirmiştir. Bunun klinik önemi, 1972 yılında, Skoog ve ark. (9) tarafından güreşçi kulağının etyolojisi araştırılırken, perikondriumun kıkırdak oluşturma kapasitesinin olduğu farkedilene kadar

anlaşılamamıştır. Skoog ve ark. (9,10), perikondriumun, altındaki kıkırdaktan ayrılmasının, kontakt inhibisyonu ortadan kaldırdığını ve bu sayede yeni kıkırdak oluştuğunu göstermişlerdir.

Perikondriumun kıkırdak yapıcı potansiyeli olduğunun anlaşılmasından sonra, serbest perikondrium greftlerinden kıkırdak rejenerasyonu konusunda çalışmalar yapılmıştır (8,11). Bu çalışmalar, önceleri perikondriumun fleplerinde başlamış (9,10), daha sonra serbest perikondrium greftleri üzerinde yoğunlaşmıştır (12-14). İnsanda perikondrium fleplerinin, kıkırdak rejenerasyonu için kullanılması son derece sınırlı kalmıştır (15). Bunun nedeni, sadece komşu kıkırdak defektlerinde kullanılabilmeleridir. Bundan dolayı da, bu konu üzerinde fazla çalışma yapılmamıştır. Ancak, sekonder arteriyel perikondrial flepler üzerinde yapılan çalışmalar vardır (2).

Kıkırdak Dokusu

I - Kıkırdak Dokusunun Histolojisi

Tüm kıkırdak dokuları, kondrositler, kondroblastlar ve bunların sentezlediği proteoglikan ve kollajen, fibrillerden oluşan ekstraselüler matriksten meydana gelir. Ekstraselüler matriksin miktarı ve düzeni, kıkırdak tipleri arasında farklılık gösterir (1).

Kıkırdak dokusu, diğer bağ dokuları gibi mezenşimden gelişir. Kıkırdağın gelişeceği yerde mezenşim hücreleri yuvarlak ve yoğun bir hal alırlar. Hücre içi ortamda kollajen fibrilleri birikir. Artık isimleri kondroblast olan bu hücreler, ara madde ve kollajen fibrilleri oluştururlar. Hücreler farklılaştıkça, etrafında oluşan ara madde nedeniyle birbirlerinden ayrılırlar ve küçük çekirdekli, soluk sitoplazmalı, olgun kıkırdak hücreleri olan kondrosit yapısını kazanırlar. Vakuol, lipid ve glikojen biriktirirler. Genişleyen kıkıdak kitlesini çevreleyen mezenşim sıkışır ve fibröz bir kılıf olan perikondriumu oluşturur. Bu yapı bir kıkırdağa, diğer tarafta bağ dokusuna komşudur (4,6).

Kıkırdak gelişimi iki yolla devam eder:

1) Genişlemeye izin verecek kadar elastik olan genç kıkırdakta, interstisiyel (endojen) olarak oluşur. Burada yeni kondroblastlar matriksten kaynaklanırlar (3,4,9).

2) Apozisyonel büyümede ise köken perikondriumun içi tabakasındaki kondroblastlardır. Bu büyüme, yüzeye yeni kıkırdak tabakalarının eklenmesi şeklinde olur. Perikondriumun içindeki fibroblastlar, bölünerek çoğalırlar ve bazıları kıkırdak hücrelerine dönüşürler ve kendi etraflarını hücrelerarası madde ile çevrelerler. Zamanla, bunlara perikondriumdan köken alan yeni hücreler ve matriks eklenir (3,4,6).

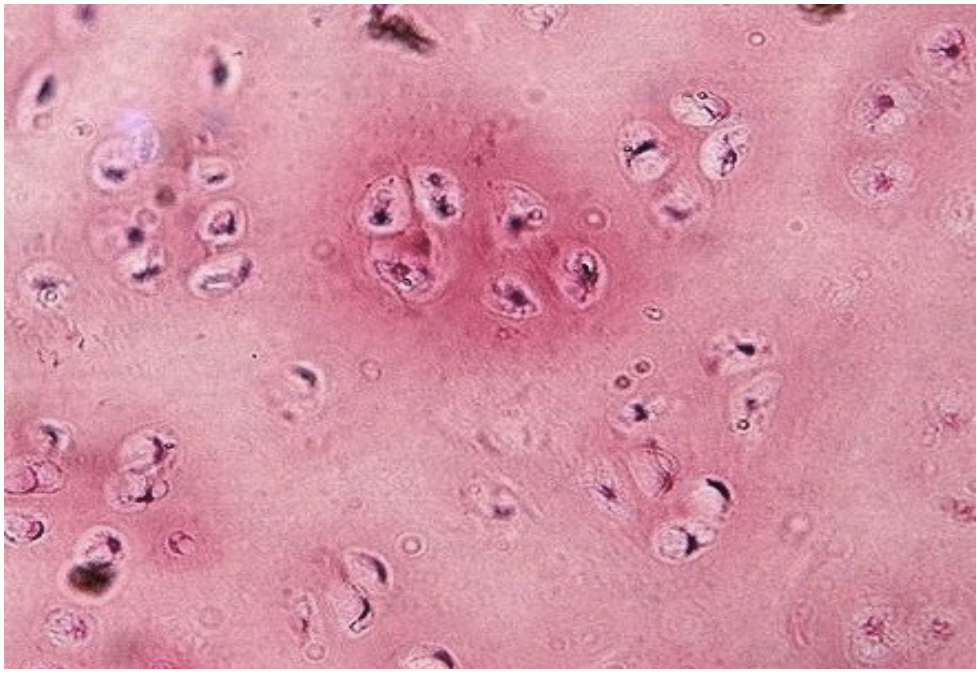
Kıkırdak, kondron adı verilen birimlerden oluşur. Kondronu ise, hyaluronik asit ve proteoglikandan zengin bir periselüler matriksle çevrili kondrositler oluşturur. En dışta da, yoğun proteoglikan birikimleriyle birlikte bulunan kollajen benzeri fibriler materyal ağından meydana gelen periselüler kapsül bulunur (1). Poole ve ark. (15) periselüler matriksi, aralarında kondanse proteoglikan granülleri bulunan ince, dallanan, filamentoz bir ağ olarak tanımlamışlardır. Işık mikroskobu düzeyinde, kondrositler lakün adı verilen boşluk veya kompartmanlar içinde görülürler (1). Elektron mikroskopide, periselüler kapsülün hemen dışında bulunan 5-10mm'lik, daha açık boyanan bir bölge territorial matriks olarak adlandırılmıştır (16-18).

Kıkırdak dokusu ara maddesine gore üçe ayrılır.

A - Hiyalin Kıkırdak.

En sık rastlanan kıkırdak tipidir. Yunanca 'hyalos' yani 'cam' kelimesinden kaynaklanır. Az ışık geçirgen matriksi nedeniyle bu ismi almıştır. Hiyalin kıkırdak, yapısal, biyokimyasal ve mekanik olarak araştırılmış ve dört zona ayrılmıştır. Bunlar yüzeyel (tanjansiyel), intermediate (ara), derin (radial) ve kalsifiye zonlar veya I, II, III ve IV zonlardır. Yaklaşık %40 Tip 2 kollajen lifler içerir ve homojen yapıdadır. Bu miktar, ciltteki kollajenin beş katıdır (1,18,19). Metabolizması düşük ve regenerasyon kabiliyeti yoktur.

Vücutta, diartroidal eklemlerde, burun, gırtlak ve nefes borusu gibi solunum yolları duvarlarında bulunur (3,4). Adölesan döneme kadar hiyalin kıkırdak, uzun kemiklerin biçimini ve büyümesini sağlayan epifiz büyüme plağının ayrılmaz parçasıdır (20-22). Sinovial eklemlerin eklem yüzeyini oluşturur ve düşük sürtünme özelliği ile darbe emici perikondriuma sahiptirler. Histolojik incelemede bazı hücrelerin birbirinden ayrılmadığı, ikili yada üçlü izogen gruplar halinde olduğu görülür (Şekil-1). Hücrelerarası temel madde glükozaminoglikanlar ve glikoproteinlerden oluşmuştur (1). Matriks, PAS (Periodic Asit Schiff) yöntemiyle boyanır. Metakromatik özelliğinden dolayı da toluidine mavisi ile pembe kırmızı renge boyanır. Kollajenler ara maddede yerleşik olup çok miktarda su içerir (23). Proteoglikanlar ise jelimsi yapıdadır. Bu her iki yapı birlikte dokunun sağlam olmasını ve diffüzyonun gerçekleşmesini sağlar (22,24,25). Proteoglikanlar özellikle su ve elektrolitlerin taşınmasında önemlidir (26). Hiyalin kıkırdak, iki tip dermatan sülfat proteoglikanı içerir. Bunlar, biglikan ve dekorin adını alırlar (1,18).

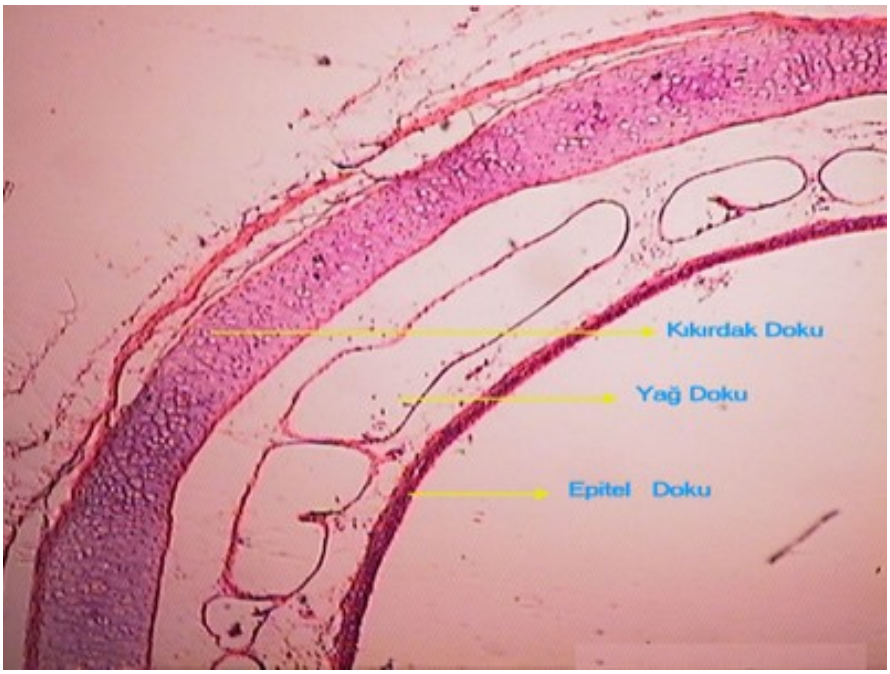


Şekil -1: Hiyalin kıkırdak dokusu (histolojik görünüm 40x).

Lakünaların aralarındaki ve etrafındaki alanların adlandırılması farklıdır. Lakünaların hemen etrafındaki alanlar territorial alan olarak isimlendirilir. Burası liften yoksun ancak, ara maddelerden zengindir (27,28). Burada proteoglikanların yoğun olması PAS pozitif olmasına neden olur. Lakünalar arası alan ise interteritorial alan isimlendirilir (1,17).

B - Elastik Kıkırdak

Hiyalin kıkırdağa benzerdir, fakat Tip2 kollajenle birlikte elastik lifler de içerirler. Taze halde bakıldığında sarımsı renkte olduğundan kolayca farkedilir, elastik yapıdadır. İçerdiği elastin, özel boyalarla görülebilmektedir. Hücreleri yuvarlak ve kapsüllüdür. Hiyalin kıkırdağa oranla elastik kıkırdak hücrelerinin sitoplazmalarında yağ ve glikojen miktarının az olması dikkat çeker (1). Bu durum, kıkırdağı sağlam ama esnek yapar. Katı fakat esnek yapısıyla kulak kepçesi, ses telleri, östaki borusu ve epiglottis gibi organların yapısal bütünlüğünü sağlarken aynı zamanda bükülebilmesine de izin verir (29-32). Elastik kıkırdaklar perikondriuma sahiptirler (3,4) (Şekil-2).

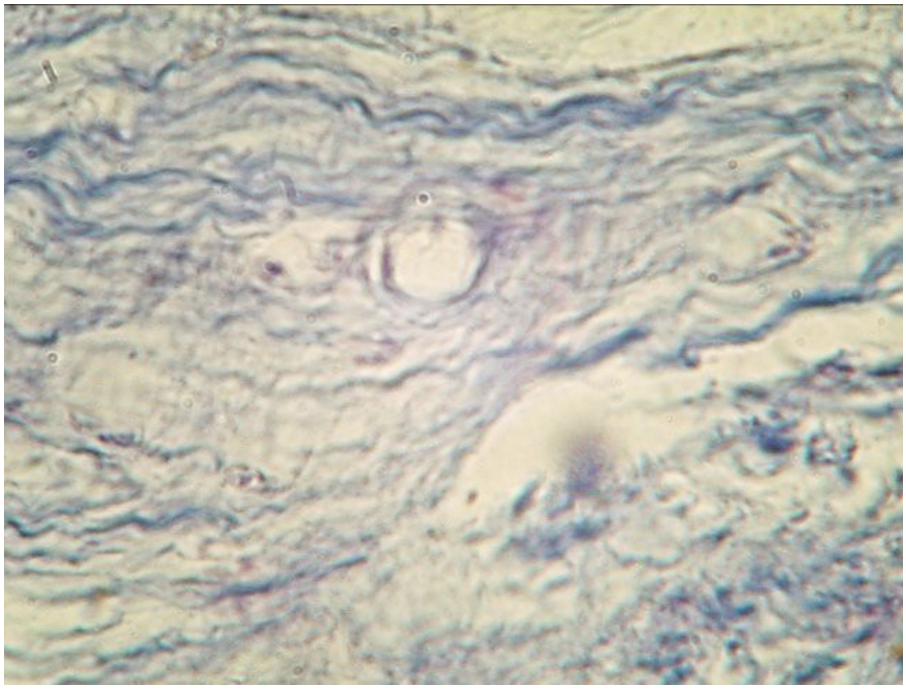


Şekil-2: Elastik kıkırdak dokusu (histolojik görünüm 10x).

C - Fibröz Kıkırdak

Hiyalin kıkırdağa gore daha bol miktarda kollajen içerir. İsmini yoğun oranda fibröz doku içermesinden alır. Zaman zaman beyaz kıkırdak olarak da anılır. Hiyalin ve elastik kıkırdakların tersine, fibröz kıkırdağın perikondriumu bulunmaz.Yaralanan fibröz kıkırdağın yerini, sıkı fibröz bağ dokusu alır (Şekil-3). Vücutta, omurdaki disklerde, diz kapağında, sternoklavikular eklemde, temporomandibular eklemin yüzeylerinde bulunur. Kemiği tendona bağlar, yük dağıtabilme özelliğinden ötürü sinovial eklemlerin menisküslerinde ve vertebralararası eklem disklerinde bulunur (3,4,32-36).

Evans ve ark. (20) bir tutunma yerine yakın ne kadar azalmış hareketlilik varsa, fibrokartilajın o kadar az belirgin olduğu sonucuna varmışlardır.



Şekil-3: Fibröz kıkırdak dokusu (histolojik görünüm 40x).

II - Kıkırdak Rejenerasyonu

Tüm kutanöz yapıları içeren travmalarda, sitokinlerin (İnterlökin-1 dahil) ve büyüme faktörlerinin (trombosit kaynaklı büyüme faktörü)

salınımı, anjiogenezise ve geniş çaplı kollajen fibril ve liflerin birikimine yol açar (1). Skar dokusu oluşumu, travmadan sonra ilk 24 saatte başladığından, genellikle kıkırdağın kendisini onarabilmesinden daha hızlıdır (36,37). Bu nedenle, kanamayı ve enflamasyonu sınırlandırarak skar dokusu oluşumunu en aza indirmek, kıkırdak onarım miktarının en fazla olabilmesi için gereklidir (1,5). Mevcut tedavi yöntemlerinin sınırlı etkileri nedeniyle doku mühendisliği teknikleri ve kök hücre tedavisi geliştirilerek kısmen de olsa kıkırdak doku rejenerasyonu sağlanmaya çalışılmaktadır (37-45). Farklı onarım teknikleri geliştirilse de dokunun aynısı ve işlevsel olarak aynı işi yapabilmesi mümkün değildir. Bir dokunun rejenerasyonu, o bölgedeki hücrelerin çoğalarak dokunun kendi kendini yenileyip defektli kısmı kapatmasıdır (46-48). Bir dokunun onarımı ise, onarılacak dokuya benzeyen ancak yapı, işlev ve içerik olarak farklı bir doku ile defektli kısmın kapatılmasıdır (39-45). Kıkırdağın gelişmesi interstisyel ve apozisyonel olmak üzere iki şekilde olur. Interstisyel tipte kıkırdak dokunun içinden, apozisyonel tipte ise, çevre dokunun yani perikondriumun kondrojenik aktivitesiyle oluşur (1). Mitozla çoğalan kondrositler interstisyel büyümeyi, perikondriumdaki hücreler ise apozisyonel büyümeyi gerçekleştirirler. Her iki çoğalma türü gelişim çağına kadar devam eder. Ancak perikondriumun kondrojenik özelliyi herhangi bir kıkırdak hasarı durumunda harekete geçer (49-50). Kıkırdaklaşma zamanı ara madde çoğalır ve hücreler tekli veya grup halinde ayrılarak ara maddeye dağılırlar. Olgunlaşmış kıkırdak hücrelerine kondrosit denir. Bu hücreler aktif yapıda değillerdir. Doku yenilenmesi sırasında kondroblastlara dönüşerek sentez yapabilme özelliği kazanırlar (51,52). Matriksteki liflerin ve temel maddelerin ışık kırıcılığı birbirlerine çok yakın olduğundan ışık mikroskopunda görünmesi çok zordur. Ancak polarizasyon ve elektron mikroskobuyla rahat ayırt edilebilmektedirler (21,22).

III – Kollajen

Kollajen, vücudun doku ve hücrelerini birarada tutan ve yapısal güçlerinin

önemli bir kısmını sağlayan, güçlü bir fibröz proteindir (18,23-26). Kemik, kıkırdak, cilt, ve tendon gibi dokuların fonksiyonel bütünlüğünü sağlarken, kan damarları ve çoğu organnın yapısal iskeletini oluşturur (18,23,48). İnsan vücudunun kuru ağırlığının %30'unu oluşturan kollajenler, vücutta en çok bulunan proteinlerdir. Onbeşin üzerindeki kollajen tipi, 4 alt gruba ayrılır: Bunlar fibriler kollajen, bazal membranla ilişkili kollajen, fibrille ilişkili kollajen ve kısa zincirli kollajenlerdir (18).

Fibriler kollajenler, dokularda fibriller şeklinde bulunur ve çapları binlerce moleküldür. Bu fibriller, fiberleri oluşturacak şekilde paketlenmiştir. En çok bulunan fibriler kollajen, Tip I kollajendir (18).

Kollajen Tip I: Vücutta en çok bulunandır ve yaygın bir dağılımı vardır. Kollajen lifler olarak, kemik, tendon, organ kapsülleri, dermis gibi dokuları oluşturur.

Kollajen Tip II: Sadece ince fibriller halindedir. Esas olarak, hiyalin ve elastik kıkırdakta bulunur.

Kollajen molekülleri hücrelerden salındıktan sonra, kemik, kıkırdak, cilt ve tendon dokularının fonksiyonel yapısından sorumlu lif biçimindeki yapılarına kavuşurlar. Ayrıca, çoğu organ ve kan damarları için yapısal iskelet oluştururlar. Diğer yakın moleküllerle çapraz bağlar yaparak, fiziksel strese karşı koyabilecek dirence sahip olurlar. Birçok normal ve patolojik durumda, dokuların iskeletlerini onarma ve yeniden oluşturma yetenekleri ön plana çıkar. Travma veya cerrahi sonrası, kollajenin anormal birikimi, fonksiyonu bozabilir. Ayrıca, kollajenin organizasyonunda ve yapısında oluşacak değişiklikler, birçok patolojiye yol açabilirler (27, 29-31).

Tip I,II,III,V ve XI kollajenler, bantlı ve lif oluşturan kollajenler olarak sınıflandırılır ve bunlar evrimsel olarak, birbirleriyle yakın ilişkilidirler (28). Kıkırdak dokusunda bulunan diğer bir tip kollajen, tip XI kollajendir. Tip XI 'in fonksiyonu bilinmemekle birlikte, tip II kollajen fibrillerinin büyümesini ve çaplarını düzenlediği varsayılmaktadır. Dokularda tek çeşit kollajen oluşumu nadirdir. İleri tekniklerle, hemen tüm

dokuların, farklı oranlarda birçok kollajen içerdiği bulunmuştur. Kıkırdak yapılarda Tip II kollejenin, bazal membranlarda Tip IV kollajenin bulunması, kollajenin tiplerine göre doku seçiciliğinin örnekleridir. Küçük fibrillerden oluşan Tip I kollajen ise,daha az girebilen, skar dokusu gibi daha yoğun dokularda bulunmaktadır. Kollajen sentezi, çok fazla basamaktan oluştuğu için, birçok noktada, hastalık veya anormal enzimler tarafından durdurulur veya değiştirilir. Bu yüzden, yetersiz veya anormal kollajen sentezine bağlı olarak, birçok patolojik durum ortaya çıkar. Ayrıca, kollajenin fazla birikimi de bazı hastalıklara yol açar.

Kollajen yıkımı sentezinden daha kolaydır. Kollajenazlar adı verilen enzimler tarafından yıkılır (18-20).

IV – Perikondrium

Perikondrium, kıkırdağı saran yoğun bağ dokusundan oluşmuş, kapsül benzeri bir kılıftır. Kıkırdak ve kıkırdağın desteklediği doku arasında bir ara düzey oluşturur (30). Avasküler olan kıkırdak için, vasküler yapıları sağlar. Hareketli eklemlerin yüzeyini kaplayan eklem kıkırdağı, perikondrium içermez. Eklem kıkırdakları besin ve oksijeni, synovial sıvıdan diffüzyonla alırlar (5).

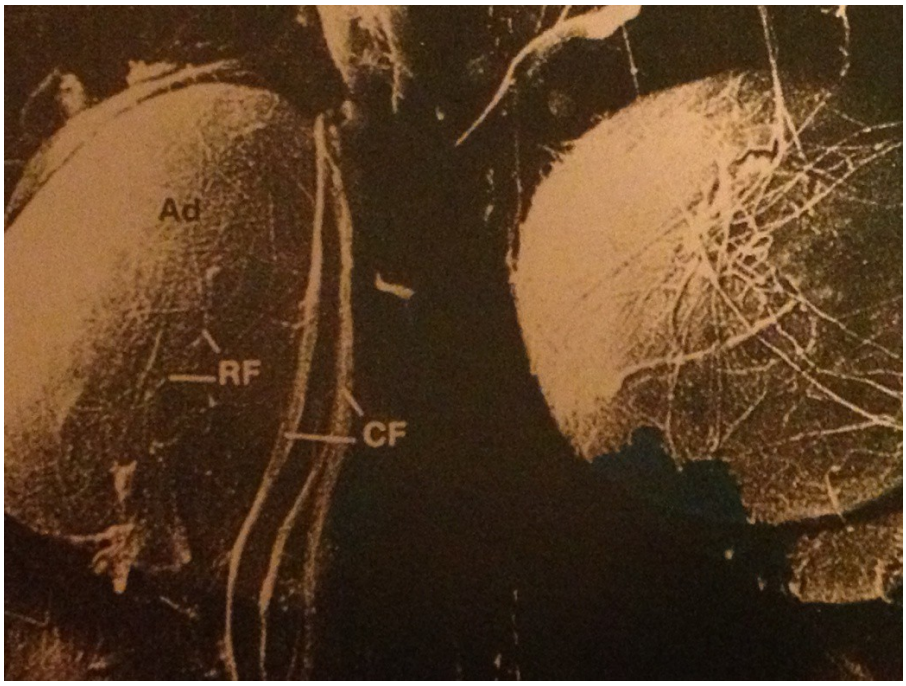
Perikondrium, kıkırdağın büyümesi ve devamlılığı için gereklidir. Tip I kollajen liflerden zengindir ve çok sayıda fibroblast içerir. İç tabakalarındaki hücreler, fibroblast olarak tanımlanmasına rağmen, bunlar aynı zamanda kondroblastlardır ve kolaylıkla kondrositlere dönüşebilirler (5).

Gelişme çağı dışında, hasarlanan kıkırdak zorlukla ve çoğu zaman yetersiz rejenere olur. Rejenerasyon perikondriumun aktivitesi sonucu olur (33). Kıkırdak bütünlüğü bozulduğunda, perikondrium kaynaklı kondroblastlar defekt bölgesine gelerek yeni kıkırdak oluştururlar (3-6). Perikondrium olgunlaşmış kıkırdağa temas ettiğinde, yeni kıkırdak oluşumu inhibe olur (16). Eğer hasar genişse, perikondrium yeni kıkırdak oluşturamaz; bu durumda defekt yoğun bağ dokusundan oluşan skar dokusu ile kapatılır (5,31,32).

Yağ Dokusu

I - Yağ Dokusunun Histolojisi

Yağ dokusu adiposit adı verilen içi lipid dolu olan hücrelerden meydana gelir. Adipositlerin içi, özellikle trigliseritlerin meydana getirdiği lipid damlası ile tamamen doludur. Hücrenin nükleusu, yassılaşarak kenara itilmiş olarak durur ve hücrenin toplam ağırlığının sadece 1/40'nı teşkil eder. Adipositler içindeki lipid miktarı olarak, hücreden hücreye farklılık gösterir (53,54). Adipositlerin duvarı ince flamanlarla bezenmiş, dayanıksız bir membrandır. Asıl hücre zarı kuvvetini bu membranı destekleyen dış yapıları verir. Adipositlerin yüzeyleri kollajen lifler ve retiküler liflerle desteklenmiştir (55-58) (Şekil-4). Yağ hücrelerinin sağlamlığını bu destek yapılar sağlar. Kapiller damarlar adipositlerin aralarından geçerler ve hücre duvarı ile yakın temas halindedirler. Aslında yağ dokuları kanlanması iyi olan diğer dokulara gore damar/hücre oranı fazla olan dokulardır. Hücre kümelerinin kendi vasküler pedikülleri ile topluluklar meydana getirmesi yağ lobüllerini oluşturur. Lobülü oluşturan hücreler ince, lobüller ise çepeçevre kalın bir fibrotik septa ile çevrelenirler (55,57).



Şekil-4: Yağ hücresi. **RF:** retiküler lifler, **CF:** kollajen lifler, **AD:** adipozitler. (histolojik görünüm elektron mikroskobu 40x).

Bu fibrotik septa kadın ve erkekte, derin ve yüzeyel yağ dokularında farklılıklar gösterir. Subkutan yağ dokusunda lobülleri ayıran bir kalın ve düzenli fasya mevcuttur. 'Camper' fasyası adı verilen ve sıkı yapıda olan bu fasya, subkütan yağ dokusunun vücudun hemen hemen her yerinde aynı yapıda yayılımını sağlar. Derin tabakadaki lobülleri çevreleyen, gevşek ve daha az organize fasya sistemine de 'Scarpa' fasyası adı verilir (56,57). Yapısı bölgelere göre değişiklik gösterebilir. Camper fasyası ile oluşan yüzeysel bölge ile gevşek Scarpa fasyasının oluşturduğu derin bölge arasına fazla göze çarpmayan ama histolojik ve radyolojik olarak rahatça gösterilebilen 'subkutan' fasya mevcuttur. Subkutan fasya ile ayrılan yüzeysel yağ dokusunun kalınlığı, topografik olarak derin tabakaya göre çok daha sabittir. Karın bölgesindeki değişik bölgelerde yapılan kesitlerde, bölgeler arasındaki kalınlık farklarının, daha çok derin yağ dokularının miktarına bağlı olduğu rahatça görülmektedir (59-63).

Yağ dokusu, yapısının zayıf olması nedeniyle, travmalar ve cerrahi

girişimlerden sonra kolayca nekroze olduğundan, kanlanması zayıf bir doku olarak kabul edilmiştir. Yağ dokusundan flep yapmaktan veya sadece bu dokuya yönelik cerrahi girişimlerden, vasküler yetersizlik korkusuyla çekinilmiştir (53,54). Günümüzde her adipositin en az bir kapiller ile temasta olduğu bilinmektedir. Bu kapillerlerin kan dolaşım hızı, bu geniş lipid depolayan hücre zarının aktif metabolizmasını karşılayacak kadar hızlıdır (64). Kapillerleri besleyen damar ağı ise, derin ve yüzeyel arter sistemi olarak ayrı ayrı düzenlenmiştir. Her iki sistemin birbirleri ile birçok perforanlar vasıtası ile bağlantıları vardır. Yüzeyel arter sistemi, fasya superfisyalisin üstünde yer alır ve derin derialtını besler. Yüzeyel yağ dokularında görülen hipertrofi ve bunun sonucu ortaya çıkan selülitten bu şebeke sorumlu tutulmaktadır. Yağ hücrelerin (adipositlerin) iki ana tipi vardır (58-60). Unilokuler olanlar beyaz yağ dokusunu meydana getirirler. İçlerinde tek ve büyük bir lipid depolanmıştır ve enerji depolama görevi görürler. Multilokuler olanlar ise sarı yağ dokusunu meydana getirirler. İçlerinde küçük damarlar halinde lipid depolarlar ve ısı koruma görevleri vardır. Memelilerde beyaz ve sarı yağ dokuları, farklı fonksiyonlarından dolayı değişik miktarlarda ve değişik dağılımlarda bulunur. Pond adlı araştırıcının (58) 1978 yılında yaptığı çalışmaya kadar bu konu hakkında çok az bilgi vardı. Pond, ısı ayarlanması ve organların korunmasını, vücuttaki yağ dokusu dağılımını etkileyen ana faktörler olduğunu, hareket sistemine uyum, sosyal ve seksüel ihtiyaçların ise, tamamlayıcı faktörler olduğunu ileri sürmüştür. Androjenik hormonların yağ dokusu içinde tutulmasına bağlı olarak, şişman ve yağlı insanlarda seksüel aktivitenin daha az olduğu bildirilmiştir (65,66). Sarı yağ dokusu, ısı koruma kabiliyetinden olsa gerek bütün yeni doğan memelilerde ve ‘hamster’ler hariç bütün hayvanlarda bulunmuştur. Merklin (59) adlı araştırıcıya göre sarı yağ dokusu insan fetüsünde özellikle posterior servikal, aksiller, suprailiak ve perirenal bölgelerde belirir. Daha az miktarlarda ise interskapular bölge, anterior mediastinal, interkostal, anterior abdominal ve retropubik

alanlarda bulunur. Birey yaşlandıkça bu sarı yağ dokuları, beyaz adipoz doku ile yer değiştirir. Erişkinde sarı yağ dokusu genelde bulunmaz. Ancak bazı durumlarda ve çok az miktarlarda bulunabilir. Uzun süreli alkol alma alışkanlığı olanlarda ve tropikal bölgelerde oturan erişkinlerde sarı yağ dokusuna rastlandığı rapor edilmiştir. Kadınlarda toplam vücut ağırlığının %22'si erkeklerde ise %15'i yağ dokusudur. Erkekler 45-50 yaşlarında, kadınlar ise 60 yaşlarında en fazla yağ oranına sahip kilolarına ulaşırlar. Bazı patolojik durumlarda yağ dokularının ağırlıkları çok değişken olabilir (65-67).

Fonksiyonel yağ dokusu, el, ayak tabanı, yanakta bulunur ama bu dokular aşırı enerji ihtiyacı olduğu zamanlarda en son kullanılan depolardır. Bu örnekten de beyaz yağ dokularının vücutta bölgelere göre değişen metabolik aktivite farklılıkları gösterdikleri söylenebilir (66,68). Beyaz yağ dokusunun hücreleri poligonal şekilde olup 25-200 pikomikron arasında bir uzunluğa sahiptirler. Nukleus, içeriyi dolduran lipid damlacığı tarafından perifere doğru itilmiştir. Burada mitokondriler içeren çok ince bir sitoplazma tarafından sarılıdır. Bu ince sitoplazmanın içindeki lipid damlacıklarının varlığı ve mitokondrilerin boyanabilmeleri metabolik aktivitenin devamlılığını gösterir (69-70). Hücrenin içeriğinin, %60-85'i lipid, %5-30'u su, %2-3'ü proteindir. Hücre içinde bulunan lipidin %90-99'u trigliserid'dir (65). Geri kalan miktarı da serbest yağ asitleri, digliserid, kolesterol ve fosfolipid meydana getirir. Trigliseridi oluşturan yapılar: myristik, palmitik, palmitoleik, stearik, oleik ve linoleik asitlerdir (59). Adipoz dokunun orijini hakkında ilk araştırma 1870 yılında Fleming tarafından yapılmış ve bu araştırmacı adipöz dokunun mezenkimal kökenli olduğunu ileri sürmüştür. Aynı yıllarda Told uzun süren incelemeler sonrası adipositlerin mezenkimal kökenli olmadığına karar vermiştir. Bu hipotezini de gelişen yağ globüllerinin kendi vasküler sisteminin olmasına ve etraf konnektif dokudan ayrı olmasına dayandırmıştır. Tartışmalar 1920-1930 yıllarına kadar devam etmiştir (60). Bu dönemde Clark tarafından, tavşan kulağındaki meşhur 'görünen oda' deneylerinden sonra, ortaya atılan

adipositler ‘modifiye fibroblastlardır’ teorisi epey taraftar toplamıştır. Wasserman (60) 1926 senesinde yaptığı açıklamada Told tarafından ortaya atılan ‘adipositler ayrı bir dokudurlar’ fikrini destekleyen bir teoriden bahsetmiştir. Hausberger (61) 1938 yılında yaptığı araştırmalarla bir ölçüde Wasserman’ın görüşlerini desteklemiş, yağ dokularının transfer sonrası tekrar yağ dokusu olarak differansiye olduklarını, konnektif doku veya başka bir dokuya dönüşmediklerini bundan dolayı da yağ dokusunun ayrı bir organ olarak kabul edilmesi gerektiğini öne sürmüştür.

Günümüzde bütün araştırmalar sonucunda varılan sonuç: morfolojik ve sitokimyasal bir marker ile adiposit veya prekürsor adiposite dönüşebilen fibroblasta benzeyen hücre ile adiposite dönüşmeyen fibroblasta benzeyen hücreleri ayırmanın imkansız olduğudur (71-73). En fazla taraftar toplayan teori G.Simon’a (74) göre yapılan izahtır.

- İndiferensiye mezenkim hücresi, retiküler adipojenik hücreye dönüşür. Bu hücre içinde bulunan ve asetonda erimeyen lipid ve mitokondrialar içerir.
- Daha sonra adipoblast ortaya çıkar. Adipoblast 1-2 mikron çapında geniş nötral lipid damlacıkları içerir. Bu safhada hücre artık bölünmeyecek kadar diferansiye olmuş kabul edilir.
- Bir sonraki safhada preadipositler ortaya çıkar. Bu hücre tipinde lipid damlacıkları nükleusu sarmaya başlar, bunların etrafında da mitokondrialar bulunur. Preadiposit kahverengi yağ hücresine benzerlik gösterir.

En yeni araştırmalar ise üretilen bütün teorilerde doğruluk payı olduğunu, şimdilik bu konunun tam aydınlanmadığını göstermektedir. Adebanojo (62,63), Poznanski (64) adlı araştırmacılar tarafından hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar, hücre menşeyi ve kültür ortamına bağlı olmak üzere fibroblastların adipositlere her yönü ile (morfolojik ve biokimyasal olarak) benzeyen hücrelere dönüşebildiklerini ama bazı şartlarda da adipositlerin başka prekürsörlerden ortaya çıktıklarını ve fibroblastların aynı şekilde kaldıklarını ortaya koymuştur.

Orijini hakkında kesin bir bilgiye sahip olmadığımız adipositlerin meydana getirdiği yağ dokularının iki farklı yapıya sahip olduğunu ve bu iki farklı yapının fonksiyonel, metabolik ve fizyolojik olarak belirgin değişiklikler gösterdiğini öne süren araştırmacılar ise tartışmaya daha da karmaşık bir boyut getirerek bu iki adipositin çıkış noktasının da farklı olduğunu düşünmektedirler. İllouz'a (65) göre vücutta farklı olan 2 tip yağ hücresi mevcuttur. Bunlardan yüzeyel yerleşim gösteren hücreler kilo alıp vermekle kolayca volüm kaybeder. Derin yerleşim gösteren hücreler ise kolayca lipid depolamasına karşılık bu lipidleri çok zor geri bırakır. Yazar bu tezini desteklemek için de, her iki yağ hücresindeki beta1 ve alfa2 reseptörlerin dağılımına dikkat çekmektedir. Alfa2 reseptörler lipolizi bloke ederler ve beta1'i stimüle eden katekolaminler tarafından uyarılırlar. Yani yüzeysel bölgelerde yağ yıkımı başladığı zaman steatom veya lokalize yağ dokuları adı verilen derin bölgelerde bu yıkım önlenmiş olur. Derin bölgelerin glükoza daha duyarlı ve tutucu olmaları da bu bölgelerde istenmeyen şişmanlamanın sebebidir (65,67). İllouz'un (65,66) öne sürdüğü iki farklı yağ dokusu tezinin histolojik açıklaması da şöyledir: Yüzeysel ve derin yağ dokuları arasında süperfisyel fasya bulunur. Yüzeysel yağ dokusu konnektif dokudan oluşan (retinaculae cutis) septalarla lobüllere ayrılmıştır. Septalar üst epidermisin alt kısmına, altta ise süperfisyel fasyaya bağlanırlar. Bu septaların elastik olmaları, onlara adeta mekanik bir hafıza kazandırarak her yağ hipertrofisi sırasında tekrar eski şekline dönmek için yağ dokusuna baskı yapar. Bu septalar vasıtası ile dokuya baskı derin yağ dokusunda yoktur. Yazar metabolik olarak aktif diye nitelendirdiği yüzeyel yağ dokularının bütün vücutta değişik kalınlıklarda olsa da mevcut olduğunu oysa derin yağ dokularının cinsiyetle ilgili olarak belirli bölgelerde olduğunu yaptığı kadavra çalışmaları ile de ispat ettiğini öne sürmektedir. Markman (66) yaptığı çalışmalarda iki farklı yağ dokusu olmadığını, yüzeysel ve derin yağ dokuları arasında 17 beta estrodiol aktivitesinin farklı olduğunu, derin dokularda çok daha fazla bulunan bu madde nedeni ile de, derin

dokularda hiperplastik yağlanmanın daha olası olduğu ve bu sebeple de derin yağ dokularının diyet ve egzersizle daha dayanıklı olduklarını öne sürmüştür.

Yağ hücrelerinin embriyolojik gelişmesindeki safhalar şöyledir: Adipoblast - adiposity prekürsor – adiposit – postadiposit.

Adipoblast, içindeki ortalama 1-2 mikron çapta olan, aynı büyüklükteki çok sayıda lipid artığı ile tanınır. Primitif hücrenin aksine bu lipidler asetonda erirler. Lipidler ribozom ve mitokondrialarla sarılıdır ve füzyon yeni başlamıştır. Hücre poligonal yapıdadır. Ilk primitif yağ dokusu hücreleri, hayatın 4. ayında görülür. Bazen hamileliğin 3. ayında perivasküler konnektif dokuyu yapan hücrelerdir. Adipoblastlar adiposit prekürsörlere dönüşerek, olgun yağ hücrelerini ortaya çıkarabilirler (62-64).

Preadiposit veya adiposit prekürsörleri, nukleusu ortada olan ve etrafındaki lipid damlacıkları ile dağ çileğine benzeyen bir yapı gösterirler. Bu safha hemen daima ortaya çıkan ve memelilerde bulunan kahverengi yağ hücrelerine çok benzeyen bir ara dönemdir. Yapılan histolojik araştırmalarda, normal yağ dokularında adiposit prekürsörlere benzeyen hücrelere rastlanması, embriyolojik dönem sonrasında da teorik olarak adiposit yapımının mümkün olduğunu ortaya koymuştur (65).

Doğumdan sonra ilk yılllarda adipositlerin sayısında ve hacminde ortalama 3 kat artış görülür. Daha sonraki 5 senede bu artış gittikçe devam eder. Puberteden sonraki dönemde yağ hücrelerinin sayıları sabittir. Bu sayının genetik olarak saptanmış olduğu zannedilmektedir ve kişiye özel olup çevresel faktörlerden çok fazla etkilenmez. Kilo alıp vermelerde hücre sayısı değişmez, sadece adipositlerin içindeki depo lipid miktarı değişir. Insanın normal kilosu, hücre içinde depo edilen lipid miktarı düzeyi ile ilgilidir (59,60). Bu düzey yaşam şartları, yeme alışkanlıkları ve rutin egzersizlerle belirlenir. Alınan gıdalar, bazal harcamalar çıktıktan sonra bu seviyenin altında veya üstünde bir depo yapacak miktarda ise, vücut açlık ve tokluk hisleri ile gıda miktarını düzenlemeye ve depo lipid seviyesini belirlenmiş seviyeye çekmeye çalışır. Bu depo lipid seviyesini ancak uzun

vadeli yaşam tarzı, beslenme alışkanlığı ve beden hareketleri farklılıkları değiştirebilir. Hücre içi depo lipid seviyesini etkileyen bir diğer faktör de yaştır. Yaşlanmaya bağlı olarak da vücuttaki depo lipid veya tüm beden ağırlığına oranla yağ dokusu miktarı artar. Yani adipositlerin içindeki depo lipid seviyesi genç yaşlara göre daha yukarılara çekilmiştir. Hücre kültürlerinde ve erişkin vücudunda adiposit prekürsör tipi hücrelerin bulunması, vücüdün gerektiğinde yeni yağ hücresi yapabilecek potansiyele sahip olduğunu gösterir (60).

II – Yağ Grefti

Geçmişte liposuction yöntemiyle alınan yağ dokusu çöpe atılmakta ve dikkate alınmayarak yararsız olduğu düşünülmekteydi (65-67). Oysaki günümüzde yağ dokusu üzerine yapılan çalışmalar bu dokuda bol miktarda vücudumuzun her türlü dokusuna dönüşebilen kök hücre olduğunu kanıtlamıştır. Estetik amaçlı kullanılan yağ greftlerinin aynı zamanda yaşlandırmayı geciktirdiğini ve cildin genç kalmasını sağladığını sayısız makalelerden görmekteyiz. Yağ greftinin hem dolgunluk yaratması hem de uygulandığı bölgede yara iyileştirmesini hızlandırması dolgu mataryallerine ve diğer doku transferlerine göre daha avantajlı olmasını sağlamaktadır. Kendini yenileyebilen bu hücreler multilineer çoğalma yeteneğine sahiptirler. İnsan orijininde kök hücreler döllenme sırasında ve gelişim çağında çok fazla bulunmaktadır. Fertilize yumurtalar bölünür ve ektodermi, mezodermi ve endodermi oluşturma yeteneği olan pluripotent kök hücreler üretir. Gelişmenin ilerleyen aşamalarında multipotent hücrelerin sayısı sınırlanır ve kendini yenileme yeteneği yavaşlar ve apoptosis kesilir (68).

Vücudumuzdaki birçok hücrelerin popülasyonunun devamı, normal hücrelerin çoğalmasını ve yeniden yapılanmasını sağlayan kök hücreler tarafından sağlamaktadır. Embriyolojik kök hücre kültürü ilk kez 1998 de Thomson ve ark. (67,72). tarafından yetiştirilmiştir. Üretilen hücreler için kök hücre kaynağı önemlidir ve yüksek telomeraz aktivitesi hücrelerin pluripotent potansiyelini korumasını sağlamaktadır. Mezenşimal kök

hücreler mezodermden ürer ve kondrosit, osteoblast, myoblast, adiposit gibi hücrelerin çoğalmasını sağlar (67).

Greftin yaşayabilirliğini etkileyen diğer faktörler greftin alınışı, hazırlanması, alıcı alanın hazırlanmasıdır. Yumuşak doku travmasını önlemek için gereksiz manipulasyonlardan kaçınılması ve uygun aletlerle çalışılması önemlidir. Greft alırken yağ dokularına hassas davranarak ezilmemesine özen göstermek, donör alanda kalan yağ dokularının nekroz olmamasına dikkat etmek gerekir. Aksi taktirde nekroz sonrası gelişen enfeksiyon, çalışmanın kötü sonuçlanmasına sebep olabilir. Greftin alınması ve alıcı yatağın hazırlanışı sırasında bu faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Alıcı yatak hazırlanması sırasında kanlanması iyi olan bölge seçilmesinde fayda vardır. Greft yaşayabilirliği ve yara iyileşme hızı açısından alıcı alan kanlanması önemlidir. Greft yerleştirilmesi de greft yaşayabilirliği için önemlidir. Transfer yapılmadan önce alıcı alan iyice yıkanmalı ve hemostaz sağlanmalıdır. Postoperative dönemde kanama greft ile alıcı yatak arasındaki boşlukta iskemik bir alan oluşmasına sebep olur ve bu da greftin nekrozuna ve enfeksiyona sebep olur. İskemi ayrıca greftin erken mobilize olması sonucu da gelişir. Bu yüzden greft konulan alan hareketsiz tutulmalı yada greft üzerindeki dokuya sütürlerle sabitlenmelidir (61,62,74). Yaptığımız çalışmada vücudun çeşitli bölgelerinde kıkırdağın cerrahi veya travmatik kaybı sonrası onarımının kolaylaştırılmasını sağlayacak bir sonuç elde edildi. Çalışmanın amacı daha düşük morbidite ve donör alan problemini en aza indirerek kıkırdak rejenerasyonunu sağlamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı (Karar no: 2012–02/01, Tarih:14.02.2012) alınarak yapılan bu çalışmada 10 adet beyaz renkli Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanların yaşları 3-4 ay, kiloları 2000-2200gr arasında değişmekteydi. Tavşanların sağ kulağı deney grubu ve sol kulağı kontrol grubu olarak kullanıldı.

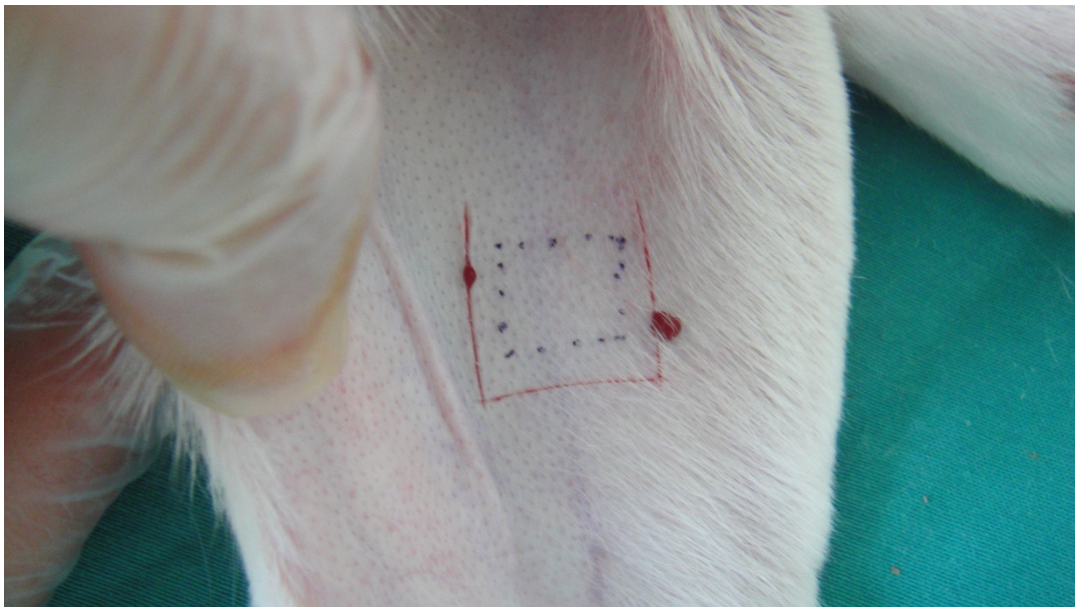
Kullanılan cerrahi aletler:

1. Kuyumcu penseti
2. Bistüri (no: 15)
3. İnce disseksiyon makası
4. İnce uçlu portegü (10cm)
5. Sütür makası

Tavşanları uyutmak için önce sağ bacaklarının ön yüzüne antiseptik solüsyon ‘Batticon’ sürüldü. Sonra 0.5cc/kg ketamine ve 1cc/kg ksilazin intramusküler olarak anterior quadriceps kas içine enjekte edildi. Her iki kulaktaki tüyler traşlandı ve operasyon alanı antiseptik solüsyon ‘Batticon’ ile temizlendi. İşaretli alana ek bölgesel anestezi sağlamak ve vazokonstrüksiyon etkisiyle kanamayı en aza indirmek amacıyla 1cc jetokain 30G iğne ile subperikondrial enjekte edildi.

Grup 1- Kontrol Grubu: Tavşanın sol kulağının orta kısmında 1,5x1,5 cm alan işaretlenerek proksimal pediküllü perikondriokutanöz flep kaldırmak için kesi yapıldı. Flep kaldırıldıktan sonra alttaki kıkırdak dokusundan 1x1 cm boyutlarında kıkırdak dokusu eksize edildi. Kanama kontrolü yapıldıktan sonra flep tekrar yerine 6/0 prolen ile sütüre edildi (Şekil 5-10).

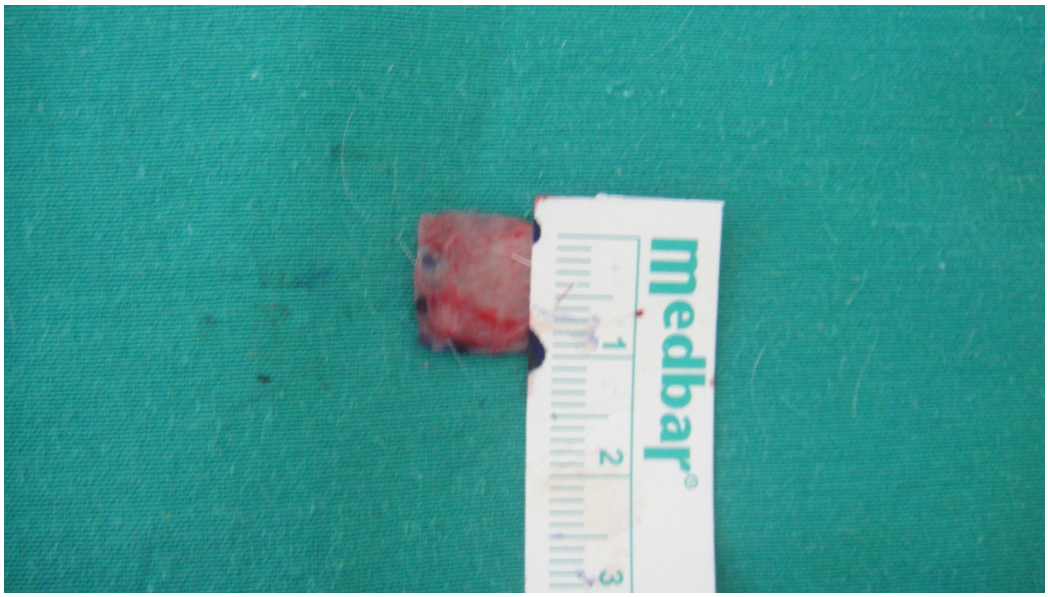
Şekil-5: Kontrol grubu: Sol kulakta 1x1 cm'lik çıkarılacak kıkırdak dokusunun yerinin işaretlenmesi.



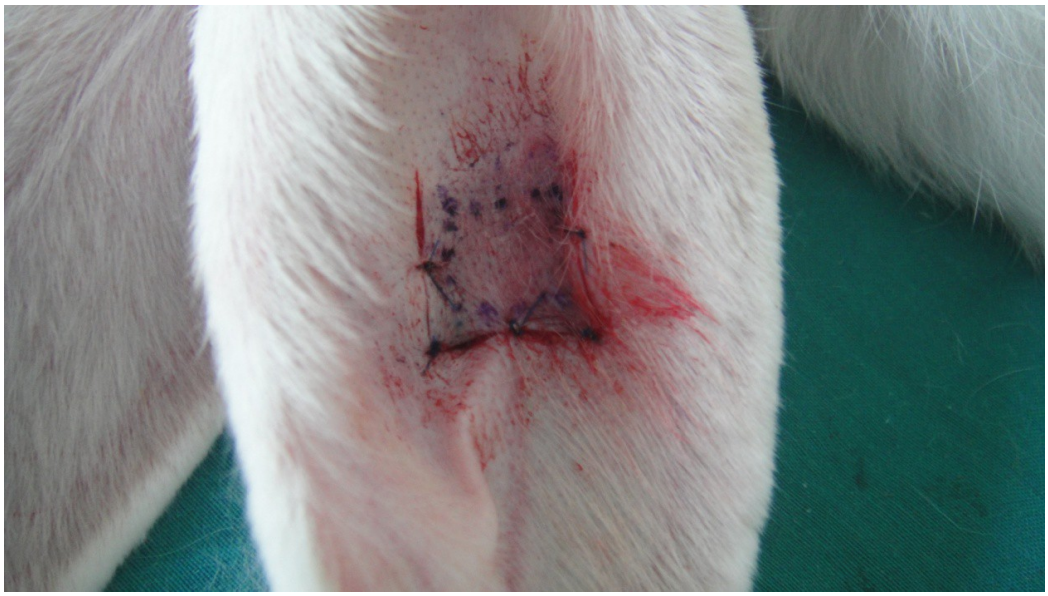
Şekil-6: Kontrol grubu: Kıkırdak dokusu çıkarılacak alanda 1,5x1,5 cm'lik perikondrokütanoz flep alanının işaretlenmesi.

Şekil-7: Kontrol grubu: Flep kaldırıldıktan sonra eksize edilecek kıkırdak dokusunun işaretlenmesi.

Şekil-8: Kontrol grubu: Kıkırdak dokusu eksize edildikten sonra meydana gelen kıkırdak defektinin görünümü.



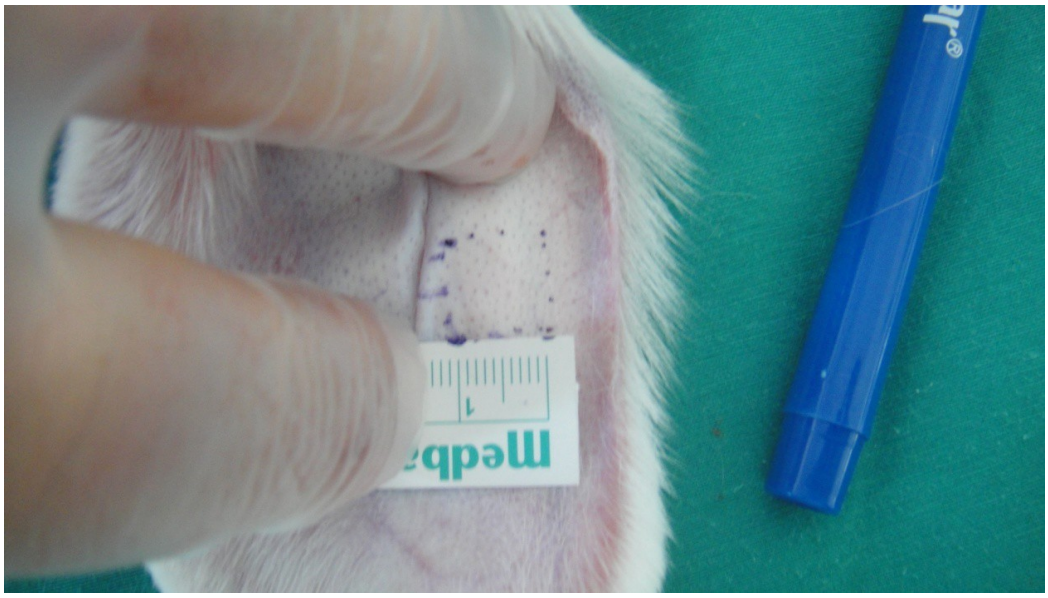
Şekil-9: Kontrol grubu: Eksize edilen kıkırdak parçası.



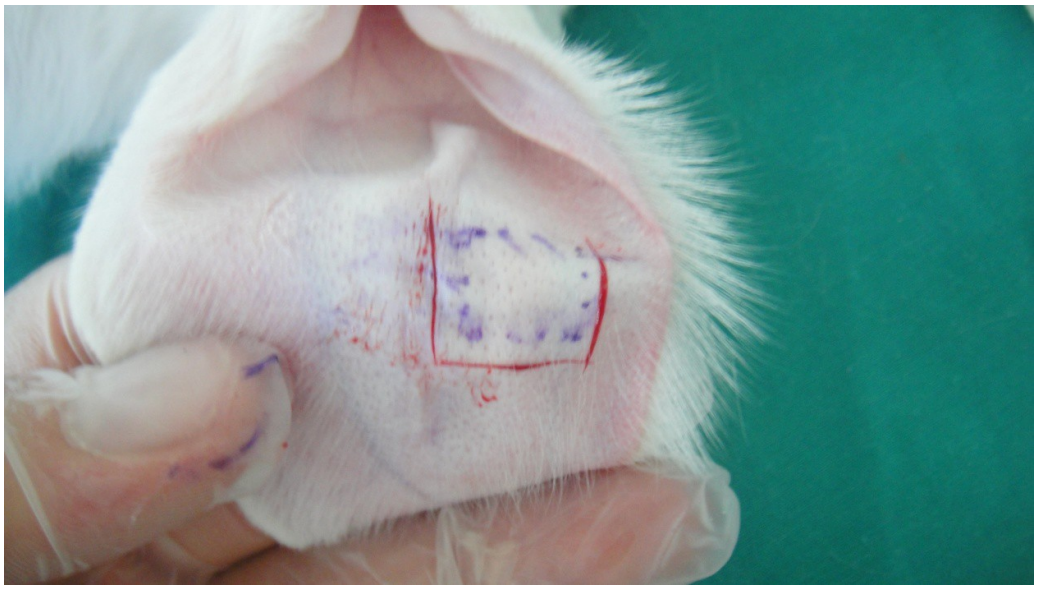
Şekil-10: Kontrol grubu. Kaldırılan flebin yerine tekrar dikilmiş haldeki görünümü.

Grup 2- Deney Grubu: Aynı tavşanda sağ kulak üzerinde 1,5x1,5 cm'lik alan işaretlendi. Proksimal pediküllü perikondriokutanöz flep kaldırmak için kesi yapıldı. Flep kaldırıldıktan sonra, alttaki kıkırdak dokusundan 1x1 cm'lik kıkırdak dokusu eksize edildi (Şekil-11,12,13). Daha sonra tavşanın

kasık bölgesi antiseptik solüsyon ‘Batticon’ ile temizlendikten sonra traşlandı.

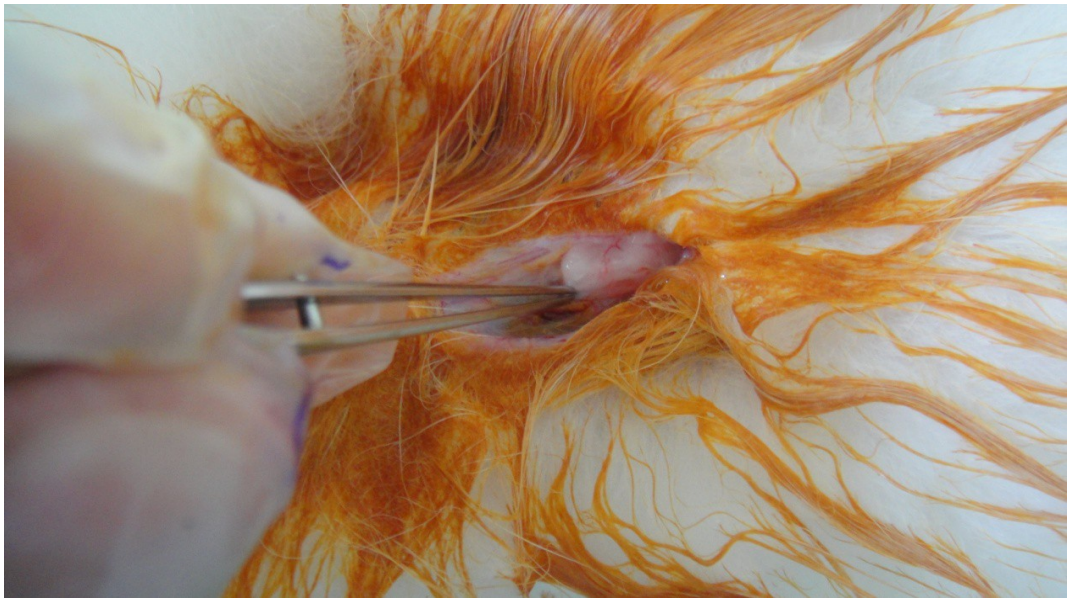


Şekil-11: Deney grubu. Sağ kulakta 1x1 cm’lik çıkarılacak kıkırdak dokusunun yerinin işaretlenmesi.

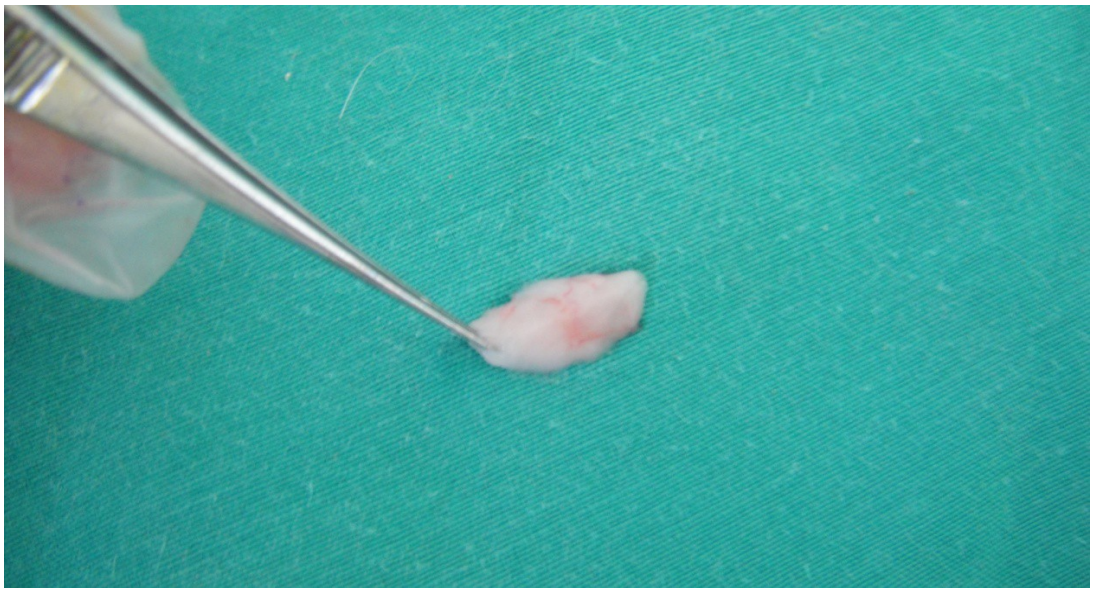


Şekil-12: Deney grubu. Kıkırdak dokusu çıkarılacak alanda 1,5x1,5 cm’lik perikondrokütanoz flep alanının işaretlenmesi.

Şekil-13: Deney grubu. Flep kaldırıldıktan sonra eksize edilecek kıkırdak dokusunun işaretlenmesi.

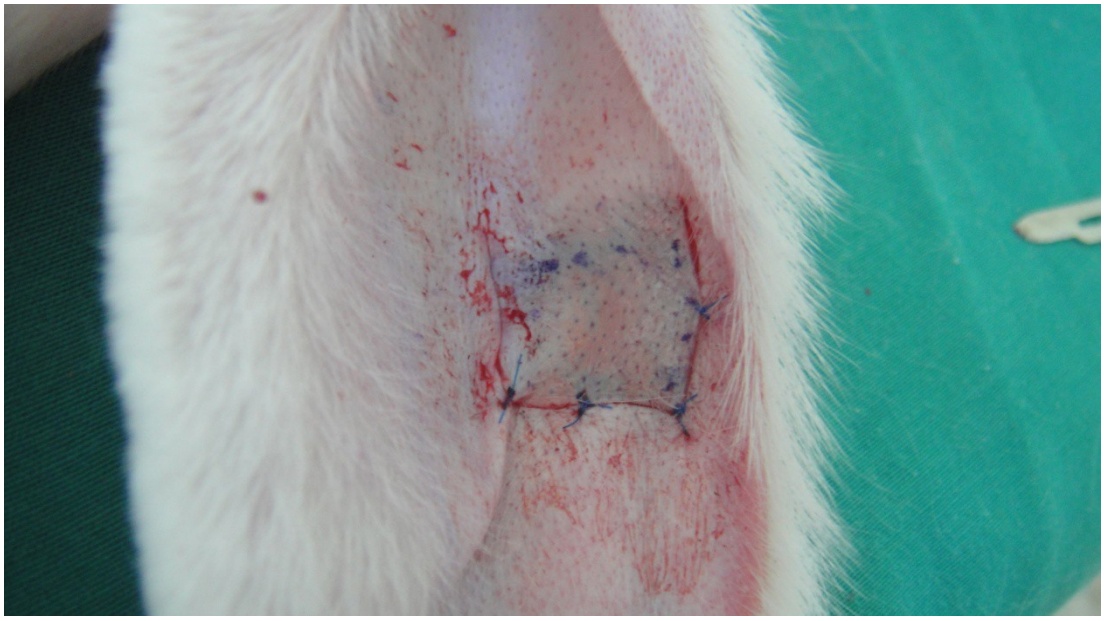


Şekil-14: Deney grubu. Kasık bölgesindeki yağ dokusu ve yağ grefti alınması.



Şekil-15: Deney grubu. Kasık bölgesinden çıkartılan yağ dokusu.

Şekil-16: Deney grubu. Yağ greftinin oluşturulan kıkırdak defektinin içine yerleştirilmesi ve sütüre edilmesi.



Şekil-17: Deney grubu. Yağ grefti uyguladıktan sonra perikondriokütanöz flebin yerine tekrar dikilmesi.

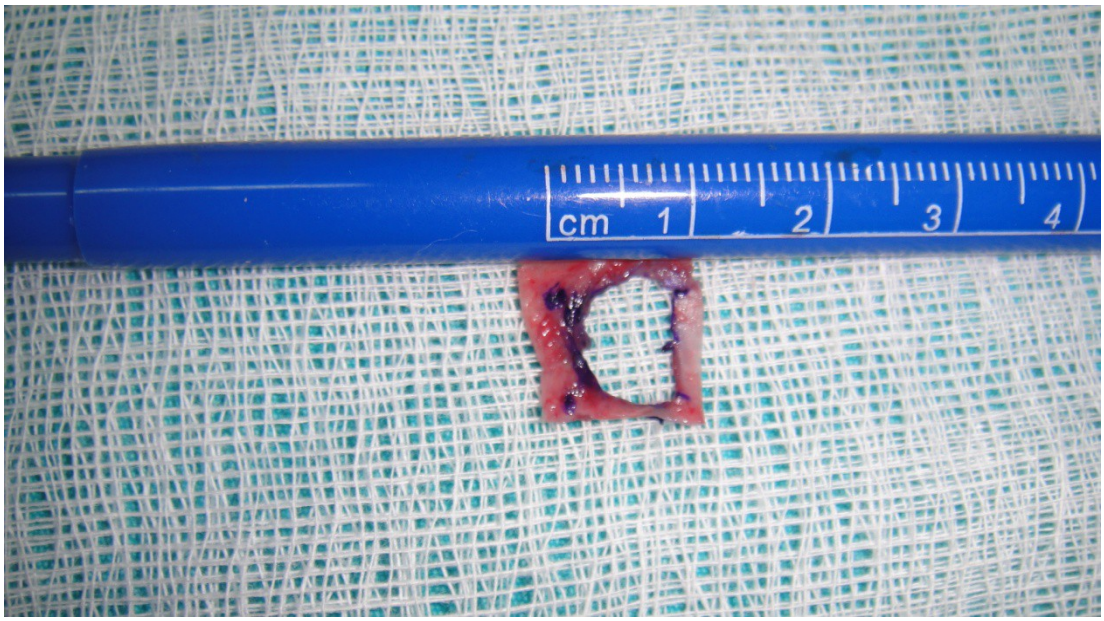
Kasık bölgesine 1cm'lik bir cilt kesisi yapıldı (Şekil-14). Cilt altından bir miktar yağ dokusu çıkarıldı. Çıkarılan yağ dokusu kulakta oluşturulan kıkırdak defektinin boyutuna uygun hale getirmek üzere küçültüldü (Şekil-15). Yağ dokusu kıkırdak defektine tek parça olarak yerleştirildi ve alttaki dokuya 6/0 rapid vicryl ile dikilerek sabitlendi (Şekil-16). Kanama kontrolu yapıldıktan sonra flep olduğu gibi tekrar yerine 6/0 yuvarlak prolen ile sütüre edildi (Şekil-17). Kasık bölgesi kanama kontrolü yapıldıktan sonra 5/0 yuvarlak prolen ile kapatıldı. Bu işlem sırasında perikondrial tabakanın hasarlanmamasına ve yağ dokusu çıkarırken ezilmemesine dikkat edildi. Kanama sırasında damar bağlanması ve termokoagülasyondan kaçınıldı. Kanayan yere bastırıldı ve dilüe epinefrinli solüsyon kullanıldı.

Tüm kontrol ve deney grupları bu işlemden sonra 8 hafta süre ile takip edildi. Tavşanların eşit miktarda beslenmesine, bakımına her gün dikkat edildi. Tavşanlarda 8 haftalık takip süresi sonunda flep nekrozu görülmedi.

Sekiz hafta sonra bütün tavşanlar daha önce belirtilen şekilde tekrar uyutuldu. Her iki kulaktaki tüyler traşlandı ve operasyon alanı antiseptik solüsyon ‘Batticon’ ile temizlendi. İşaretli alana ek bölgesel anestezi sağlamak ve vazokonstrüksiyon etkisiyle kanamayı en aza indirmek amacıyla 1cc jetokain 30G iğne ile subperikondrial olarak enjekte edildi. Flepler eski kesi yerinden yapılan insizyon ile subperikondrial kaldırıldı. İşlem yapılacak alan fotoğraflandıktan sonra kıkırdak dokusu üzerinde milimetrik ölçüm yapıldı. Daha önce oluşturulan defektli alanın etrafından yaklaşık 1mm’lik sağlam kıkırdak dokusu alınarak defektli kısım tam olarak çıkarıldı. Bu çıkarılan parçalar yaklaşık 1.2x1.2 cm boyutunda idi. Çıkarılan kıkırdak dokuları solüsyona yerleştirilerek histolojik incelenmeye gönderildi. Operasyon yerine antiseptik solüsyon ‘Batticon’ sürüldü. Tavşanlar tekrar uyandırılarak başka deneylerde kullanılmak üzere kafeslerine götürüldü.

BULGULAR

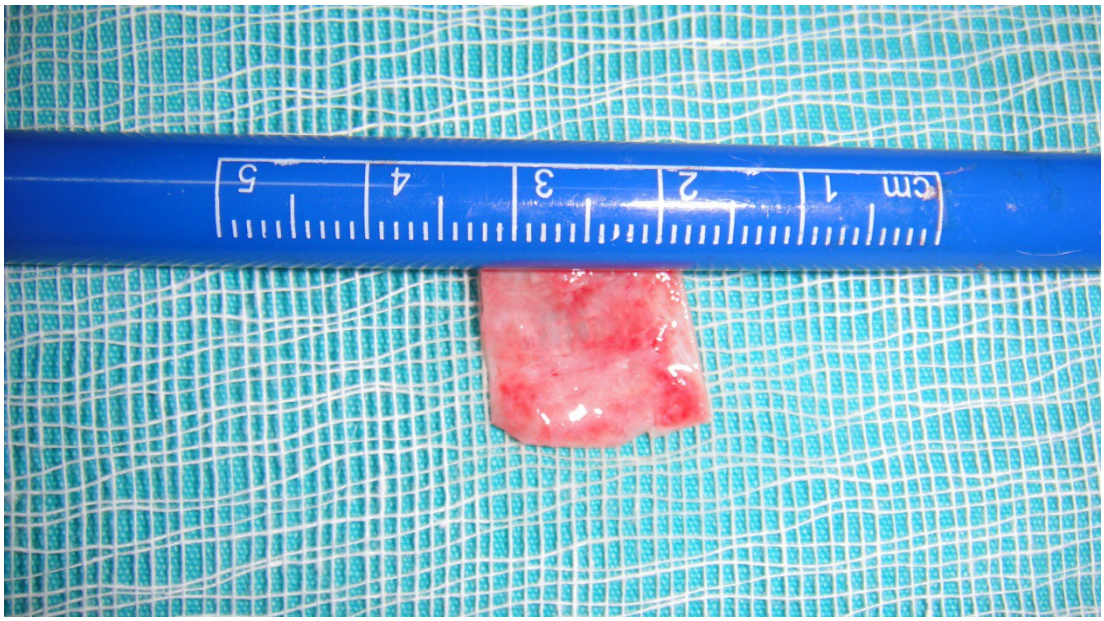
Çıkarılan dokuların hepsi fotoğraf makinesi ile yapılan 2.5x büyütmeli makro çekim ile incelendi. Makroskopik incelemede tavşanların sol kulaklarından çıkarılan 1.2x1.2cm'lik kıkırdak doku parçaları (kontrol grubu) (Şekil-18,20) ile sağ kulaklarından çıkarılan 1.2x1.2 cm'lik kıkırdak doku parçaları (deney grubu) (Şekil-19,21) üzerinde milimetrik ölçüm yapıldı. Her iki grup arasında belirgin şekilde fark olduğu görüldü. Kontrol grubunda oluşturulan kıkırdak defektinin tam kapanmadığı, buna karşılık deney grubunda ise tam yada tama yakın kapandığı görüldü. Hem deney grubu, hem de kontrol grubunda bu rejenere olan kıkırdak dokuları 'İmage J' programı ile hesaplandı. Bu milimetrik ölçümler tablo halinde gösterildi (Tablo-1). İstatistik olarak yapılan incelemede (Mann-Whitney testi) deney grubunda medyan kıkırdak rejenerasyon düzeyi 60,89mm^2 (min-maks: 25,27 - 92,56) iken, kontrol grubunda medyan kıkırdak rejenerasyon düzeyi 38.40mm^2 (min-maks: 20,56 – 63,03) olarak bulundu (Tablo-2). Deney grubunda kıkırdak rejenerasyon düzeyi anlamlı olarak yüksekti ($p<0.05$). Buna göre deney grubundaki kıkırdak rejenerasyonunun kontrol grubuna göre anlamlı olduğu görüldü.



Şekil-18: Kontrol grubu (tavşan 1 sol kulak). Kıkırdak dokusundaki rejenerasyon.

Şekil-19: Deney grubu (tavşan 1 sağ kulak). Kıkırdak dokusundaki rejenerasyon.

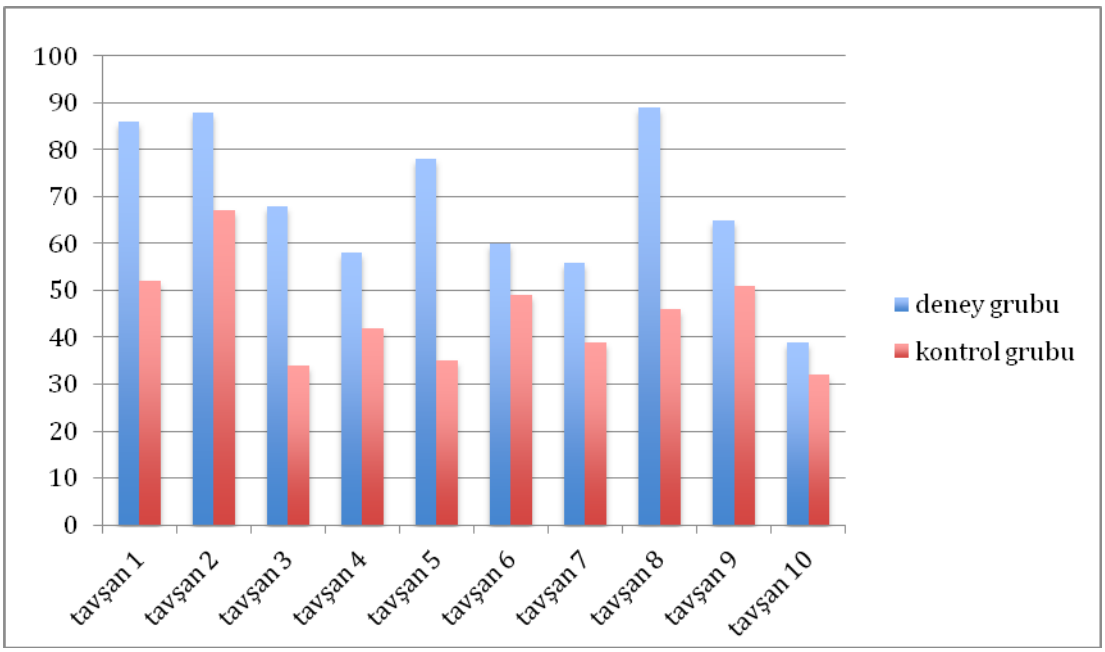
Şekil-20: Kontrol grubu (tavşan 2 sol kulak). Kıkırdak dokusundaki rejenerasyon.



Şekil-21: Deney grubu (tavşan 2 sağ kulak). Kıkırdak dokusundaki rejenerasyon.

Tablo-1: Defekt bölgesinde oluşan kıkırdak dokusu (mm^2).

Deney grubu	86	88	68	58	78	60	56	89	65	39
Kontrol grubu	52	67	34	42	35	49	39	46	51	32



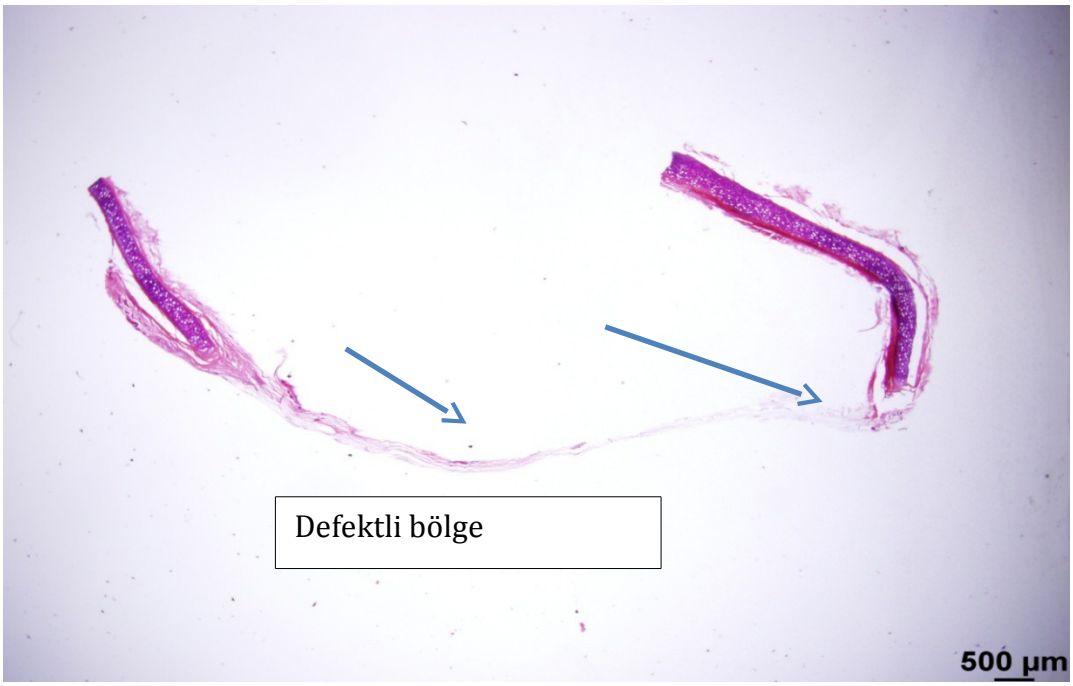
Not: X aksı – tavşanlar. Y aksı - mm^2.

Tablo-2: Ortalama kıkırdak rejenerasyon düzeyi (mm^2).

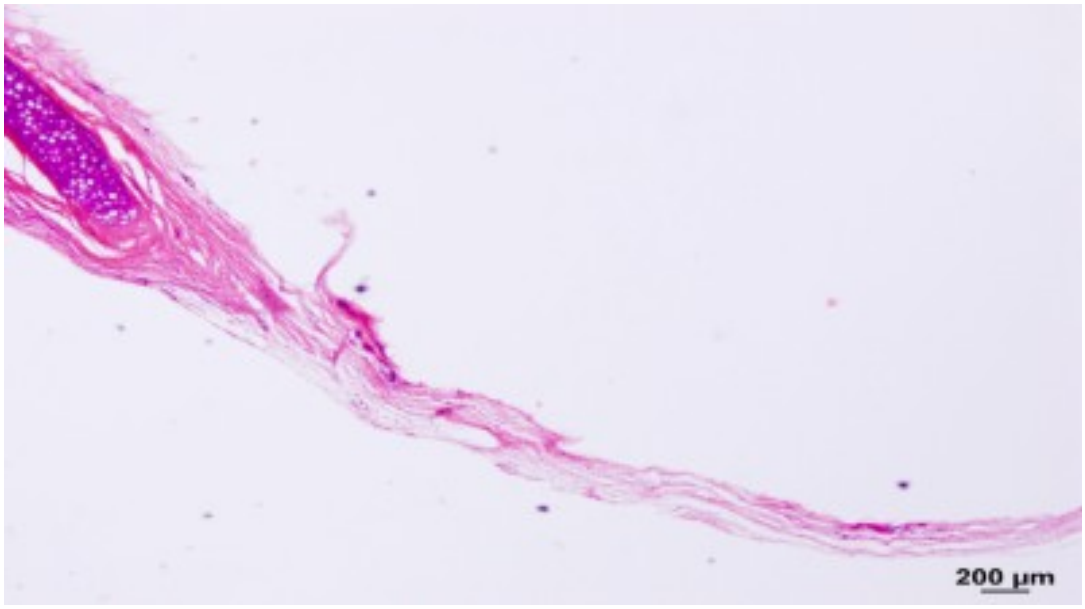
Grup	median	minimum	maximum
Deney	60,89	25,27	92,56
Kontrol	38,40	20,56	63,03
Total	52,16	20,56	92,56

Histolojik Değerlendirme

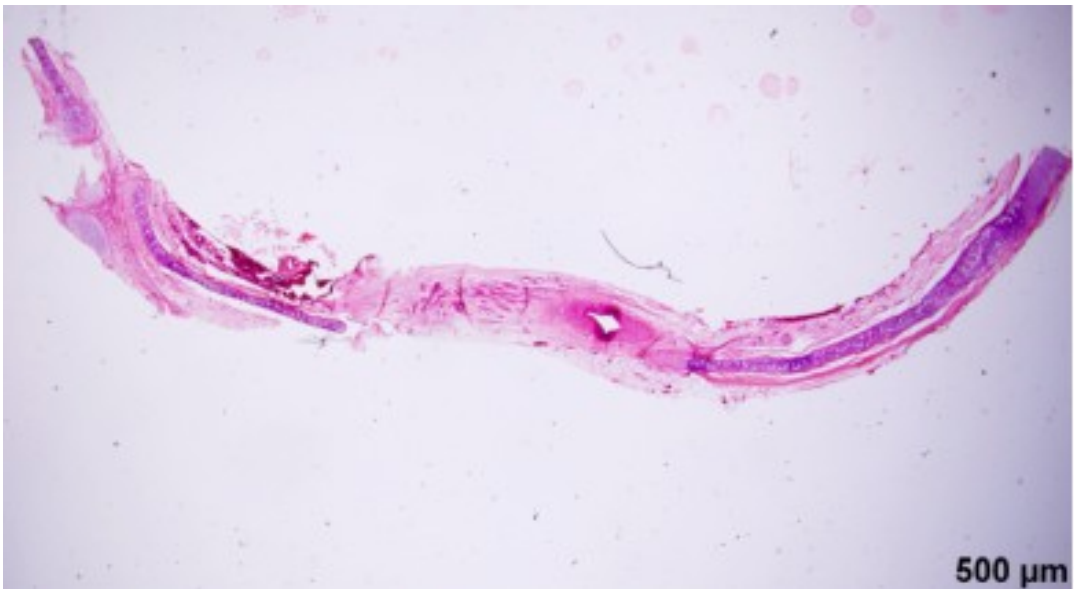
Histolojik değerlendirmede çıkarılan dokular nötral formalinle fikse edildi. Rutin doku takibi işlemleri sonrası parafin blok haline getirilip, seri kesit alınarak, Hematoksilen ve Eosin ile boyandı. Işık mikroskobunda değerlendirildi ve fotoğraflandı. Kontrol grubunun hepsinde, kıkırdak uçları arasında kalan defekt bölgesinde, minimal ölçüde perikondrium kaynaklı fibroz bağ dokusu oluşumu gözlendi (Şekil-22,23). Deney grubunun genelinde kontrol grubu ile kıyaslandığında kıkırdak uçları arasındaki defekt bölgesinde, yoğun fibröz bağ dokusu oluşumu ve damar gelişimi saptandı (Şekil-24,25). Deney grubu, kontrol grubu ile kıyaslandığında, defekt bölgesinde minimal düzeyde perikondrium kaynaklı kıkırdak benzeri yeni doku oluşumu saptandı (Şekil-26-28). Deney grubunun olguların bir kısmında defekt bölgesinde büyük lakünalı eski kondrositlerle beraber, küçük lakünalı yeni kondrositlere benzer hücreler gözlenirken, kontrol grublarında bu tip oluşumlara rastlanmadı (Şekil -29).



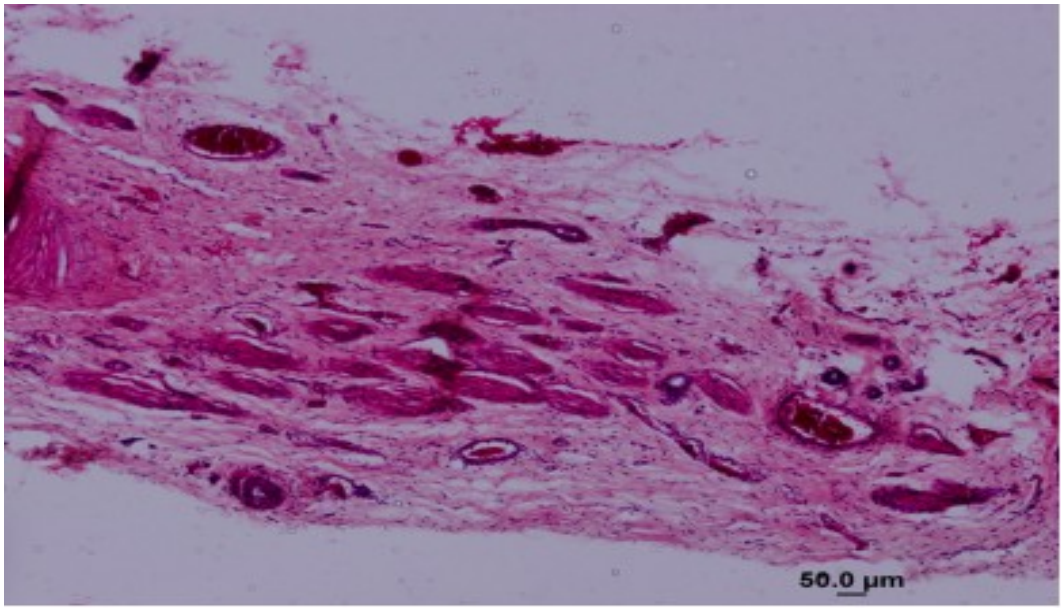
Şekil-22: Kontrol grubu. Kıkırdak uçları arasında kalan defekt bölgesinde, minimal ölçüde, perikondrium kaynaklı fibröz bağ dokusu oluşumu gözlenmektedir. HE boyaması (1.25X).



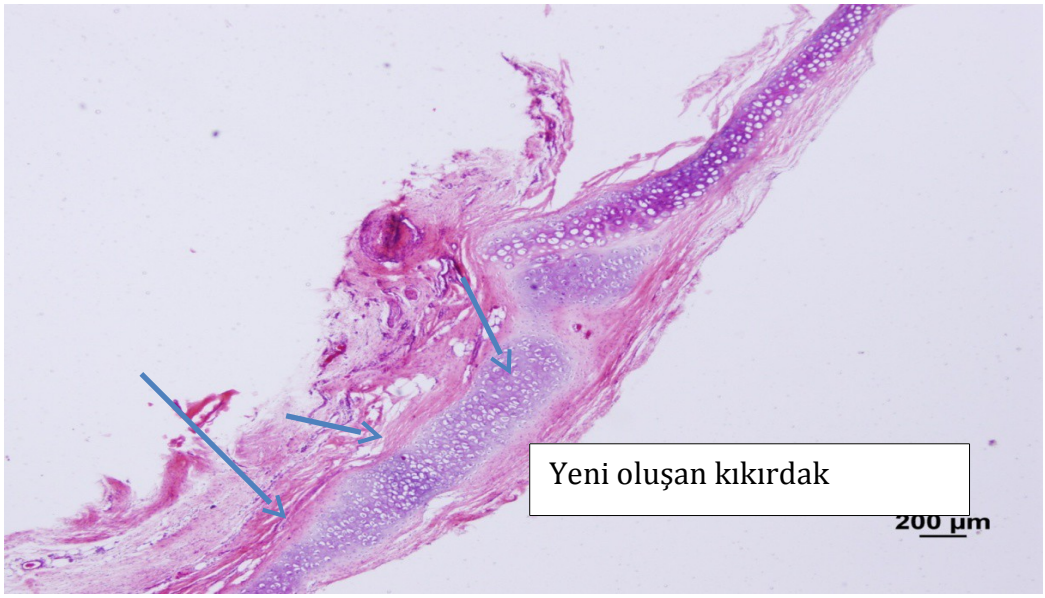
Şekil-23: Kontrol grubu. Kıkırdak uçları arasında minimal düzeyde fibröz bağ dokusu oluşumu. HE boyama (4X).



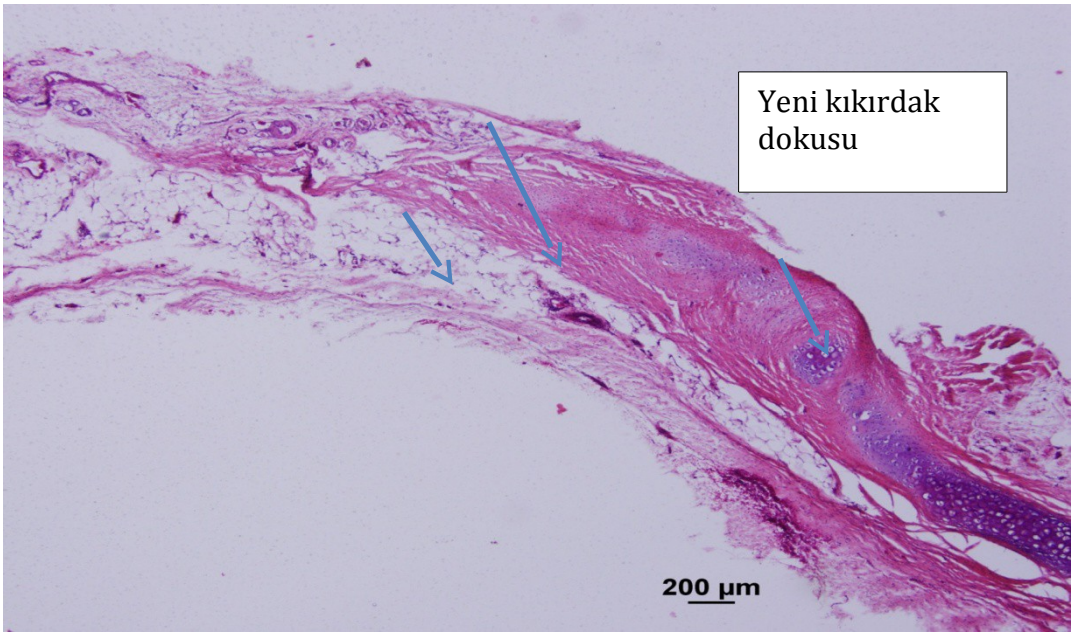
Şekil-24: Deney grubu. Kıkırdak uçları arasındaki, defekt bölgesinde, yoğun fibröz bağ dokusu oluşumu. HE boyama (1,25X).



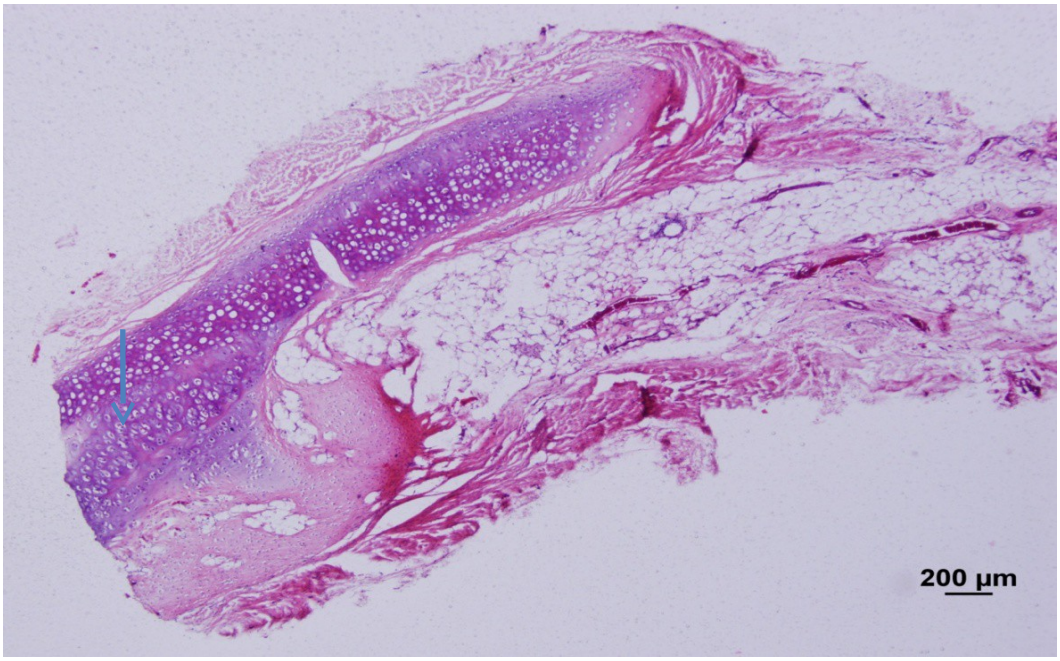
Şekil-25: Deney grubu. Defekt bölgesinde perikondrium kaynaklı yoğun fibröz bağ dokusu içinde her yöne dağılmış çok sayıda damar oluşumu. HE boyama (10X).



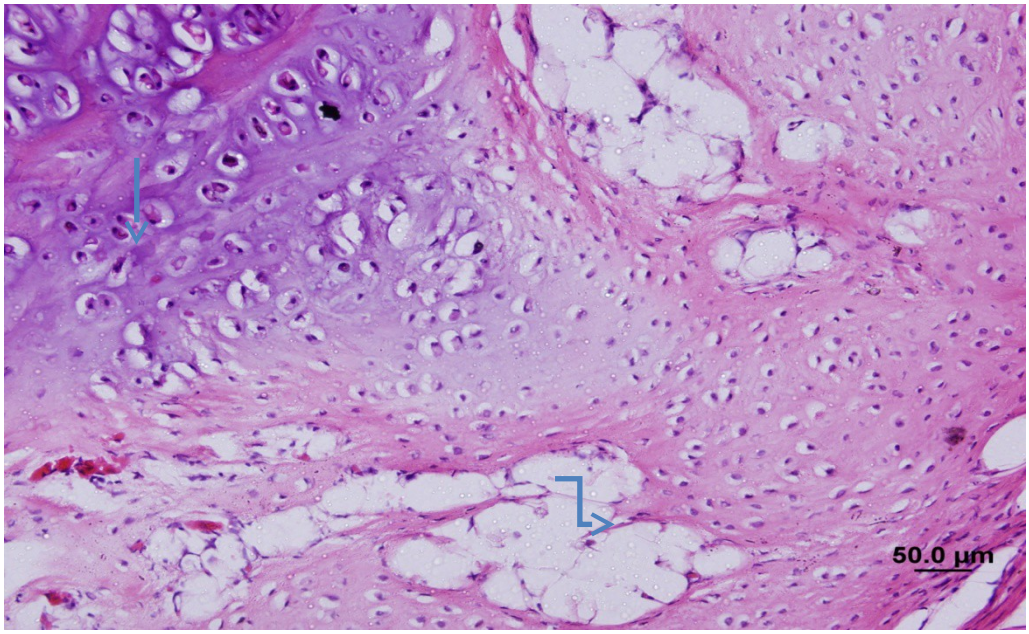
Şekil-26: Deney grubu. Kıkırdağın defekt oluşturulan kenarında rejenerasyon ve perikondrium kaynaklı yeni kıkırdak doku oluşumu gözlenmektedir. HE boyama (4X).



Şekil-27: Deney grubu. Kıkırdak uçlarında defekt bölgesinde minimal düzeyde perikondrium kaynaklı yeni kıkırdak dokusu oluşumu gözlenmektedir. HE boyama (4X).



Şekil-28: Deney grubu. Perikondrium kaynaklı yeni kıkırdak doku oluşumu. HE boyama (4X).



Şekil-29: Deney grubu. Defekt bölgesinde büyük lakünalı eski kondrositlerle beraber (↓), küçük lakünalı yeni kondrositlere (↳) benzer hücreler görülmektedir. HE boyama (20X).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kıkırdak dokusunun, konjenital, travmatik veya cerrahi kaybında, önemli kozmetik ve fonksiyonel bozukluklar ortaya çıkar (2,75). Anotia veya mikrotia, hastada önemli psikolojik sorunlar ortaya çıkarırken (3), burunda septum perforasyonlarında ise tekrarlayıcı kanama, ağrı, kabuklanma ve ıslık sesi gelmesi gibi, organik semptomlar bulunur (51). Laringotrakeal stenozda ise, sorun hayatı tehdit edebilir (3,48,76,77).

Kıkırdak defektlerinin onarımında, değişik yöntemler uygulanmaktadır (29-35,78-84). Otojen, homolog, heterolog kıkırdak kullanımı, biyomateryallerin kullanımı (3,7,38,39), perikondrial flep (9,10) ve greftlerinin kullanımı (12-14,30-33,43), sekonder vaskülarize perikondrium fleplerinin kullanımı (2), bunlardan bazılarıdır. Burun kanadında, tam kat defekt onarımlarında, perikondriokütanöz greftler de kullanılmıştır (33). Homolog, heterolog kıkırdak greftlerinde ve daha az miktarda olmak üzere, otojen kıkırdak greftlerinde uzun süre içinde resorbsiyon problemi ortaya çıkmaktadır (3,7,33,34). Kıkırdak dokusunun yerine geçmesi amacıyla kullanılan biyomateryallerde ise, vücut dışına atılma gibi sorunlarla sık karşılaşılmaktadır. Bu açıdan uygulamada fazla kabul görmemektedirler ve çoğunlukla başka seçeneğin bulunmadığı durumlarda kullanılırlar (3,7,33-40). Diğer bir kıkırdak kaynağı ise, perikondrial flepler (10,11,16,17,19) ve serbest perikondrium greftlerdir (12,13,14,18,32-34). Perikondrial fleplerden, greftlere oranla daha hızlı kıkırdak elde edilebilir ama, pratik açıdan zorluklar vardır. Perikondrium greftlerinden kıkırdak elde edilmesi ise, daha pratik ve kaynağı zengin bir yöntemdir. Her zaman olmasa da, gelişme çağındaki kiişilerde, serbest perikondrium greftleri, rahatlıkla kıkırdak üretebilmektedir (50,53,55). Perikondriuma şekil verilebildiğinden şekilli kıkırdak elde etmek de mümkündür (16,17). Tavşan kulaklarından alınan perikondrium greftleri subkutan dokuda Engkvist ve ark. (51) göre ortalama %22, Brent ve ark. (33) göre ise, ortalama %50 oranında yeni kıkırdak oluşturabilmektedirler. Ama,

bu greftler eklem yüzeyi defektlerine uygulandıklarında bu oran, Engkvist ve Ohlsen tarafından (32) ortalama %85 olarak bulunmuştur. Ohlsen ve Nordin (51) köpeklerde kostal perikondrium greftlerinden gelişen kıkırdağın, en çok greftin 2/3'ünü kaplayabildiğini bildirmişlerdir. Perikondriumun kıkırdak oluşturma etkisini arttırıcı bazı faktörler araştırılmıştır. Skoog ve Ohlsen (10.12) perikondriumun aktif yüzeyine kan pıhtısı temas ettiği zaman, kıkırdak yapıcı etkisinin arttığını öne sürmüşlerdir. Ama daha sonra Hosokawa ve ark. (49) perikondriumdan yeni kıkırdak oluşumu için, kan pıhtısı veya içeriye doğru kapiller gelişiminin gerekli olmadığını göstermişlerdir. Kıkırdak defektlerinin, perikondrium greftleri ile onarımı konusunda, geniş klinik çalışmalar da yapılmıştır. Skoog (14) 1976 yılında, ankiloze metakarpofalangeal eklemin serbest perikondrium greti ile başarılı rekonstrüksiyonunu bildirmiştir. Fakat yaşlı hastalarda başarılı sonuçlar elde edilememiştir. Bu da yaşlanan kostal kıkırdakta bilinen fizyolojik değişikliklerle ilgilidir (3). Daha sonra birçok araştırmacı, diz eklemi ve trakea dokusunun rekonstrüksiyonunda, serbest perikondrium greftlerinin kullanımı konusunda çalışmalar yapmışlardır. Diz eklemi kıkırdağının rekonstrüksiyonunda, serbest periost greftleri de kullanılmış ve başarılı sonuçlar bildirilmiştir (37).

Son zamanlarda, doku mühendisliği ile kıkırdak dokusu elde etme yönünde de çalışmalar yapılmaktadır (37,38,85-94,96,97). Ancak bu yöntemlerde de teknolojik ve pratik açıdan zorluklar karşımıza çıkmaktadır. Nöth ve ark. (98,99) çalışmasında kollajen tipi hidrojel üzerinde kültüre edilmiş kemik iliğinden alınan mezenşimal hücrelerin, eklem kıkırdağı defekti üzerinde etkisi araştırılmıştır. Uzun dönemde deney grubunda anlamlı sonuçlar görülmüştür. Yetişkin kök hücre uygulaması ile daha çok regenerasyon potensiyeli ve minimum immun reaksiyon görülmüştür. Wakitani ve ark. (76,95) çalışmasında kemik iliğinden alınan mezenşimal kök hücrelerin kıkırdak defekti üzerinde etkisi araştırılmış, kontrol grubuna oranla daha fazla miktarda hiyalin kıkırdak oluşumu izlenmiştir. Yağ gretleri üzerine yapılan bir

çalışmada Coleman ve ark. (54) tarafından yağ dokusundan alınan kök hücrelerin, yağ greftinin yaşayabilirliğini arttırdığı görülmüştür.

Organizma gelişme dönemini tamamladıktan sonra, kıkırdak hasarı olduğunda, onarım genellikle yetersiz olmaktadır (1,24,25,34-36). Bu, hem elastikiyetini kaybetmiş olan kıkırdağın endojen onarıma uygun olmamasından, hem de perikondriumdaki projenitör hücrelerin kapasitelerinin zamanla azalmasından kaynaklanabilir (1,3-5). Eğer kıkırdak hasarı geniş ise, gelişmekte olan organizmalarda bile, perikondrium defekti kıkırdak dokusu ile onaramamakta ve defekt skar dokusu ile kapatılmaktadır (1,27). Defekt bölgesine biyomateryallerin uygulanması, bir ölçüde onarım sürecini hızlandırabilmektedir. Bu hızlanma, skar dokusu oluşumundan önce yeni kıkırdak dokusu gelişimini sağlayabilirse (29,31), defekt onarımı original doku ile olabilecektir. Aksi takdirde, defekt skar dokusu ile kapatılacaktır. Skar dokusu, geniş çaplı Tip I kollajen fibrillerden oluştuğu için, kıkırdağın fiziksel yapı ve özellikleri kaybolmaktadır (1,24,25). Biyomateryallerin tüm bu süreçleri original doku lehine etkileyebildikleri henüz, net olarak gösterilememiştir (39).

Yine kliniğimizde tavşan kulağında yaptığımız daha önceki bir deneysel çalışmamızda, tavşanlarda perikondrium fleplerinden yeni kıkırdak oluşumunu, liyofilize heterolog kollajenin hızlandırdığını göstermişdik (100). Bu çalışmada makroskobik olarak, kollajen kullanılan tarafta kıkırdak destek oluşurken, kontrol tarafında oluşmadığını tespit etmiştik. Mikroskobik olarak ise, 180. günde, kollajen kullanılan tarafta defektin tamamen dolduğunu, ama bir miktar yeni kondroblast oluşumunun devam ettiği görülmüştü. Kontrol tarafında ise, kıkırdak defektinin tam onarılamadığını ve yeni kıkırdak gelişiminin erken aşamalarda olduğunu saptamıştık (100).

Kartilaj defektlerinin cerrahisinde en önemli problemlerden biri, iyileşme sürecinde matriks sentezi ve matriks sentezinin sürecinin fibrozis ile sonuçlanmasıdır. Kötü kartilaj rejenerasyonu, son yıllarda değişik teknikler kullanılarak, giderilmeye çalışılmaktadır (36,37,101,102). Kıkırdak büyümesi mevcut kondrositlerin bölünerek çoğalmaları (interstisyel büyüme) ve

perikondriyumdaki hücrelerin farklılaşmasıyla (apozisyonel büyüme) 2 şekilde olur. Apozisyonel büyümeye göre interstisyel büyümenin rolü daha azdır. İnterstisyel büyüme sadece kıkırdak oluşumunun erken dönemlerinde matriksi içeriden genişleterek doku kitlesini artırır. İntertisyel büyüme uzun kemiklerin epifiz plaklarında ve eklem kıkırdağında da görülür. İntertisyel büyüme, uzun kemiklerin boylarının uzamaları için epifiz plaklarında ve kıkırdaktan oluşan kemik modelinin yapılabilmesi için de endokondrial kemikleşmede önemli rol üstlenir. Perikondrium olmadığı için eklem kıkırdağının eklem yüzeyine yakın yerlerinde zamanla yıpranan hücreler ve matriksin yenilenebilmesi apozisyonla gerçekleşmez, yenilenme içten sağlanmaktadır. Vücudun başka yerlerindeki kıkırdak, çapraz bağlantılar yapan matriks molekülleri ile giderek sertleşir, burada interstisyel büyümeden daha az söz edilir. Bu durumda kıkırdak sadece apozisyonla çevresel olarak büyür. Perikondriyumdaki kondroblastlar çoğalarak etrafını matriksle sardıklarında, kondrosit haline gelirler ve mevcut kıkırdağa katılırlar (36,75). Kıkırdak doku transferi yapıldığı zaman dokunun yaşayabilirliği ve kıkırdak dokusunu besleme gücü de önemlidir. Son yıllarda sürdürülen araştırmalarda yağ dokusunun vücudun bütün dokularına dönüşebilme yeteneğine sahip kök hücreden zengin bir doku olduğu ispatlanmıştır (53,71,72). Bu çalışmamızda umut verici araştırmaları devam ettirmek adına kıkırdak defektlerinde yağ grefti kullanmaya karar verdik. Kendi kendini yenileyen hücrelerin varlığı 1950'li yıllarda bilinmekteydi. Bugün yaygın olarak kullandığımuz kök hücrenin tanımı ise,1961 yılında deneysel çalışmalar sonucu yapılmıştır. İlk zamanlar kemik iliğinden kök hücre alınarak doku defektlerinin tedavisinde kullanılmaktaydı. Kemik iliği nakillerinin başarı kazanmasından bir süre sonra, 1970'li yıllarda kemik iliğinin bütünüyle değil, sadece onun temel hücreleri olan kök hücrelerin nakli gündeme geldi ve ilk olguları umut verici oldu (78,85). İlk başta sadece kemik iliği onarımı için kullanılsa da, daha sonra diğer organların tedavisinde de kullanılmaya başlandı. Embriyonik kökenli kök hücreler ise, 1998 yılında Thomson (67,72) tarafından tanımlandı. Hazırda bazı ülkelerde etik, politik ve ahlaki

sınırlandırmalardan dolayı yasaklanmasına rağmen, birçok ülkede senede yaklaşık 15000 vakada kök hücre tedavisi uygulamaktadır (71-73).

Bizim kullandığımız yöntemde greft yaşayabilirliğini daha uzun tutmak ve maksimum sağlam hücre transplantasyonu sağlamak amacıyla yağ grefti blok halinde nakledildi. Bu yöntemin aynı zamanda teknik olarak da kolaylık sağladığını düşünmekteyiz. Deney grubu üzerinde yapılan incelemede yeni kondrositlerin meydana geldiği görüldü.

Sonuç olarak, kıkırdak defektlerinde yağ grefti uygulaması ile kıkırdak defektlerinin kapanabileceğini ve bunun için daha ileri deney ve araştırmalar gerekli olduğunu düşünmekteyiz. Yağ greftleri ile kıkırdak onarımı mümkün olduğunda, bu hem donör alan morbiditesini azaltacak, hem de donör alan sorununu çözecektir.

KAYNAKLAR

1. Silver FH, Glasgold AL. Cartilage wound healing. An overview. Otolaryngol Clin North Am 1995;28:847.
2. Özgentaş HE, Erol ÖO, Gürsu-Hazarlı GG. Sekonder arteriyel perikondrial fleplerde kıkırdak rejenerasyonu. Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Dergisi 1982-1983;79:4-5
3. Brent B. Repair and grafting of cartilage and perichondrium. McCarthy JG. (ed). Plastic surgery. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1990. 559-82.
4. Leeson TS, Leeson CR (eds). Specialized connective tissue. Histology. 4th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1981. 137-61.
5. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO (eds). Cartilage. Basic histology. 7th edition. New Jersey: Appleton and Lange; 1992. 132-41.
6. Stevens A, Lowe J (eds). Support cells and axtracellular matrix. Histology. London: Gower Medical Publishers; 1992. 42-56.
7. Georgiade GS, Georgiade NG, Riefkohl R, Barwick W (eds). Textbook of plastic, maxillofacial and reconstructive surgery. 1st edition. Maryland-Williams and Wilkins; 1987. 79-82.
8. Lester CW. Tissue replacement after subperichondrial resection of costal cartilage. Two case reports. Plast Reconst Surg 1959;23:49.
9. Ohlsen L, Skoog T, Sohn SA. The pathogenesis of cauliflower ear. Scand J Plast Reconstr Surg. 1975;9:34.
10. Skoog T, Ohlsen L, Sohn SA. Perichondrial potential for cartilaginous regeneration. Scand J Plast Reconstr Surgery 1972; 6:123.
11. Ohlsen L. Cartilage regeneration from perichondrium. Plast Reconstr Surg 1978;62:507.
12. Ohlsen L. Cartilage formation from free perichondrial grafts. An experimental study in rabbits. Br J Plas Reconstr Surg 1976;29:262.
13. Sohn SA, Ohlsen L. Growt of cartilage from a free perichondrial graft placed across a defect in a rabbit's trachea. Plast Reconstr Surg 1974;53-5.
14. Skoog T, Johansson SH. The formation of articular cartilage from free perichondrial grafts. Plast Reconstr Surg 1976;57:1.
15. Poole CA, Flint MH, Beaumont BW. Chondrons in cartilage: ultrastructural analysis of the pericelular microenvironment in adult human articular cartilage. J Orthop Res 1987;5:509.
16. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ. An experimental model for ear reconstruction with moulded perichondrial flaps. A preliminary report. Br J Plast Surg 1989;42:223.
17. Ruuskanen MM. Shaped regeneration of rabbit ear perichondrium. Scand Plast Reconstr Hand surg 1991;25:193.
18. Prockop DJ, Williams CJ, Vandenberg P. Collagen in normal and diseased connective tissue. McCarthy DJ, Koopman WJ (eds). Arthritis. Philadelphia: Lea and Febiger; 1993. 213-28.
19. Bornstein P. Structurally distinct collagen types. Ann Rev Biochem 1980;49:958.

20. Evans EJ, Benjamin M, Pemberton BJ. Fibrocartilage in the attachment zones of the quadriceps tendon and patellar ligament of man. J Anat 1990;171:155.
21. Kempson GE, Tuke MA, Dingle JT. The effect of proteolytic enzymes on the mechanical properties of adult human articular cartilage. Biochim Biophys Acta 1976;428:741.
22. Broom ND, Poole CA. Articular cartilage collagen and proteoglycans: their functional dependence. Arthirits Rheum 1983;26:1111.
23. Burgeson RE, Nimni ME. Collagen types: molecular structure and tissue distribution. Clin Orthop Rel Res 1992;282:250.
24. Mian E, Mian M, Beghe F. Collagen as a pharmacologic approach in wound healing. Int J Tiss Reac (Suppl.) 1992;14:1.
25. Palmieri B. Heterologous collagen in wound healing: a clinical study. Int J Tiss Reac (Suppl.) 1992;4:21.
26. Mian E, Mian M, Beghe F. Lyophilized type-I collagen and chronic leg ulsers. Int J Tiss Reac 1991;13:257.
27. Caplan AI. Review: mesenchymal stem cells. Cell-based reconstructive therapy in orthopedics. Tissue Eng 2005;11:119–211.
28. Lee CS, Burnsed OA, Raghuram V, Kalisvaart J, Boyan BD, Schwartz Z. Adipose stem cells can secrete angiogenic factors that inhibit hyaline cartilage regeneration. Stem Cell Res Ther 2012;3:35.
29. Ohlsen L, Vedung S. Reconstructing the antihelix of protruding ears by perichondrioplasty. A modified technique. Plast Reconstr Surg 1980;65:753.
30. Ruuskanen MM, Virtanen MK, Tuominen H, Tormala P, Waris T. Generation of cartilage from auricular and rib free perichondrial grafts around a self-reinforced polyglycolic acid mould in rabbits. Scan J Plast Reconstr Hand Surg 1994;28:81.
31. Hosokawa K, Hata Y, Yano K, Matsuka K, Ito O. Inhibitory effect of mature cartilage on perichondrial neochondrogenesis. Ann Plast Reconstr Surg 1989;23:155.
32. Engkvist O, Ohlsen L. Reconstruction of articular cartilage with free autologous perichondrial grafts. An experimental study in rabbits. Scand J Plast Reconstr Surg 1979;13:269.
33. Brent B, Ott R. Perichondro-cutaneous graft. Plast Reconstr Surg 1978;62:1.
34. Newman A. Articular cartilage repair. Am J Sports Med 1998;26:309–24.
35. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full thickness defects of articular cartilage. J Bone Joint Surg Am 1993;75A:532–53.
36. Buckwalter JA. Articular cartilage injuries. Clin Orthop Relat Res 2002;402:21–37.
37. Hardingham T, Tew S, Murdoch A. Tissue engineering: chondrocytes and cartilage. Arthritis Res 2002;4:S63–68.
38. Hunziker EB. Articular cartilage repair: basic science and clinical progress; a review of the current status and prospects. Osteoarthritis Cartilage 2001;10:432–63.

39. Czitrom AA, Gross AE, Langer F, Sim FH. Bone banks and allografts in community practice. Instr Course Lect 1988;37:13–24.
40. Steinwachs MR, Guggi T, Kreuz PC. Marrow stimulation techniques. Injury 2008;39:S26–31.
41. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson C, Isaksson O, Patterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. N Engl J Med 1994;331:889–95.
42. Brittberg M, Peterson L, Sjogren-Jansson E, Tallheden T, Lindahl A. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation. J Bone Joint Surg Am 2003;85A:109–15.
43. National Institute for Clinical Excellence. Guidance on the use of autologous cartilage transplantation for full thickness cartilage defects in knee joints. Technology appraisal guidance. No.16. London: NICE; 2000.
44. Saris DBF, Vanlauwe J, Victor J, Almqvist KF, Verdonk R, Bellemans J, et al. Treatment of symptomatic cartilage defects of the knee: characterized chondro- cyte implantation results in better clinical outcome at 36 months in a randomized trial compared to microfracture. Am J Sports Med 2009;37:105-95.
45. Tew SR, Clegg PD, Brew CJ, Redmond CM, Hardingham TE. SOX9 transduction of a human chondrocytic cell line identifies novel genes regulated in primary human chondrocytes and in osteoarthritis. Arthritis Res Ther 2007;9:R107.
46. Homicz MR, Schumacher BL, Sah RL, Watson D. Effects of serial expansion of septal chondrocytes on tissue-engineered neocartilage composition. Otolaryngol Head Neck Surg 2002;127:398–408.
47. Cancedda R, Dozin B, Giannoni P, Quarto R. Tissue engineering and cell therapy of cartilage and bone. Matrix Biol 2003;22:81–91.
48. Dozin B, Malpeli M, Camardella L, Cancedda R, Pietrangelo A. Response of young, aged and osteoarthritic human articular chondrocytes to inflammatory cytokines: molecular and cellular aspects. Matrix Biol 2002;21:449–59.
49. Clar C, Cummins E, McIntyre L, et al. Clinical and cost- effectiveness of autologous chondrocyte implantation for cartilage defects in knee joints: systematic review and economic evaluation. Health Technol Assess 2005;9:1–82.
50. Van Osch GJ, Brittberg M, Dennis JE, et al. Cartilage repair: past and future — lessons for regenerative medicine. J Cell Mol Med 2009;13:792–810.
51. Lee CR, Grodzinsky AJ, Hsu HP, Martin SD, Spector M. Effects of harvest and selected cartilage repair procedures on the physical and biochemical properties of articular cartilage in the canine knee. J Orthop Res 2000;18:790–9.
52. Hettrich CM, Crawford D, Rodeo SA. Cartilage repair: third-generation cell-based technologies—basic science, surgical techniques, clinical outcomes. Sports Med Arthrosc 2008;16:230–5.
53. Bahrani H, Razmkhah M, Ashraf MJ, et al. Differentiation of adipose-

derived stem cells into ear auricle cartilage in rabbits. J Laryngol Otol 2012;126:770–4.
54. Coleman SR. Long-term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. Aesthetic Plast Surg 1995;19:421– 5.
55. Wu L, Cai X, Zhang S, Karperien M, Lin Y. Regeneration of articular cartilage by adipose tissue derived mesenchymal stem cells: perspectives from stem cell biology and molecular medicine. J Cell Physiol 2012;24:255
56. Harley OJ, Pickford MA. CT analysis of fat distribution superficial and deep to the Scarpa's fascial layer in the mid and lower abdomen. J Plast Reconstr Aesthet Surg 2013;1748-6815.
57. Zuk PA, Zhu M, Mizino H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. Tissue Eng 2001;7:211–28.
58. Pond C. Morphological aspects and the ecological and mechanical consequences of fat deposition in wild vertebrates. Annu Rev Ecol Syst 1978;9:519–70.
59. Merklin RJ. Growth and distribution of human fetal brown fat. Anat rec 1974;178:637-45.
60. Wassermann F. The fat organs of man: development, structure and systematic place of the so-called adipose tissue. Mikroskop Anat Abt Histochem 1926;3:325.
61. Hausberger FX. On the ability of transplanted fetal adipose tissue from rats to grow and develop. Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med 1938;302:640.
62. Adebonojo FO. Studies on human adipose cells in culture: Relation of cell size and cell multiplication to donor age. Yale J Biol Med 1975;48**:**9-16.
63. Adebonojo FO. Monolayer cultures of disaggre- gated human adipocytes. In Vitro 1975;11:50-4.
64. Dardick I, Poznanski WJ. Ultrastructural observations on dif- ferentiating human preadipocytes cultured in vitro. Tissue Cell 1976;9:561.
65. Illouz YG. Study of subcutaneous fat. Aesthetic Plast Surg 1990;14:165-77.
66. Markman B, Barton FE. Anatomy of the subcutaneous tissue of the trunk and lower extremity. Plast Reconstr Surg 1987;80:248–54.
67. Thomso JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998;282:1145-7.
68. Sjöström L, Björntorp P. Body composition and adipose tissue cellularity in human obesity. Acta Med Scand 1974;195; 201–1.
69. Van RL, Roncari DA. Complete differentiation in vivo of implanted cultured adipocyte precursors from adult rats. Cell Tissue Res 1982;225:557-66.
70. Van RL, Roncari DA. Complete diferentiations of adiposite precursors. Aculture system for styding the cellular nature of adipose tissue. Cell Tissue Res 1978;195:317-29.
71. Alison MR, Poulsom R, Forbes S, Wright NA. An introduction to stem cells. J Path 2002;197:419–23.
72. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell

lines derived from human blastocysts. Science 1998;282:1145–7.
73. Vats A, Tolley NS, Bishop AE, Polak JM. Embryonic stem cells and tissueengineering: delivering stem cells to the clinic. J R Soc Med 2005;98:346–50.
74. Wilks DC, Mander AP, Jeb SA, et al. Dietary energy density and adiposity: Employing bias adjustments in a meta-analysis of prospective studies. BMC Public Health 2011;11:48
75. Khan WS, Hardingham TE. Stem cell applications and cartilage tissue engineering approaches applicable in hand surgery. In hand surgery: Preoperative expectations, techniques and results. Beckingsworth RH (ed). New York: J Perioper Pract 2009;19:130-5.
76. Caplan AI, Elyaderani M, Mochizuki Y, Wakitani S, Goldberg VM. Principles ofcartilage repair and regeneration. Clin Orthop Relat Res 1997;342:254.
77. Furumatsu T, Tsuda M, Taniguchi N, Tajima Y, Asahara H. Smad3 induceschondrogenesis through the activation of SOX9 via CREB-binding protein/p300recruitment. J Biol Chem 2005;280:8343–50.
78. Friedenstein AJ, Piatetzky II S, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. J Embryol Exp Morphol 1966;16:381–90.
79.Dragoo JL, Samimi B, Zhu M, et al. Tissue-engineered cartilage and bone using stem cells from human infrapatellar fat pads. J Bone Joint Surg Br 2003;85B:740–7.
80. Peng H, Huard J. Stem cells in the treatment of muscle and connective tissue diseases. Curr Opin Pharmacol 2003;3:329–33.
81. Dowthwaite GP, Bishop JC, Redman SN, et al. The surface of articular cartilage contains a progenitor cell population. J Cell Sci 2004;117: 889–97.
82. Frenkel SR, Toolan B, Menche D, Pitman MI, Pachence JM. Chondrocyte transplantation using a collagen bilayer matrix for cartilage repair. J Bone Joint Surg Br 1997;79:831–6.
83. Diduch DR, Jordan LC, Mierisch CM, Balian G. Marrow stromal cells embedded in alginate for repair of osteochondral defects. Arthroscopy 2000;16:571–7.
84. Marcacci M, Berruto M, Brocchetta D, et al. Articular cartilage engineering with Hyalograft C: 3-year clinical results. Clin Orthop 2005;435:96–105.
85. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblastcolonies in monolayer cultures of guinea pig bone marrow and spleen cells. CellTissue Kinet 1970;4:393–403.
86. Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cell surface antigen on human marrow derivedmesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. 1992;13:69–80.
87. Khan WS, Adesida AB, Hardingham TE. Hypoxic conditions increase hypoxia-inducible transcription factor 2alpha and enhance chondrogenesis in stem cells from the infrapatellar fat pad of osteoarthritis patients. Arthritis Res Ther 2007;9:55.
88. Amabile G, Meissner A. Induced pluripotent stem cells: current progress

andpotential for regenerative medicine. Trends Mol Med 2009;15:59–68.
89. Raghunath J, Salacinski HJ, Sales KM, Butler PE, Seifalian M. Advancing cartilage tissue engineering: the application of stem cell technology. Curr Opin Biotech 2005;16:503–9.
90. Krampera M, Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E. Bone marrowmesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. Blood 2003;101:3722–9.
91. Magne D, Vinatier C, Julien M, Weiss P, Guicheux J. Mesenchymal stem cell therapyto rebuild cartilage. Trends Mol Med 2005;11:519–26.
92. Indrawattana N, Chen G, Tadokoro M, Shann LH, Ohgushi H, Tateishi T. Growth factor combination for chondrogenic induction from human mesenchymal stem cell. Biochem Biophys Res Commun 2004;320:914–9.
93. Johnstone B, Hering TM, Caplan AI, Goldberg VM, Yoo JU. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. Exp Cell Res1998;238:265–72.
94. Khan WS, Adesida AB, Tew SR, Lowe ET, Hardingham TE. Bone marrow-derivedmesenchymal stem cells express the pericyte marker 3G5 in culture and showenhanced chondrogenesis in hypoxic conditions. J Orthop Res 2010;28:834–40.
95. Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articularcartilage. J Bone Joint Surg Am 1994;76:579–92.
96. Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. Stemcells 2004;22:487–500.
97. De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, Luyten FP. Multipotent mesenchymal stemcells from adult human synovial membrane. Arthritis Rheum 2001;44:1928–42.
98. Rackwitz L, Schneider U, Andereya S, et al. Reconstruction of osteochondral defects with a collagen I hydrogel. Results of a prospective multicenter study. Orthopade 2012;41:268-79.
99. Schneider U, Rackwitz L, Andereya S, et al. A prospective multicenter study on the outcome of type 1 collagen hydrogel-based autologous chondrocyte implantation (CARES) for the repair of articular cartilage defects on the knee. Am J Sports Med 2011;39:2558-65.
100. Özbek S, Kahveci R, Kahveci Z, Özcan M, Sırmalı Ş. Effect of lyophilized heterologous collagen on new cartilage formation from perichondrial flaps in the rabbits: an experimentals study. Ann Plast Surg 2003;50:528.
101. Spain TL, Agrawal CM, Athanasiou KA. New technique to extend the useful life of a biodegradable cartilage implant. Tissue Eng 1998;4:343–52.
102. DePalma AF, McKeever CD, Subin DK. Process of repair of articular cartilage demonstrated by histology and autoradiography with tritiated thymidine. Clin Orthop 1996;48:229

TEŞEKKÜR

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uzmanlık eğitimimin sonuna gelmemde bana yardımcı olan, derin bilgi ve tecrübelerini öğreten, sayın hocam Prof. Dr. Selçuk AKIN'a,

Sabrıyla, bilimsel tecrübesiyle herkesin hayranlığını kazanan sayın hocam Prof. Dr. Ramazan KAHVECİ'ye,

Çok sevdiğim sayın hocam Prof. Dr. Serhat ÖZBEK'e ve uzman olarak yetişmemizde ve tecrübe kazanmamızda emeği olan sayın hocam Prof. Dr. G. Yeşim ÖZGENEL'e,

Tez çalışmamda büyük katkıları olan, yardımlarını ve güleryüzünü eksik etmeyen sayın hocam Prof. Dr. Zeynep KAHVECİ'ye,

Birlikte çalışmaktan zevk aldığımız ve manevi değerleriyle çok sevdiğim başta hemşire Kamuran AYDIN ve diğer tüm hemşire arkadaşlarıma ve personellere,

Zor da olsa hayatıma renk katan güzel günler geçirdiğimiz her zaman yanımda olan asistan arkadaşlarıma,

Benden uzakta olsalar da maddi ve manevi desteklerini eksik etmeyen babama, anneme ve kardeşlerime derin teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

VUGAR ALAKBAROV 1984'te Azerbaycan, Bakü şehrinde doğdu, ilk öğretim ve lise eğitimini Bakü'de tamamladı. 1999 yılında Azerbaycan Devlet Tıp Üniversitesi'ne girdi ve 2005 yılında aynı üniversiteden mezun oldu. Üniversite yıllarında eş zamanlı olarak Bakü Merkez Klinik Hastanesi'nde sağlık personeli olarak gece nöbetlerinde çalıştı. 2006 yılında Azerbaycan Devlet Tıp Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Bölümü uzmanlık eğitimini tamamladıktan sonra aynı yıl Türkiye'ye Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uzmanlık eğitimi için geldi.

2006-2007 yılında Ankara Üniversitesi TÖMER İzmir Şubesi'nde Türkçe eğitimi gördü ve başarıyla tamamladı. Bu yıl içerisinde aynı zamanda Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda eğitim aldı ve 17 Ekim 2007 tarihinde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda göreve başladı.

Yabancı dillerden Rusça'yı iyi derecede, İngilizce'yi orta derecede bilmektedir. Bekardır ve 2 kız kardeşi vardır. Babası Azerbaycan Merkez Klinik Hastanesinde Beyin ve Sinir Cerrahisi doktorudur. Annesi kimya öğretmeni olarak lisede görev yapmaktadır.