

**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

**YAĞ GREFTİ CANLILIĞI ÜZERİNDE ADİPÖZ KÖKENLİ STROMAL
VASKÜLER FRAKSİYON İLE EMİLEBİLİR POLİ-4
HİDROKSİBÜTİRAT VE POLİKAPROLAKTON İSKELELERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

DeneySEL Çalışma

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Süleyman SAVRAN

ANKARA, 2025

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

**YAĞ GREFTİ CANLILIĞI ÜZERİNDE ADİPÖZ KÖKENLİ STROMAL
VASKÜLER FRAKSİYON İLE EMİLEBİLİR POLİ-4
HİDROKSİBÜTİRAT VE POLİKAPROLAKTON İSKELELERİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Deneyisel Çalışma

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Süleyman SAVRAN

**TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üye. Dr. Abbas ALBAYATI**

ANKARA, 2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalanma fırsatı bulduğum, her konuda rehberliğiyle yol gösteren, doğru hasta yaklaşımı, cerrahi nosyonu ve akademik çalışma disiplini kazanmamda büyük katkısı olan, güler yüzü ve nezaketiyle örnek bir hekim ve akademisyen olan Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. A. Çağrı Uysal'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında titiz yaklaşımı, detaylara verdiği önem ve yol göstericiliğiyle bana rehberlik eden, çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde büyük emeği bulunan değerli tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Abbas Albayati'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca ilk cerrahi deneyimlerimde yanımda olarak ameliyatların inceliklerini öğreten, mesleki bilgi ve becerilerimin şekillenmesinde büyük katkısı olan hocama şükran borçluyum.

Uzmanlık eğitimim boyunca mikrocerrahiye olan tutkusuyla ilham veren, perforatör ve serbest flep cerrahisindeki deneyimlerinden büyük ölçüde faydalandığım değerli hocam Doç. Dr. Burak Özkan'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin histopatolojik incelemelerinde titiz çalışmalarıyla katkıda bulunan Doç. Dr. Merih Tepeoğlu'na, biyostatistiksel değerlendirme aşamasında değerli desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Meriç Yavuz Çolak'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince dostlukları, özverili çalışmaları ve desteğiyle yanımda olan asistan arkadaşlarım Dr. Abdullah Kızmaz ve Dr. Khalid Zeynalov'a minnettarlığımı ifade ederim.

Plastik Cerrahi Polikliniğimizi evimiz haline getiren sevgili hemşiremiz Elif Çelebi'ye ve her türlü süreçte yardımlarını esirgemeyen bölüm sekreterimiz Emine Sincanoğlu'na teşekkür ederim.

Bugünlere ulaşmamda en büyük paya sahip olan, sevgisi ve desteğiyle her zaman yanımda olan sevgili eşim Dr. Merve Dursun Savran'a ve varlıklarıyla bana güç veren değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Süleyman SAVRAN

ÖZET

Günümüzde biyobozunur iskeleler, yağ greftlerinin hacim kaybını azaltma ve rejeneratif kapasiteyi artırma potansiyelleri nedeniyle estetik ve rekonstrüktif cerrahide giderek daha fazla araştırılmaktadır. Bu çalışmada, emilebilir poli-4-hidroksibütirat (P4HB) ve polikaprolakton (PCL) iskelelerin, adipöz kökenli stromal vasküler fraksiyon (ADSVF) ile kombine edilmiş yağ greftlerinin canlılığı ve doku rejenerasyonu üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem:

Toplam 26 erişkin dişi Sprague Dawley sıçanın sırt bölgesinde bilateral subkutan cepler oluşturuldu.

Grup 1: Sağ tarafa P4HB + yağ grefti, sol tarafa yalnızca P4HB.

Grup 2: Sağ tarafa PCL + yağ grefti, sol tarafa yalnızca PCL.

Grup 3: Sağ tarafa PCL + yağ + ADSVF, sol tarafa P4HB + yağ + ADSVF uygulandı.

İskeleler 2 cm çapında dairesel olarak hazırlanıp, 90 derecelik bir alan çıkarıldı. 4-0 PDS (Ethicon, ABD) sütür ile koni şekline getirildi. Yağ greftleri üç sıçanın bilateral inguinal bölgeden alınan yağ dokusundan elde edildi. ADSVF tarafımızca tanımlanmış olan protokole göre hazırlandı. Cerrahi işlemler genel anestezi altında, steril koşullarda gerçekleştirildi. Sırtın sağ ve sol tarafına 2 cm çapında cepler işaretlendi ve ceplere ulaşmak için her birinin 1.5 cm inferiorundan 2 cm'lik insizyon yapıldı. Künt diseksiyonla, panniculus carnosus tabakası üzerinde subkutan cepler oluşturuldu. Bu ceplere gruplara uygun şekilde iskele, yağ grefti ve ADSVF konuldu. Post-operatif 4., 8. ve 12. haftalarda makroskopik, volümetrik, histopatolojik (H&E, Trikrom) ve immünohistokimyasal (Perilipin, CD31) incelemeler yapıldı. Ayrıca, bir denekte sedasyon altında ultrason elastografi, bilgisayarlı tomografi ve MRG ile radyolojik değerlendirme gerçekleştirildi.

Bulgular:

PCL iskele uygulanan örneklerde, P4HB iskeleye kıyasla boyut ve hacim olarak daha büyük saptandı ($p < 0.05$). Histopatolojik değerlendirmede genel karşılaştırmalarda iskele tipi, yağ grefti ve ADSVF uygulamalarının oluşturulan yağ dokusu büyüklüğü üzerinde anlamlı fark yaratmadığı

gözlenmiştir ($p>0.05$). Ancak alt grup analizlerinde, PCL + yağ grefti + ADSVF grubunda oluşan yağ dokusu hacmi, P4HB + yağ grefti + ADSVF grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha büyük bulunmuştur ($p=0.022$). İnflamasyon düzeyleri incelendiğinde, özellikle yağ grefti ve ADSVF uygulanan gruplarda inflamasyon skorlarının anlamlı biçimde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Vaskülarizasyon açısından, PCL grubunda damar oluşumu P4HB grubuna göre anlamlı derecede fazlaydı ($p=0.019$). Ayrıca PCL alt gruplarında (PCL, PCL + yağ, PCL + yağ + ADSVF) vaskülarizasyon düzeyinin anlamlı olarak arttığı saptandı ($p=0.017$). CD31 boyamasıyla değerlendirilen neovaskülarizasyon, yağ grefti uygulanan gruplarda anlamlı biçimde daha yüksek bulundu ($p=0.020$). Fibrozis ve perilipin ekspresyonu açısından gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$).

Sonuç:

Bu deneysel çalışma, emilebilir P4HB ve PCL iskelelerin yağ greftiyle birlikte kullanıldığında doku hacmini koruma ve vaskülarizasyonu artırma potansiyelini göstermiştir. PCL iskelelerinin daha rijit ve poröz yapısı sayesinde boyut ve hacimde artış ve damar oluşumu için daha uygun bir mikroçevre sağladığı düşünülmektedir. Her iki materyal biyouyumlu olup fibrozis açısından güvenli bulunmuştur. Bu sonuçlar, PCL ve P4HB iskelelerin yağ greftiyle kombinasyonlarının meme cerrahisi ve yumuşak doku rekonstrüksiyonlarında klinik uygulanabilirliğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Yağ grefti, stromal vasküler fraksiyon, P4HB, PCL, biyoemilebilir iskele

ABSTRACT

Aim:

Bioresorbable scaffolds have recently gained attention in aesthetic and reconstructive surgery due to their potential to minimize fat graft resorption and enhance regenerative capacity. This study aimed to compare the effects of poly-4-hydroxybutyrate (P4HB) and polycaprolactone (PCL) scaffolds, combined with adipose-derived stromal vascular fraction (ADSVF), on fat graft viability and tissue regeneration.

Materials and Methods:

A total of 26 adult female Sprague Dawley rats were used. Bilateral subcutaneous dorsal pockets were created in each animal.

Group 1: Right side: P4HB + fat graft; Left side—P4HB only.

Group 2: Right side: PCL + fat graft; Left side—PCL only.

Group 3: Right side: PCL + fat graft + ADSVF; Left side—P4HB + fat graft + ADSVF.

The scaffolds were prepared in circular shapes (2 cm diameter), trimmed at a 90° angle, and shaped into cones using 4-0 PDS sutures (Ethicon, USA). Fat grafts were obtained from the bilateral inguinal regions of three rats, and ADSVF was isolated according to our previously defined protocol. Under general anesthesia and sterile conditions, 2 cm skin incisions were made 1.5 cm inferior to the designated sites, and subcutaneous pockets were bluntly dissected over the panniculus carnosus. The scaffolds, fat grafts, and ADSVF were placed according to group designations.

Macroscopic, volumetric, histopathological (H&E, Trichrome), and immunohistochemical (Perilipin, CD31) analyses were performed at 4, 8, and 12 weeks postoperatively. In one rat, additional ultrasonographic elastography, computed tomography (CT), and magnetic resonance imaging (MRI) were performed under sedation for demonstrative evaluation.

Results:

In specimens with PCL scaffolds, the constructs were significantly larger in size and volume compared with those containing P4HB scaffolds ($p < 0.05$). In the overall histopathological comparison, scaffold type, fat grafting, and ADSVF application did not produce a statistically

significant difference in the amount of newly formed adipose tissue ($p>0.05$). However, subgroup analysis revealed that the PCL + fat graft + ADSVF group had a significantly greater adipose tissue volume than the P4HB + fat graft + ADSVF group ($p=0.022$).

Inflammation scores were significantly higher in the groups receiving fat graft and ADSVF ($p<0.05$). In terms of vascularization, vessel formation was significantly greater in the PCL group compared with the P4HB group ($p=0.019$). Moreover, vascularization levels increased significantly within the PCL subgroups (PCL, PCL + fat, PCL + fat + ADSVF) ($p=0.017$). CD31 immunostaining revealed that neovascularization was significantly higher in the fat-grafted groups ($p=0.020$). No statistically significant differences were observed between the groups regarding fibrosis or perilipin expression ($p>0.05$).

Conclusion:

This experimental study demonstrated that combining bioresorbable P4HB and PCL scaffolds with fat grafts can enhance tissue volume maintenance and vascularization. The stiffer and more porous structure of PCL scaffolds likely provides a more favorable microenvironment for cell proliferation and angiogenesis. Both materials exhibited excellent biocompatibility and low fibrosis potential. These findings support the potential clinical applicability of PCL and P4HB scaffolds in combination with fat grafts for breast reconstruction and soft-tissue augmentation.

Keywords: Fat graft, stromal vascular fraction, P4HB, PCL, bioresorbable scaffold

İÇİNDEKİLER

Teşekkür.....	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet	iv
İçindekiler Dizini	vi
Kısaltmalar	viii
Tablolar Dizini	x
Şekiller Dizini	xi

1. Giriş ve Amaç

2. Genel Bilgiler

2.1 Meme Protezi

2.1.1 Tarihçe

2.1.2 İmplant ile Meme Rekonstrüksiyonu

2.1.3 İmplant ile Meme Augmentasyonu

2.2 Yağ grefti ve Stromal Vasküler Fraksiyon (SVF)

2.2.1 Genel Özellikler

2.2.1.1 Adipöz doku biyolojisi

2.2.1.2 Adipöz doku içeriği

2.2.1.3 Adipositlerin Özellikleri

2.2.1.4 Adipöz Doku Vasküleritesi

2.2.1.5 Adipöz Dokunun Rejeneratif ve Proliferatif Potansiyeli

2.2.2 Yağ Greftinde Adipöz Doku

2.2.2.1 Greft Revaskülarizasyonu

2.2.2.2 Travma ve Mekanik Kuvvete Yanıt

2.2.3 Yağ Greftinde Sağ Kalım

2.2.3.1 Hayatta kalma (Survival) teorisi

2.2.3.2 Greftin yer değiştirme (replacement) teorisi

2.2.3.3 Konakçı hücre yer değiştirme (host cell replacement) teorisi

2.2.3.4 Üç Bölge Yaşam (Three Zone Survival) Teorisi

2.2.4 Yağ Grefti Eldesi

2.2.4.1 Donör saha seçimi

2.2.4.2 Toplama Teknikleri

2.2.4.3 İdeal kanül

2.2.4.4 Islak veya Kuru Aspirasyon

2.2.4.5 İşleme yöntemi

2.3 Emilebilir İskeleler

2.3.1 Poli-4 Hidroksibütrat (P4HB) İskele

2.3.1.1 Genel Özellikleri

2.3.1.2 Kullanım Alanları

2.3.2 Polikaprolakton (PCL) İskele

2.3.2.1 Genel Özellikleri

2.3.2.2 Kullanım Alanları

3 Gereç ve Yöntem

3.1 Gruplar

3.2 Deney Hayvanlarının Bakımı

3.3 Deney Planı

- 3.3.1 Yağ Greftinin Hazırlanması
- 3.3.2 ADSVF Hazırlanması
- 3.3.3 Stromal vasküler fraksiyon hücrelerinin 1,10-Dioctadecyl-3,3,30,30-tetrametilindokarbosiyanin (DiI) Boyası ile işaretlenmesi
- 3.3.4 P4HB VE PCL İskelelerin Hazırlanması
- 3.3.5 Cerrahi İşlem
- 3.3.6 Takip Süresi
- 3.3.7 Makroskopik ve Volümetrik Değerlendirme
- 3.3.8 Histopatolojik Değerlendirme
- 3.3.9 DiI Boyası ile boyanmış adipöz kökenli kök hücrelerin değerlendirilmesi
- 3.3.10 Radyolojik Değerlendirme
- 3.3.11 İstatiksel Analiz

4 Bulgular

- 4.1 Makroskopik Bulgular
- 4.2 Histopatolojik bulgular
- 4.3 Radyolojik Bulgular
- 4.4 Komplikasyonlar

5 Tartışma

6 Sonuç

7 Referanslar

KISALTMALAR

1,1 Dioctadecyl-3,3,3,3, Tetrame, Indo-Corbocyan,Perchlora: DiI Stain, DiI Boyası

ABD: Amerika Birleşik Devleti

ADSVF: Adipose derived stromal vascular fraction, adipöz kökenli stromal vasküler fraksiyon

ASC: Adipose stem cell, Adipöz kökenli kök hücre

BFGF: Basic Fibroblast Growth Factor, Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü

BIA-ALCL: Breast Implant Associated Anaplastic Large Cell Lymphoma, Meme İmplantıyla İlişkili Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma

BT: Bilgisayarlı tomografi

CE: Conformité Européenne, Avrupa Uygunluk Belgesi

DAT: Deep Adipose Tissue, Derin Yağ Dokusu

FBS: Fetal Bovine Serum, Fetal Sığır Serumu

FDA: Food and Drug Administration, Gıda ve İlaç Dairesi

FGF-2: Fibroblast Growth Factor-2, Fibroblast Büyüme Faktörü-2

G-CSF: Granulocyte-colony stimulating factor, Granülosit koloni uyarıcı faktör

GM- CSF: Granulocyte macrophage colony-stimulating factor, Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör

GHB: γ -hidroksibutirat, Gama hidroksibutirat

H&E: Hemotoksilen ve Eozin

HGF: Hepatocyte Growth Factor, Hepatosit büyüme Faktörü

MRG: Manyetik Resonans Görüntülemesi

P4HB: Poly-4-hydroxybutyrate, Poli-4-hidroksibütirat

PCL: Polycaprolactone, Polikaprolakton

PGA: Poliglikolik asit

PLLA: Poli-L-laktik asit

PU: Poliüretan

PBS: Phosphate Buffered Saline, Fosfat Buffer Salin

SAT: Superficial Adipose Tissue, Süperfisyal Yağ Dokusu

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

SVF: Stromal Vasküler Fraksiyon

US: Ultrason

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü



TABLÖLAR

Tablo 1: Gruplara göre genel değerlendirme: Volüm, yağ doku, inflamasyon, vaskülarizasyon, trikrom, perilipin ve CD31 skorlarının karşılaştırılması.

Tablo 2: İskele Karşılaştırması (P4HB vs PCL): İki farklı biyomateryalin histopatolojik ve makroskopik karşılaştırması.

Tablo 3: Yağ greftinin histopatolojik ve makroskopik etkileri

Tablo 4: ADSVF verilen ve verilmeyen grupların karşılaştırılması: Stromal vasküler fraksiyonun histopatolojik ve makroskopik etkileri

Tablo 5: Grup 3 (P4HB + Yağ + ADSVF ve PCL + Yağ + ADSVF) sağ ve sol tarafların histopatolojik ve makroskopik karşılaştırması.

Tablo 6: Grup 2 (PCL ve PCL + Yağ Grefti): sağ ve sol tarafların histopatolojik ve makroskopik karşılaştırması.

Tablo 7: P4HB Grupları (P4HB, P4HB + Yağ, P4HB + Yağ + ADSVF) bazında histopatolojik ve makroskopik etkileri

Tablo 8: PCL Grupları (PCL, PCL + Yağ, PCL + Yağ + ADSVF) bazında histopatolojik ve makroskopik etkileri

Tablo 9: İskele üzerine yapılan uygulamara göre (İskele, İskele + Yağ, İskele + Yağ + ADSVF) histopatolojik ve makroskopik etkiler.

Tablo 10: Grup 1 (P4HB ve P4HB + Yağ Grefti): sağ ve sol tarafların histopatolojik ve makroskopik karşılaştırması.

ŞEKİLLER

Şekil 1:

- 1.Grup: Sırtta sağ cebe P4HB iskele ve yağ grefti. Sol cebe: sadece P4HB iskele
- 2.Grup: Sırtta sağ cebe PCL iskele ve yağ grefti. Sol cebe: sadece PCL iskele
- 3.Grup: Sırtta sağ cebe: PCL iskele, yağ grefti ve ADSVF. Sol cebe: P4HB iskele, yağ grefti ve ADSVF

Şekil 2: ADSVF hazırlanış

- a: İnguinal bölgeden alınan yağ dokusu
- b: Yağ dokusunun daha ince hale getirilmesi
- c: İnceltirilmiş yağ dokusunun fosfat tamponlu tuz çözeltisinde 5 dakika boyunca üç kez durulandıktan sonra 50cc'lik bir santrifüj tüpüne aktarılması
- d: Enzimatik sindirim için santrifüj tüpüne %0.15'lik kollajenaz eklenmesi
- e: 37°C'de 30 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde çalkalanma işlemi
- f: Hücre süspansiyonu, 5 dakika boyunca 1300 devir/dakika (260g) hızda santrifüj edilmesi

Şekil 3:

- a: P4HB iskele, 15x20 cm boyutunda, 2 cm çaplı çemberler
- b: PCL iskele, 5x5 cm boyutunda, 2 cm çaplı çemberler

Şekil 4:

- a: 2 cm lik çemberden 90 derecelik parça çıkarılması
- b: PDS 4-0 PDS (Ethicon, Somerville, NJ, ABD) dikiş ile PCL iskeleye koni şeklinin verilmesi, yandan görünüm
- c: PCL iskele üstten görünüm

Şekil 5:

- a: 1,5 cm insizyon ile girildikten sonra künt diseksiyon ile iskelet için cep açılması, Mavi taraf P4HB
- b: 1,5 cm insizyon ile girildikten sonra künt diseksiyon ile iskelet için cep açılması, Yeşil taraf PCL

Şekil 6:

- a: Grup 3 teki bir denek üzerinde P4HB (sol taraf, mavi), PCL iskele (sağ taraf, yeşil) iskelenin konumlandırılması
- b: Grup 3 teki bir denek üzerinde P4HB (sol taraf, mavi), PCL iskele (sağ taraf, yeşil) iskelenin konumlandırılması , yandan görünüm

Şekil 7:

- a: P4HB iskelenin yerleştirilmesi
- b: Yerleştirdikten sonra ciltteki uyguladığı kaldırma etkisi

Şekil 8:

- a: PCL iskelenin yerleştirilmesi
- b: PCL (yeşil) ve P4HB (mavi) iskelelerin cilt üzerindeki kaldırma etkisi

Şekil 9:

- a: Grup 3'te deneğe PCL (Yeşil) olan konulan tarafa ADSVF verilmesi
- b: Grup 3'te deneğe P4HB (Mavi) olan konulan tarafa ADSVF verilmesi

Şekil 10:

- a: Grup 3, PCL (Yeşil) olan konulan tarafa yağ grefti verilmesi
- b: Grup 3, P4HB (Mavi) olan konulan tarafa yağ grefti verilmesi

Şekil 11:

- a: Grup 1 denek 5 4. haftadaki üstten görünüm
- b: Grup 1 denek 5 4. haftadaki yandan görünüm

Şekil 12:

- a: Grup 2 denek 7 4. haftadaki üstten görünüm
- b: Grup 2 denek 7 4. haftadaki yandan görünüm

Şekil 13:

- a: Grup 3 denek 10 4. haftadaki üstten görünüm, PCL iskele konulan taraf
- b: Grup 3 denek 10 4. haftadaki üstten görünüm, P4HB iskele konulan taraf

Şekil 14:

- a: Grup 1 denek 6 8. haftadaki üstten görünüm
- b: Grup 1 denek 6 8. haftadaki yandan görünüm

Şekil 15:

- a: Grup 2 denek 7 8. haftadaki üstten görünüm
- b: Grup 2 denek 7 8. haftadaki yandan görünüm

Şekil 16:

- a: Grup 3 denek 10 8. haftadaki üstten görünüm, P4HB iskele konulan taraf
- b: Grup 3 denek 10 8. haftadaki üstten görünüm, PCL iskele konulan taraf

Şekil 17:

- a: Grup 2 denek 1 12. haftadaki üstten görünüm
- b: Grup 2 denek 1 12. haftaki PCL iskelelerin kapladıkları alanlar

Şekil 18:

- a: Grup 2 denek 1 sadece PCL iskele konulan alınan specimen örneği
- b: Grup 2 denek 1 PCL ve yağ greftinde konulan specimen örneği
- c: Resimde sağ taraf: Sadece PCL iskele specimen volümetrik ölçümü, yağ oranı az olduğu için suda battığı gözlemlendi. Resimde sol tarafta: PCL iskele ve yağ grefti olarak alınan specimenin suda yüzdüğü gözlemlendi.

Şekil 19:

- a: Grup 2 denek 2 sağ ve sol taraftaki iskelelerin kapladığı alan gösterimi
- b: Grup 2 denek 2, resimdeki sol taraftaki specimende (PCL + Yağ grefti) yağ grefti oluşumu daha belirgin bir şekilde gözlenmekte.

Şekil 20:

- a: Grup 1 denek 1, P4HB iskelelerin kapladığı alan çizimi
- b: Grup 1 denek 1 sadece P4HB (resimde sağ), P4HB + yağ grefti (resimde sol) görüntüsü

Şekil 21:

- a: Grup 1 denek 1 sadece P4HB (resimde sağ), P4HB + yağ grefti (resimde sol) görüntüsü
- b: Grup 1 denek 1 sadece P4HB (resimde sağ) specimen , P4HB + yağ grefti (resimde sol) specimen görüntüsü. Yağ dokusu oluşumu her ikisinde de gözlenmekte.

Şekil 22:

- a:-Grup 3 denek 1 PCL (yeşil) ve P4HB (mavi) tarafın kapladığı alanların çizimi
- b:Grup 3 denek 1 PCL+ yağ greft + ADSVF specimen (resimde sol), P4HB + yağ greft + ADSVF specimen (resimde sağ taraf).

Şekil 23: Yağ graft yoğunluğu

- a: Grup 1 (sağ cep) olgusunda yağ dokusunun az oranda olduğu izleniyor.
- b: Grup 1 (sol cep) olgusunda orta derecede yağ dokusu izleniyor.
- c: Grup 2 (sol cep) olgusunda şiddetli derecede yağ dokusu izleniyor. (Hematoksilen-eozin, x200)

Şekil 24: İnflamatuar hücre reaksiyonu

- a: Grup 1 (sağ cep) olguda az sayıda inflammatuar hücre izleniyor
- b:Grup 2 (sol cep) olguda orta derecede inflammatuar hücre reaksiyonu izleniyor
- c: Grup 3 (sol cep) olguda şiddetli derecede inflammatuar hücre reaksiyonu izleniyor (Hematoksilen-eozin, x200)

Şekil 25: Vaskülarizasyon

- a: Grup 1 (sağ cep) Olguda minimal vasküler proliferasyon izleniyor
- b: Grup 2 (sağ cep) Olguda orta derecede vasküler proliferasyon izleniyor
- c:Grup 2 (sol cep) Olguda şiddetli derecede vasküler proliferasyon izleniyor (Hematoksilen-eozin, x200)

Şekil 26: Histokimyasal olarak Trikrom ile fibrozis değerlendirildi.

- a:Grup 1 (sol cep) olguda hafif derecede fibrozis izleniyor
- b:Grup 2 (sol cep) olguda orta derecede fibrozis izleniyor
- c:Grup 3 (sağ cep) Olguda şiddetli derecede fibrozis izleniyor (Trikrom,x 400)

Şekil 27: İmmünohistokimyasal olarak Perilipin boyası ile yağ doku yoğunluğu değerlendirildi.

- a: Yağ dokusunun düşük oranda olduğu görülüyor
- b:Orta şiddette yağ doku oluşumu izleniyor
- c:Yoğun miktarda yağ doku oluşumu izleniyor (Perilipin, x400)

Şekil 28: İmmünohistokimyasal olarak CD 31 boyası ile vaskülarizasyon değerlendirildi.

a: Hafif derecede vaskülarizasyon

b: Orta derecede vaskülarizasyon

c: Şiddetli derecede vaskülarizasyon izleniyor (CD31; x400)

Şekil 29: Grup 3- Denek 6 sağ taraf (PCL) ADSVF nin anjiogeneze katkısı, DiI boyası, 40x büyütme

Şekil 30: Grup 3- Denek 3 sol taraf (P4HB) ADSVF nin adipogeneze katkısı- DiI boyası, 100x büyütme

Şekil 31: Grup 3- Denek 10- Sol taraf (P4HB): US- Elastografi ölçümleri ve yumuşak doku skalası

Şekil 32: Grup 3- Denek 10- Sağ taraf (PCL): US- Elastografi ölçümleri ve yumuşak doku skalası

Şekil 33: BT- Transvers kesit. Mavi alan: P4HB iskele + yağ grefti + ADSVF. Yeşil alan: PCL iskele + yağ grefti + ADSVF

Şekil 34: BT- Dorsal kesit. Mavi alan: P4HB + Yağ grefti + ADSVF. Yeşil alan: PCL + Yağ grefti + ADSVF

Şekil 35: MRG- T2 transvers sekansı. Mavi alan: P4HB + Yağ grefti + ADSVF. Yeşil alan: PCL + Yağ grefti + ADSVF

Şekil 36: MRG- T1 koronal sekans. Mavi alan: P4HB + Yağ grefti + ADSVF. Yeşil alan: PCL + Yağ grefti + ADSVF

Şekil 37: MRG- T2 koronal sekans. Mavi alan: P4HB + Yağ grefti + ADSVF. Yeşil alan: PCL + Yağ grefti + ADSVF

Şekil 38: Grup 3 -Denek 3. Sol taraf (P4HB) 1 hafta yara dehishansı, yağ grefti sızıntısı

Şekil 39:

a: Grup 2 Denek 2 de 55. günde PCL iskele açığa çıkması

b: Primer sutureasyon ile kapatılması

Şekil 40:

a: Grup 2 Denek 8 de 55. günde PCL iskele açığa çıkması

b: Antiseptik solüsyon ile temizlenme, PCL iskelenin degradasyona başlaması, PCL liflerinin uçlarının sivri görüntüsü

c: Primer sutureasyon ile kapatılması

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme implantları estetik ve onkolojik cerrahide sıklıkla kullanılmaktadır. Yıllar içerisinde teknolojinin gelişmesi ile birlikte implantların güvenliği ve fonksiyonelliği giderek artmıştır. Bu gelişmelere rağmen, implantların cerrahide kullanılması implant ekspozisyonu, enfeksiyon, kapsül kontraktürü ve implant rüptürü gibi riskler taşımaktadır¹. Bu risk ve komplikasyonların önleme amacıyla yağ grefti gibi otolog doku ile yapılan işlem popülerlik kazanmaktadır.

Yağ grefti hem estetik hem rekonstrüksiyon olgularında kullanılabilen doğal sonuçlar ortaya koyan güvenli bir yöntem olarak bilinmektedir². Otolog olması, doku uyumunun tam olması, birçok hastada yeterli miktar bulunması, doğal olarak diğer yumuşak dokulara adaptasyonu, alerjik reaksiyon oluşturmaması, kolay elde edilmesi ve tekrarlanabilir uygulanması başlıca avantajlarından³. Klinik olarak cilt kalitesinin artırılması, yüz ve vücut hatlarının düzenlenmesi, meme büyütme ameliyatında volüm sağlanması ve radyasyon hasarının tedavisinde kullandığı da gösterilmiştir^{4,5}. Yağ greftinin yaşabilirliğinin ön görülememesi ise en büyük dezavantajıdır. Literatürde yağ greftinin viabilitesini arttırdığı gösterilen bir çok metot olmasına rağmen, yağ greftinin tutma oranları %40-80 gibi geniş bir aralıkta bildirilmiştir⁶.

Yağ greftinin reabsorpsiyonun azaltılmasına yönelik Stromal Vasküler Fraksiyon (SVF) efektif bir yöntem olarak kullanılmaktadır. SVF; yağ dokusundan elde edilen, adipöz kökenli mesenkimal stromal hücreleri, endotel hücreleri, endotel progenitör hücreleri, perisitleri, pre-adipositleri ve hematopoetik hücreleri barındırmaktadır⁷. SVF'nin yağ greftindeki mikroiskemik ortamda canlı kaldığına⁸, M2 makrofajlar üzerinden inflamasyonu azaltıp anjiyogenezi artırarak yağ greftinin viabilitesini arttırdığına yönelik değişik teoriler konulmuştur⁹.

Rehnke ve ark. tarafından meme rekonstrüksiyonunda emilebilir biyosentetik iskeleler ve yağ greftinin birlikte kullanılması cerrahi bir yöntem olarak inovasyon niteliği taşımaktadır¹⁰. Teorik olarak implant gibi kalıcı bir yabancı cisim kullanılmaması, serbest doku transferleri gibi teknik olarak zor, uzun hastanede yatış süreci gerektirmemesi bu yöntemin en önemli avantajlarından. Büyük hacimli yağ greftlerinin yaşamasında emilebilir iskelelerin nasıl bir etkisi olduğunu yönelik araştırmalar hala yeterli değildir.

Bu çalışmada, emilebilir Poli-4-hidroksibütrat (P4HB) ve Polikaprolakton (PCL) iskelelerin ve SVF'nin yağ grefti reabsorpsiyonun üzerindeki etkisini göstermeyi amaçlamaktayız. Bu sayede büyük hacimli yağ grefti kullanılan olgularda yağ nekrozu ve kisti ve tekrarlayan yağ grefti ihtiyacını azaltacağını ön görmekteyiz. Teknik olarak emilebilir biyosentetik iskelelerin meme şeklinde hazırlanması meme augmentasyonu-rekonstrüksiyonu veya segmental çıkarılan mastektomi olgularında ihtiyaca göre ayarlanabilir olması literatüre yeni bir algoritma sağlaması açısından öncülük edeceğini düşünmekteyiz.



2. GENEL BİLGİLER

2.1.Meme Protezi

2.1.1 Tarihçesi

İlk modern meme implantları, 1962 yılında Thomas Cronin ve Frank Gerow tarafından tanıtılmıştır ve Dow Corning şirketi tarafından ticari olarak üretilmiştir. Bu implantlar, silikon elastomer kabuktan ve viskoziteli silikon jel dolgusundan oluşmaktaydılar. Ancak sert yapıları ve yüksek kapsül kontraktürü oranları nedeniyle sorunlar gözlenmiştir. 1964'te Laboratoires Arion tarafından geliştirilen şişirilebilir salin dolu implantlar, yumuşak yapıları nedeniyle 1970'lerde popüler olmuştur ancak kozmetik dezavantajları nedeniyle kullanımı Amerika Birleşik Devleti (ABD)'de sınırlı kalmıştır¹¹.

1970'lerde Dow Corning şirketi, ikinci nesil silikon jel implantlarını daha ince kabuk ve daha düşük kohezyonlu jel ile geliştirmiştir. Bu implantlar doğal his verse de mikroskobik jel sızıntıları ve implant rüptürleri görülmüştür. Bu sorunlar, 1976'daki Medikal Cihaz Değişiklikleri kanunuyla Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA)'nin implantları sıkı regüle etmesine neden olmuştur. Aynı yıl Heyer-Schulte, iç tarafı silikon jel ve dış tarafı salin dolu çift boşluklu implantları tanıtmıştır¹¹.

1980'lerde üçüncü nesil implantlar, daha kalın ve çok katmanlı kabuklar ile yırtılma ve sızıntılar azaltılmıştır. 1984'de Mentor, "ters çift boşluklu" ayarlanabilir hacimli implantları (Becker kalıcı doku genişleticileri) piyasaya sunmuştur. Ancak 1980'lerdeki olumsuz yan etkiler nedeniyle 1988'de FDA, meme implantlarını yüksek riskli sınıf III cihaz olarak sınıflandırmıştır. Aynı dönemde poliüretan (PU) kaplı implantların bozunması ve kanserojen maddeler ortaya çıkması endişeleri uyandırmıştır. 1991'de ABD'de poliüretan (PU) kaplı implantların (Surgitek) üretimi durdurulmuştur ama Avrupa'da kullanıma devam edilmiştir¹¹.

1980'lerin sonundan itibaren kalite kontrol artırılarak dördüncü nesil implantlar geliştirilmiştir. Bu implantlarda kalın elastomer kabuklar ve dokulu

yüzeyler kullanılmıştır. Genellikle yuvarlak olan bu implantlar, “salt-loss” ve “damga basımı” gibi yüzey dokulama teknikleriyle üretilmiştir¹¹.

1990’larda Dow Corning Şirketi, büyük bir dava sürecine maruz kalmıştır ve sonucunda şirket 1995 yılında iflas etmiştir. FDA, 1992’de silikon implantların ABD’de kullanımını geçici olarak kısıtlamıştır. Yasak kısa sürede kaldırılmıştır ancak kullanım alanlarını meme rekonstrüksiyonu, doğuştan anomaliler ve revizyon cerrahileri ile sınırlandırılmıştır¹¹.

1993’te beşinci nesil implantlar, anatomik damla formunda ve yüksek kohezyonlu jel dolgu ile tanıtılmıştır. Bazı markalar (Allergan BIOCELL yüzeyi, Eurosilicone, GC Aesthetics, Silimed vb.) “salt-loss” dokulama işlemini implant kabuğuna uygulamıştır. Bu yöntemle silikon kabuğa ince tuz kristalleri püskürtülerek veya batırılarak dokulu yüzey oluşturulmuştur, tuz daha sonra suyla yıkanarak çıkarılmıştır. Mentor ise “Siltext” adını verdiği, daha ince ve homojen bir yüzey dokusu yaratmak için baskı damga yöntemi uygulamıştır¹¹.

O dönemde silikonla ilişkili sağlık endişeleri nedeniyle, dolgu alternatifi olarak LipoMatrix’in Trilucent implantları geliştirilmiştir. Bu implantlar için soya yağı dolguya sahip materyaller kullanılmıştır. Sonraki çalışmalar, implant kabuklarının çok kırılgan olması nedeniyle yüksek erken yırtılma oranı ve yağ dolgusunun bozulması sonucu toksik oksidasyon ürünleri oluşturduğu ve inflamasyon yarattığını göstermiştir. Trilucent implantlar 1999 Mart ayında piyasadan çekilmiştir¹¹.

1991’de kurulan Fransız PIP şirketi, kalitesiz endüstriyel silikon kullanımı nedeniyle 2010’da skandal yaşamıştır ve 2011’de bu şirket tarafından üretilen implantların hastalardan profilaktik olarak çıkarılması önerilmiştir. Brezilyalı Silimed ise 2015’te yüzeyinde insan sağlığı için potansiyel kanserojen liflerin bulunması üzerine Avrupa Uygunluk Belgesi (Conformité Européenne,CE) sertifikası askıya alınmıştır; bazı implantlarda kanser riski bildirilmiştir. Silimed

implantlarının Avrupa'daki satışları durmuştur ve ABD'de Sientra Silimed ile üretim anlaşmasını sonlandırmıştır¹¹.

Öte yandan, dört ve beşinci nesil dokulu implantlar, meme implantı ilişkili anaplastik büyük hücreli lenfoma (BIA-ALCL) isimli nadir bir kanserle ilişkilendirilmiştir. FDA ve Avrupa kurumları bu riski araştırmış ve özellikle makrodokulu implantlarda riskin daha yüksek olduğu sonucuna varmıştır. 2018'den itibaren Allergan'ın makrodokulu implantlarının Avrupa'da satışına izin verilmemiştir; ABD'de de 2019'da kullanılan implantların profilaktik çıkarılması yönelik hastalara duyurular yapılmıştır¹¹.

Makrodokulu implantların kronik inflamasyona yol açmasından dolayı 2010'dan sonra yeniliklerle pürüzsüz ve biyomimetik yüzey yapısına sahip altıncı nesil implantlar ortaya çıktı. Bu implantlar arasında Motiva Silk Smooth, Sebbin Integrity ve Sublimity ve Nagor Perle serileri yer almıştır. Bu teknoloji ile bakteriyel kolonizasyon ve inflamasyon riskinin azaltılması amaçlanmıştır. 2015'te tanıtılan Polytech firması tarafından tanıtılan B-Lite implantları ise silikonların içerisinde inert, boş borosilikat mikro küreseleri içermiştir ve bu sayede aynı hacim için implant ağırlığı azaltılmıştır. B-Lite implantlar için Avrupa'da kullanılmakta olup, FDA tarafından henüz onay verilmemiştir¹¹.

2.1.2 İmplant ile Meme Rekonstrüksiyonu

ABD'de implant ile yapılan meme rekonstrüksiyonu, günümüzde en yaygın meme rekonstrüksiyonu türünü temsil etmektedir. İmplant ile yapılan meme rekonstrüksiyonu, tek ya da iki aşamada gerçekleştirilebilir. Geleneksel iki aşamalı meme rekonstrüksiyonu, geçici bir doku genişleticinin tamamen kas altına; çoğunlukla iskele desteğiyle kısmi kas altına ya da iskele desteği ile ya da olmadan kas önüne (prepektoral) yerleştirilmesini içerir. Doku genişletici, poliklinik takiplerinde kısmen doldurulmaktadır ve ardından kalıcı implant ile değiştirilmektedir. Alternatif olarak, kalıcı implant, mastektomi sonrasında tek aşamalı olarak hemen yerleştirilebilmektedir; bu genellikle kısmi kas altına ya da

bütün implantı kaplayacak şekilde iskeleler ile kas önüne (prepektoral) yerleştirme şeklindedir¹².

İmplant ile yapılan meme rekonstrüksiyonunda; rippling (dalgalanma), seroma, hematoma, enfeksiyon, yara ayrışması, cilt nekrozu, meme başı-areola kompleksi nekrozu, kapsüler kontraktür, animasyon deformitesi ve implant çıkarılması gibi komplikasyonlar gözlenebilmektedir¹³.

2.1.3 İmplant ile Meme Augmentasyonu

Meme büyütme, meme boyutunun artırıldığı cerrahi bir işlemdir. Büyütme işlemi genellikle bir implant yerleştirilerek, daha nadir olarak ise yağ transferi ile yapılabilmektedir. Meme büyütme, ABD’de en sık uygulanan estetik cerrahi işlemlerinden biridir. Meme implantlarının estetik amaçlı kullanılmasının tartışmalı bir geçmişi bulunmaktadır. Günümüzde kullanılan implantlardaki jel, önceki nesil implantlara göre daha kohezif yapıdadır ve form-stabil implantların kullanımı giderek artmaktadır. Bu tür implantların komplikasyon oranlarının daha düşük olabileceği düşünülmektedir, bu konuda değerlendirmeler halen sürmektedir. Ancak, tüm implantlarda zamanla yırtılma ve silikon sızıntısı riski bulunmaktadır¹⁴.

2.2 Yağ Grefti ve Stromal Vasküler Fraksiyon (SVF)

2.2.1 Genel Özellikler

2.2.1.1 Adipöz doku biyolojisi

Adipöz doku genel olarak iki türe ayrılır: termojenik olarak aktif kahverengi adipöz doku ve enerji depolayan beyaz adipöz doku¹⁵. İnsanlarda kahverengi yağ; servikal, supraklaviküler, aksiller, paravertebral, mediastinal ve üst abdominal alanlara dağılmıştır. Buna karşılık, insanlarda baskın beyaz adipöz doku, visseral veya subkütan olarak konumlanır¹⁶. Plastik cerrahi işlemlerinde otolog yağ grefti için kullanılan yağ dokusu ise subkütan beyaz adipöz dokudur.

2.2.1.2 Adipöz doku içeriği

Beyaz adipöz doku iki ana bileşenden oluşur: olgun adipositler ve SVF¹⁷. SVF, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, perisitler, lökositler, fibroblastlar,

mast hücreleri, preadipositler (öncül yağ hücreleri) ve multipotent (çok yönlü) adipöz kökenli kök hücreler (ASC) gibi hücrelerden oluşan heterojen bir hücre popülasyonudur¹⁸. SVF'nin hücresel bileşenleri, toplam adipöz doku hücre sayısının yaklaşık %50'sini oluştururken, adipositler toplam adipöz doku hacminin %90'ını oluşturur. Ekstrasellüler matriks, adipositleri birbirine bağlar ve adipöz dokuda yağ lobüllerinin oluşumuna katkıda bulunur¹⁹.

2.2.1.3 Adipositlerin Özellikleri

Erişkin bir insan adipositinin çapı 50 ila 150 µm arasında değişir ve bu hücreler 10 yıla kadar hayatta kalabilmektedir²⁰. Olgun adipositler son derece hassastır ve mekanik travma ile iskemiye karşı düşük toleransa sahiptir. Buna karşılık, metabolik aktivitesi çok az olan ve olgun adipositlerden 20 kat daha küçük olan preadipositler, travmatik ve iskemik etkilere karşı çok daha yüksek toleransa sahiptir¹⁷.

2.2.1.4 Adipöz Doku Vasküleritesi

Adipöz doku damar açısından oldukça zengin bir yapıya sahiptir; her bir adiposit, metabolik ürünlerin etkin bir şekilde değişimini sağlayan bir kılcal damar ağına bağlıdır^{17,20}. Bu yüksek kılcal damar yoğunluğu ve düşük oksijen tüketim oranı sayesinde, subkütan adipöz doku, tüm iç organlar arasında en yüksek kısmi doku oksijen basıncına (ptO₂: 40–60 mmHg) sahiptir²⁰. Adipöz doku yaşam boyunca genişleyip küçüldüğünden, kılcal damar ağının da buna paralel olarak büyümesi gereklidir¹⁷.

2.2.1.5 Adipöz Dokunun Rejeneratif ve Proliferatif Potansiyeli

Adipöz dokunun bir zamanlar yalnızca enerji depolayan bir doku olduğu düşünülmüştür ancak yeni araştırmalar, bu dokunun önemli ölçüde proliferatif ve rejeneratif potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur^{18,21}. Bu rejeneratif potansiyelin büyük kısmı, SVF içindeki ASC'lerden kaynaklanmaktadır^{17,21–23}.

Adipöz doku, vücutta erişkin kök hücrelerin en yüksek oranda bulunduğu doku olup, bu oran kemik iliğinden bile yüksektir^{17,22}. Bir mililitre yağ

dokusunda yaklaşık 4.500 ASC bulunurken, kemik iliğinde bu sayı sadece 100 ila 1.000 kök hücre arasındadır²². ASC'ler, sitokinleri ve büyüme faktörlerini parakrin sekresyon yoluyla salgılayarak rejeneratif etkilerini gösterir. Bu salgı seviyesi, özellikle hipoksik koşullarda artar²².

Salgılanan büyüme faktörleri arasında; vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2), bazik fibroblast büyüme faktörü (BFGF), granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ve Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) gibi anjiyojenik ve hematopoetik sitokinler yer alır^{21,24}. Bu faktörler kök hücre farklılaşmasını etkiler, anjiyogenezi tetikler, doku yeniden yapılanmasını destekler ve yara iyileşmesini teşvik eder²². Olgun adipositler bile yeniden programlanarak ASC'lere dönüşebilir ve ardından tekrar adipositlere veya osteosit gibi başka hücre türlerine farklılaşabilir^{22,23}. Adipöz dokunun yenilenmesinde esas sorumlu hücreler ASC'lerdir²⁰.

ASC'ler adipositlere, vasküler endotelial hücelere, kemik, kıkırdak, iskelet kası, sinir ve deri gibi çeşitli doku türlerine farklılaşması gösterebilir^{20,22}. ASC yoğunluğu, adipöz dokunun rejeneratif kapasitesini belirlemede önemli bir faktördür²⁰. Dolayısıyla, ASC açısından yetersiz olan dokular (örneğin ısıranmış veya kronik iltihaplı dokular), yağ dokusu yeniden yapılanması ve genişlemesi açısından bozulmuş kapasite gösterir²⁵. ASC'lerin sahip olduğu bu güçlü anjiyojenik ve rejeneratif özellikler nedeniyle, yağ greftlerinde yüksek konsantrasyonlu ASC içeriği sağlamak günümüzde yoğun şekilde araştırılmakta ve büyük ilgi görmektedir²².

2.2.2 Yağ Greftinde Adipöz Doku

2.2.2.1 Greft Revaskülarizasyonu

Adipöz doku greftlendiğinde, damarsız bir şekilde transfer edilir ve hayatta kalabilmesi için yeniden damarlanması gerekir^{18,21}. Yağ grefti revaskülarizasyonu büyük ölçüde, iskemiye yanıt olarak anjiyojenik faktörler salınan perivasküler

ASC'ler tarafından desteklenir^{20,26}. Uygun greft revaskülarizasyonu sağlamak için, her bir yağ grefti damlacığının bir kapiller alıcı alan ile 1:1 oranında etkileşime girmesi gerekir. Kapiller alıcı alanlardan daha fazla yağ damlacığının bulunması, yetersiz neoanjiyogeneze sebep olması ve bunun yağ rezorpsiyonun ve nekrozunun nedeni olduğu düşünülmektedir²³. Bu kavram, ilk olarak Khouri ve Khouri¹⁸ tarafından tanımlanmış olup yağ greftlemesinin stokiyometri prensibi olarak adlandırılır²¹. İdeal olarak, optimal bir greft–alıcı ara yüzeyinin yanı sıra alıcı dokunun iyi vaskülaritesi ve oksijen tansiyonu bulunmalıdır^{18,20}.

2.2.2.2 Travma ve Mekanik Kuvvete Yanıt

Adipöz doku hasar gördüğünde, yara iyileşmesini teşvik etmek için inflamatuvar ve hasar ilişkili sitokinlerin salınımını tetikleyen dejeneratif değişikliklere uğrar. Bu süreç ile ASC'ler uyarılır, çoğalır ve ilk hafta içerisinde adipöz dokuyu yeniden oluşturmak ve fibrozisi baskılamak için HGF ve VEGF gibi ikincil faktörler salgılar^{20,27}. Farklı yağ grefti toplama teknikleri adipositler üzerinde farklı düzeylerde mekanik stres uygular ve çalışmalar, bu teknikler arasında hücre canlılığı ve adiposit fonksiyonelliğinde farklılıklar olduğunu göstermiştir²⁸. Adipöz dokunun ekstrasellüler matriks ile olan fiziksel etkileşimleri de kök hücre davranışını etkileyebilir ve deneysel olarak gösterildiği üzere dışarıdan dokusal genişletme adipogenezi uyarak adipöz dokuda geri dönüşümlü bir büyümeye yol açar^{20,25,29}.

2.2.3 Yağ Greftinde Sağ Kalım

Yağ greftlerinin nasıl hayatta kaldığını açıklayan üç teori ortaya atılmıştır ve araştırmalar her bir teorinin hayatta kalma sürecinde rol oynayabileceğini göstermektedir¹⁷. Bu teoriler; greftin hayatta kalma (survival) teorisi, greftin yer değiştirme (replacement) teorisi ve konakçı hücre yer değiştirme (host cell replacement) teorisi olarak adlandırılmaktadır.

2.2.3.1 Hayatta kalma (Survival) teorisi

Bu teori, ilk olarak Peer ve ark.³⁰ tarafından tanımlanmış olup yağ greftlerinin başlangıçta plazmadan besin difüzyonu yoluyla hayatta kaldığını, alıcı bölgeden yeni damar oluşumu gerçekleşene kadar bu şekilde yaşamını sürdürdüğünü belirtmektedir¹⁷. Bu teoriye göre yalnızca yeterli yeni kan desteği alan yağ hücreleri hayatta kalabilmektedir³¹. Daha küçük hacimli greftler, tam difüzyon ve perfüzyonun daha kolay sağlanabilmesi nedeniyle, daha büyük hacimli greftlere kıyasla daha iyi bir yaşam oranı gösterebilir.

2.2.3.2 Greftin yer değiştirme (replacement) teorisi

Bu teori, donör adipositlerin çok azının greftleme sürecinde hayatta kaldığını; bunun yerine, greftlenen adipositlerin büyük ölçüde greft ile birlikte aktarılan donör ASC'ler tarafından değiştirildiğini öne sürmektedir¹⁷. Adipogenez ve anjiyogenezden sorumlu olan donör SVF'dir¹⁷. Yağ greftlerinin SVF ve ASC'ler ile zenginleştirilmesi üzerine yapılan birçok çalışmada, greft tutulumunda anlamlı artışlar gösterilmiştir³². Daha yüksek yoğunluklu yağ greftlerinin daha fazla ASC konsantrasyonuna sahip olduğu ve bu nedenle düşük yoğunluklu greftlere kıyasla daha yüksek yaşam oranları gösterdiği de ortaya konmuştur³³.

2.2.3.3 Konakçı hücre yer değiştirme (host cell replacement) teorisi

Bu teoriye göre, hiçbir greftlenmiş hücre hayatta kalmaz ve tüm hücreler alıcı hücreler tarafından değiştirilir¹⁷. Greftlenen hücreler nekroza uğrar ve alıcı dokudan gelen fibröz doku, yeni yağ hücreleri ve kan damarı oluşumuyla yer değiştirir¹⁷. Bu nedenle, alıcı bölgenin bütünlüğü ve çevresi greftin hayatta kalmasında temel belirleyicilerdir. Son yıllarda, alıcı bölgeyi hazırlamak için çeşitli yöntemler önerilmiş ve bunun sonucunda yağ greftleme cerrahi sonuçlarında iyileşmeler görülmüştür³⁴.

2.2.3.4. Üç Bölge Yaşam (Three Zone Survival) Teorisi

Otojen yağ greftleme sonrasında adipöz dokunun hayatta kalması, 2012'de Eto ve ark.²⁷ tarafından ortaya konulan üç bölge yaşam teorisi ile açıklanabilir. Bu

teoriye göre, yağ grefti üç hücrel bölgeye ayrılır. En periferik bölge hayatta kalma (survival) bölgesidir; kalınlığı 300 µm'den küçüktür ve greftleme sonrası hayatta kalan adipositler ve ASC'leri içerir^{20,21,23}. Hayatta kalma bölgesinin hemen altında, kalınlığı 600–1.200 µm olan rejeneratif bölge bulunur. Bu bölgede adipositler ölür ve rezorbe olur, ancak ASC'ler hayatta kalır ve yeni adipositlere dönüşerek dokuyu yeniden oluşturur^{21,23}. En içteki bölge ise merkezi nekrotik bölgedir; burada hipoksi nedeniyle hiçbir hücre hayatta kalamamaktadır²¹. Bu bölgede rejenerasyon gerçekleşmez, ölü alan ya rezorbe olur ya da fibrozis ile doldurulur²³. Üç bölge konseptine göre, rejeneratif bölgenin hayatta kalma derecesi, genel olarak greft hacminin korunmasına katkıda bulunur²².

Otojen yağ dokusu cerrahi olarak transfer edildikten sonra, greftler ilk birkaç gün boyunca çevredeki konak dokudan plazmatik difüzyon ile beslenmektedir^{20,23}. Ardından, 48 saat kadar erken bir sürede yeni kan damarları greftlere besin sağlamaya başlamaktadır^{20,23}. Revaskülarizasyon, periferden merkeze doğru, yani santripedal şekilde ilerleyerek yağ damlacıklarının merkezine ulaşmaktadır²². Revaskülarizasyon gerçekleşene kadar, şiddetli iskemi altında, rejeneratif ve nekrotik bölgelerdeki çoğu adiposit greftlemeden sonraki ilk 24 saat içinde ölür ve inflamatuvar ile hasar ilişkili faktörleri salarlar²⁰. Adipöz dokunun hücrel bileşenleri arasında, olgun adipositler iskemiye en duyarlı olanlardır ve ilk ölen hücrelerdir²⁰. İskemi devam ederse, ardından vasküler endotel hücreleri ve kan kaynaklı hücreler ölmektedir²⁰. ASC'ler ise iskemiye nispeten dirençlidir ve ağır iskemik koşullar altında 3 güne kadar hayatta kalabilmektedir^{20,27}. Bu süre boyunca ASC'ler çoğalma, adipogenez ve anjiyogenez süreçlerine girerek, çevrede ölen hücrelerden gelen sinyallere yanıt vermekte ve onarım sürecini kolaylaştırarak hasarlı dokuyu yeniden düzenlemektedir^{20,27}. Böylece, greftlemeden sonraki ilk 3 günde rejeneratif bölgedeki revaskülarizasyon ASC'ler tarafından desteklenmektedir²⁰.

ASC'lerden kaynaklanan adipogenez, rejeneratif bölgedeki ölü adipositlerin yerini almakta ve bu süreç greftlemeden sonraki 3 aya kadar devam

etmektedir^{20,35}. Ölü adipositlerin fagositozu doku büyüklüğüne bağlı olarak haftalar ila aylar sürebilmekte; bu nedenle, belirgin adiposit ölümü olmasına rağmen, greftlenen yağ hacmi ilk 4 hafta boyunca değişmeden kalabilmektedir^{20,35}. Yağ grefti yaşamının “akut” rejeneratif ve adipojenik fazı 3 ayda tamamlanmakta ve bunu 9 aya kadar sürebilen “kronik” bir stabilizasyon süreci izlemektedir. Bu nedenle, yağ greftleme sonrası total yeniden şekillenme süreci bir yıla kadar uzayabilmektedir²⁰. Bu “kronik” fazda lipit rezorpsiyonu, ASC rejenerasyonu olmaksızın devam etmektedir²⁰. Rejeneratif veya merkezi nekrotik bölgede kalan ölü adipositler ya rezorbe edilmekte, fibrogeneze uğramakta ya da yağ kistleri oluşturmaktadır²⁰. Rezorpsiyonun hızı, lipit damlacıklarının çapına bağlıdır³¹. Çapı <8 mm olan damlacıklar nispeten hızlı rezorbe edilmekte ve fibrozis ile yer değiştirmektedir²⁰. Çapı >8 mm olan damlacıklar ise daha yavaş rezorbe olmakta, tamamen rezorbe edilmeden önce kalıcı yağ kistleri oluşturmakta ve zamanla kronik inflamasyon ile kalsifikasyona yol açmaktadır^{20,35,36}. Lipit rezorpsiyonu, nekroz ve başarılı adiposit yer değiştirmesi arasındaki denge, son greft hacminin korunmasında önemli rol oynamaktadır²⁰. Eğer greft hacmi küçükse ve lipit rezorpsiyonu ile adiposit rejenerasyonu 3 ay içinde tamamlanırsa, greftin nihai hacmi 3 aydan sonra anlamlı bir değişiklik göstermeyecektir^{20,35}. Ancak greft hacmi büyükse, çok sayıda büyük damlacık 3 ayda tamamen emilememekte ve bir yıl boyunca kompensatuar adipogenez olmaksızın rezorpsiyona uğramaya devam etmekte, bu da klinik olarak anlamlı hacim kaybına yol açmaktadır²⁰. Son greft hacminin korunması; greft mikroçevresi, vaskülaritesi, işleme teknikleri ve postoperatif bakım gibi birçok ek faktörden de etkilmektedir²⁰.

2.2.4 Yağ Grefti Eldesi

2.2.4.1 Donör saha seçimi

Yağ dokusu toplanacak vücut bölgesi seçilirken en sık kullanılan donör bölgeler; yan (flank), karın, uyluk ve dizdir. Li ve ark. farklı donör bölgelerden (yan, üst ve alt karın, dış ve iç uyluk) elde edilen yağ dokusu greftlerini karşılaştırmıştır³⁷. Adipöz doku, farelerin deri altına nakledilmiş ve greftler 12 hafta sonra toplanıp analiz edilmiştir. Farklı donör bölgelerden elde edilen greftler

arasında ağırlık, hacim ve histolojik özellikler (bütünlük, kist, inflamasyon, fibrozis ve neovaskülarizasyon dâhil) açısından anlamlı bir fark bulmamıştır.

Di Taranto ve ark.³⁸, ilk kez liposakşın yapılan 16 kadın donörden elde edilen yüzeysel ve derin yağ dokusunu (sırasıyla Superfisyal Adipose Tissue (SAT) ve Deep Adipose Tissue(DAT)) değerlendirmiştir. Bulgular, SAT'ın tüm vücut bölgelerinde homojen şekilde bulunduğunu, oysa DAT'ın karın, kalça, diz, trokanter çevresi, üst iç uyluk ve kolun arka bölümünde daha bol olduğunu göstermiştir. Abdominal SAT lipoaspiratlarından elde edilen SVF hücre fraksiyonu, aynı bölgeden elde edilen DAT ile karşılaştırıldığında daha yüksek canlılık, daha yüksek düzeyde hem kök/stromal yüzey antijeni endoglin hem de VEGF ekspresyonu göstermiştir. Genel olarak, SAT daha iyi kök hücre özellikleri ile ilişkilendirilmiş ve bu nedenle donör bölge olarak tercih edilebileceği ileri sürülmüştür

2.2.4.2 Toplama Teknikleri

Eksizyon, enjektörle manuel aspirasyon ve çeşitli basınçlarla (ve bu basınçları oluşturmak için farklı mekanizmalar kullanılarak) gerçekleştirilen vakum yardımcı liposakşın, günümüzde kullanılan tekniklerden bazılarıdır³⁹⁻⁴¹. Buna ek olarak, liposakşın ; sıvı jetleri, ultrason veya lazer enerjisi ile de desteklenebilir⁴²⁻⁴⁴. Liposakşın veya manuel aspirasyon yapılabilmesi için negatif basınç gereklidir. Daha işlevsel greftler elde etmek amacıyla farklı yazarlar tarafından önerilen, farklı basınçlar ve yöntemler arasındaki farklılıklara rağmen, konvansiyonel liposakşında kullanılan yüksek vakum basınçlarının doku için daha travmatik olduğu ve adipositlerin yapısal bozulmasına yol açtığı yaygın olarak kabul edilmektedir⁴⁵.

2.2.4.3 İdeal kanül

Yağ toplamak için kullanılan kanülün özellikleri, özellikle çapı ve delik sayısı, yağ grefti işlemlerinin başarısını etkilemektedir. Çok delikli kanüller, her bir delikteki basıncı azaltarak toplanan örneklerdeki hasarı azaltmaya yardımcı

olmaktadır. İdeal kanül boyutu konusunda hâlâ bir fikir birliği bulunmasa da kanülün kesme stresini önleyecek ve adipositler ile SVF hücrelerini koruyacak kadar büyük olması gerektiği genel kabul görmektedir⁴⁶⁻⁴⁸.

2.2.4.4 Islak veya Kuru Aspirasyon

Yağ donör sahasına enjekte edilen solüsyon miktarına göre farklı liposakşın teknikleri bulunmaktadır. Kuru teknik, herhangi bir hazırlık solüsyonu enjekte edilmeden doğrudan aspirasyon yapılmasıdır ve aspirat hacminin %20–50’sini oluşturabilen kan kaybı nedeniyle günümüzde artık kullanılmamaktadır^{28,49,50}. Islak teknik, Clayton ve Hetter tarafından önerilmiş olup, aspirasyondan önce donör sahaya (serum fizyolojik, anestezi ve diğer maddeler içerebilen) bir solüsyonun enjekte edilmesini içermektedir. Bu teknikte infiltrasyon hacmi: aspirat hacmi oranı 1:1’den küçüktür ve aspirat hacminin %4–30’u kadar kan kaybı ile sonuçlanmaktadır⁵¹⁻⁵³. Daha sonra Fodor ve ark.^{52,54} tarafından önerilen süper-ıslak teknikte, infiltrasyon: aspirat hacmi oranı 1:1 olarak uygulanmış ve aspirat hacminin yalnızca %1–2’si kadar kan kaybı ile ilişkili bulunmuştur. Son olarak Klein tarafından tanıtılan tümesan teknik, aspirat hacmine göre 2–3:1 oranında yüksek hacimli infiltrasyon solüsyonu içermektedir. Bu teknik aspirat hacminin yaklaşık %1’i kadar kan kaybı ile birlikte olup, genel anestezi gerektirmez; bu nedenle daha geniş aspirasyonlarda daha güvenli bir yöntem olarak kabul edilmekte ve estetik sonuçları da iyileştirmektedir. Tümesan anestezi, hidrodiseksiyon ve kansız koleksiyon sağlamak amacıyla yağ hasadından 45 dakika önce enjekte edilmelidir^{50,51,55}.

2.2.4.5 İşleme yöntemi

Çoğu cerrah, enjektör aspirasyonu veya konvansiyonel liposakşın ile elde edilen yağ greftlerinin, lipoaspirat içindeki kan veya yağı azaltmak için bir şekilde işlenmesi gerektiğine inanmaktadır; böylece enjeksiyon için yalnızca saf yağın yumuşak doku dolgu maddesi olarak kullanılması sağlanmaktadır. Ancak bu konu oldukça tartışmalıdır ve yağ greftlerini işlemeye yönelik en iyi yöntem konusunda cerrahlar arasında günümüzde bir görüş birliği bulunmamaktadır. Klinik olarak yağ

greftlerini işlemek için üç temel yöntem kullanılmaktadır: bunlar yerçekimi ile sedimentasyon, filtreleme tekniği ve santrifüjlemedir. Bu üç arıtma tekniğini karşılaştırmak için tasarlanan birçok deneysel çalışma yalnızca araştırmacılar tarafından seçilen tek bir ölçüt üzerinden değerlendirilmiştir. Bu nedenle hangi yöntemin daha iyi olduğu hâlâ tartışmalı bir konudur.

Yoshimura ve ark⁵⁶. tarafından yapılan çalışmada liposakşın aspiratları santrifüj edilmemiş ya da 3 dakika boyunca 400, 700, 1200, 3000 veya 4200 g'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjün yağ dokusunu ve ASC'leri adipöz tabakada yoğunlaştırdığı saptanmıştır. Santrifüj edilen 1 cc yağ dokusunda greft tutulumunun arttığı bulunmuştur. Ancak 3000 g'nin üzerindeki santrifüj ASC'lere ciddi zarar vermiştir. Fazla santrifüjün adipositleri ve ASC'leri yok edebileceği, ancak uygun santrifüjün bu hücreleri yoğunlaştırarak greft tutulumunu artırabileceği sonucuna varılmıştır. Optimal kuvvet olarak 1200 g önerilmiştir.

2.3 Emilebilir İskeleler

2.3.1 Poli-4 Hidroksibütrat (P4HB) İskele

2.3.1.1 Genel Özellikleri

Poli-4 Hidroksibütrat (P4HB) güçlü bir termoplastiktir; yani ısıtıldığında şekillendirilebilmektedir ve oda sıcaklığında serttir. Poliglikolik asit (PGA) ile poli-L-laktik asit (PLLA) gibi sentetik rezorbe olabilen polimerlere göre belirgin şekilde daha esnektir. Çekme dayanımı, ultra yüksek moleküler ağırlıklı polietilen ile karşılaştırılabilir düzeydedir ve yaklaşık %1000'lik bir kopma uzaması sergilemektedir⁵⁷. P4HB gerildiğinde mekanik dayanımı artar fakat malzeme esnekliğini korur. Aynı durum PGA veya PLLA'da gözlenmemektedir ve bu polimerlerde mekanik dayanım artsa da polimerin kırılabilirliği de artmaktadır⁵⁸. Diğer polimerlerde olduğu gibi, malzemenin işlem geçmişi de mekanik özelliklerini etkilemektedir. P4HB'nin mekanik dayanımı, geleneksel eriyik eğirme yöntemleriyle üretilen liflerin yönlendirilmesiyle büyük ölçüde artar ve bu lifler örgü, örme veya dokuma gibi tekstil yöntemleriyle daha da işlenebilmektedir. Öte yandan, sıkıştırma kalıplama yöntemiyle üretilen P4HB filmleri, Polikaprolakton

(PCL) ile benzer şekilde yüksek kopma uzaması gösterir. P4HB oldukça stabildir bir malzemedir ve yalnızca orta düzeyde bir moleküler kütle kaybı sergilemektedir⁵⁷.

P4HB yalnızca sitouyumlu değil, aynı zamanda in vivo ortamda da oldukça iyi tolere edilen bir polimer olarak bilinmektedir⁵⁷. Nitekim, P4HB'nin hidrolizi, insan vücudunda doğal olarak bulunan (beyin, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve kaslarda) 4HB'yi açığa çıkarmaktadır⁵⁹. Bu metabolitin yarı ömrü yaklaşık 35 dakikadır ve vücutta Krebs döngüsü yoluyla parçalanarak karbondioksit ve suya dönüştürülmektedir⁶⁰. 4HB'nin farmakolojisi literatürde iyi anlaşılmıştır. Sodyum 4HB, tıbbi/ilaç endüstrisinde sodyum γ -hidroksibutirat (GHB) veya sodyum oksibat adıyla bilinmekte olup, narkolepsi hastalarında görülen katapleksi ataklarının tedavisinde kullanılan reçeteli bir ilaçtır ve Xyrem® ticari adıyla pazarlanmaktadır⁶¹.

P4HB'nin 4HB'ye görece yavaş bozunma hızı ve 4HB'nin vücutta kısa yarı ömrü nedeniyle, küçük P4HB implantlarının ve cihazlarının istenmeyen farmakolojik etkilere yol açması beklenmemektedir^{57,62}.

P4HB'nin in vivo hidrolizinin, su moleküllerinin polimer matriksine difüzyonu ile başladığı ve bunun sonucunda P4HB zincirlerinin parçalandığı bildirilmiştir⁵⁸. Polimer yüzey erozyonu ise muhtemelen non-spesifik lipazlar ve esterazlar tarafından gerçekleştirilen enzimatik süreçlerle yönlendirilmektedir⁶³. P4HB'nin, subkütan, PGA'dan daha yavaş ancak PLLA ve PCL'den daha hızlı bozunduğu bildirilmiştir⁵⁷. Yumuşak doku onarımı için kullanılan P4HB'den üretilmiş Phasix mesh ve P4HB plug materyalleri, 12–18 ay içerisinde parçalanarak tamamen rezorbe olmaktadır⁶⁴.

P4HB implantlarının, mekanik özelliklerinde ani değişimler gösterebilen PGA gibi diğer sentetik rezorbe olabilen polimerlerden farklı olarak, kademeli değişimler geçirdiği gözlenmiştir⁶⁵. Bu durum, kanda 4HB'nin yavaş ve kademeli

salınımına yol açarak çevrede aşırı asidifikasyonu ve vücutta birikimini engellemektedir. Dolayısıyla, P4HB'nin vücutta doğal metabolitlere dönüşen kademeli biyobozunurluğu *in vivo* stabilite sağlamaktadır.

2.3.1.2 Kullanım Alanları

P4HB'den üretilmiş üç yaprakçıklı bir kalp kapağı iskelesinin oluşturulduğu bildirilmiştir. Bu iskele, kuzu modelinde 120 gün boyunca uygun şekilde işlev görmüş ve P4HB'nin kalp kapakçığı doku mühendisliğinde kullanılabilirliğini göstermiştir⁶⁶.

2007'de emilebilen monofilament sütürün FDA onayı almasının ardından, P4HB uzun yıllardan sonra piyasaya giren ilk uzun süreli rezorbe olabilen implant olmuştur⁵⁸.

MonoMax sütür (Aesculap AG, Tuttlingen, Almanya), P4HB'den üretilmiş ilk ticari ürün olup, 2009 yılında B. Braun Surgical tarafından piyasaya sunulmuştur. MonoMax sütür, P4HB monofilamentten üretilmiş olmakla birlikte, özel olarak yumuşak doku yaklaştırması için tasarlanmış özelliklere sahiptir⁶⁷. Bu sütür, özellikle yüksek dayanım ve uzun süreli dayanım gerektiren abdominal duvar kapatmaları için geliştirilmiştir⁵⁸.

2011 yılında tanıtılan BioFiber Scaffold P4HB'den üretilmiş ilk ortopedik yumuşak doku iskelesidir⁵⁸. Yaklaşık 3 ayda %50 dayanımını koruyan gözenekli bir monofilament lif tekstil yapısıdır. Doku yeniden şekillenirken tendon onarımının yükünü dağıtmak üzere tasarlanmıştır. BioFiber Scaffold, yaklaşık 1 mm kalınlığında, boyutsal olarak stabil ve yoğun bir dokuma oluşturan P4HB liflerinin leno dokuma yöntemiyle üretilmektedir. Bu yapı tendon onarımları için oldukça uygundur ve yumuşak doku güçlendirmesinde bir örtü olarak kullanılabilirken aynı zamanda doku büyümesi için bir iskele işlevi görmektedir. İskelenin kullanım alanları arasında rotator manşet onarımı, Aşil tendonu onarımı,

peroneal tendon onarımı, kuadriseps tendonu onarımı, biceps kası rüptürü onarımları ve plantar fasyanın güçlendirilmesi yer almaktadır⁵⁸.

P4HB'nin özellikleri fonksiyonel doku yeniden şekillenmesine (*remodelling*) olanak tanıyan tamamen rezorbe olabilen herni iskelelerinin geliştirilmesini mümkün kılmıştır. 2013 yılında C.R. Bard (Murray Hill, NJ) tarafından piyasaya sunulan Phasix Mesh (C.R. Bard, Inc., Murray Hill, NJ), P4HB monofilamentin örülmesiyle üretilmiş, tamamen rezorbe olabilen ve dokuyu hızla entegre eden bir iskeleden oluşmaktadır⁶⁸. Rezorbe olabilen bu mesh, sentetik mesh'in onarım gücünü sağlamakla birlikte biyolojik bir materyalin yeniden şekillenme özelliklerine sahiptir. Yaklaşık bir yıl içinde Phasix Mesh yeniden şekillenerek fonksiyonel doku ile yer değiştirmektedir.

Plastik ve rekonstrüktif cerrahide kullanılmak üzere GalaFLEX Scaffold'un piyasaya sunulmasına yönelik ilk çalışmalar, yüz germe operasyonlarında insan kullanımıyla başlamış ve kısa sürede estetik meme cerrahilerinde kullanımıyla devam etmiştir. 2012 yılında başlayan bir çalışmada augmentasyon mastopeksi ameliyatlarında alt pol stabilitesini arttırdığı, meme başı yerinin sabit kalmasına yardımcı olduğu gözlenmiştir⁶⁹.

2.3.2 Polikaprolakton (PCL) İskele

2.3.2.1 Genel Özellikleri

Polikaprolakton (PCL), biyobozunur polyesterlerin (diğerleri PGA, PLLA) bir üyesidir. Erime sıcaklığı 59–64 °C arasında değişir, yani vücut sıcaklığının üzerindedir. Fizyolojik sıcaklıkta yarı kristalin PCL kauçuksu bir hâl alır ve bu da yüksek dayanım ve esneklik sağlar⁷⁰. PCL toksik değildir ve doku uyumludur. PCL, uzun bir bozunma süresine sahiptir (2–3 yıl) ve mikroorganizmalar tarafından veya fizyolojik koşullarda alifatik ester bağlarının hidroliziyle parçalanır⁷¹.

PCL'nin hidrofobik yapısı *in vivo* kullanımda; hücre tutunmasının, afinitesinin ve proliferasyonunun azalması gibi kısıtlamalar yaratmaktadır⁷². PCL

iskelelerinin üretiminde kullanılan teknik, ihtiyaç duyulan iskele tipine bağlıdır. Gözenekli iskeleler için porojen liçi (*porogen leaching*), CO₂ ile doyurma ve salınım, 3D baskı, faz ayrımı tekniği ve dondurarak kurutma (*freeze-drying*) gibi yöntemler uygulanmaktadır. Buna karşılık, lifsi iskelelerin üretiminde ise elektrospinning ve eriyik elektrospinning (*melt electrospinning*) teknikleri kullanılmaktadır⁷³⁻⁷⁶. Ek özellikler kazandırılırken biyouyumluluğun korunması, doku mühendisliği uygulamalarını optimize etmek için kritik öneme sahiptir.

2.3.2.2 Kullanım Alanları

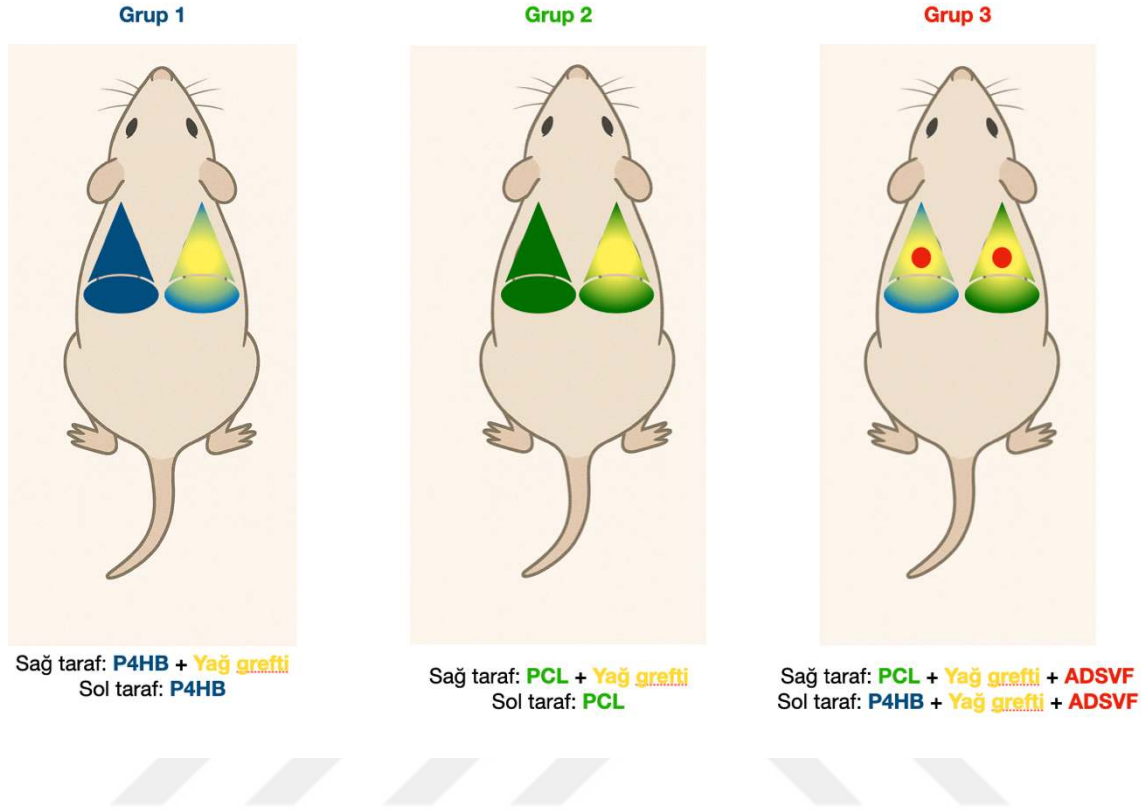
PCL iskeleleri; kemik defektlerinin, trakeal defektlerin, nazal implantların, kalp kapakçıklarının, menisküsün tedavisinde; yağ greftlerinin sağkalımının artırılmasında ve deneysel olarak meme rekonstrüksiyonu gibi çok geniş alanlarda kullanılmıştır⁷⁷⁻⁸¹.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

DA24-18 proje numaralı deneysel çalışma, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra Nisan 2025-Temmuz 2025 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışmanın planlama aşamasında radyolojik incelemelerin (ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme) yapılabilmesi için üniversitemiz Radyoloji Anabilim Dalı'na başvuruldu. Ancak bu dönemde küçük problu ultrason cihazı bulunmaması ve BT ile MRG cihazlarının milimetrik kesit alma özelliğinin olmaması nedeniyle planlanan görüntülemeler gerçekleştirilemedi. Çalışmanın ilerleyen döneminde şehirde açılan yeni bir hayvan görüntüleme merkezinde küçük problu ultrasonografi ile yüksek çözünürlüklü BT ve MRG cihazlarının bulunduğu öğrenildi. Bu imkânların ortaya çıkmasının ardından, maliyet kısıtlılığı nedeniyle yalnızca sonuçları Grup 3 deney grubundaki bir sıçana ultrasonografi, BT ve MRG incelemesi uygulanabildi. Bu durum, çalışmada radyolojik değerlendirmelerin tüm gruplara genellenememesi ve bilimsel olarak bir kanıt oluşturmaması açısından önemli bir sınırlılık oluşturmaktadır.

3.1 Gruplar

Otuz üç adet yaşları 2-3 ay arasında değişen 200-250 gr dişi Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Üç adet sıçan yağ grefti ve SVF eldesi için kullanıldı. Geriye kalan 30 adet sıçan her grupta n=10 olacak şekilde rastgele dağıtıldı. Her gruptaki sıçanların sırtı tıraş edildi. Sırtların sağ ve sol olmak üzere 2x2 cm lik iskelelerin konulacağı cepler işaretlendi. Birinci grup sıçanlarının sağ cebine P4HB iskele ve yağ grefti sol cebine sadece P4HB iskele yerleştirildi. İkinci grup sıçanların sağ cebine PCL iskele ve yağ grefti sol cebine sadece PCL iskele yerleştirildi. Üçüncü grup sıçanların sağ cebine PCL iskele, yağ grefti ve ADSVF; sol cebine P4HB iskele, yağ grefti ve ADSVF yerleştirildi (Şekil 1).



Şekil 1:

1. Grup: Sırtta sağ cebe P4HB iskele ve yağ grefti. Sol cebe: sadece P4HB iskele
2. Grup: Sırtta sağ cebe PCL iskele ve yağ grefti. Sol cebe: sadece PCL iskele
3. Grup: Sırtta sağ cebe: PCL iskele, yağ grefti ve ADSVF. Sol cebe: P4HB iskele, yağ grefti ve ADSVF

3.2 Deney Hayvanlarının Bakımı

Hayvanların bakımı her gruba bir kafes düşecek şekilde polikarbonat kafesler içerisinde yapıldı. Tüm deney hayvanlarına, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık olacak şekilde standart oda koşulları sağlandı. Oda ısısı 20-22 °C arasında tutuldu. Sıçanlar %18- %20 protein içeren pellet sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi. Hipotermi oluşmasını engellemek için sıçanlar ışık kaynağı altında ameliyat edildi ve uyanma esnasında da vücut ısıtması uygulamaya devam edildi. Tüm sıçanların kuyrukları gruplarını ve hangi hayvan olduğunu belirtecek şekilde numaralandı.

Tüm girişimsel işlemler sırasında sıçanlara 40 mg/kg ketamin (Ketalar®, Pfizer Inc.), 10 mg/kg ksilazin (Rompun®, Bayer Inc.) intraperitoneal uygulaması ile genel anestezi sağlandı. Tüm girişimsel işlemler sırasında aktif klor %0,020 (elektroliz ile sodyum klorürden elde edilmiş, Farmisol, Farmaso İlaç San.) ile lokal asepsi yapıldı. Tüm hayvanlara cerrahi sonrası dönemde cilt altı 0.02 mg/kg fentanil (Sufenta 5 mcg, Janssen Cilag inc.) ile analjezi verildi. Çalışma sonunda tüm sıçanlar, servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

3.3 Deney Planı

3.3.1 Yağ Greftinin Hazırlanması

Yağ greft eldesi için ayrılan 3 adet sıçanlardan intraperitoneal anestezi altında bilateral inguinal yağ yastıkları eksize edildi. İnguinal bölgeden alınan yağ dokularını temizlemek için fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) (Gibco BRL, Grand Island, NY) kullanıldı. Çıkarılan yağ yastıkçıkları bisturi ve makas yardımıyla 1 mm'den daha küçük parçalara ayrıldı (Şekil 2).

3.3.2 ADSVF Hazırlanması

ADSVF tarafımızca belirlenmiş protokole⁸² göre hazırlandı. İnguinal bölgeden alınan yağ dokusu, fosfat tamponlu tuz çözeltisinde 5 dakika boyunca üç kez durulandı ve ardından 50cc'lik bir santrifüj tüpüne aktarıldı. Enzimatik sindirim için santrifüj tüpüne %0.15'lik kollajenaz (Serva, Heidelberg, Almanya) eklendi. Daha sonra 37°C'de 30 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde çalkalanma işlemi uygulandı. Daha sonra, aynı miktarda kontrol ortamı %10 fetal sıgır serumu (FBS) (Gibco BRL) karıştırıldı. Bu işlem kollajenazı nötralize etti. Hücre süspansiyonu, 5 dakika boyunca 1300 devir/dakika (260g) hızda santrifüj edildi ve hücre yığını kontrol ortamı ile yeniden süspansiyon edildi (Figür 2). Süspansiyonun 0.1cc'si alınarak kök hücreleri saymak için çini mürekkebi ile boyandı. Nükleer ve nükleer olmayan hücreler, hemasitometre (Neubauer Thoma, Almanya) üzerinde ışık mikroskopunda sayıldı.



Şekil 2: ADSVF hazırlanış

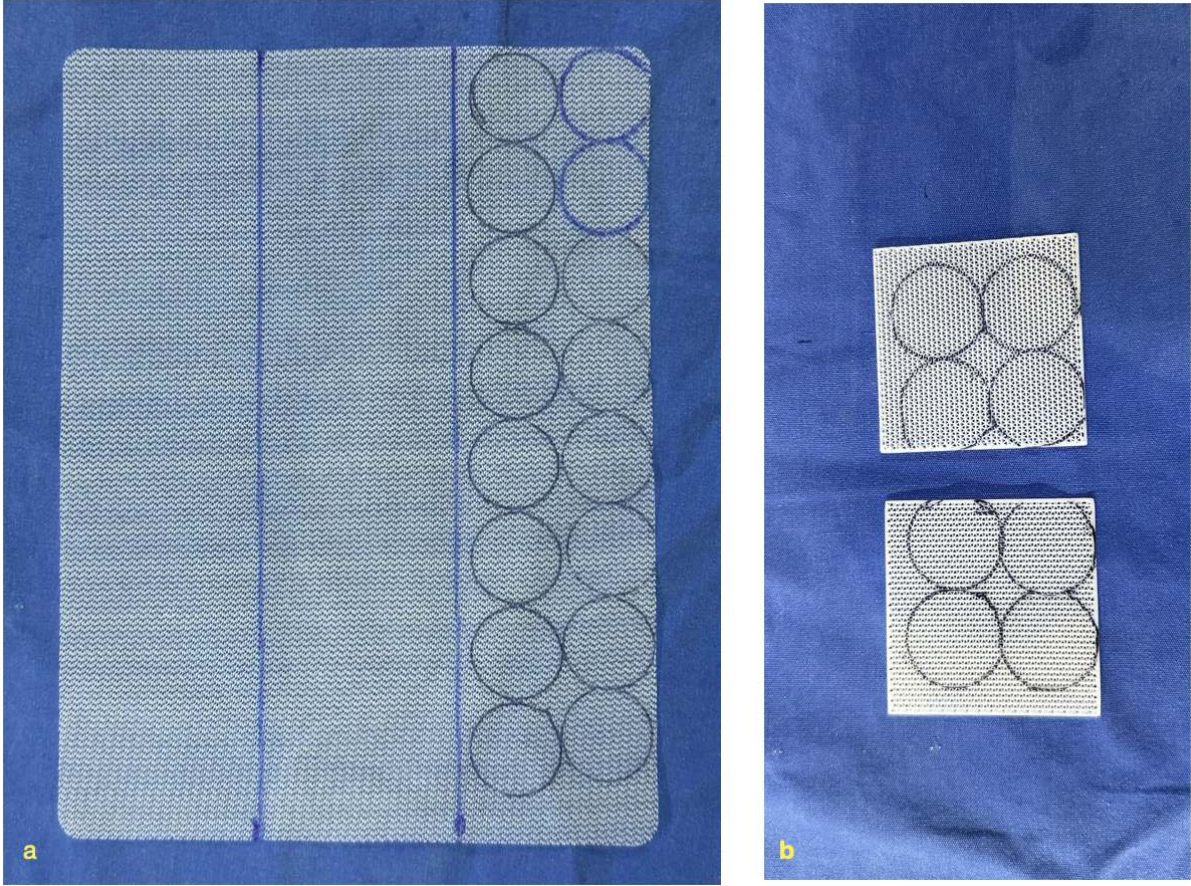
- a: İnguinal bölgeden alınan yağ dokusu
b: Yağ dokusunun daha ince hale getirilmesi
c: İnceltilmiş yağ dokusunun fosfat tamponlu tuz çözeltisinde 5 dakika boyunca üç kez durulandıktan sonra 50cc'lik bir santrifüj tüpüne aktarılması
d: Enzimatik sindirim için santrifüj tüpüne %0.15'lik kollajenaz eklenmesi
e: 37°C'de 30 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde çalkalanma işlemi
f: Hücre süspansiyonu, 5 dakika boyunca 1300 devir/dakika (260g) hızda santrifüj edilmesi

3.3.3 Stromal vasküler fraksiyon hücrelerinin 1,10-Dioctadecyl-3,3,30,30-tetrametilindokarbosiyanin (DiI) Boyası ile işaretlenmesi

1,10-Dioctadecyl-3,3,30,30-tetrametilindokarbosiyanin (DiI) (Invitrogen; Medsantek, Life Technologies, Carsbad, CA) %99 etanol içinde %25 derişimde çözülerek hazırlanmış ve kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır. Hücreler, üretici firmanın önerilerine göre floresan DiI ile işaretlenmiştir. Süspansiyon halindeki hücreler, 2.5 mg/ml derişimde DiI içeren fosfat tamponlu salin (PBS) içinde 4 °C'de beş dakika süreyle inkübe edilmiştir.

3.3.4 P4HB ve PCL İskelelerin Hazırlanması

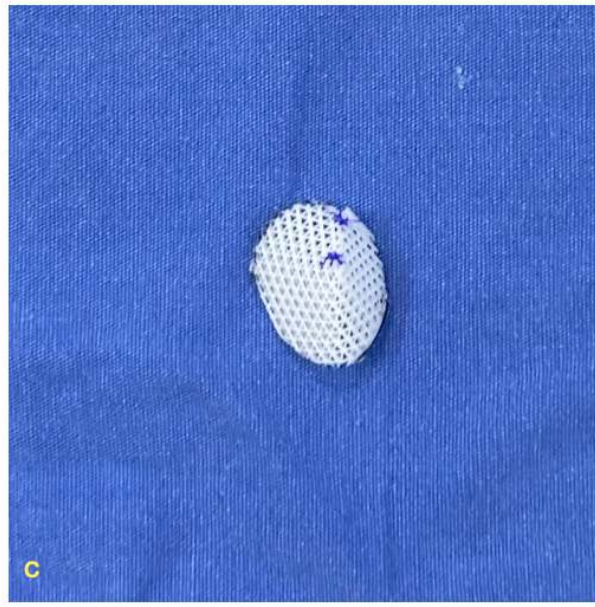
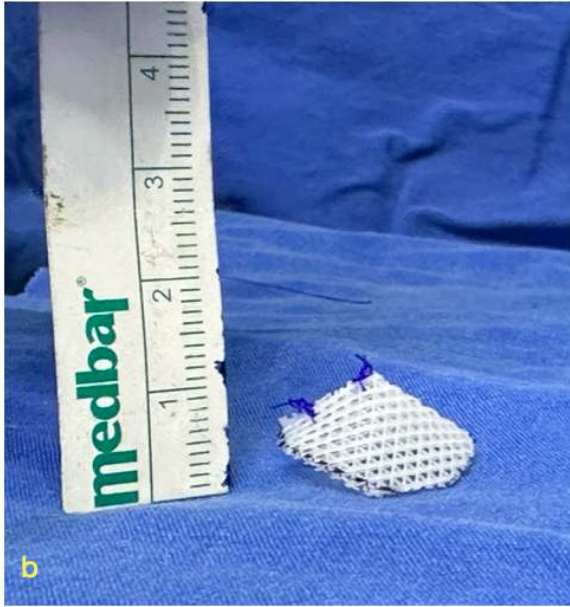
2 cm çaplı çember şeklinde P4HB ve PCL iskeletleri hazırlandı. 90 derecelik açı gönye ile hesaplandı ve çemberden 90 derecelik parça çıkarıldı. İskelenin geri kalan uçları birbirine 4.0 PDS 4-0 PDS (Ethicon, Somerville, NJ, ABD) ile sütüre edilerek koni şekli verildi (Şekil 3 ve 4).



Şekil 3:

a: P4HB iskele, 15x20 cm boyutunda, 2 cm çaplı çemberler

b: PCL iskele, 5x5 cm boyutunda, 2 cm çaplı çemberler



Şekil 4:

a: 2 cm lik çemberden 90 derecelik parça çıkarılması

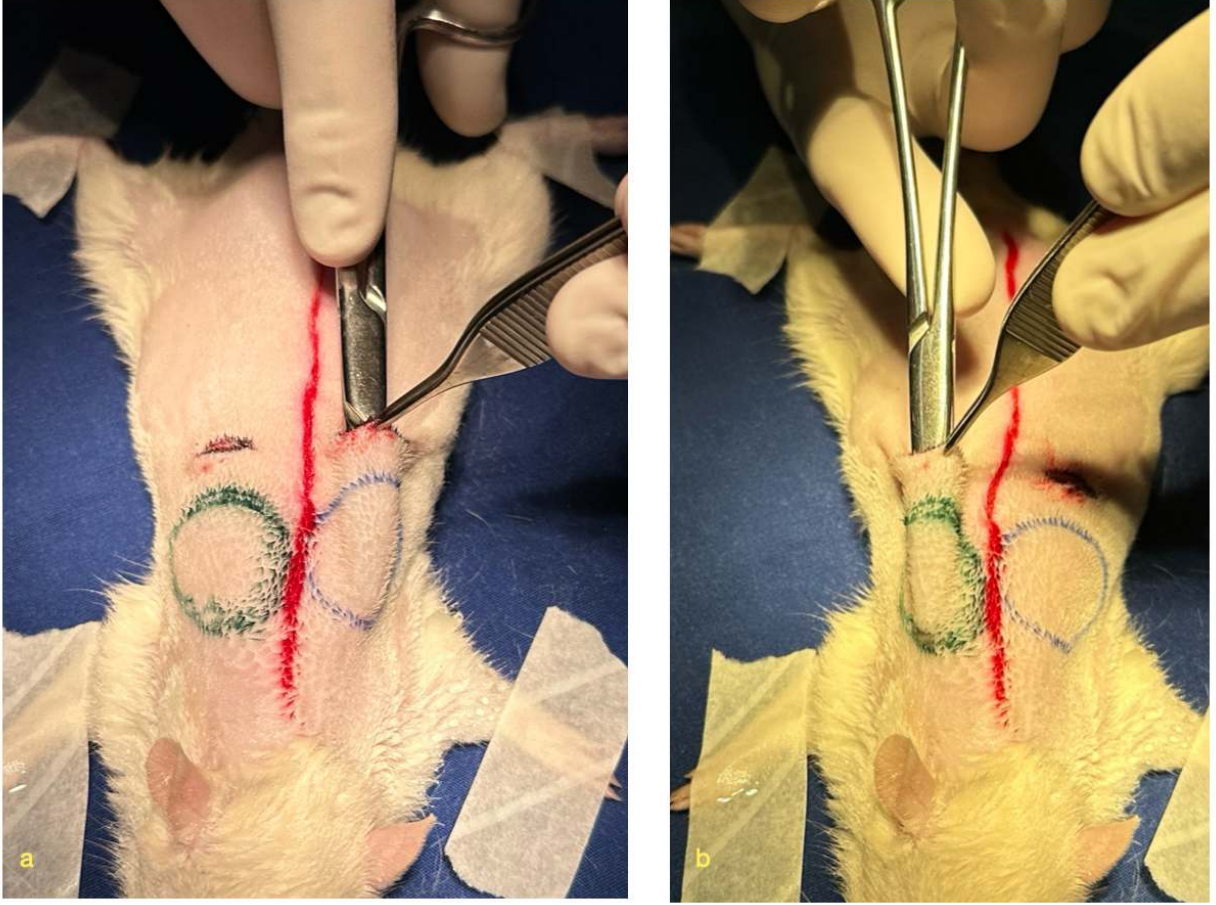
b: PDS 4-0 PDS (Ethicon, Somerville, NJ, ABD) dikiş ile PCL iskeleye koni şeklinin verilmesi, yandan görünüm

c: PCL iskele üstten görünüm

3.3.5 Cerrahi İşlem

Sıçanlar genel anestezi altında sırtları tıraş edildikten sonra, sırtta sağ ve sol tarafa 2 cm'lik çapta cepler çizildi. Ceplere ulaşmak için ceplerin 1,5 cm inferiorundan 2 cm'lik insizyonla girildi. Künt diseksiyon ile çizime uygun şekilde

cepler panniculus carnosus üzerinde (kas üzerinde) olacak şekilde oluşturuldu. (Şekil 5).



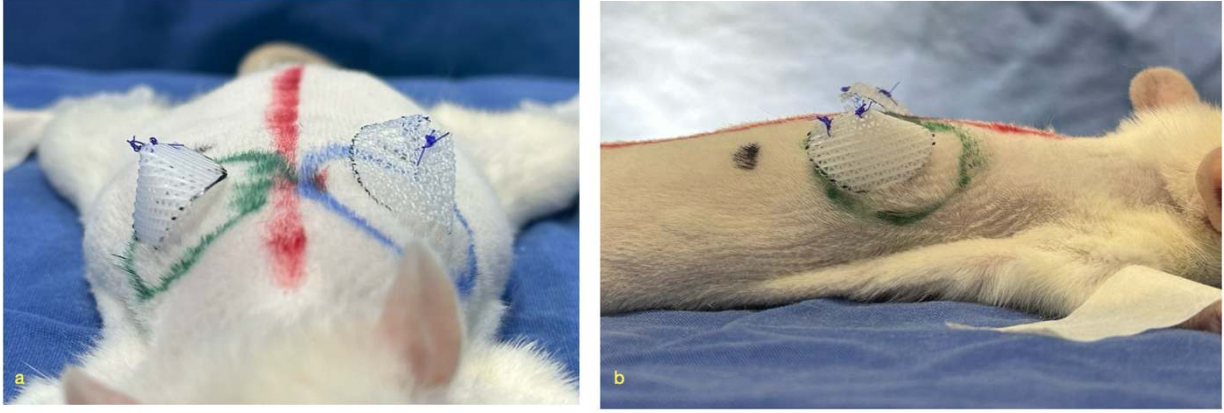
Şekil 5:

a: 1,5 cm insizyon ile girildikten sonra künt diseksiyon ile iskelet için cep açılması, Mavi taraf P4HB

b: 1,5 cm insizyon ile girildikten sonra künt diseksiyon ile iskelet için cep açılması, Yeşil taraf PCL

Grup 1'deki sıçanların her iki tarafına hazırlanmış olan koni şeklindeki P4HB iskeleler yerleştirildi. Grup 1'deki sıçanların sağ taraftaki iskelelerin içerisine 1 ml yağ grefti insülin enjektörü ile bolus olarak verildi. Grup 2'deki sıçanların her iki tarafına hazırlanmış olan koni şeklindeki PCL iskeleler yerleştirildi. Grup 2'deki sıçanların sağ taraftaki iskelelerin içerisine 1 ml yağ grefti bolus olarak verildi. Grup 3'teki sıçanların sağ tarafına hazırlanmış olan PCL iskele, sol tarafına P4HB iskele yerleştirildi. Grup 3'teki sıçanların her iki tarafına

0,25 ml SVF ve 1 ml yağ grefti enjekte edildi (Şekil 6-10). İşlem sonrası açılan insizyon 2-0 ipek dikiş (Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile primer suture edildi. İşlem öncesi ve sonrası fotoğraflar çekildi.



Şekil 6:

a: Grup 3 teki bir denek üzerinde P4HB (sol taraf, mavi) , PCL iskele (sağ taraf, yeşil) iskelenin konumlandırılması

b: Grup 3 teki bir denek üzerinde P4HB (sol taraf, mavi) , PCL iskele (sağ taraf, yeşil) iskelenin konumlandırılması , yandan görünüm



Şekil 7:

a: P4HB iskeletonin yerleştirilmesi

b: Yerleştirdikten sonra ciltteki uyguladığı kaldırma etkisi



Şekil 8:

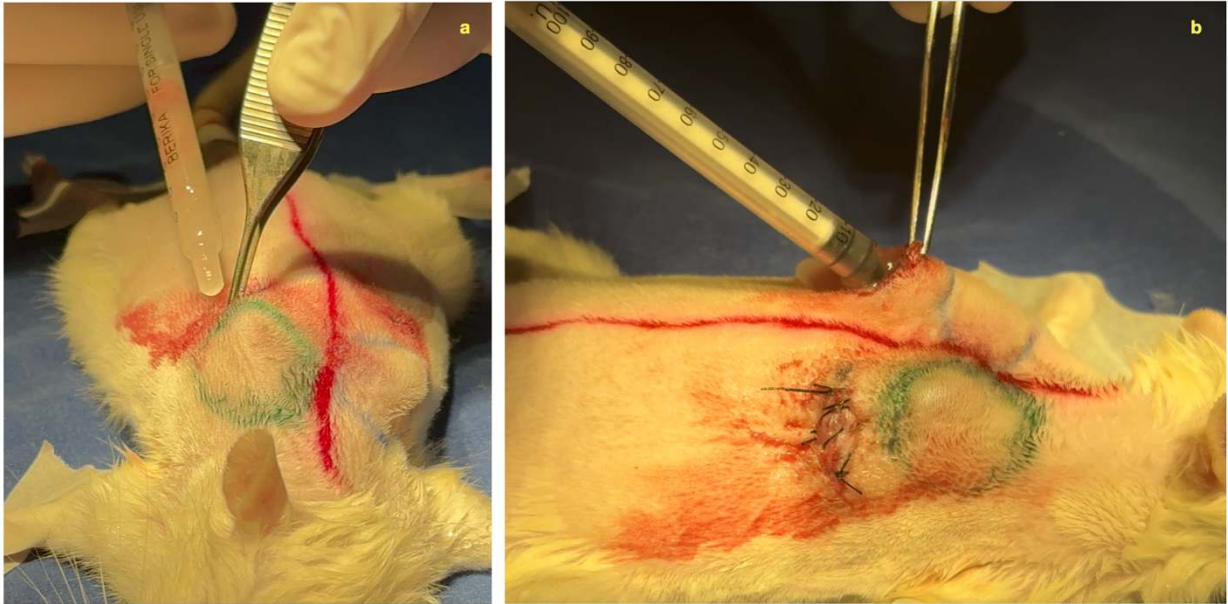
a: PCL iskeletonin yerleştirilmesi

b: PCL (yeşil) ve P4HB (mavi) iskelelerin cilt üzerindeki kaldırma etkisi



Şekil 9:

- a: Grup 3 te deneğe PCL (Yeşil) olan konulan tarafa ADSVF verilmesi
b: Grup 3 te deneğe P4HB (Mavi) olan konulan tarafa ADSVF verilmesi



Şekil 10:

- a: Grup 3, PCL (Yeşil) olan konulan tarafa yağ grefti verilmesi
b: Grup 3, P4HB (Mavi) olan konulan tarafa yağ grefti verilmesi

3.3.6 Takip Süresi

Cerrahi işlemler sonrası Grup 1’den bir sıçan, Grup 2’den bir sıçan ve Grup 3’den iki sıçan anesteziye etkisine bağlı olarak ex oldu. Kalan hayvanlar günlük olarak yara iyileşmesi problemleri, kilo kaybı, enfeksiyon bulgular açısından takip edildi. 4., 8. ve 12. Haftalarda fotoğrafları çekildi. 12. Hafta sonrasında Grup 3’deki bir sıçan için sedasyon altında US, BT ve MRG çekildi. Daha sonra diğer hayvanlarla birlikte genel anestezi altında histopatolojik inceleme için specimenler eksize edildi. Sıçanlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

3.3.7 Makroskopik ve Volümetrik Değerlendirme

Makroskopik değerlendirme sırasında, sıçanların sağ ve sol sırt bölgelerinde oluşturulan ceplerdeki iskelelerin kapladığı alanlar belirlenerek işaretlendi. Her bir implant alanı, standart bir cetvel kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar santimetrekare (cm²) cinsinden kaydedildi.

Volümetrik analiz için, sağ ve sol ceplerden çıkarılan doku örnekleri (specimenler) 50 mL’lik santrifüj tüplerine yerleştirildi. Her tüp önceden 25 mL serum fizyolojik ile doldurulmuştu. Örneklerin eklenmesiyle oluşan SF düzeyindeki değişim kaydedilerek, hacim deplasmanı yöntemiyle örneklerin hacmi mililitre (ml) cinsinden hesaplandı.

3.3.8 Histopatolojik Değerlendirme

Histolojik değerlendirme için, ratlardan alınan dokular, 24 saat boyunca %10’luk nötral tamponlu formalin solüsyonunda fikse edildi. Fikse edilen dokular artan ethanol konsantrasyonları ile dehidrate edildi ve ksilen ile yıkanarak parafin bloklara gömüldü. Daha sonra parafin bloklardan mikrotom cihazı (Leica RM 2255) kullanılarak 5 mm kalınlığında seri kesitler elde edildi ve Hematoksilen-eozin boyası ile boyandı. Daha sonra tüm yağ dokuları ışık mikroskobu (Olympus BX-43) altında, gruplar ve klinik bulgular bilinmeden, morfolojik olarak körlemesine değerlendirildi.

Yapılan morfolojik değerlendirmede, yağ greft yoğunluğu, inflamasyon ve vaskularizasyon skorlandı. Bu skorlamaya göre; yağ greft yoğunluğu (intakt, nükleuslu yağ hücrelerinin varlığı, kist ve vakuollerin varlığı) değerlendirildi ve yağ yoğunluğunun az olduğu olgular Skor 1, orta derece yağ yoğunluğu olan olgular Skor 2 ve yoğun yağ dokusu içeren olgular Skor 3 olarak değerlendirildi.

İnflamasyon skorlamasında ise lenfosit başta olmak üzere makrofaj ve diğer inflamatuvar hücrelerin yoğunluğu değerlendirildi, buna göre; hafif derecede inflamatuvar reaksiyon gösteren gruplar 1, orta derecede inflamatuvar reaksiyon gösteren gruplar 2 ve şiddetli derecede inflamatuvar reaksiyon gösteren gruplar da 3 olarak değerlendirildi.

Aynı şekilde vaskularizasyon skorlamasında da; 1: hafif derecede vaskularizasyon, 2: orta derecede vaskularizasyon ve 3: şiddetli derecede vaskularizasyon olarak skorlandı.

Morfolojik değerlendirme dışında histokimyasal olarak da Mason Trikrom boyası ile fibrozis değerlendirildi. Hafif derecede fibrozis gösteren olgular Skor 1, orta derecede fibrozis gösteren olgular Skor 2 ve şiddetli fibrozis gösteren olgular Skor 3 olarak değerlendirildi.

İmmünhistokimyasal olarak da; CD 31 ile vaskularizasyon, hafif (skor 1), orta (skor 2) ve şiddetli (skor 3) olarak sınıflandırıldı.

Perilipin ile yağ doku yoğunluğu belirlendi ve düşük yağ dokusuna sahip olgular Skor 1, orta yoğunlukta yağ dokusu içeren olgular Skor 2 ve yoğun şiddette yağ dokusu içeren olgular da Skor 3 olarak değerlendirildi.

3.3.9 Diİ Boyası ile boyanmış adipöz kökenli kök hücrelerin değerlendirilmesi

Grup 3'te kullanılan ADSVF yi boyamak için DiI boyası, 565 nm dalga boyunda kırmızı floresan kanalında görüldü. DiI pozitif boyanan hücreler ve hematoksin boyaları da fotoğraflanarak birleştirildi.

3.3.10 Radyolojik değerlendirme

Grup 3'teki bir denek üzerinde, demonstratif amaçla sedasyon altında US-elastografi, BT ve MRG incelemeleri gerçekleştirildi. Elastografi değerlendirmesinde, renk skalası kullanılarak implant çevresindeki yumuşak doku oluşumu niteliksel olarak değerlendirildi. Sağ ve sol sırt ceplerinde yer alan iskelelerin kapladığı alanlar ultrasonografi ile ölçülerek kaydedildi. BT görüntülerinde implantların kapladığı alanlar planimetrik olarak ölçülürken, MRG incelemesi yumuşak doku oluşumunun varlığını ve dağılımını göstermede kullanıldı.

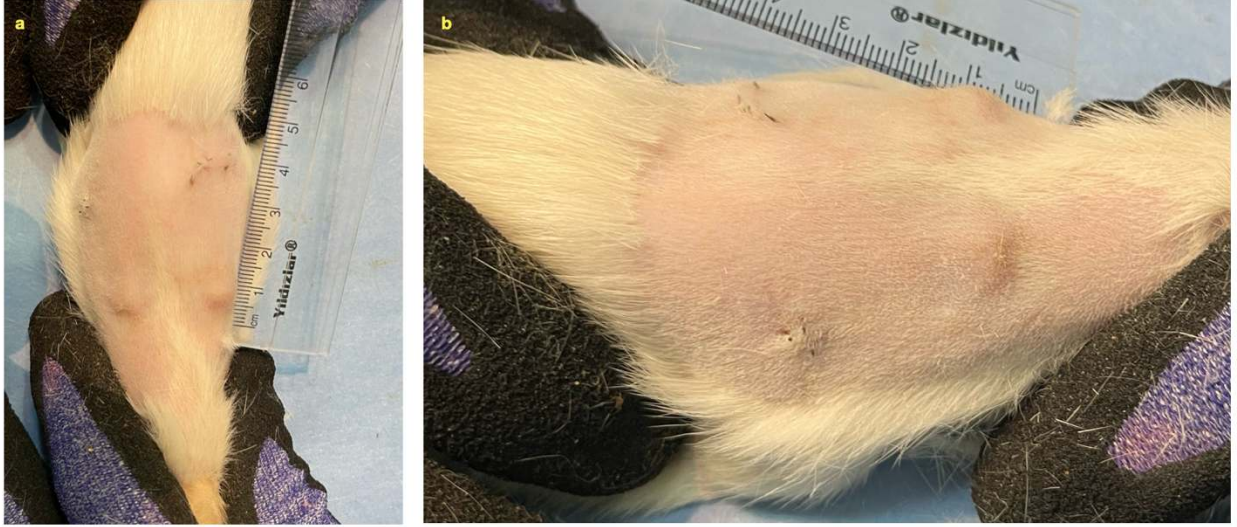
3.3.11 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 25.0 programı ile gerçekleştirildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Tanımlayıcı analizler sunulurken ortalama±standart sapma ve medyan (min-mak) değerleri kullanıldı. Kategorik değişkenler sunulurken değişkenlerin frekans ve yüzde değerleri kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler varsayımlar sağlandığında Pearson Ki-Kare Testi ile varsayımlar sağlanmadığında Freeman-Halton Test (Fisher Exact Test) ile incelendi. Nicel değişkenler bakımından bağımsız iki grup arasında fark olup olmadığı parametrik test varsayımlarının sağlandığı durumda Student t Testi ile; sağlanmadığı durumda Mann Whitney U Testi ile belirlendi. Normal dağılım göstermeyen değişkenler çalışma grupları arasında değerlendirilirken parametrik test varsayımlarının sağlandığı durumda Tek Yönlü Varyans Analizi sağlanmadığı durumda Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar Dunn's Bonferroni Testi ile belirlendi. p değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Toplam 26 sıçanda, 52 sırt bölgesine yerleştirilen P4HB ve PCL iskeleleri makroskopik, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

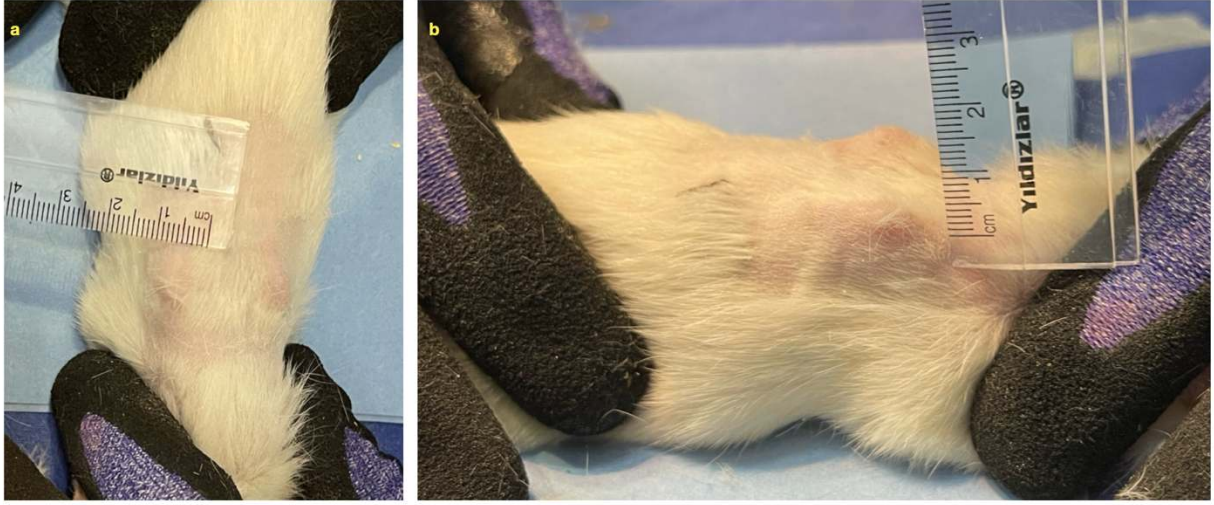
4.1. Makroskopik Bulgular: 4., 8. ve 12. haftada çekilen fotoğraflarda metrik olarak PCL iskelelerin daha büyük olduğu gözlenmiştir (Şekil 11-22).



Şekil 11:

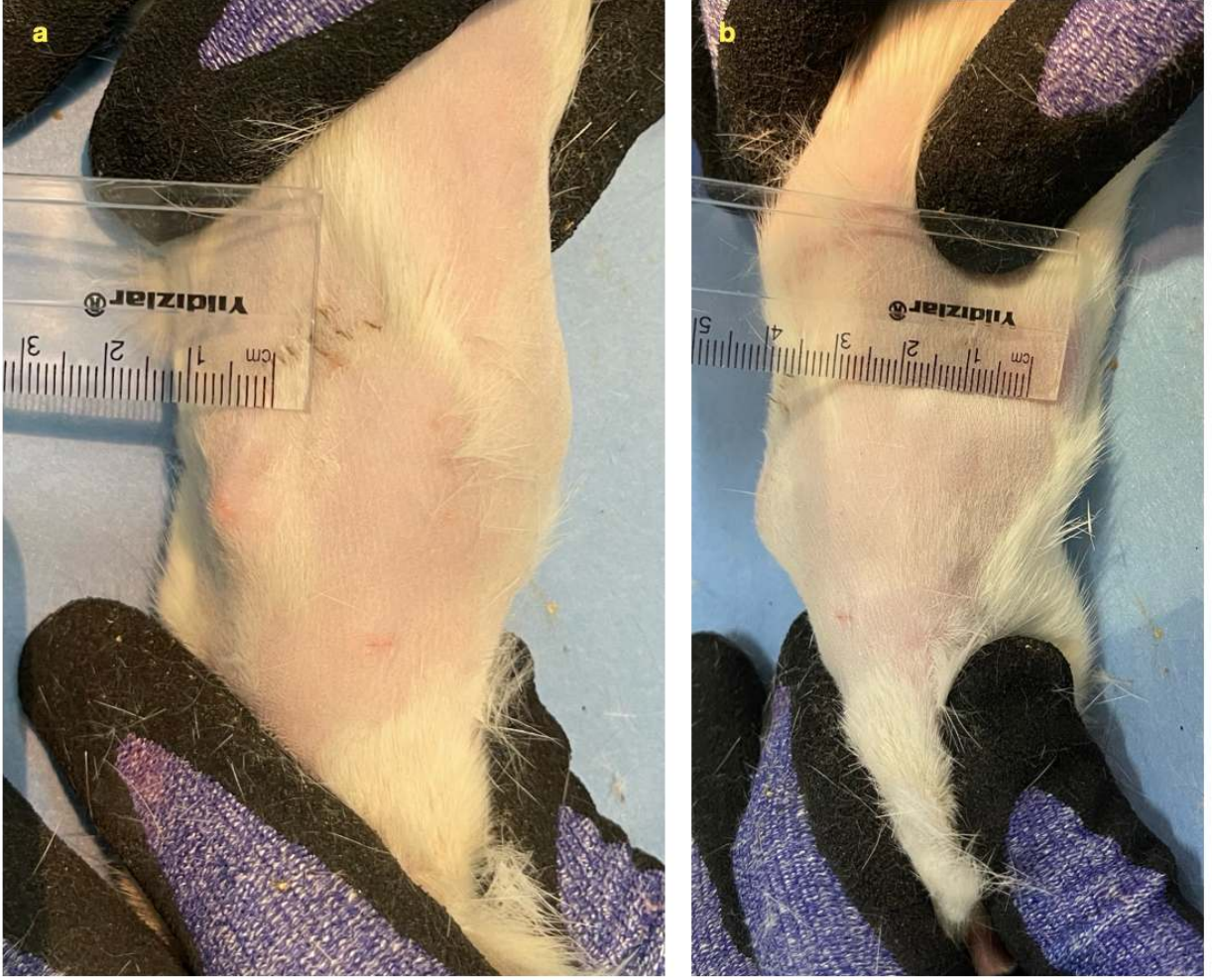
a: Grup 1 denek 5 4. haftadaki üstten görünüm

b: Grup 1 denek 5 4. haftadaki yandan görünüm



Şekil 12:

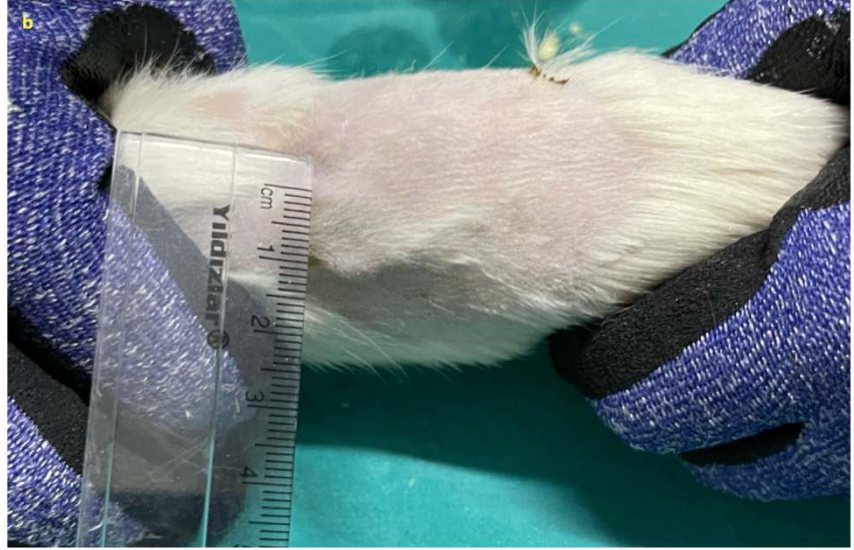
- a: Grup 2 denek 7 4. haftadaki üstten görünüm
b: Grup 2 denek 7 4. haftadaki yandan görünüm



Şekil 13:

a: Grup 3 denek 10 4. haftadaki üstten görünüm, PCL iskele konulan taraf

b: Grup 3 denek 10 4. haftadaki üstten görünüm , P4HB iskele konulan taraf



Şekil 14:

a: Grup 1 denek 6 8. haftadaki üstten görünüm

b: Grup 1 denek 6 8. haftadaki yandan görünüm



Şekil 15:

a: Grup 2 denek 7 8. haftadaki üstten görünüm

b: Grup 2 denek 7 8. haftadaki yandan görünüm



Şekil 16:

a: Grup 3 denek 10 8. haftadaki üstten görünüm, P4HB iskele konulan taraf

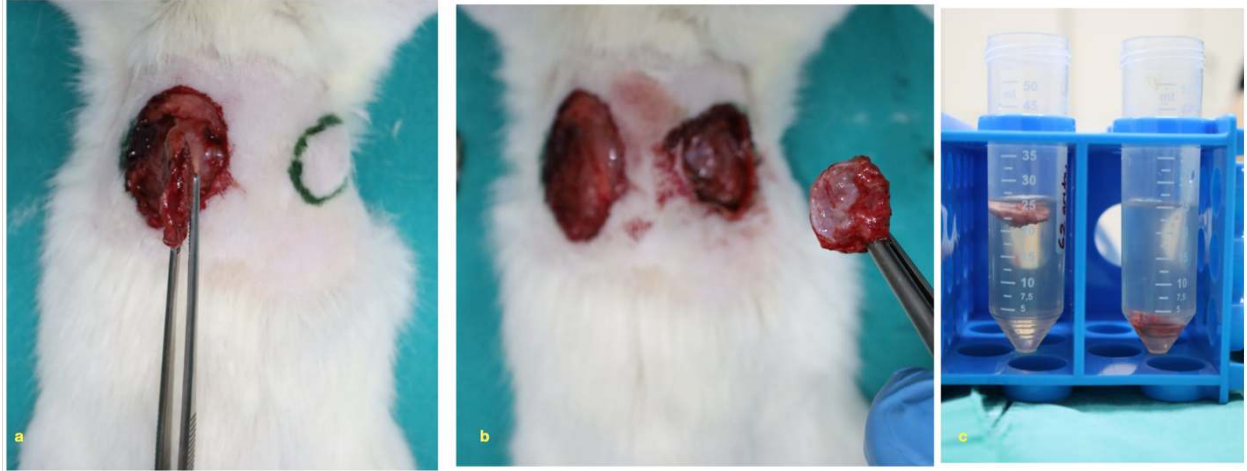
b: Grup 3 denek 10 8. haftadaki üstten görünüm, PCL iskele konulan taraf



Şekil 17:

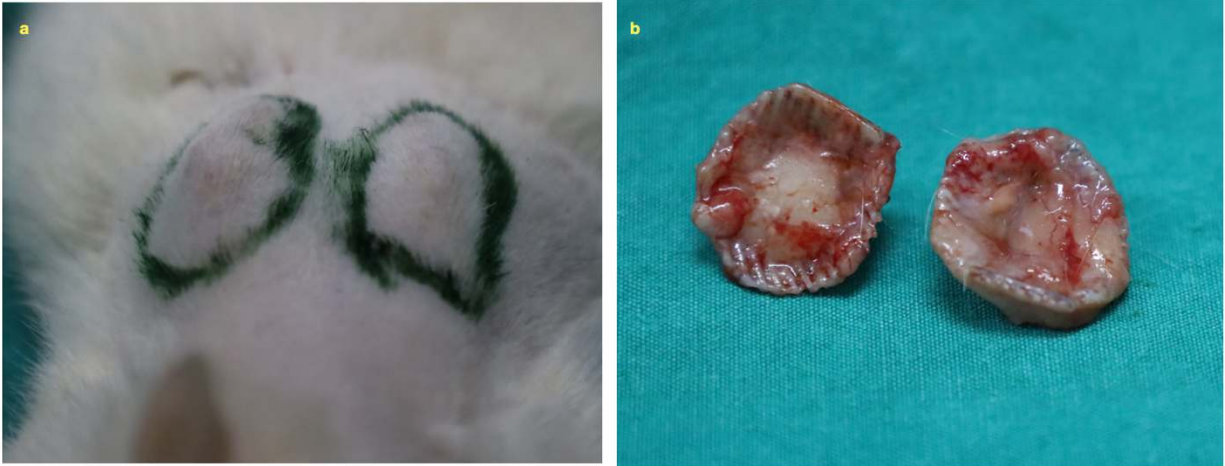
a: Grup 2 denek 1 12. haftadaki üstten görünüm

b: Grup 2 denek 1 12. haftaki PCL iskelelerin kapladıkları alanlar



Şekil 18:

- a: Grup 2 denek 1 sadece PCL iskele konulan alınan specimen örneği
b: Grup 2 denek 1 PCL ve yağ greftinde konulan specimen örneği
c: Resimde sağ taraf: Sadece PCL iskele specimen volümetrik ölçümü, yağ oranı az olduğu için suda battığı gözlemlendi. Resimde sol tarafta: PCL iskele ve yağ grefti olarak alınan specimenin suda yüzdüğü gözlemlendi.



Şekil 19:

- a: Grup 2 denek 2 sağ ve sol taraftaki iskelelerin kapladığı alan gösterimi
b: Grup 2 denek 2, resimdeki sol taraftaki specimende (PCL + Yağ grefti) yağ grefti oluşumu daha belirgin bir şekilde gözlenmektedir.



Şekil 20:

a: Grup 1 denek 1, P4HB iskelelerin kapladığı alan çizimi

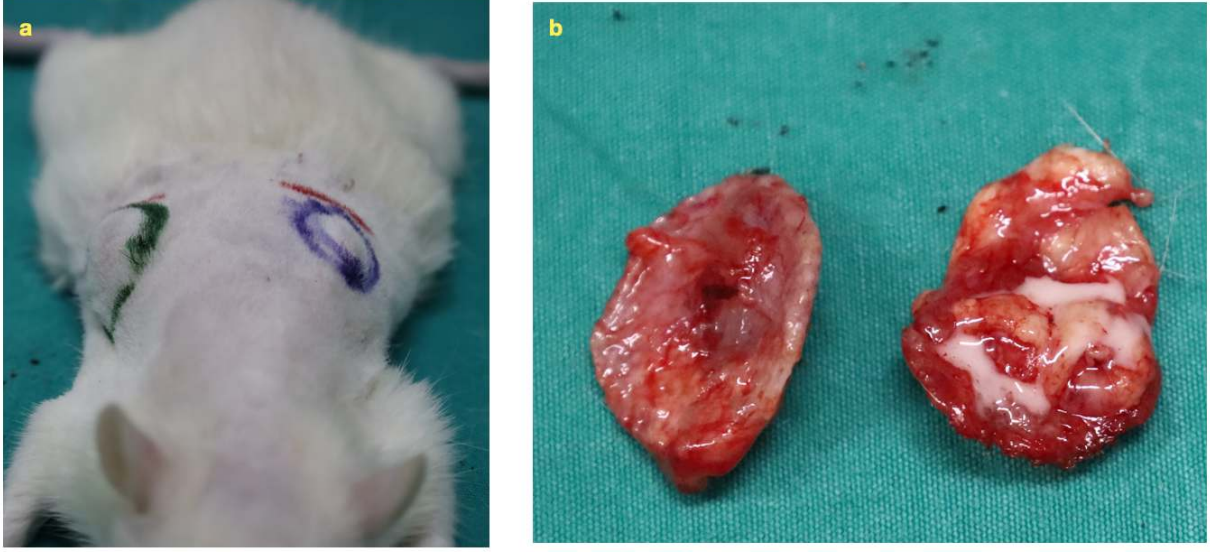
b: Grup 1 denek 1 sadece P4HB (resimde sağ), P4HB + yağ grefti (resimde sol) görüntüsü



Şekil 21:

a: Grup 1 denek 1 sadece P4HB (resimde sağ), P4HB + yağ grefti (resimde sol) görüntüsü

b: Grup 1 denek 1 sadece P4HB (resimde sağ) specimen , P4HB + yağ grefti (resimde sol) specimen görüntüsü. Yağ dokusu oluşumu her ikisinde de gözlenmekte.



Şekil 22:

a: Grup 3 denek 1 PCL (yeşil) ve P4HB (mavi) tarafın kapladığı alanların çizimi

b: Grup 3 denek 1 PCL+ yağ greft + ADSVF specimen (resimde sol), P4HB + yağ greft + ADSVF specimen (resimde sağ taraf).

Makroskopik incelemede ortalama boyut ve hacim değerleri bütün gruplar kıyaslandığında PCL konulan gruplar P4HB ye göre daha büyük boyut ve hacimde bulunmuştur ($p<0.001$ ve 0.014). Yağ grefti ve ADSVF uygulamasının boyut veya hacim üzerine belirgin bir etkisi görülmemiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Gruplara göre genel değerlendirme: Volüm, yağ doku, inflamasyon, vaskülarizasyon, trikrom, perilipin ve CD31 skorlarının karşılaştırılması.

Fareler Taraflar Gruplar	TOTAL	1		2		3		P
		Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	
		P4HB	P4HB+ FAT	PCL	PCL + FAT	P4HB + FAT + ADSVF	PCL + FAT + ADSVF	
		1L	1R	2L	2R	3L	3R	
N	52	9	9	9	9	8	8	
Volüm								
cm2	2.71 ± 1.00	1.85 ± 0.46	2.41 ± 0.58	2.98 ± 0.88	3.72 ± 1.00	2.10 ± 0.86	3.69 ± 0.94	0.0001
ml	0.85 ± 0.43	0.56 ± 1.17	0.78 ± 0.51	0.78 ± 0.26	1.06 ± 0.30	0.75 ± 0.38	1.19 ± 0.59	0.0147
Yağ doku								
Hafif	17 (32.69)	3 (33.33)	3 (33.33)	3 (33.33)	3 (33.33)	5 (62.50)	0	0.339
Orta	30 (57.69)	5 (55.56)	4 (44.44)	6 (66.67)	5 (55.56)	3 (37.50)	7 (87.50)	
Fazla	5 (9.62)	1 (11.11)	2 (22.22)	0	1 (11.11)	0	1 (12.50)	
İnflamasyon								
Hafif	14 (26.92)	4 (44.44)	4 (44.44)	3 (33.33)	1 (11.11)	2 (25.00)	0	0.002
Orta	20 (38.46)	4 (44.44)	4 (44.44)	6 (66.67)	2 (22.22)	0	4 (50.00)	
Fazla	18 (34.62)	1 (11.11)	1 (11.11)	0	6 (66.67)	6 (75.00)	4 (50.00)	
Vaskülarizasyon								
Hafif	8 (15.38)	0	0	3 (33.33)	3 (33.33)	2(25.00)	0	0.002
Orta	24 (46.15)	7 (77.78)	5 (55.56)	5 (55.56)	0	5 (62.50)	2 (25.00)	
Fazla	20 (38.46)	2 (22.22)	4 (44.44)	1 (11.11)	6 (66.67)	1 (12.50)	6 (75.00)	
Trikrom								
Hafif	28 (53.85)	6 (66.67)	5 (55.56)	3 (33.33)	5 (55.56)	4 (50.00)	5 (62.50)	0.945
Orta	21 (40.38)	3 (33.33)	3 (33.33)	5 (55.56)	4 (44.44)	3 (37.50)	3 (37.50)	
Fazla	3 (5.77)	0	1 (11.11)	1 (11.11)	0	1 (12.50)	0	
Perilipin								
Hafif	28 (53.85)	5 (55.56)	6 (66.67)	3 (33.33)	7 (77.78)	4 (50.00)	3 (37.50)	0.474
Orta	23 (44.23)	4 (44.44)	3 (33.33)	6 (66.67)	2 (22.22)	4 (50.00)	4 (50.00)	
Fazla	1 (1.92)	0	0	0	0	0	1 (12.50)	
CD31								
Hafif	8 (15.38)	0	0	2 (22.22)	3 (33.33)	2 (25.00)	1 (12.50)	0.047
Orta	27 (51.92)	8 (88.89)	5 (55.56)	6 (66.67)	1 (11.11)	4 (50.00)	3 (37.50)	
Fazla	17 (32.69)	1 (11.11)	4 (44.44)	1 (11.11)	5 (55.56)	2 (25.00)	4 (50.00)	

4.2 Histopatolojik bulgular

Histopatolojik değerlendirmede oluşan yağ dokusun büyüklüğü açısından genel karşılaştırmalarda iskele tipi, yağ grefti ve ADSVF uygulamalarının anlamlı fark yaratmadığı gözlenmiştir ($p = 0.247; 0.913; 1.000$) (Tablo 2,3,4) (şekil 23).

Tablo 2: İskele Karşılaştırması (P4HB vs PCL): İki farklı biyomateryalin histopatolojik ve makroskopik karşılaştırması.

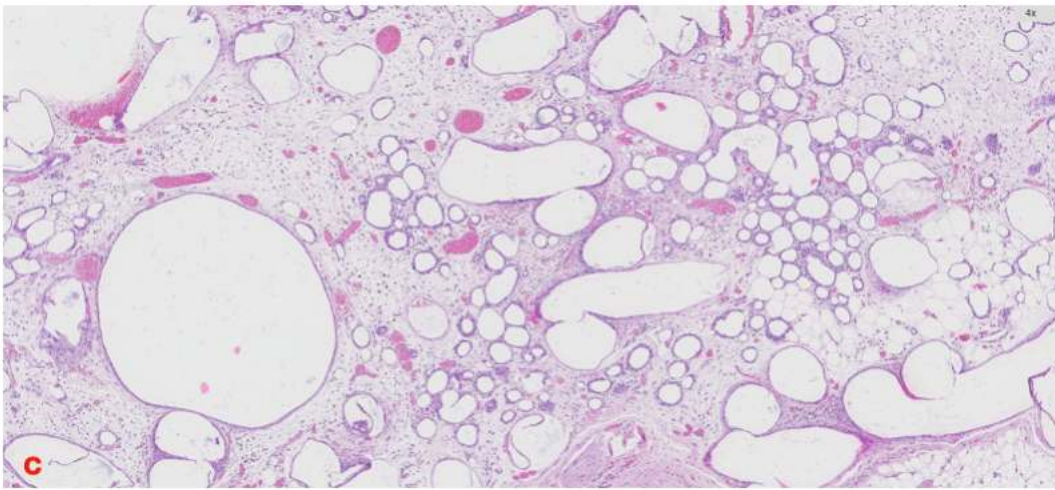
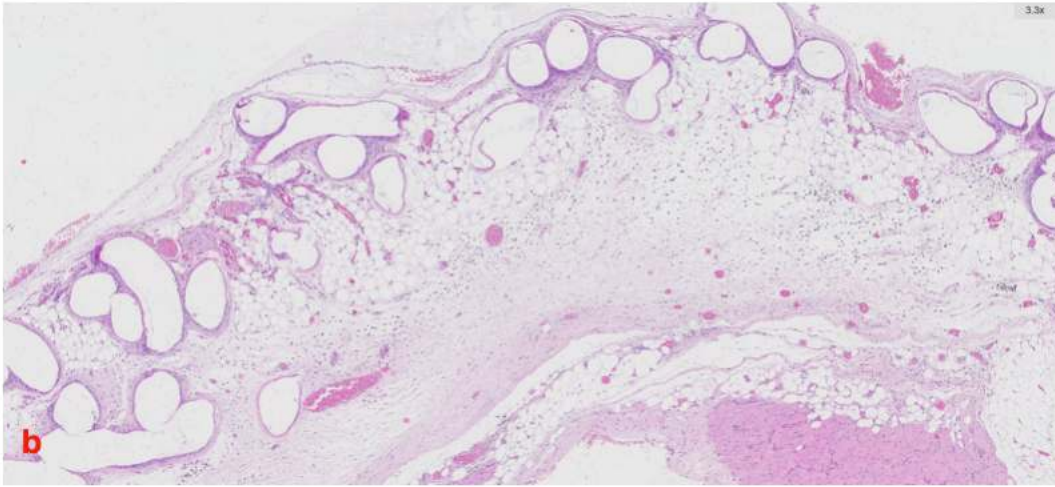
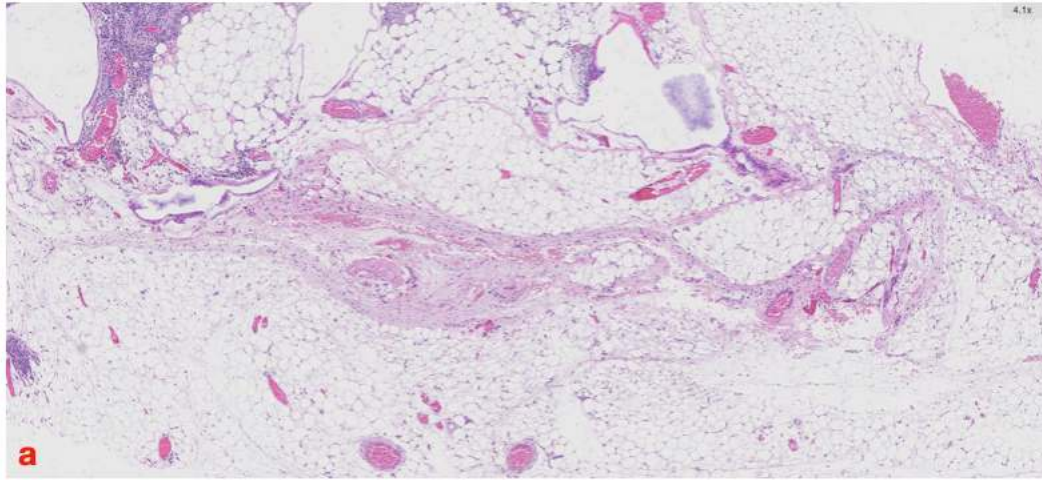
İskele Gruplar N	P4HB 1R, 1L, 3L 26	PCL 2R, 2L, 3R 26	P
Volüm			
cm2	2.12 ± 0.66	3.30 ± 0.95	<0.001
ml	0.69 ± 0.38	1.00 ± 0.42	0.0019
Yağ doku			
Hafif	11 (42.31)	6 (23.08)	0.247
Orta	12 (46.15)	18 (69.23)	
Fazla	3 (11.54)	2 (7.69)	
İnflamasyon			
Hafif	10 (38.46)	4 (15.38)	0.166
Orta	8 (30.77)	12 (46.15)	
Fazla	8 (30.77)	10 (38.62)	
Vaskülarizasyon			
Hafif	2 (7.69)	6 (23.08)	0.022
Orta	17 (65.38)	7 (26.92)	
Fazla	7 (26.92)	13 (50.0)	
Trikrom			
Hafif	15 (57.69)	13 (50.00)	0.669
Orta	9 (34.62)	12 (46.15)	
Fazla	2 (7.69)	1 (3.85)	
Perilipin			
Hafif	15 (57.69)	13 (50.00)	0.781
Orta	11 (42.31)	12 (46.15)	
Fazla	0	1 (3.85)	
CD31			
Hafif	2 (7.69)	6 (23.08)	0.143
Orta	17 (65.38)	10 (38.46)	
Fazla	7 (26.92)	10 (38.46)	

Tablo 3: Yağ greftinin histopatolojik ve makroskopik etkileri

Yağ grefti Gruplar N	Yağ grefti + 1R, 2R, 3R, 3L 34	Yağ grefti- 1L, 2L 18	P
Volüm			
cm2	2.87 ± 1.04	2.42 ± 0.89	0.126
ml	0.94 ± 0.47	0.67 ± 0.24	0.036
Yağ doku			
Hafif	11 (32.35)	6 (33.33)	0.913
Orta	19 (55.88)	11 (61.11)	
Fazla	4 (11.76)	1 (5.56)	
İnflamasyon			
Hafif	7 (20.59)	7 (38.89)	0.006
Orta	10 (29.41)	10 (55.56)	
Fazla	17 (50.00)	1 (5.56)	
Vaskülarizasyon			
Hafif	5 (14.71)	3 (16.67)	0.051
Orta	12 (35.29)	12 (66.67)	
Fazla	17 (50.00)	3 (16.67)	
Trikrom			
Hafif	19 (55.88)	9 (50.00)	0.893
Orta	13 (38.24)	8 (44.44)	
Fazla	2 (5.88)	1 (5.56)	
Perilipin			
Hafif	20 (58.82)	8 (44.44)	0.594
Orta	13 (38.24)	10 (55.56)	
Fazla	1 (2.94)	0	
CD31			
Hafif	6 (17.65)	2 (11.11)	0.020
Orta	13 (38.24)	14 (77.78)	
Fazla	15 (44.12)	2 (11.11)	

Tablo 4: ADSVF verilen ve verilmeyen grupların karşılaştırılması: Stromal vasküler fraksiyonun histopatolojik ve makroskopik etkileri

Kök hücre Gruplar N	ADSVF+ 3R, 3L 16	ADSVF- 1R, 1L, 2R, 2L 36	P
Volüm			
cm2	2.90 ± 1.20	2.63 ± 0.91	0.300
ml	0.97 ± 0.53	0.79 ± 0.37	0.450
Yağ doku			
Hafif	5 (31.25)	12 (33.33)	1.000
Orta	10 (62.50)	20 (55.56)	
Fazla	1 (6.25)	4 (11.11)	
İnflamasyon			
Hafif	2 (12.50)	12 (33.33)	0.018
Orta	4 (25.00)	16 (44.44)	
Fazla	10 (62.50)	8 (22.22)	
Vaskülarizasyon			
Hafif	2 (12.50)	6 (16.67)	0.851
Orta	7 (43.75)	17 (47.22)	
Fazla	7 (43.75)	13 (36.11)	
Trikrom			
Hafif	9 (56.25)	19 (52.78)	1.000
Orta	6 (37.50)	15 (41.67)	
Fazla	1 (6.25)	2 (5.56)	
Perilipin			
Hafif	7 (43.75)	21 (58.33)	0.258
Orta	8 (50.00)	15 (41.67)	
Fazla	1 (6.25)	0	
CD31			
Hafif	3 (15.38)	5 (13.89)	0.729
Orta	7 (43.75)	20 (55.56)	
Fazla	6 (37.50)	11 (30.56)	



Şekil 23:

- a. Yağ graft yoğunluğu; a. Grup 1 (sağ cep) olgusunda yağ dokusunun az oranda olduğu izleniyor.
- b. Grup 1 (sol cep) olgusunda orta derecede yağ dokusu izleniyor.
- c. Grup 2 (sol cep) olgusunda şiddetli derecede yağ dokusu izleniyor. (Hematoksilen-eozin, x200)

Ancak alt grup analizlerinde PCL + yağ grefti + ADSVF grubunda oluşan yağ dokusu, P4HB + yağ grefti + ADSVF grubuna kıyasla anlamlı olarak daha büyük bulunmuştur ($p = 0.026$) (Tablo 5) (Şekil 24).

Tablo 5: Grup 3 (P4HB + Yağ + ADSVF ve PCL + Yağ + ADSVF) sağ ve sol tarafların histopatolojik ve makroskopik karşılaştırması.

Fareler Taraflar Gruplar N	Sol P4HB + FAT + ADSVF 8	Sağ PCL + FAT + ADSVF 8	P
Volüm			
cm2	2.10 ± 0.86	3.69 ± 0.94	0.0035
ml	0.75 ± 0.38	1.19 ± 0.59	0.1056
Yağ doku			
Hafif	5 (62.50)	0	0.026
Orta	3 (37.50)	7 (87.50)	
Fazla	0	1 (12.50)	
İnflamasyon			
Hafif	2 (25.00)	0	0.040
Orta	0	4 (50.00)	
Fazla	6 (75.00)	4 (50.00)	
Vaskülarizasyon			
Hafif	2(25.00)	0	0.063
Orta	5 (62.50)	2 (25.00)	
Fazla	1 (12.50)	6 (75.00)	
Trikrom			
Hafif	4 (50.00)	5 (62.50)	1.000
Orta	3 (37.50)	3 (37.50)	
Fazla	1 (12.50)	0	
Perilipin			
Hafif	4 (50.00)	3 (37.50)	1.000
Orta	4 (50.00)	4 (50.00)	
Fazla	0	1 (12.50)	
CD31			
Hafif	2 (25.00)	1 (12.50)	0.674
Orta	4 (50.00)	3 (37.50)	
Fazla	2 (25.00)	4 (50.00)	

İnflamasyon düzeyleri incelendiğinde, bütün gruplar arasında anlamlı fark izlenmiştir (p = 0.002) (Tablo1). P4HB ve PCL grupları yalnızca iskele açısından karşılaştırıldığında inflamasyonda fark saptanmamıştır (p = 0.166) (Tablo 2). Bununla birlikte, yağ grefti ve ADSVF uygulanan gruplarda inflamasyon skorlarının anlamlı biçimde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (p <0.05) (Tablo 1, 3,4,5,6,7,8,9) (Şekil 24).

Tablo 6: Grup 2 (PCL ve PCL + Yağ Grefti): sol ve sağ tarafların histopatolojik ve makroskopik karşılaştırması.

Fareler Taraflar Gruplar N	Sol PCL 9	Sağ PCL + FAT 9	P
Volüm			
cm2	2.98 ± 0.88	3.72 ± 1.00	0.5212
ml	0.78 ± 0.26	1.06 ± 0.30	0.0595
Yağ doku			
Hafif	3 (33.33)	3 (33.33)	1.000
Orta	6 (66.67)	5 (55.56)	
Fazla	0	1 (11.11)	
İnflamasyon			
Hafif	3 (33.33)	1 (11.11)	0.009
Orta	6 (66.67)	2 (22.22)	
Fazla	0	6 (66.67)	
Vaskülarizasyon			
Hafif	3 (33.33)	3 (33.33)	0.017
Orta	5 (55.56)	0	
Fazla	1 (11.11)	6 (66.67)	
Trikrom			
Hafif	3 (33.33)	5 (55.56)	0.447
Orta	5 (55.56)	4 (44.44)	
Fazla	1 (11.11)	0	
Perilipin			
Hafif	3 (33.33)	7 (77.78)	0.058
Orta	6 (66.67)	2 (22.22)	
Fazla	0	0	
CD31			
Hafif	2 (22.22)	3 (33.33)	0.056
Orta	6 (66.67)	1 (11.11)	
Fazla	1 (11.11)	5 (55.56)	

Tablo 7: P4HB Grupları (P4HB, P4HB + Yağ, P4HB + Yağ + ADSVF) bazında histopatolojik ve makroskopik etkileri

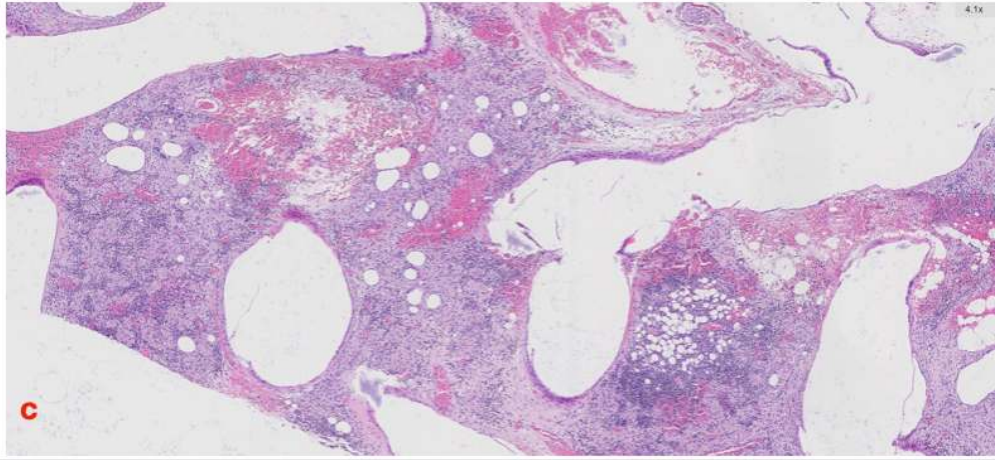
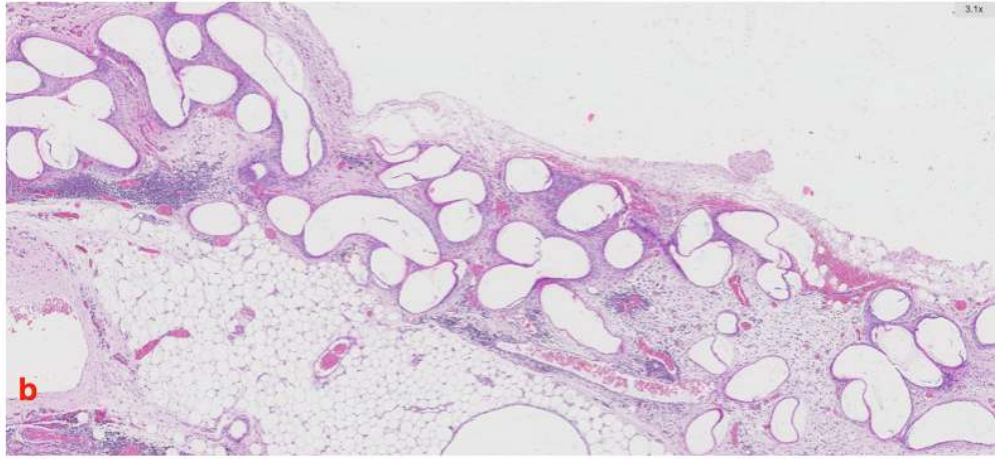
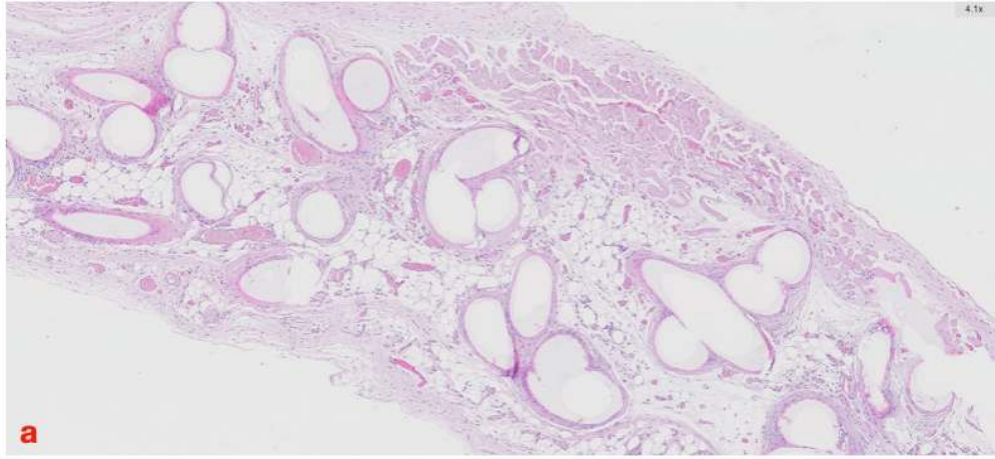
Gruplar	P4HB	P4HB+ FAT	P4HB + FAT + ADSVF	P
N	9	9	8	
Volüm				
cm2	1.85 ± 0.46	2.41 ± 0.58	2.10 ± 0.86	0.208
ml	0.56 ± 1.17	0.78 ± 0.51	0.75 ± 0.38	0.186
Yağ doku				
Hafif	3 (33.33)	3 (33.33)	5 (62.50)	0.651
Orta	5 (55.56)	4 (44.44)	3 (37.50)	
Fazla	1 (11.11)	2 (22.22)	0	
İnflamasyon				
Hafif	4 (44.44)	4 (44.44)	2 (25.00)	0.028
Orta	4 (44.44)	4 (44.44)	0	
Fazla	1 (11.11)	1 (11.11)	6 (75.00)	
Vaskülarizasyon				
Hafif	0	0	2(25.00)	0.261
Orta	7 (77.78)	5 (55.56)	5 (62.50)	
Fazla	2 (22.22)	4 (44.44)	1 (12.50)	
Trikróm				
Hafif	6 (66.67)	5 (55.56)	4 (50.00)	0.967
Orta	3 (33.33)	3 (33.33)	3 (37.50)	
Fazla	0	1 (11.11)	1 (12.50)	
Perilipin				
Hafif	5 (55.56)	6 (66.67)	4 (50.00)	0.885
Orta	4 (44.44)	3 (33.33)	4 (50.00)	
Fazla	0	0	0	
CD31				
Hafif	0	0	2 (25.00)	0.163
Orta	8 (88.89)	5 (55.56)	4 (50.00)	
Fazla	1 (11.11)	4 (44.44)	2 (25.00)	

Tablo 8: PCL Grupları (PCL, PCL + Yağ, PCL + Yağ + ADSVF) bazında histopatolojik ve makroskopik etkileri

Gruplar	PCL	PCL + FAT	PCL + FAT + ADSVF	P
N	9	9	8	
Volüm				
cm2	2.98 ± 0.88	3.72 ± 1.00	3.69 ± 0.94	0.273
ml	0.78 ± 0.26	1.06 ± 0.30	1.19 ± 0.59	0.145
Yağ doku				
Hafif	3 (33.33)	3 (33.33)	0	0.280
Orta	6 (66.67)	5 (55.56)	7 (87.50)	
Fazla	0	1 (11.11)	1 (12.50)	
İnflamasyon				
Hafif	3 (33.33)	1 (11.11)	0	0.014
Orta	6 (66.67)	2 (22.22)	4 (50.00)	
Fazla	0	6 (66.67)	4 (50.00)	
Vaskülarizasyon				
Hafif	3 (33.33)	3 (33.33)	0	0.006
Orta	5 (55.56)	0	2 (25.00)	
Fazla	1 (11.11)	6 (66.67)	6 (75.00)	
Trikrom				
Hafif	3 (33.33)	5 (55.56)	5 (62.50)	0.668
Orta	5 (55.56)	4 (44.44)	3 (37.50)	
Fazla	1 (11.11)	0	0	
Perilipin				
Hafif	3 (33.33)	7 (77.78)	3 (37.50)	0.141
Orta	6 (66.67)	2 (22.22)	4 (50.00)	
Fazla	0	0	1 (12.50)	
CD31				
Hafif	2 (22.22)	3 (33.33)	1 (12.50)	0.127
Orta	6 (66.67)	1 (11.11)	3 (37.50)	
Fazla	1 (11.11)	5 (55.56)	4 (50.00)	

Tablo 9: İskele üzerine yapılan uygulamalara göre (İskele, İskele + Yağ, İskele + Yağ + ADSVF) histopatolojik ve makroskopik etkiler.

Gruplar	İskele	İskele + FAT	İskele + FAT + ADSVF	P
N	1L, 2L 18	1R, 2R 18	3R, 3L 16	
Volüm				
cm2	2.42 ± 0.89	2.84 ± 0.91	2.90 ± 1.20	0.310
ml	0.67 ± 0.24	0.92 ± 0.43	0.97 ± 0.53	0.111
Yağ doku				
Hafif	6 (33.33)	6 (33.33)	5 (31.25)	0.832
Orta	11 (61.11)	9 (50.00)	10 (62.50)	
Fazla	1 (5.56)	3 (16.67)	1 (6.25)	
İnflamasyon				
Hafif	7 (38.89)	5 (28.78)	2 (12.50)	0.010
Orta	10 (55.56)	6 (33.33)	4 (25.00)	
Fazla	1 (5.56)	7 (38.89)	10 (62.50)	
Vaskülarizasyon				
Hafif	3 (16.67)	3 (16.67)	2 (12.50)	0.133
Orta	12 (66.67)	5 (27.78)	7 (43.75)	
Fazla	3 (16.67)	10 (55.56)	7 (43.75)	
Trikrom				
Hafif	9 (50.00)	10 (55.56)	9 (56.25)	0.985
Orta	8 (44.44)	7 (38.89)	6 (37.50)	
Fazla	1 (5.56)	1 (5.56)	1 (6.25)	
Perilipin				
Hafif	8 (44.44)	13 (72.2)	7 (43.75)	0.178
Orta	10 (55.56)	5 (27.78)	8 (50.00)	
Fazla	0	0	1 (6.25)	
CD31				
Hafif	2 (11.11)	3 (16.67)	3 (18.75)	0.064
Orta	14 (77.78)	6 (33.33)	7 (43.75)	
Fazla	2 (11.11)	9 (50.00)	6 (37.50)	

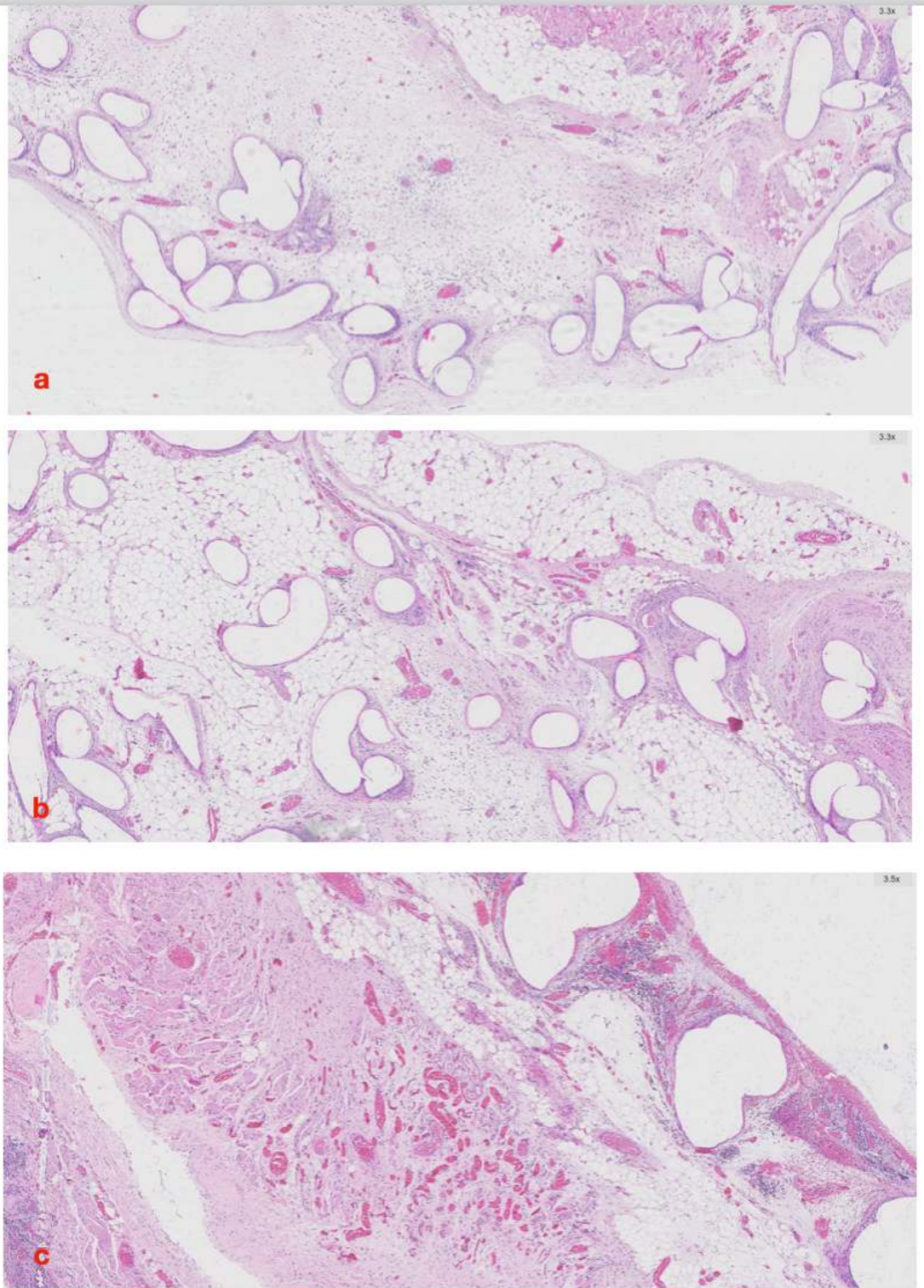


Şekil 24: İnflamatuar hücre reaksiyonu

- a. Grup 1 (sağ cep) olguda az sayıda inflammatuar hücre izleniyor
- b. Grup 2 (sol cep) olguda orta derecede inflammatuar hücre reaksiyonu izleniyor
- c. Grup 3 (sol cep) olguda şiddetli derecede inflammatuar hücre reaksiyonu izleniyor (Hematoksilen-eozin, x200)

Vaskülarizasyon değerlendirmesinde PCL grubunda damar oluşumunun P4HB'ye göre anlamlı derecede fazla olduğu görülmüştür ($p = 0.022$) (Tablo 2). Yağ grefti ve ADSVF uygulamalarının genel etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, PCL alt gruplarında (PCL, PCL + yağ, PCL + yağ + ADSVF) yağ grefti ve ADSVF uygulanması ile birlikte vaskülarizasyon artışı saptanmıştır ($p = 0.017$; $0,006$) (Tablo 6,8) (şekil 25).





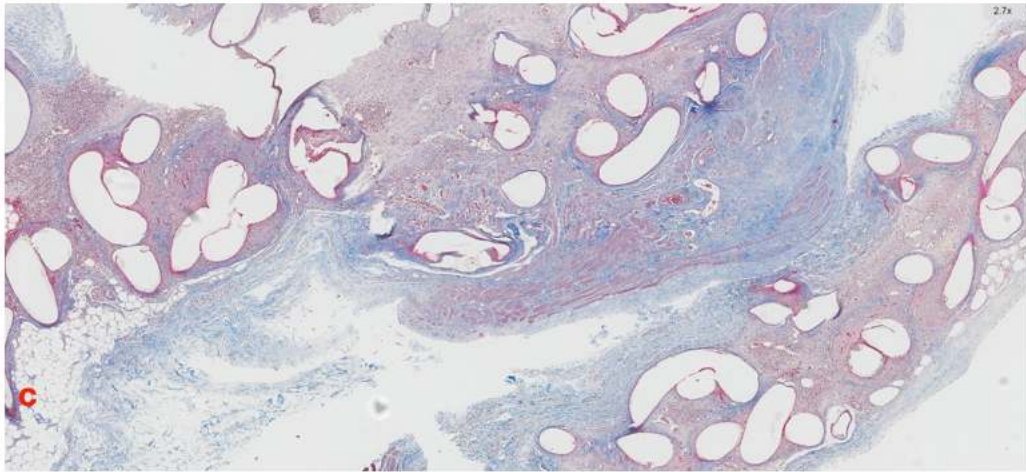
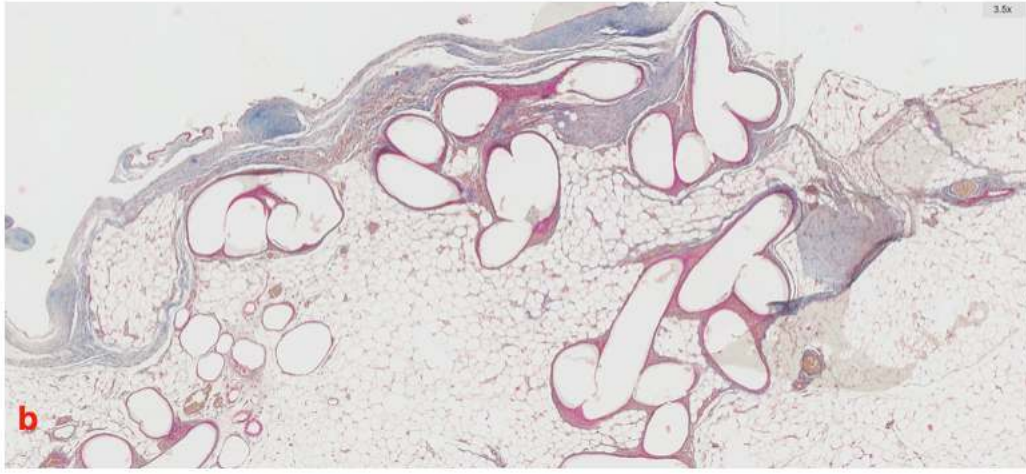
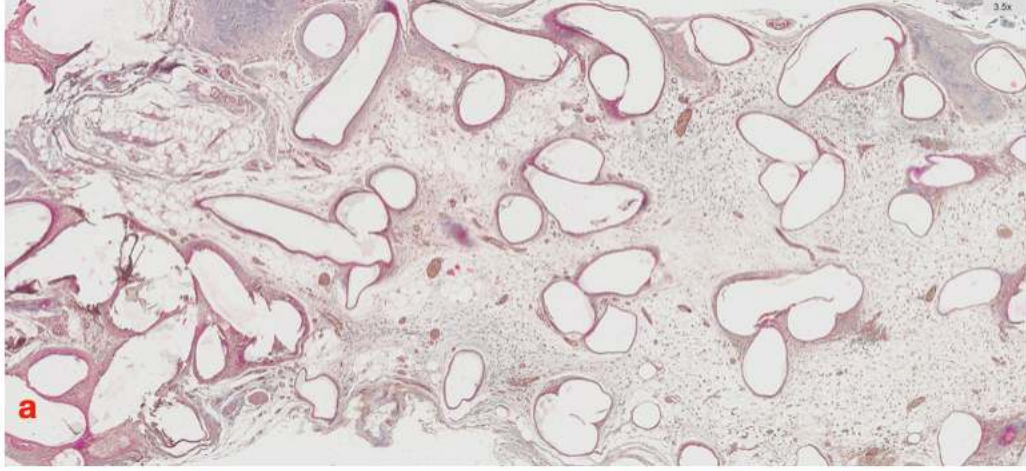
Şekil 25: Vaskülarizasyon

- a. Grup 1 (sağ cep) Olguda minimal vasküler proliferasyon izleniyor
- b. Grup 2 (sağ cep) Olguda orta derecede vasküler proliferasyon izleniyor
- c. Grup 2 (sol cep) Olguda şiddetli derecede vasküler proliferasyon izleniyor (Hematoksilen-eozin, x200)

Fibrozis açısından gruplar arasında, iskele tipi, yağ grefti veya ADSVF uygulamasına bağlı anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$) Tablo (1-10) (Şekil 26).

Tablo 10: Grup 1 (P4HB ve P4HB + Yağ Grefti): sağ ve sol tarafların histopatolojik ve makroskopik karşılaştırması.

Fareler Taraflar Gruplar N	Sol P4HB 9	Sağ P4HB+ FAT 9	P
Volüm			
cm2	1.85 ± 0.46	2.41 ± 0.58	0.0381
ml	0.56 ± 1.17	0.78 ± 0.51	0.2476
Yağ doku			
Hafif	3 (33.33)	3 (33.33)	1.000
Orta	5 (55.56)	4 (44.44)	
Fazla	1 (11.11)	2 (22.22)	
İnflamasyon			
Hafif	4 (44.44)	4 (44.44)	1.000
Orta	4 (44.44)	4 (44.44)	
Fazla	1 (11.11)	1 (11.11)	
Vaskülarizasyon			
Hafif	0	0	0.620
Orta	7 (77.78)	5 (55.56)	
Fazla	2 (22.22)	4 (44.44)	
Trikrom			
Hafif	6 (66.67)	5 (55.56)	1.000
Orta	3 (33.33)	3 (33.33)	
Fazla	0	1 (11.11)	
Perilipin			
Hafif	5 (55.56)	6 (66.67)	1.000
Orta	4 (44.44)	3 (33.33)	
Fazla	0	0	
CD31			
Hafif	0	0	0.294
Orta	8 (88.89)	5 (55.56)	
Fazla	1 (11.11)	4 (44.44)	

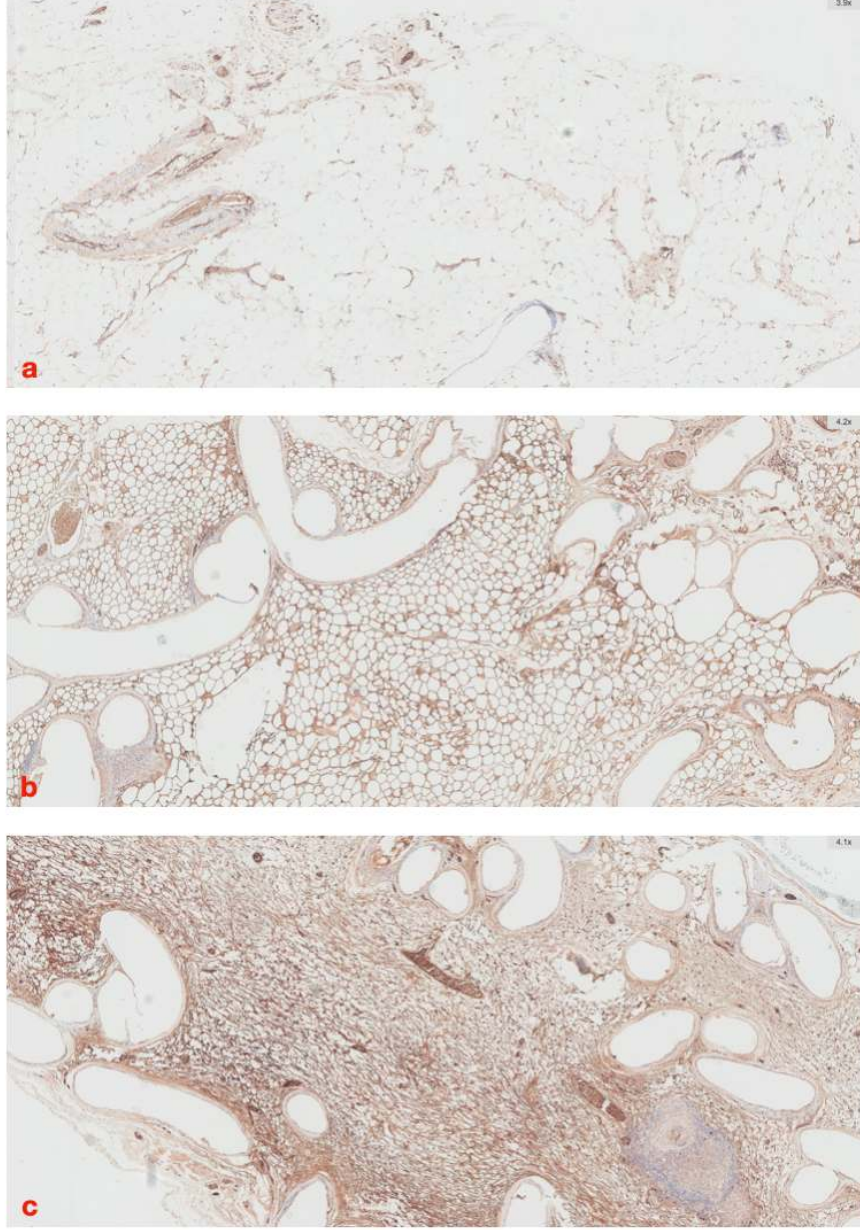


Şekil 26.

Histokimyasal olarak Trikrom ile fibrozis değerlendirildi.

- a. Grup 1 (sol cep) olguda hafif derecede fibrozis izleniyor
- b. Grup 2 (sol cep) olguda orta derecede fibrozis izleniyor
- c. Grup 3 (sağ cep) olguda şiddetli derecede fibrozis izleniyor (Trikrom,x 400)

İmmünohistokimyasal değerlendirmelerde perilipin boyaması, yağ hücre membran bütünlüğü ve canlılık göstergesi olarak kullanılmıştır. İskele tipi, yağ grefti veya ADSVF uygulamasının perilipin ekspresyonunu etkilemediği belirlenmiştir ($p > 0.05$) (Şekil 27).

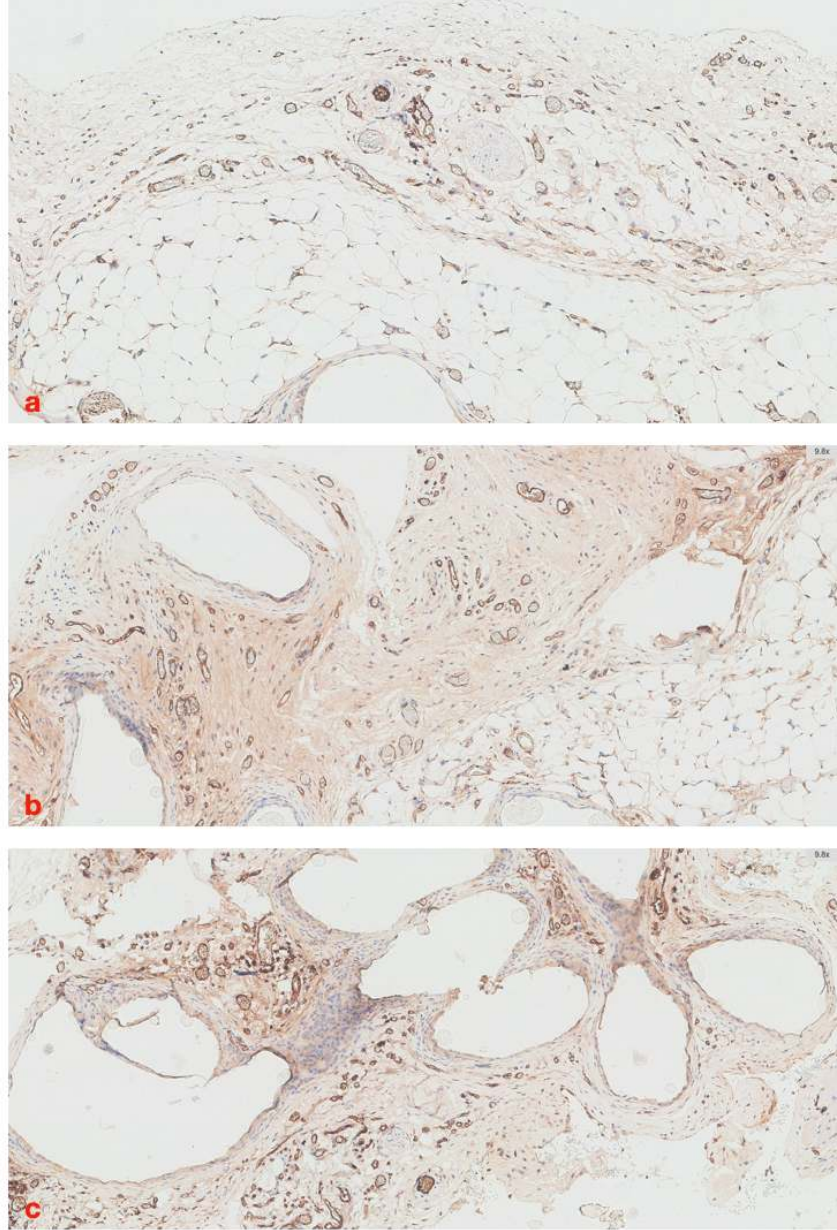


Şekil 27:

İmmünohistokimyasal olarak Perilipin boyası ile yağ doku yoğunluğu değerlendirildi.

- a. Yağ dokusunun düşük oranda olduğu görülüyor
- b. Orta şiddette yağ doku oluşumu izleniyor
- c. Yoğun miktarda yağ doku oluşumu izleniyor (Perilipin, x400)

CD31 boyamasıyla değerlendirilen neovaskülarizasyon, yağ grefti uygulanan gruplarda anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p = 0.020$) (Tablo 3). Ancak P4HB ve PCL ya da ADSVF (+) ve (-) grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Şekil 28).



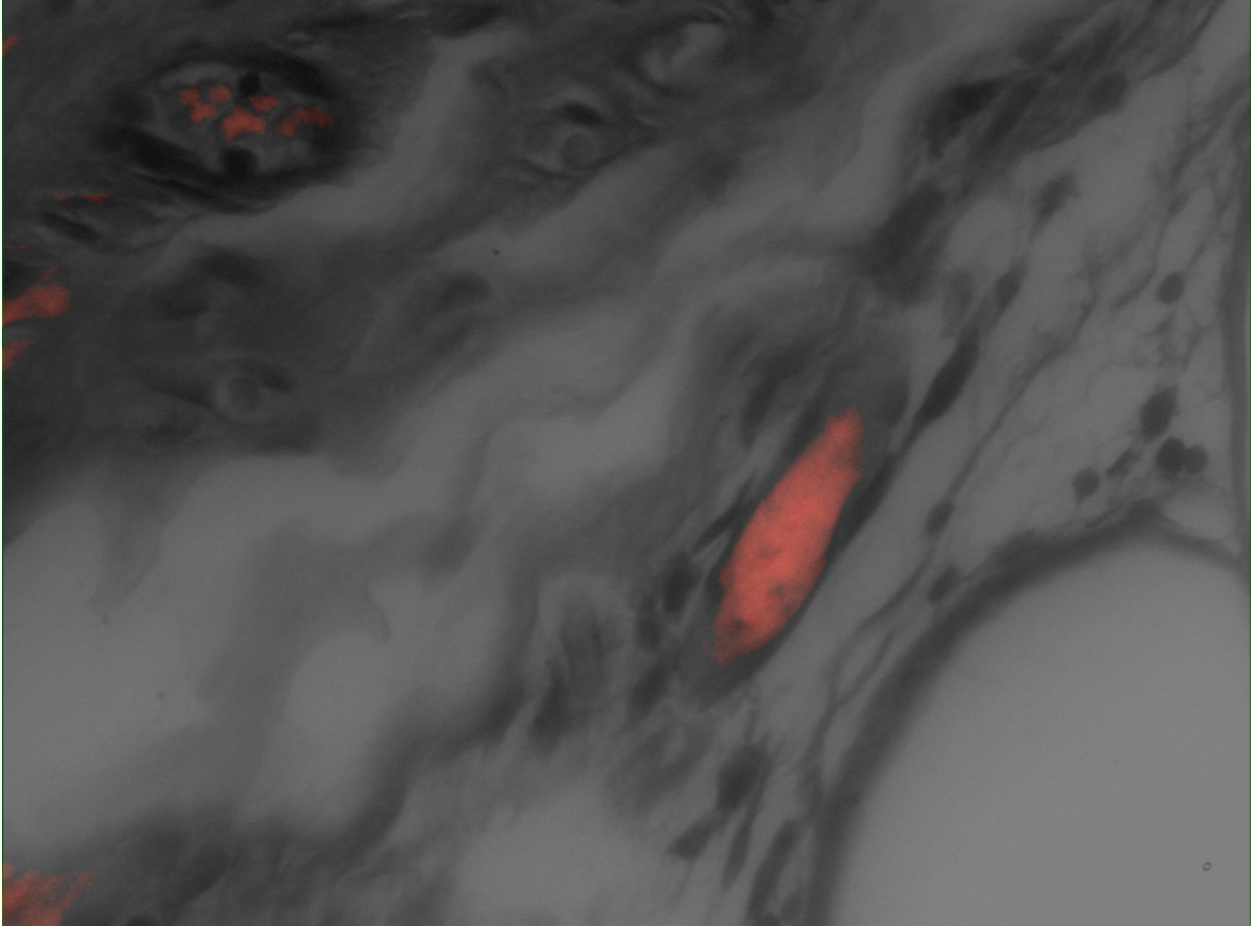
Şekil 28:

İmmünhistokimyasal olarak CD 31 boyası ile vaskülarizasyon değerlendirildi.

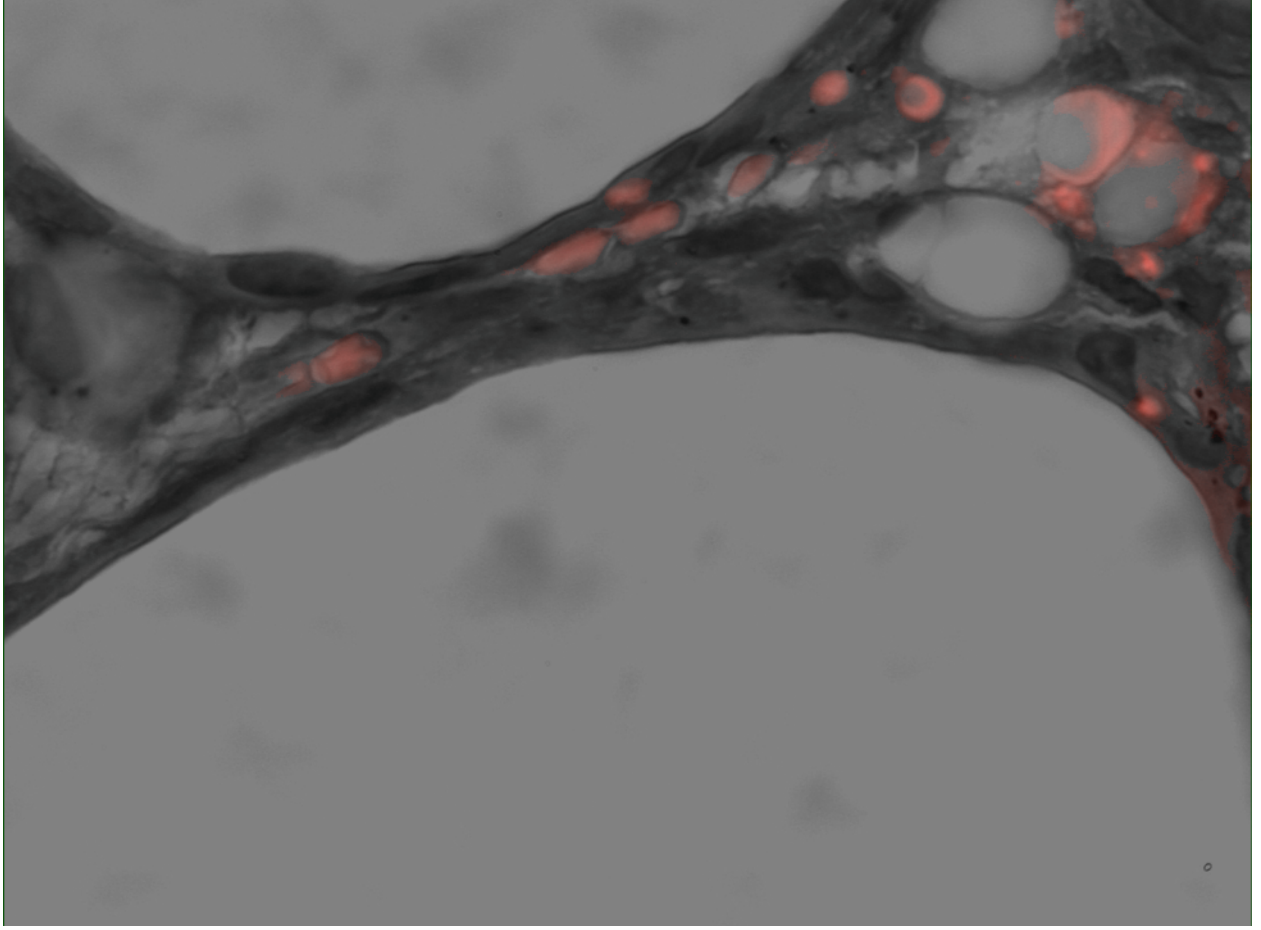
- a. Hafif derecede vaskülarizasyon
- b. Orta derecede vaskülarizasyon
- c. Şiddetli derecede vaskülarizasyon izleniyor (CD31; x400)

DiI Boyası ile boyanmış adipöz kökenli kök hücrelerin değerlendirilmesi

Grup 3'te kullanılan ADSVF'yi boyamak için DiI boyası, 565 nm dalga boyunda kırmızı floresan kanalında görüldü. DiI boyası ile boyanan ADSVF'lerin vasküler endotel ve adipositlere dönüşerek anjiogenez ve adipogeneze yardımcı olduğu gösterildi (Şekil 29-30).



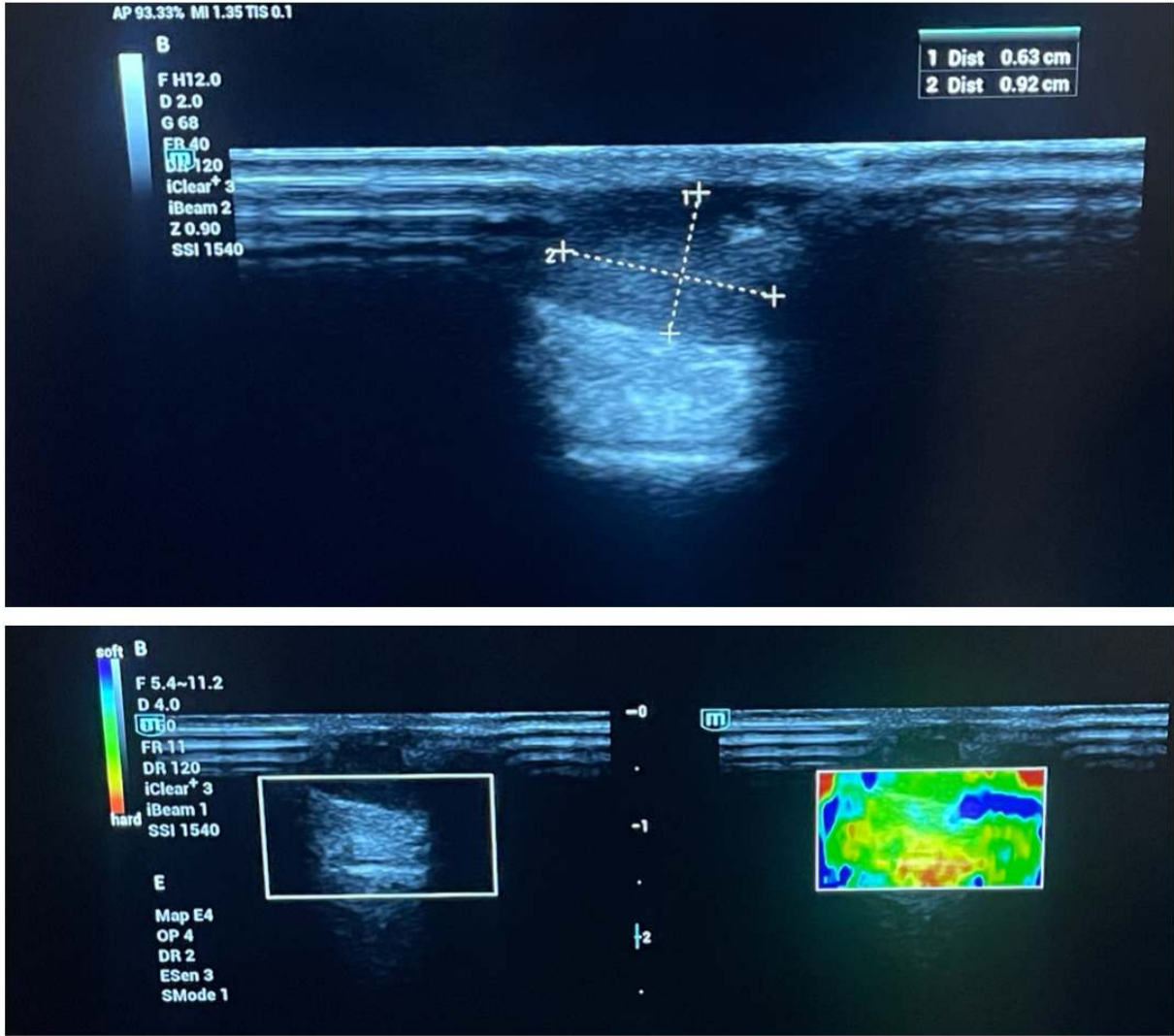
Şekil 29: Grup 3- Denek 6 sağ taraf (PCL) ADSVF nin anjiogeneze katkısı, DiI boyası, 40x büyütme



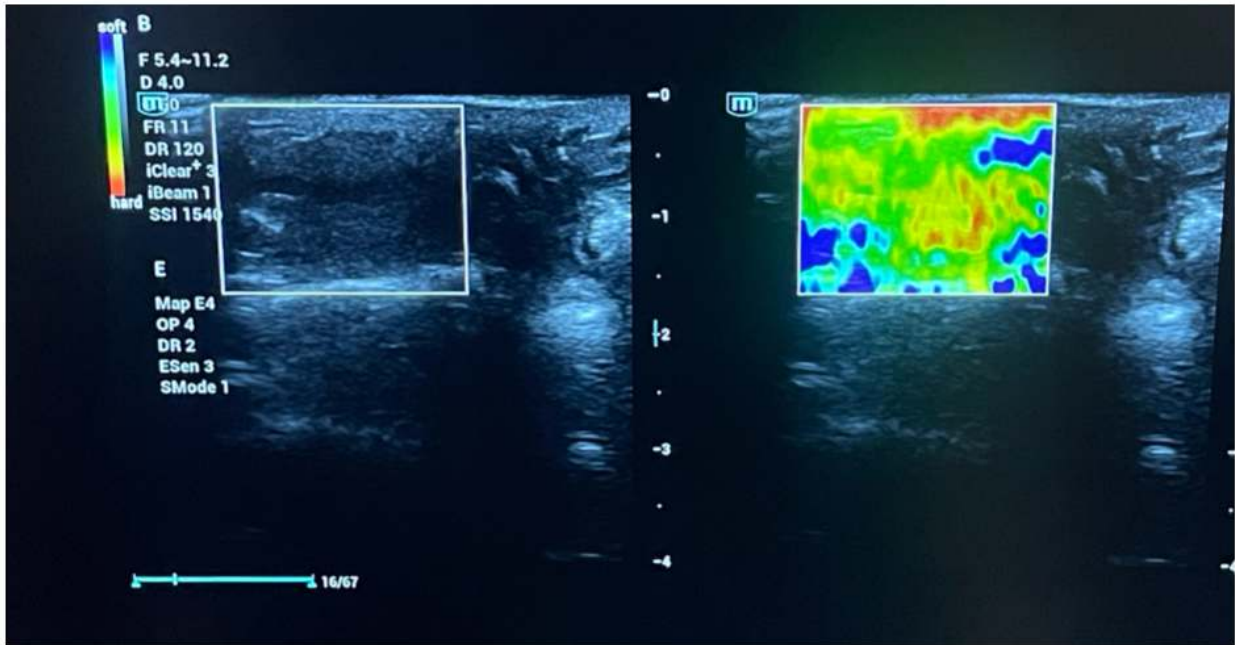
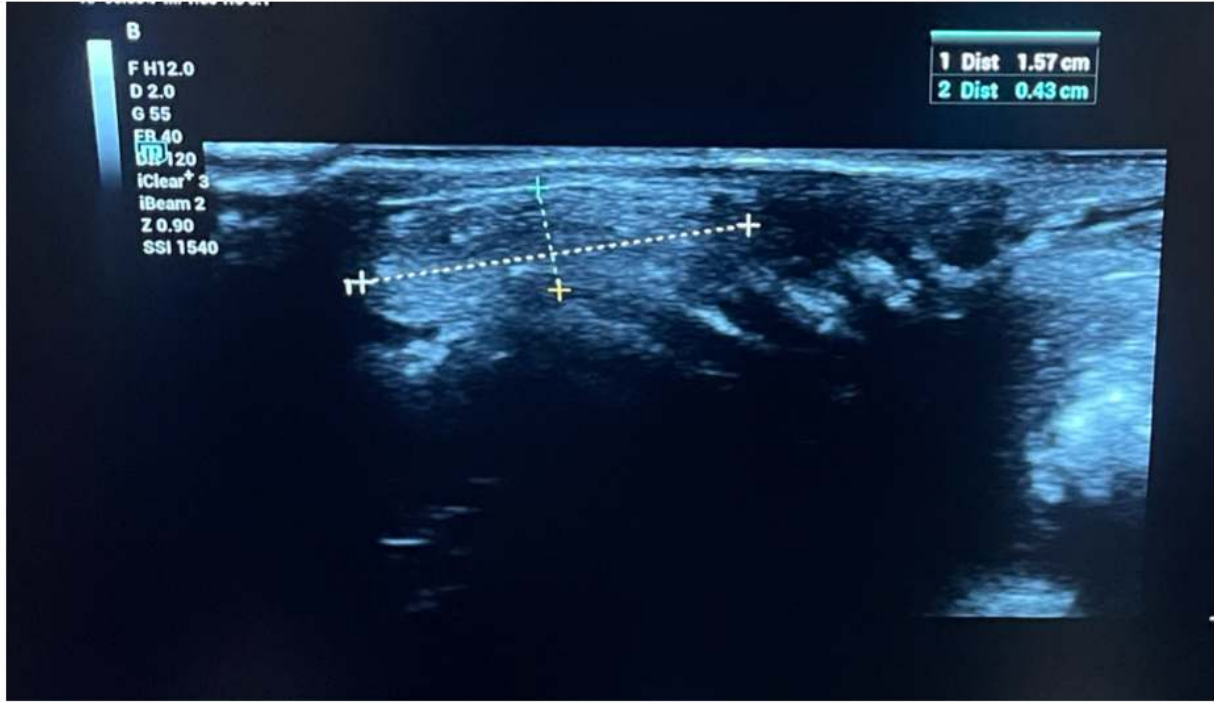
Şekil 30: Grup 3- Denek 3 sol taraf (P4HB) ADSVF nin adipogeneze katkısı- DiI boyası, 100x büyütme

4.3. Radyolojik Bulgular

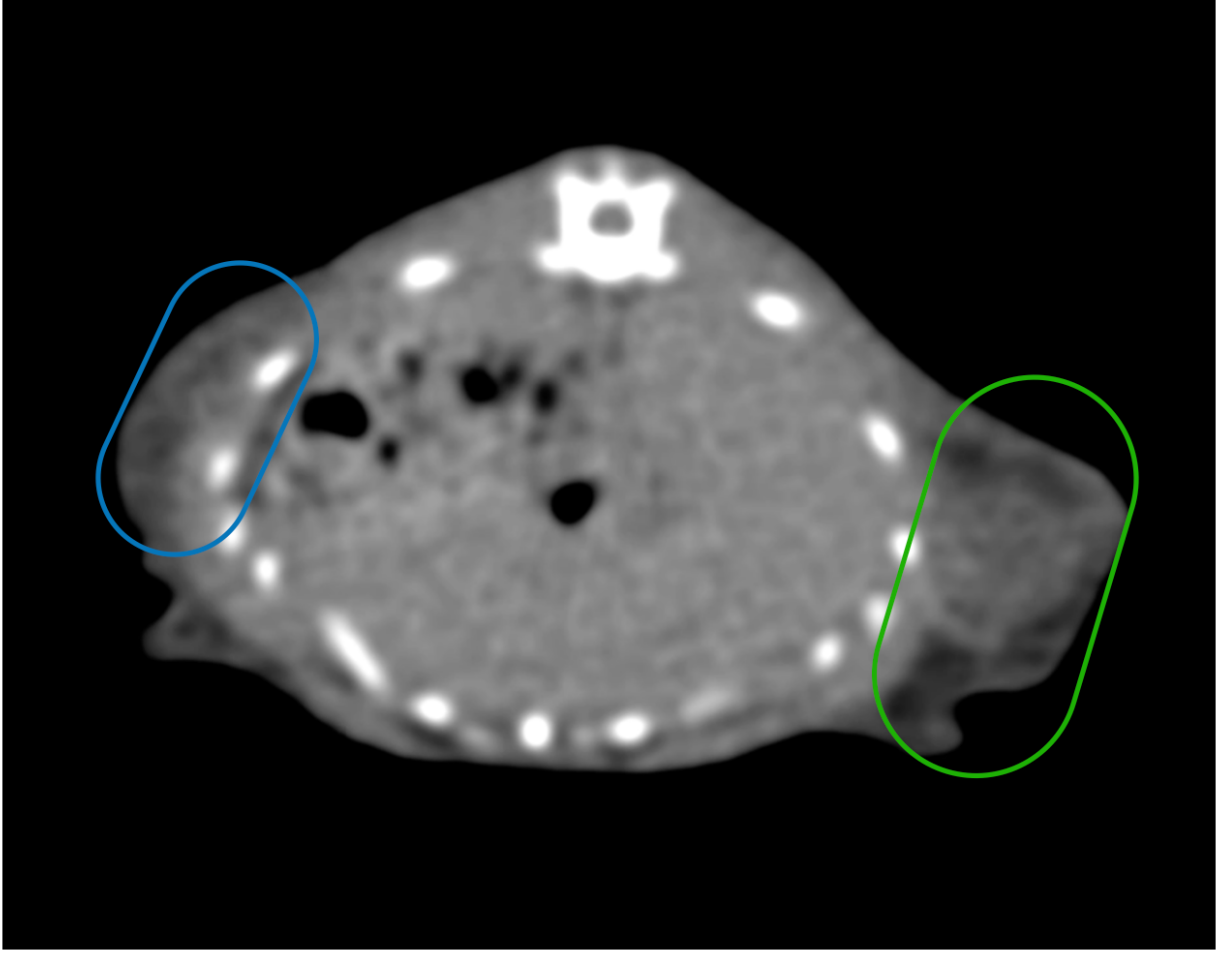
Grup 3'teki bir denek üzerinde demonstratif amaçla yapılan görüntüleme incelemelerinde; USG (elastografi) ölçümlerinde sol tarafta (P4HB + yağ + ADSVF) $9,2 \times 6,3$ mm (Şekil 31), sağ tarafta (PCL + yağ + ADSVF) ise $15,7 \times 4,3$ mm (Şekil 32) boyutlarında yumuşak dokular izlendi. Elastografide implant, yağ grefti ve ADSVF uygulanan cepler yumuşak doku skalasında sarı-yeşil renk aralığında, yağ ve bağ dokusu ile uyumlu şekilde değerlendirildi; kaburga yapısı kırmızı, hava dokusu ise mor renkte görüntülendi. BT ve MRG görüntülerinde P4HB, PCL iskele yapısı, yağ dokusu oluşumu gözlemlendi (Şekil 33-37).



Şekil 31: Grup 3- Denek 10- Sol taraf (P4HB)- Elastografi ölçümleri ve yumuşak doku skalası



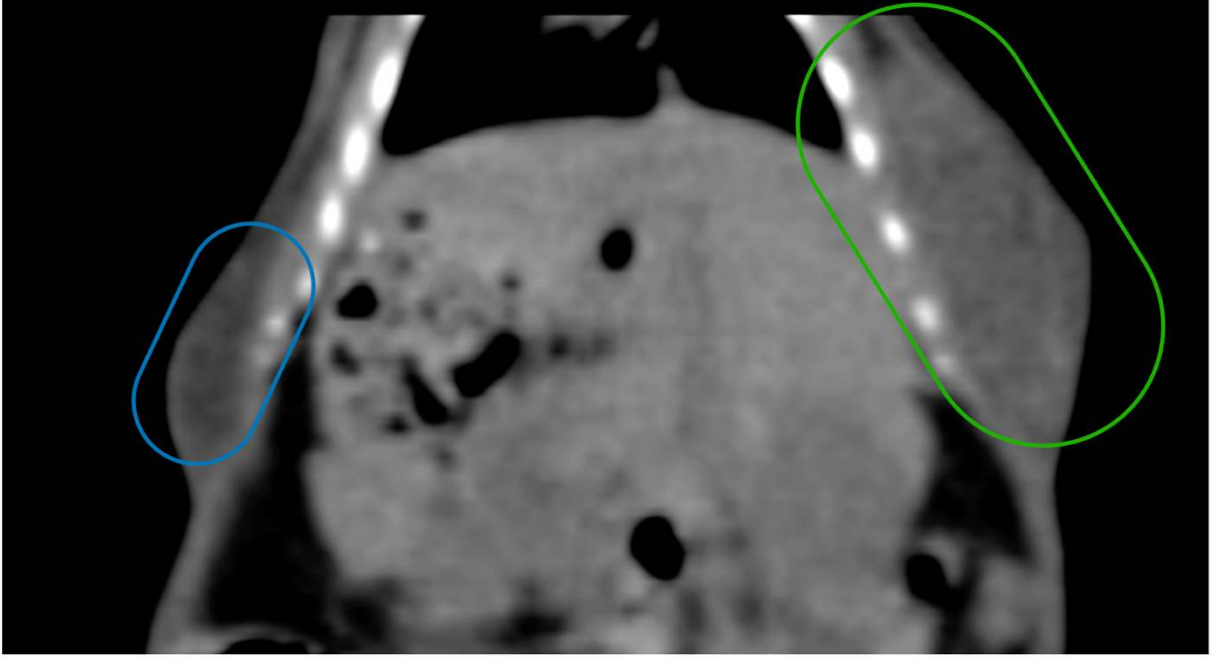
Şekil 32: Grup 3- Denek 10- Sağ taraf (PCL)- Elastografi ölçümleri ve yumuşak doku skalası



Şekil 33: BT- Transvers kesit

Mavi alan- P4HB iskele + yağ grefti + ADSVF

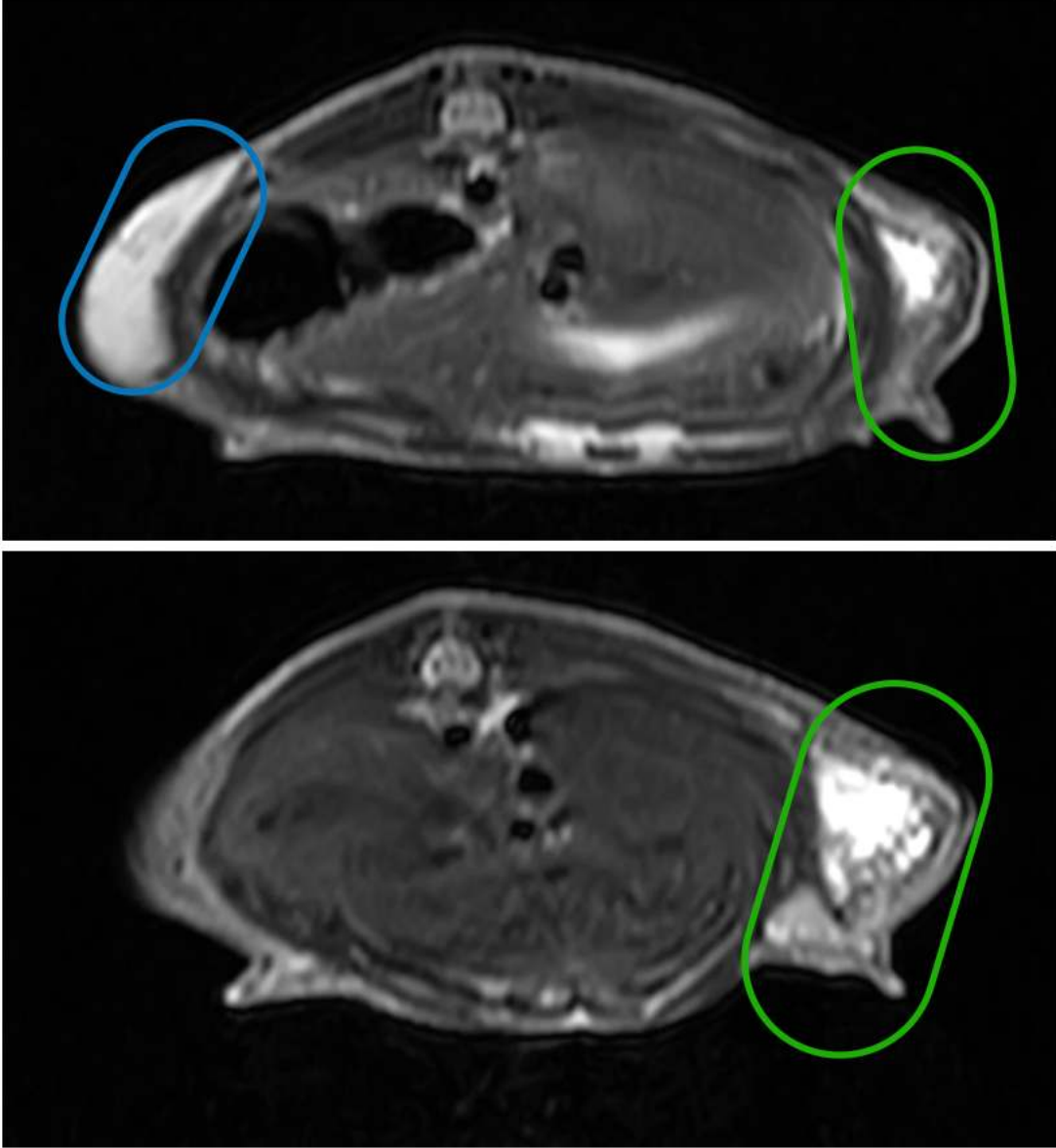
Yeşil alan- PCL iskele + yağ grefti + ADSVF



Şekil 34: BT- Dorsal kesit

Mavi alan: P4HB + Yağ grefti + ADSVF

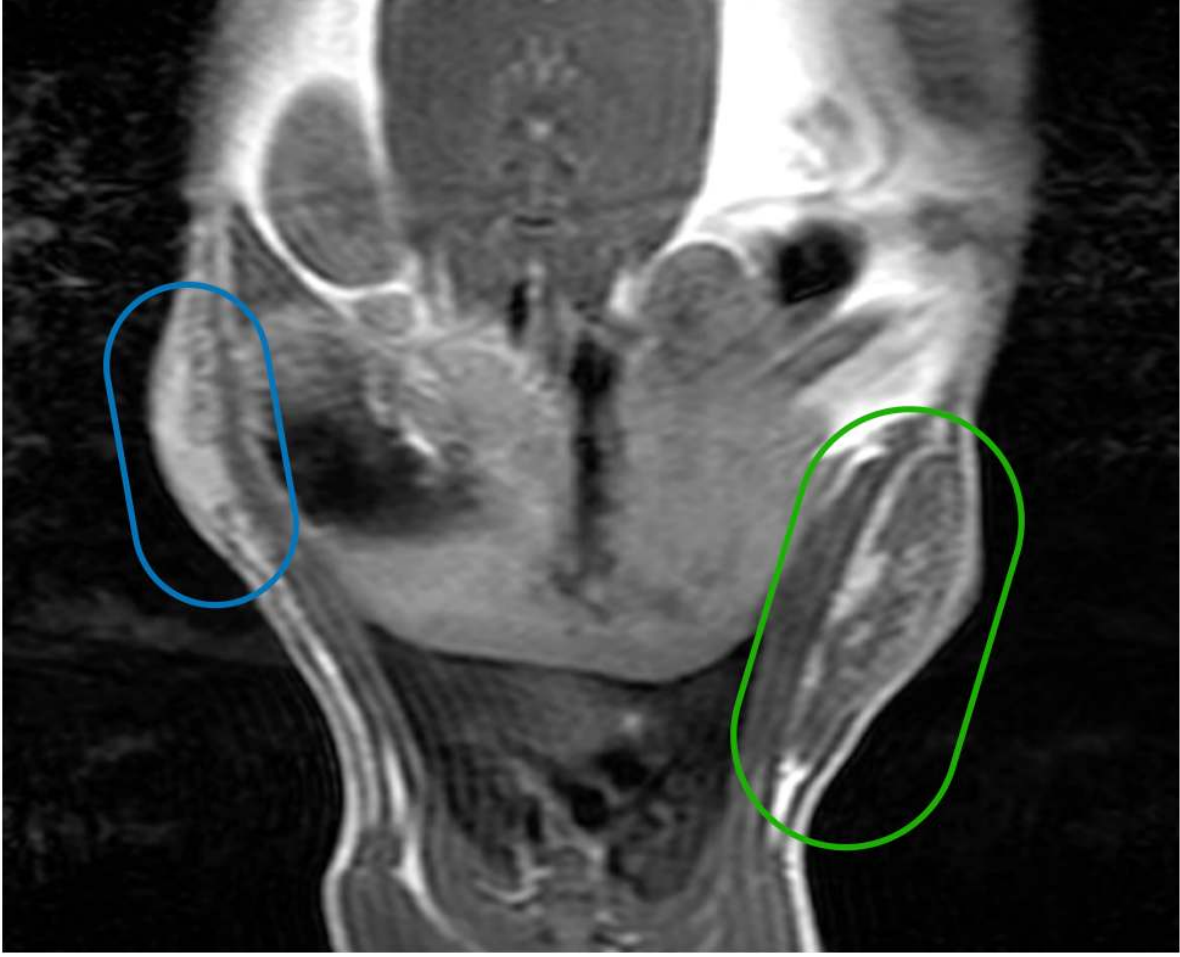
Yeşil alan: PCL + Yağ grefti + ADSVF



Şekil 35: MRG- T2 transvers sekansı

Mavi alan: P4HB + Yağ grefti + ADSVF

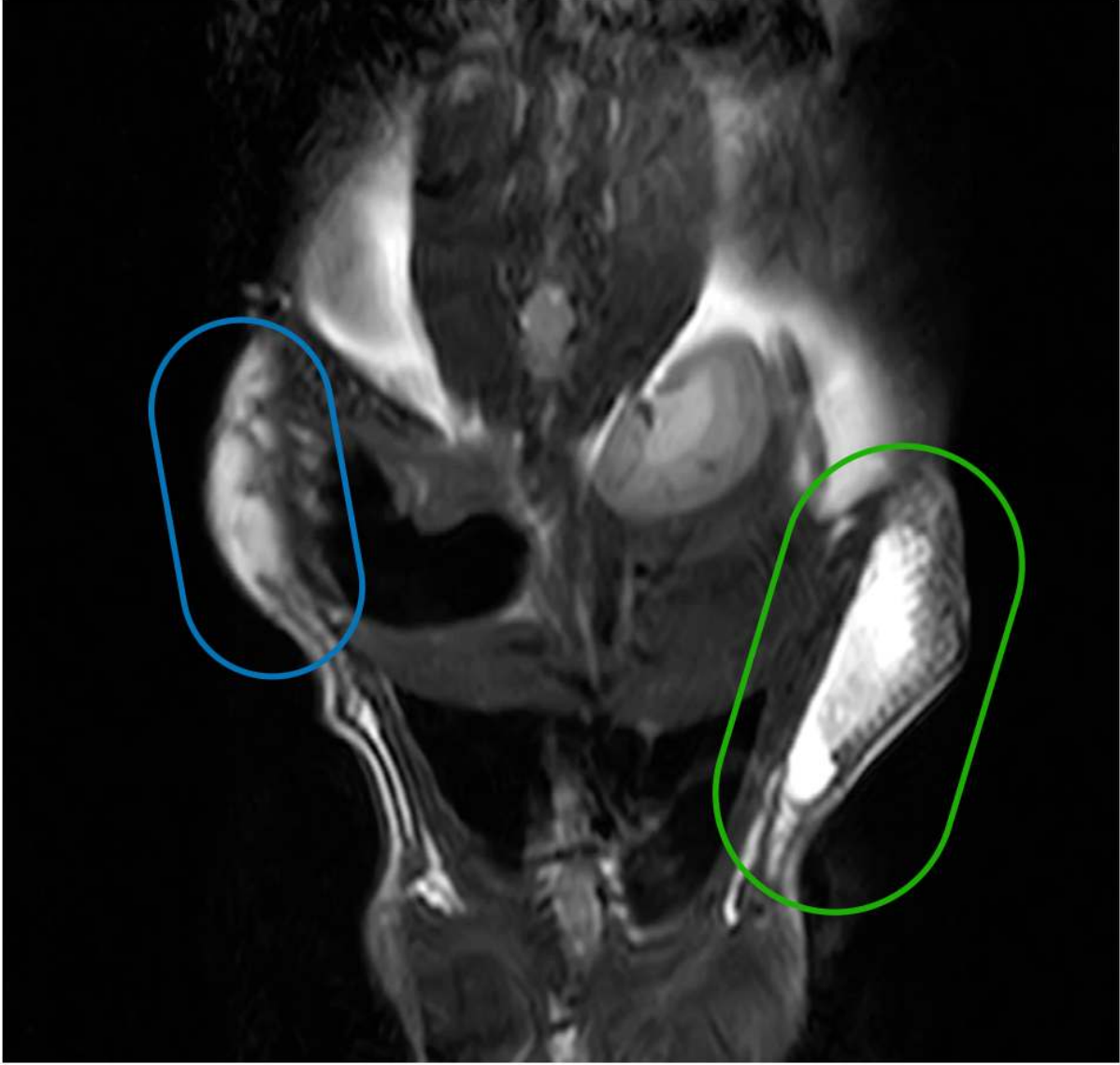
Yeşil alan: PCL + Yağ grefti + ADSVF



Şekil 36: MRG- T1 koronal sekans

Mavi alan: P4HB + Yağ grefti + ADSVF

Yeşil alan: PCL + Yağ grefti + ADSVF



Şekil 37: MRG- T2 koronal sekans

Mavi alan: P4HB + Yağ grefti + ADSVF

Yeşil alan: PCL + Yağ grefti + ADSVF

4.4 Komplikasyonlar

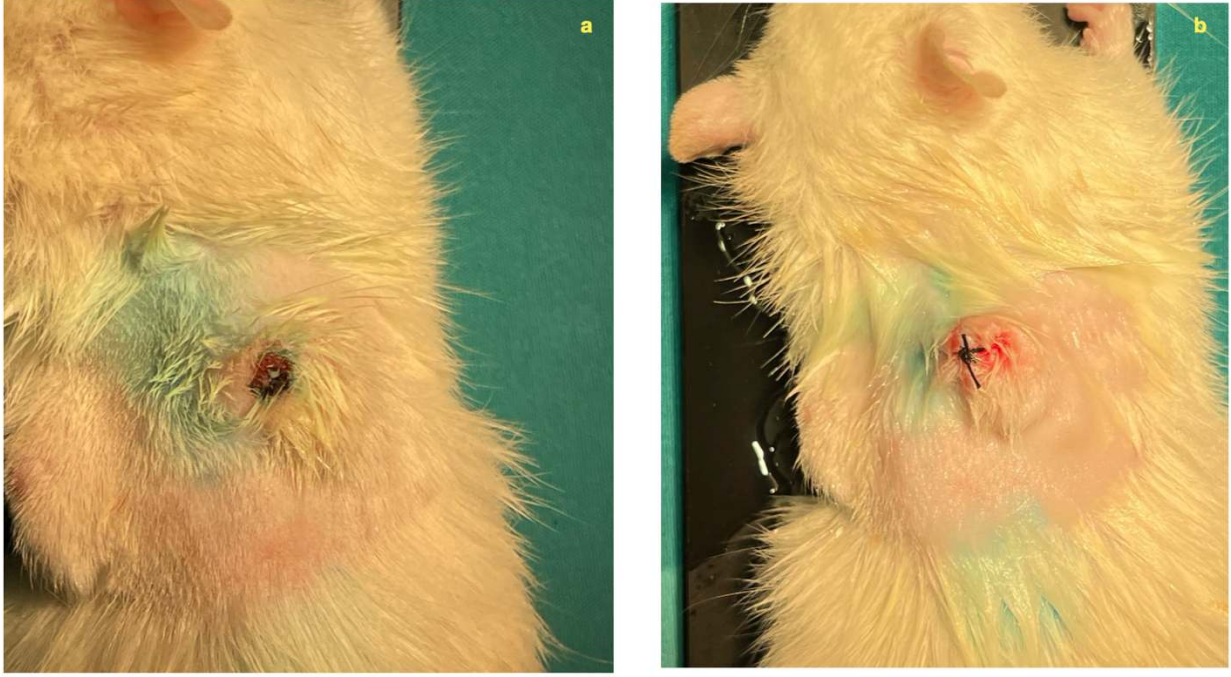
Grup 3 de bir sıçan 7. Günde sağ taraftaki cepten yara dehissansı ve yağ sızması gözlendi (Şekil 38). Günde 1 kez 0,03 ml (doz 3 mg/kg olacak şekilde) 1 hafta boyunca subkütan enrofloksasin (Baytril-K %5 50 ml) verildi. 1 hafta

boyunca topikal yara yeri antisepsisi için aerosol sprey Oksitetrasiklin hidroklorür (Neo Caf, MSD) kullanıldı. Yara yeri iyileşmesi sorunsuz bir şekilde gerçekleşti.



Şekil 38: Grup 3- Denek 3 Sol taraf (P4HB) 1 hafta yara dehishansı, yağ grefti sızıntısı

Grup 2’de 55. Günde üç sıçanda sağ ceplerdeki PCL iskeler ekspozе oldu (Şekil 40-41). Aktif klor %0,020 içerikli antiseptik solüsyonla yara yeri ve implant antisepsi sağlandıktan sonra genel anestezi altında tekrardan PCL iskeleri ceplerine yerleştirildi. Yara yerleri primer suture edildi. İşlem yapılan sıçanlara günde 1 kez 0,03 ml (doz 3 mg/kg olacak şekilde) 1 hafta boyunca subkutan enrofloksasin (Baytril-K %5 50 ml) verildi. Bir hafta boyunca topikal yara yeri antisepsisi için aerosol sprey Oksitetrasiklin hidroklorür (Neo Caf, MSD) kullanıldı. Takiplerinde başka bir problem ile karşılaşılmadı.



Şekil 39:

a: Grup 2 Denek 2 de 55. günde PCL iskele açığa çıkması

b: Primer sutureasyon ile kapatılması



Şekil 40:

a: Grup 2 Denek 8 de 55. günde PCL iskele açığa çıkması

b: Antiseptik solüsyon ile temizlenme, PCL iskeledegradasyona başlaması, PCL liflerinin uçlarının sivri görüntüsü

c: Primer sutureasyon ile kapatılması

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, biyoemilebilir P4HB ve PCL iskelelerinin yağ grefti yaşabilirliği üzerindeki etkileri, yağ grefti ve adipöz kökenli stromal vasküler fraksiyon (ADSVF) uygulamalarının katkısıyla birlikte makroskopik, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, PCL iskelelerinin P4HB'ye kıyasla daha fazla boyut- hacim kazandırdığı ve vaskülarizasyonu arttırdığını göstermiştir. Ancak yağ dokusunun büyüklüğü, inflamasyon, fibrozis ve immünohistokimyasal boyalamalarda iskeleler arasında bir fark saptanmamıştır. Yağ grefti ve ADSVF uygulamalarının genel olarak doku hacmini ve vaskülarizasyonu artırma eğiliminde olmasına istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ancak inflamasyon düzeyini de anlamlı biçimde yükselttiği gözlenmiştir.

PCL grubunda boyut, hacim ve vaskülarizasyonun P4HB grubuna kıyasla daha yüksek bulunmasının, PCL nin materyalistik özelliklerine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Literatürde yapılan çalışmalarda Liang ve ark.⁷⁷ PCL iskelesinin biyouyumluluğu, biyobozunurluğu, toksik olmaması, plastisitesi ve mekanik olarak güçlü yapıda olmasının kemik integrasyonu için fonksiyonel bir alternatif olarak göstermiştir. Shim ve ark.⁸³ tarafından yapılan PCL küre iskele modelleri mükemmel basıya karşı dayanıklılık ve şekil geri kazanım direnci sergilemiştir. Bao ve ark.⁸⁰ tarafından yapılan çalışmada PCL iskelelerin cilt gerilimine karşı mekanik destek sağlayarak interstisyel basıncı azalttığı, yağ dokusunun bu basınca bağlı başka bölgelere kaymasını engellediğini, yağ grefti içerisinde hipoksiyi azaltıp vaskülariteyi arttırdığı, dokular arasında perfüzyonun arttığı gösterilmiştir. Buna bağlı olarak metrik ve volümetrik ölçümlerde anlamlı bir artış olması görülmüştür. Vaskülarizasyonun PCL iskele olan grupta fazla olmasının bir diğer nedeni olarak “balpeteği” şeklinde porlu yapısı olmasının etkili olduğunu düşünmekteyiz. Literatürde biyoiskelelerinin gözenekliliği ve gözenek boyutunun hem in vitro hem de in vivo doku oluşumunda kritik bir rol oynadığı, 300 µm den daha büyük por yapısının damarlanmayı ve doku integrasyonun arttırıldığı gözlenmiştir⁸⁴. Oh ve ark.⁸⁵ farklı hücre tiplerinin efektif doku rejenerasyonu için iskele içinde farklı gözenek boyutu aralıklarına ihtiyaç duyduğu gözlemiştir. 380–405 µm gözenek boyutuna sahip iskele bölümü, kondrositler ve osteoblastlar için daha iyi hücre büyümesi sağlarken, 186–200 µm gözenek boyutuna sahip iskele bölümü fibroblastların

büyümesi için daha uygun bulunmuştur. Amelia Jordao ve ark.⁸⁶ tarafından yapılan çalışmadaki PCL iskelelerin, gözenekli yapının iskele içinde damar invazyonunu ortaya koymuş ve bunun, içeriye doğru büyüyen kan damarları için yönlendirici bir yapı oluşturduğunu göstermiştir. Bunun yanında PCL iskelelerin biyobozunum sonucunda oluşan ürünlerin uygun indüksiyon koşullarında preadipositlerin canlı olgun adipositlere farklılaşmasını desteklediğini göstermiştir.

Çalışmamızda kullanılan P4HB iskelelerin koni şeklindeki konfigürasyonda cilt gerilimine yeterli direnç gösterememesi, bu materyalin intrinsik mekanik karakteristikleri ile açıklanabilir. P4HB PCL ile karşılaştırıldığında oldukça kendi özgü özelliklere sahiptir. P4HB gerildiğinde, polimerin mekanik dayanımı önemli ölçüde artmaktadır ancak esnekliğini korumaktadır⁵⁸. Buna karşın, PCL gibi rijit bir iskele gerildiği zaman mekanik dayanım artsa da son derece kırılgan hale gelir. P4HB yaması bu özellikleri nedeniyle medikal olarak genel cerrahide sıklıkla herni ameliyatlarda fasya gerginliği azaltmak, plastik cerrahide meme implantlarının yer çekimine karşı yerinde kalmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır⁸⁷. Bu yönüyle P4HB iskelesi sabit hacim korumasından ziyade gerilim altında şekil uyumu ve enerji emilimi gerektiren yumuşak doku onarımlarında avantaj sağlamaktadır. Bizim çalışmamızda bulduğumuz metrik-volüm ölçümlerinde PCL ye kıyasla daha düşük elde etmemiz nedenini mekanik özelliklerinin bir sonucu olduğunu düşünmekteyiz. Fakat, bizim çalışmamızdaki koni tasarımı yerine Rehnke ve ark.¹⁰ tarafından yapılan klinik araştırmada üç boyutlu “lotus” iskele dizaynı ile meme rekonstrüksiyonu sonrası biyoemilebilir iskele ve yağ grefti ile rekonstrüksiyon uygulanmıştır. Lotus şeklinde bir yapı oluşturulmasında temel amaç meme şeklinde olması ve cildin çökmesini önleyen dayanıklı bir yapı oluşturulmasıdır. Çalışmamızda bu tür bir tasarımın tercih edilmemesinin başlıca nedenleri arasında, çalışmanın deneysel nitelikte olması, farelerin sırt bölgesinde bu tasarımı yerleştirebilecek yeterli hacimde bir alan bulunmaması, P4HB iskele kullanımının maliyeti artırması ve PCL iskelenin rijit yapısı nedeniyle lotus formunun oluşturulmasının oldukça güç olması ve iki iskelenin karşılaştırılmasında zorluklar oluşturmasıdır.

İmmünohistokimyasal analizde vaskülarizasyon CD31 boyamasıyla değerlendirilmiştir. Yağ grefti uygulanan gruplarda anlamlı biçimde yüksek bulunması, yağ greftinin doğası gereği anjiyojenik faktörler ve endotel progenitör hücreleri içermesiyle açıklanabilir. Fizyolojik mekanizma olarak yağ greftleme sonrasında makrofajlar erken dönemde doku “remodelling”ini

desteklediğini ve endotelial progenitör hücreler ve diğer kök hücreler gibi rejeneratif hücreler için bir alan oluşturduğu ve anjiogenezi arttırdığı göstermiştir⁸⁸.

Buna karşın, ADSVF (+/-) ve P4HB/PCL grupları arasında anlamlı fark saptanmamış olması, birkaç olasılıkla açıklanabilir. İlk olarak, ADSVF'li gruplarda zaten yağ grefti uygulanmış olması, yağ greftinin içerdiği endojen anjiyojenik hücreler ve faktörlerin eksojen SVF'nin etkisini maskeliyor olabileceğini düşündürmektedir. Tu J ve ark.⁸⁹ çalışmasında da SVF'nin anjiyogenez ve adipogenez üzerindeki histolojik etkilerinin erken dönemde belirgin olmadığı, ancak 8. hafta sonrasında anlamlı düzeye ulaştığı bildirilmiştir.

PCL ve P4HB iskeleleri karşılaştırıldığında, CD31 ekspresyonu üzerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. CD31, endotel hücrelerini ve endotel benzeri yapıları tanımlamak amacıyla kullanılan bir anjiyogenik belirteç olup, damarların olgunluk veya perfüzyon durumunu yansıtmamaktadır. Reid ve ark.⁹⁰ PCL iskelelerinde lif yoğunluğu arttıkça endotel hücre infiltrasyonunun derinleştiğini ve CD31 pozitifliğinin belirgin şekilde arttığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Williams ve ark.⁵⁸ P4HB iskelelerinin çevresinde CD31 ile gösterilen yeni damar oluşumlarını tanımlamışlardır. Bu bulgular, her iki materyalin de neovaskülarizasyonu destekleyici bir mikroçevre sunduğunu göstermektedir. Ancak damar olgunlaşması veya stabilizasyonunun değerlendirilmesi için yalnızca CD31 boyaması yeterli değildir; bu süreçlerin aydınlatılabilmesi için α -SMA (smooth muscle actin), desmin ve ve-cadherin gibi ek belirteçlerin de incelenmesi gerekmektedir. Çalışmamızda, PCL grubunda damarların ortalama çaplarının daha büyük olduğu gözlenmiştir. CD31 ekspresyonu açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamakla birlikte, PCL grubundaki damarların daha geniş çaplı olması, bu materyalin daha rijit ve poröz yapısının damar olgunlaşma hızını artırmış olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda α -SMA veya desmin gibi olgun damar belirteçleri değerlendirilmediğinden, bu gözlemi histopatolojik düzeyde destekleyecek ek kanıtlar sunulamamıştır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, bu belirteçlerin de dahil edilmesi, neovaskülarizasyonun kalitatif ve kantitatif analizinin daha güçlü biçimde yapılmasına olanak sağlayacaktır.

Histopatolojik incelemelerde, genel karşılaştırmalarda iskele tipi, yağ grefti ve ADSVF uygulamalarının yeni oluşan yağ dokusu miktarı üzerinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak

alt grup analizlerinde, PCL + yağ grefti + ADSVF grubunda gözlenen anlamlı hacim artışı, PCL'nin mekanik stabilitesi sayesinde hücre proliferasyonu ve adipogenez için daha uygun bir mikroortam oluşturduğunu göstermektedir. Young ve ark.⁹¹ tarafından yapılan bir araştırmada adipöz dokunun doğal sertliğini (yaklaşık 2 kPa) taklit eden jeller üzerinde adipöz kökenli kök hücrelerin kültüre edilmesi, dışarıdan eklenen adipogenez büyüme faktörleri veya küçük moleküller olmaksızın, adipogenez ile ilişkili belirteçlerin anlamlı biçimde artmasına yol açmıştır. Kök hücrelerin üzerindeki sertlik arttıkça hücreler küresel morfolojilerini kaybetmiş ve adipogenez belirteçlerini artırmada başarısız olmuştur. Yuan ve ark.⁹² yağ dokunun çevre dokudan ayrılarak bir boşluk içine yerleştirilmesinin, çevre dokudan kaynaklanan mekanik kuvvetleri azalttığı, buna bağlı olarak hücre iskeletindeki gerilimi düşürdüğü ve bu süreçle birlikte kök hücrelerin adipogenezini ve adipöz doku rejenerasyonunu tetiklediği önermiştir. Bu veriler göz önüne alındığında PCL iskelesinin sağladığı mekanik destek kök hücrelerin adipogenezini desteklemesinde yardımcı olduğunu göstermektedir.

İmmünohistokimyasal incelemelerde perilipin boyamasının gruplar arasında anlamlı fark göstermemesi, her iki iskele materyalinin de adipojenik hücrelerin membran bütünlüğü ve canlılığı üzerinde olumsuz bir etki oluşturmadığını ortaya koymaktadır. Perilipin, adipositlerin lipid damlacıklarını çevreleyen membran proteini olup, fizyolojik lipazlara karşı koruyucu rolü sayesinde adipöz hücre bütünlüğü ve metabolik aktivitenin güvenilir bir göstergesi olarak kabul edilmektedir⁹³. Bu bulgular hem P4HB hem de PCL iskelelerinin biyouyumlu olduğunu ve hücrel canlılığı koruyarak adipojenik farklılaşmaya izin verdiğini desteklemektedir. Öte yandan, ADSVF uygulamasının perilipin ekspresyonunu artırmaması, muhtemelen bu çalışmada değerlendirilen erken dönem içinde, hücrel canlılık üzerinde anlamlı bir fark oluşturacak düzeyde etkili olmadığını düşündürmektedir. Tu ve ark.⁸⁹ tarafından yapılan çalışmada da benzer biçimde, SVF'nin ilk 4 haftada anjiyogenez ve adipogenez üzerindeki histolojik etkisinin sınırlı, ancak 8 hafta sonrasında belirgin hale geldiği rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda ADSVF kullanımının erken dönemde belirgin fark yaratmamasının, biyobozunur iskelelerin yağ grefti sağkalımını artırması ve yağ greftlerinin zaten içerdiği endojen anjiyojenik ve adipojenik faktörlerin, SVF'nin ek etkilerini istatistiksel olarak maskeliyor olabileceği düşünülmektedir.

İnflamasyon düzeylerine ilişkin bulgular, özellikle yağ grefti ve ADSVF uygulanan gruplarda anlamlı biçimde daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu durum, ADSVF, immün

düzenleyici ve vasküler yeniden yapılanma işlevlerinde rol alan hücrelerin önemli bir kısmını içermesinden kaynaklanabilmektedir⁹⁴. Makrofajlar, ADSVF içinde en kapsamlı şekilde karakterize edilen hücrelerdir. Bu hücrelerin yaklaşık %70'i ise CD301 pozitif, M2 fenotipindeki anti-inflamatuvar ve proanjiyojenik makrofajlar olarak bulunmuştur⁹⁵. Dong ve ark⁹. gerçekleştirdiği yağ grefti uygulamalarında, greftlere SVF eklenmesi CD206 ekspresyonunda (bir diğer M2 makrofaj fenotip belirteci) artışına yol açmıştır.

İskelelerin inflamasyonda etkisinin görülmemesi P4HB ve PCL materyallerinin her ikisi de biyoyumlu olup, yalnızca düşük dereceli yabancı cisim reaksiyonu oluşturduğunu göstermektedir. P4HB iskelenin koyun modelinde biyomalzemelere karşı konak yanıtının düşük olması, M2 makrofajların daha fazla görülmesi raporlanmıştır⁹⁶. Biyoyumlu PCL iskelenin de lokal olarak yabancı cisim reaksiyonlarını azalttığı literatürde gösterilmiştir⁹⁷. Dolayısıyla, gözlenen inflamatuvar yanıtın materyal kaynaklı bir immün aktivasyondan ziyade, rejeneratif sürecin fizyolojik bir parçası olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada fibrozis açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamış olması, her iki iskele materyalinin de biyoyumlu ve kontrollü degradasyon özelliklerine sahip olmasının bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Luo ve ark.⁹⁷. tarafından yapılan çalışmadan PCL iskelesinin yabancı cisim reaksiyonu azalttığı, daha büyük hacimli, olgun, damarlanmış ve stabil yağ dokusu oluşturduğu gözlenmiştir. Van Natta ve ark.⁹⁸ tarafından yapılan çalışmada P4HB iskelenin meme cerrahisinde kullanıldığında kronik inflamasyon veya yabancı cisim reaksiyonuna dair bir bulgu göstermediği ve iskelenin çevresinde ve içinde gözlenen doku yeniden yapılanma modeli, kontraksiyonla birlikte yoğun kapsüller doku oluşumundan ziyade yapıcı bir doku yeniden şekillenme sürecini düşündürdüğü bildirilmiştir. Diedrich ve ark.⁹⁶ tarafından yapılan bir çalışmada P4HB iskelesi kapsülleşme veya açığa çıkma yaşanmadan dokuya iyi bir şekilde entegre olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak minimal yabancı cisim reaksiyonu gözlenmiş ve kapsül kontraktür oluşumuna rastlanmamıştır.

Bu çalışmadan Grup 3'te bir sıçanda erken dönemde yara dehissansı ve yağ sızıntısı, Grup 2'de ise 55. günde üç sıçanda PCL iskelelerinin ekspozisyonu gözlenmiştir. Bu komplikasyonların, kullanılan iskelelerin mekanik sertliği ve geometrik tasarımıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

PCL'nin daha rijit bir materyal olması ve tasarım olarak koni şeklinde bir tasarım seçildiği için ince deri altı tabakasına sahip deney hayvanlarında, lokal bası noktaları oluşturarak cilt bütünlüğünün bozulmasına neden olabildiği gözlenmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda küre, silindir, üç boyutlu tasarım formunda böyle bir problem yaşanmamış olması bu durumun daha çok geometrik tasarımla ilgili olduğunu destekler niteliktedir^{80,83,85,97}. Gelişen komplikasyonların ardından uygulanan antiseptik irrigasyon, sistemik antibiyotik tedavisi ve yeniden implantasyon protokolü sonrasında sorunsuz yara iyileşmesi sağlanmıştır. Bu gözlem, PCL'nin yüksek biyouyumluluğa sahip olduğunu ve enfeksiyon veya yabancı cisim reaksiyonu gibi sekonder komplikasyonlara yol açmadığını göstermektedir.

Çalışmanın bazı metodolojik ve teknik sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle, ultrasonografi, BT ve MR gibi görüntüleme yöntemleri yalnızca tek bir denek üzerinde uygulanabildiğinden, radyolojik verilerin genellenebilirliği ve istatistiksel analizi kısıtlı kalmıştır. Anesteziye bağlı kayıplar nedeniyle örneklem sayısında azalma yaşanmış ve bu durum alt grup analizlerinde istatistiksel gücü sınırlamıştır. Kullanılan sıçan modeli, insan dokusuna göre daha ince bir deri ve subkütan yapıya sahip olduğundan, özellikle rijit PCL iskelelerin konik formda yerleştirilmesi bazı olgularda bası nekrozu ve iskelenin ekspozisyonuna yol açmıştır. On iki haftalık takip süresi erken dönem doku yanıtlarını değerlendirmek için yeterli olsa da P4HB ve PCL gibi yavaş degradasyona uğrayan materyallerin uzun dönem biyolojik davranışlarını tam olarak yansıtmamaktadır. Histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmelerin yalnızca 12. haftada yapılması, doku rejenerasyon sürecinin zamanla değişen dinamiklerini ortaya koyma açısından sınırlayıcı olmuştur. Son olarak, immünohistokimyasal analizlerin perilipin ve CD31 ile sınırlı kalması; fibroblast aktivasyonu, makrofaj polarizasyonu (M1/M2) veya VEGF ve α -SMA gibi anjiyogenik belirteçlerin incelenmemesi, rejeneratif sürecin moleküler düzeyde kapsamlı biçimde değerlendirilmesini engellemiştir.

6. SONUÇ

Bu deneysel çalışmada, biyoemilebilir P4HB ve PCL iskelelerinin yağ grefti yaşabilirliği ve doku rejenerasyonu üzerindeki etkileri, ADSVF uygulamasıyla birlikte kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir. Bulgular, PCL iskelelerinin P4HB'ye kıyasla daha yüksek hacim ve

vaskülarizasyon sağladığını göstermiştir. Bu farkın, PCL'nin mekanik olarak daha rijit ve poröz yapısının hücresel proliferasyon ve damar oluşumu için daha uygun bir mikroçevre sağlamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Buna karşın, her iki materyal de hücresel canlılık, perilipin ekspresyonu ve fibrozis açısından benzer düzeyde biyouyumlu davranış sergilemiştir.

Sonuç olarak, PCL iskeleleri mekanik stabilite ve hacimsel koruma, P4HB iskeleleri ise esneklik açısından avantaj sağlamaktadır. Elde edilen veriler, bu iki biyoemilebilir materyalin yağ grefti ile kombinasyonlarının meme cerrahisi ve yumuşak doku rekonstrüksiyonu uygulamalarında klinik olarak daha sık kullanılabileceğini desteklemektedir. Gelecekte yapılacak daha uzun süreli ve farklı geometrik konfigürasyonlara sahip tasarımların değerlendirildiği çalışmalar, bu materyallerin klinik translasyon potansiyelini güçlendirecektir. Ayrıca, α -SMA ve makrofaj polarizasyonu gibi moleküler belirteçlerin analiz edilmesi, bu rejeneratif sürecin biyolojik mekanizmalarının daha kapsamlı biçimde anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

7. REFERANSLAR

1. Patel BC, Wong CS, Wright T, Schaffner AD. Breast Implants. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2025. Accessed August 18, 2025. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441998/>
2. Coleman SR, Saboeiro AP. Primary Breast Augmentation with Fat Grafting. *Clin Plast Surg*. 2015;42(3):301-306. doi:10.1016/j.cps.2015.03.010
3. Coleman SR. Structural Fat Grafting: More Than a Permanent Filler: *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(Suppl):108S-120S. doi:10.1097/01.prs.0000234610.81672.e7
4. Shauly O, Gould DJ, Ghavami A. Fat Grafting: Basic Science, Techniques, and Patient Management. *Plast Reconstr Surg - Glob Open*. 2022;10(3):e3987. doi:10.1097/GOX.0000000000003987
5. Rigotti G, Marchi A, Gali?? M, et al. Clinical Treatment of Radiotherapy Tissue Damage by Lipoaspirate Transplant: A Healing Process Mediated by Adipose-Derived Adult Stem Cells: *Plast Reconstr Surg*. 2007;119(5):1409-1422. doi:10.1097/01.prs.0000256047.47909.71
6. Shim YH, Zhang RH. Literature Review to Optimize the Autologous Fat Transplantation Procedure and Recent Technologies to Improve Graft Viability and Overall Outcome: A Systematic and Retrospective Analytic Approach. *Aesthetic Plast Surg*. 2017;41(4):815-831. doi:10.1007/s00266-017-0793-3
7. Cai W, Yu L dong, Tang X, Shen G. The Stromal Vascular Fraction Improves Maintenance of the Fat Graft Volume: A Systematic Review. *Ann Plast Surg*. 2018;81(3):367-371. doi:10.1097/SAP.0000000000001589
8. Fu S, Luan J, Xin M, Wang Q, Xiao R, Gao Y. Fate of Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells after Co-implantation with Fat Grafts: Evidence of Cell Survival and Differentiation in Ischemic Adipose Tissue. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132(2):363-373. doi:10.1097/PRS.0b013e31829588b3
9. Dong Z, Peng Z, Chang Q, Lu F. The Survival Condition and Immunoregulatory Function of Adipose Stromal Vascular Fraction (SVF) in the Early Stage of Nonvascularized Adipose Transplantation. Rameshwar P, ed. *PLoS ONE*. 2013;8(11):e80364. doi:10.1371/journal.pone.0080364
10. Rehnke RD, Schusterman MA, Clarke JM, et al. Breast Reconstruction Using a Three-Dimensional Absorbable Mesh Scaffold and Autologous Fat Grafting: A Composite Strategy Based on Tissue-Engineering Principles. *Plast Reconstr Surg*. 2020;146(4):409e-413e. doi:10.1097/PRS.0000000000007172

11. Santanelli Di Pompeo F, Paolini G, Firmani G, Sorotos M. History of breast implants: Back to the future. *JPRAS Open*. 2022;32:166-177. doi:10.1016/j.jpra.2022.02.004
12. Frey JD, Salibian AA, Karp NS, Choi M. Implant-Based Breast Reconstruction: Hot Topics, Controversies, and New Directions. *Plast Reconstr Surg*. 2019;143(2):404e-416e. doi:10.1097/PRS.0000000000005290
13. Silva J, Carvalho F, Marques M. Direct-to-Implant Subcutaneous Breast Reconstruction: A Systematic Review of Complications and Patient's Quality of Life. *Aesthetic Plast Surg*. 2023;47(1):92-105. doi:10.1007/s00266-022-03068-2
14. Fardo D, Sequeira Campos MB, Pensler JM. Breast Augmentation. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2025. Accessed October 24, 2025. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482206/>
15. Hoppela E, Grönroos TJ, Saarikko AM, et al. Fat Grafting Can Induce Browning of White Adipose Tissue. *Plast Reconstr Surg - Glob Open*. 2018;6(6):e1804. doi:10.1097/GOX.0000000000001804
16. Saely CH, Geiger K, Drexel H. Brown versus White Adipose Tissue: A Mini-Review. *Gerontology*. 2012;58(1):15-23. doi:10.1159/000321319
17. Doornaert M, Colle J, De Maere E, Declercq H, Blondeel P. Autologous fat grafting: Latest insights. *Ann Med Surg*. 2019;37:47-53. doi:10.1016/j.amsu.2018.10.016
18. Khouri RK, Khouri RK. Current Clinical Applications of Fat Grafting. *Plast Reconstr Surg*. 2017;140(3):466e-486e. doi:10.1097/PRS.0000000000003648
19. Bucky L, Percec I. The Science of Autologous Fat Grafting: Views on Current and Future Approaches to Neoadipogenesis. *Aesthet Surg J*. 2008;28(3):313-321. doi:10.1016/j.asj.2008.02.004
20. Mashiko T, Yoshimura K. How Does Fat Survive and Remodel After Grafting? *Clin Plast Surg*. 2015;42(2):181-190. doi:10.1016/j.cps.2014.12.008
21. Abu-Ghname A, Perdanasari AT, Reece EM. Principles and Applications of Fat Grafting in Plastic Surgery. *Semin Plast Surg*. 2019;33(03):147-154. doi:10.1055/s-0039-1693438
22. Bellini E, Grieco MP, Raposio E. The science behind autologous fat grafting. *Ann Med Surg*. 2017;24:65-73. doi:10.1016/j.amsu.2017.11.001
23. Liao HT, Marra KG, Rubin JP. Application of Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin in Fat Grafting: Basic Science and Literature Review. *Tissue Eng Part B Rev*. 2014;20(4):267-276. doi:10.1089/ten.teb.2013.0317
24. Suga H, Eto H, Aoi N, et al. Adipose Tissue Remodeling under Ischemia: Death of Adipocytes and Activation of Stem/Progenitor Cells. *Plast Reconstr Surg*. 2010;126(6):1911-1923. doi:10.1097/PRS.0b013e3181f4468b

25. Kato H, Suga H, Eto H, et al. Reversible Adipose Tissue Enlargement Induced by External Tissue Suspension: Possible Contribution of Basic Fibroblast Growth Factor in the Preservation of Enlarged Tissue. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(6):2029-2040. doi:10.1089/ten.tea.2009.0551
26. Zielins ER, Brett EA, Longaker MT, Wan DC. Autologous Fat Grafting: The Science Behind the Surgery. *Aesthet Surg J*. 2016;36(4):488-496. doi:10.1093/asj/sjw004
27. Eto H, Kato H, Suga H, et al. The Fate of Adipocytes after Nonvascularized Fat Grafting: Evidence of Early Death and Replacement of Adipocytes. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129(5):1081-1092. doi:10.1097/PRS.0b013e31824a2b19
28. 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*. 2015;136(4):897-912. doi:10.1097/PRS.0000000000001590
29. Khouri RK, Schlenz I, Murphy BJ, Baker TJ. Nonsurgical Breast Enlargement Using an External Soft-Tissue Expansion System: *Plast Reconstr Surg*. 2000;105(7):2500-2512. doi:10.1097/00006534-200006000-00032
30. Peer, Lyndon A. M.D.. LOSS OF WEIGHT AND VOLUME IN HUMAN FAT GRAFTS: WITH POSTULATION OF A "CELL SURVIVAL THEORY". *Plast Reconstr Surg*. 1950;5(3):217-230.
31. Pu LLQ. Mechanisms of Fat Graft Survival. *Ann Plast Surg*. 2016;77(Supplement 1):S84-S86. doi:10.1097/SAP.0000000000000730
32. Rasmussen BS, Lykke Sørensen C, Vester-Glowinski PV, et al. Effect, Feasibility, and Clinical Relevance of Cell Enrichment in Large Volume Fat Grafting: A Systematic Review. *Aesthet Surg J*. 2017;37(suppl_3):S46-S58. doi:10.1093/asj/sjx008
33. Allen RJ, Canizares O, Scharf C, et al. Grading Lipoaspirate: Is There an Optimal Density for Fat Grafting? *Plast Reconstr Surg*. 2013;131(1):38-45. doi:10.1097/PRS.0b013e3182729cc6
34. Oranges CM, Striebel J, Tremp M, et al. The Preparation of the Recipient Site in Fat Grafting: A Comprehensive Review of the Preclinical Evidence. *Plast Reconstr Surg*. 2019;143(4):1099-1107. doi:10.1097/PRS.0000000000005403
35. Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Aoi N. *In vivo* Manipulation of Stem Cells for Adipose Tissue Repair/Reconstruction. *Regen Med*. 2011;6(sup6):33-41. doi:10.2217/rme.11.62
36. Mineda K, Kuno S, Kato H, et al. Chronic Inflammation and Progressive Calcification as a Result of Fat Necrosis: The Worst Outcome in Fat Grafting. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133(5):1064-1072. doi:10.1097/PRS.0000000000000097
37. Li K, Gao J, Zhang Z, et al. Selection of Donor Site for Fat Grafting and Cell Isolation. *Aesthetic Plast Surg*. 2013;37(1):153-158. doi:10.1007/s00266-012-9991-1

38. Di Taranto G, Cicione C, Visconti G, et al. Qualitative and quantitative differences of adipose-derived stromal cells from superficial and deep subcutaneous lipoaspirates: a matter of fat. *Cytotherapy*. 2015;17(8):1076-1089. doi:10.1016/j.jcyt.2015.04.004
39. Smith P, Adams WP, Lipschitz AH, et al. Autologous Human Fat Grafting: Effect of Harvesting and Preparation Techniques on Adipocyte Graft Survival: *Plast Reconstr Surg*. 2006;117(6):1836-1844. doi:10.1097/01.prs.0000218825.77014.78
40. Barzelay A, Levy R, Kohn E, et al. Power-Assisted Liposuction Versus Tissue Resection for the Isolation of Adipose Tissue–Derived Mesenchymal Stem Cells: Phenotype, Senescence, and Multipotency at Advanced Passages. *Aesthet Surg J*. 2015;35(7):NP230-NP240. doi:10.1093/asj/sjv055
41. Keck M, Kober J, Riedl O, et al. Power assisted liposuction to obtain adipose-derived stem cells: Impact on viability and differentiation to adipocytes in comparison to manual aspiration. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2014;67(1):e1-e8. doi:10.1016/j.bjps.2013.08.019
42. Shridharani S, Broyles J, Matarasso A. Liposuction devices: technology update. *Med Devices Evid Res*. Published online July 2014:241. doi:10.2147/MDER.S47322
43. Chung MT, Zimmermann AS, Paik KJ, et al. Isolation of Human Adipose-Derived Stromal Cells Using Laser-Assisted Liposuction and Their Therapeutic Potential in Regenerative Medicine. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(10):808-817. doi:10.5966/sctm.2012-0183
44. Yin S, Luan J, Fu S, Wang Q, Zhuang Q. Does Water-Jet Force Make a Difference in Fat Grafting? In Vitro and In Vivo Evidence of Improved Lipoaspirate Viability and Fat Graft Survival: *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(1):127-138. doi:10.1097/PRS.0000000000000780
45. Pu LLQ, Coleman SR, Cui X, Ferguson REH, Vasconez HC. Autologous Fat Grafts Harvested and Refined by the Coleman Technique: A Comparative Study: *Plast Reconstr Surg*. 2008;122(3):932-937. doi:10.1097/PRS.0b013e3181811ff0
46. Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A. The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: A quantitative analysis. *Aesthet Surg J*. 2006;26(3):287-289. doi:10.1016/j.asj.2006.04.003
47. Gause TM, Kling RE, Sivak WN, Marra KG, Rubin JP, Kokai LE. Particle size in fat graft retention: A review on the impact of harvesting technique in lipofilling surgical outcomes. *Adipocyte*. 2014;3(4):273-279. doi:10.4161/21623945.2014.957987
48. Kirkham JC, Lee JH, Medina MA, McCormack MC, Randolph MA, Austen WG. The Impact of Liposuction Cannula Size on Adipocyte Viability. *Ann Plast Surg*. 2012;69(4):479-481. doi:10.1097/SAP.0b013e31824a459f
49. Agostini T, Lazzeri D, Pini A, et al. Wet and Dry Techniques for Structural Fat Graft Harvesting: Histomorphometric and Cell Viability Assessments of Lipoaspirated Samples. *Plast Reconstr Surg*. 2012;130(2):331e-339e. doi:10.1097/PRS.0b013e3182589f76

50. Rusciani Scorza A, Rusciani Scorza L, Troccola A, Micci DM, Rauso R, Curinga G. Autologous Fat Transfer for Face Rejuvenation with Tumescence Technique Fat Harvesting and Saline Washing: A Report of 215 Cases. *Dermatology*. 2012;224(3):244-250. doi:10.1159/000338574
51. S.A. Trott, S.J. Beran, R.J. Rohrich. Safety considerations and fluid resuscitation in liposuction: an analysis of 53 consecutive patients. *Plast Reconstr Surg*. 1998;102(6):2220-2229.
52. R.J. Rohrich, S.J. Beran, P.B. Fodor. The role of subcutaneous infiltration in suction-assisted lipoplasty: a review. *Plast Reconstr Surg*. 1997;99(2):514-519.
53. D.N. Clayton, J.N. Clayton, T.S. Lindley, J.L. Clayton. Large volume lipoplasty. *Clin Plast Surg*. 1989;16(2):305-312.
54. Ullmann Y, Shoshani O, Fodor A, et al. Searching for the Favorable Donor Site for Fat Injection: In Vivo Study Using the Nude Mice Model. *Dermatol Surg*. 2006;31(10):1304-1307. doi:10.1111/j.1524-4725.2005.31207
55. Klein JA. Anesthesia for Liposuction in Dermatologic Surgery. *J Dermatol Surg Oncol*. 1988;14(10):1124-1132. doi:10.1111/j.1524-4725.1988.tb03469.x
56. Kurita M, Matsumoto D, Shigeura T, et al. Influences of Centrifugation on Cells and Tissues in Liposuction Aspirates: Optimized Centrifugation for Lipotransfer and Cell Isolation: *Plast Reconstr Surg*. 2008;121(3):1033-1041. doi:10.1097/01.prs.0000299384.53131.87
57. Martin DP, Williams SF. Medical applications of poly-4-hydroxybutyrate: a strong flexible absorbable biomaterial. *Biochem Eng J*. 2003;16(2):97-105. doi:10.1016/S1369-703X(03)00040-8
58. Williams SF, Martin DP, Moses AC. The History of GalaFLEX P4HB Scaffold. *Aesthet Surg J*. 2016;36(suppl 2):S33-S42. doi:10.1093/asj/sjw141
59. Nelson T, Kaufman E, Kline J, Sokoloff L. The Extraneural Distribution of γ -Hydroxybutyrate. *J Neurochem*. 1981;37(5):1345-1348. doi:10.1111/j.1471-4159.1981.tb04689.x
60. Sendelbeck SL, Girdis CL. Disposition of a ^{14}C -labeled bioerodible polyorthoester and its hydrolysis products, 4-hydroxybutyrate and cis,trans-1,4-bis(hydroxymethyl)cyclohexane, in rats. *Drug Metab Dispos*. 1985;13(3):291-295.
61. Carter LP, Pardi D, Gorsline J, Griffiths RR. Illicit gamma-hydroxybutyrate (GHB) and pharmaceutical sodium oxybate (Xyrem®): Differences in characteristics and misuse. *Drug Alcohol Depend*. 2009;104(1-2):1-10. doi:10.1016/j.drugalcdep.2009.04.012
62. Drasbek KR, Christensen J, Jensen K. Gamma-hydroxybutyrate – a drug of abuse. *Acta Neurol Scand*. 2006;114(3):145-156. doi:10.1111/j.1600-0404.2006.00712.x

63. Brigham CJ, Sinskey AJ. Applications of Polyhydroxyalkanoates in the Medical Industry.
64. Deeken CR, Matthews BD. Characterization of the Mechanical Strength, Resorption Properties, and Histologic Characteristics of a Fully Absorbable Material (Poly-4-hydroxybutyrate—PHASIX Mesh) in a Porcine Model of Hernia Repair. *ISRN Surg.* 2013;2013:1-12. doi:10.1155/2013/238067
65. Böstman OM. Absorbable implants for the fixation of fractures.: *J Bone Jt Surg.* 1991;73(1):148-153. doi:10.2106/00004623-199173010-00022
66. Sodian R, Sperling JS, Martin DP, et al. Technical Report: Fabrication of a Trileaflet Heart Valve Scaffold from a Polyhydroxyalkanoate Biopolyester for Use in Tissue Engineering. *Tissue Eng.* 2000;6(2):183-188. doi:10.1089/107632700320793
67. Odermatt EK, Funk L, Bargon R, Martin DP, Rizk S, Williams SF. MonoMax Suture: A New Long-Term Absorbable Monofilament Suture Made from Poly-4-Hydroxybutyrate. *Int J Polym Sci.* 2012;2012:1-12. doi:10.1155/2012/216137
68. Martin DP, Badhwar A, Shah DV, et al. Characterization of poly-4-hydroxybutyrate mesh for hernia repair applications. *J Surg Res.* 2013;184(2):766-773. doi:10.1016/j.jss.2013.03.044
69. Adams WP, Moses AC. Use of Poly-4-Hydroxybutyrate Mesh to Optimize Soft-Tissue Support in Mastopexy: A Single-Site Study. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139(1):67-75. doi:10.1097/PRS.0000000000002922
70. Bezwada RS, Jamiolkowski DD, Lee IY, et al. Monocryl® suture, a new ultra-pliable absorbable monofilament suture. *Biomaterials.* 1995;16(15):1141-1148. doi:10.1016/0142-9612(95)93577-Z
71. Anderson JM, Shive MS. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Adv Drug Deliv Rev.* Published online 1997.
72. Yang Y, Wu H, Fu Q, et al. 3D-printed polycaprolactone-chitosan based drug delivery implants for personalized administration. *Mater Des.* 2022;214:110394. doi:10.1016/j.matdes.2022.110394
73. You Y, Min B, Lee SJ, Lee TS, Park WH. *In vitro* degradation behavior of electrospun polyglycolide, polylactide, and poly(lactide-co-glycolide). *J Appl Polym Sci.* 2005;95(2):193-200. doi:10.1002/app.21116
74. Chen G, Ushida T, Tateishi T. A biodegradable hybrid sponge nested with collagen microsponges. *J Biomed Mater Res.* 2000;51(2):273-279. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(200008)51:2<273::AID-JBM16>3.0.CO;2-O
75. Chen G, Ushida T, Tateishi T. Preparation of poly(l-lactic acid) and poly(dl-lactic-co-glycolic acid) foams by use of ice microparticulates. *Biomaterials.* 2001;22(18):2563-2567. doi:10.1016/S0142-9612(00)00447-6

76. Ma J, Wang H, He B, Chen J. A preliminary in vitro study on the fabrication and tissue engineering applications of a novel chitosan bilayer material as a scaffold of human neonatal dermal fibroblasts. Published online 2001.
77. Liang HY, Lee WK, Hsu JT, et al. Polycaprolactone in Bone Tissue Engineering: A Comprehensive Review of Innovations in Scaffold Fabrication and Surface Modifications. *J Funct Biomater*. 2024;15(9):243. doi:10.3390/jfb15090243
78. Khan G, Kim DG, Nam SM, Choi YD, Park ES. Experimental study on polycaprolactone scaffold cell-based nasal implant using 3D printing. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2022;75(10):3869-3876. doi:10.1016/j.bjps.2022.06.025
79. Jana S, Bhagia A, Lerman A. Optimization of polycaprolactone fibrous scaffold for heart valve tissue engineering. *Biomed Mater*. 2019;14(6):065014. doi:10.1088/1748-605X/ab3d24
80. Bao W, Cao L, Wei H, et al. Effect of 3D printed polycaprolactone scaffold with a bionic structure on the early stage of fat grafting. *Mater Sci Eng C*. 2021;123:111973. doi:10.1016/j.msec.2021.111973
81. Chhaya MP, Balmayor ER, Hutmacher DW, Schantz JT. Transformation of Breast Reconstruction via Additive Biomanufacturing. *Sci Rep*. 2016;6(1):28030. doi:10.1038/srep28030
82. Eyuboglu AA, Uysal CA, Ozgun G, Coskun E, Markal Ertas N, Haberal M. The effect of adipose derived stromal vascular fraction on stasis zone in an experimental burn model. *Burns*. 2018;44(2):386-396. doi:10.1016/j.burns.2017.08.016
83. Shim KS, Ryu DH, Jo HS, et al. Breast Tissue Reconstruction Using Polycaprolactone Ball Scaffolds in a Partial Mastectomy Pig Model. *Tissue Eng Regen Med*. 2023;20(4):607-619. doi:10.1007/s13770-023-00528-x
84. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*. 2005;26(27):5474-5491. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.02.002
85. Oh SH, Park IK, Kim JM, Lee JH. In vitro and in vivo characteristics of PCL scaffolds with pore size gradient fabricated by a centrifugation method. *Biomaterials*. 2007;28(9):1664-1671. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.11.024
86. Jordao A, Cl  ret D, Dhayer M, et al. Engineering 3D-Printed Bioresorbable Scaffold to Improve Non-Vascularized Fat Grafting: A Proof-of-Concept Study. *Biomedicines*. 2023;11(12):3337. doi:10.3390/biomedicines11123337
87. Utsunomia C, Ren Q, Zinn M. Poly(4-Hydroxybutyrate): Current State and Perspectives. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8:257. doi:10.3389/fbioe.2020.00257
88. Xining Z, Sai L. The Evolving Function of Vasculature and Pro-angiogenic Therapy in Fat Grafting. *Cell Transplant*. 2024;33:09636897241264976. doi:10.1177/09636897241264976

89. Tu J, Zeng Y, An R, Sun J, Wen H. Engineered nanovesicles from stromal vascular fraction promote angiogenesis and adipogenesis inside decellularized adipose tissue through encapsulating growth factors. *Sci Rep*. 2023;13(1):750. doi:10.1038/s41598-022-27176-w
90. Reid JA, McDonald A, Callanan A. Modulating electrospun polycaprolactone scaffold morphology and composition to alter endothelial cell proliferation and angiogenic gene response. Zhao F, ed. *PLOS ONE*. 2020;15(10):e0240332. doi:10.1371/journal.pone.0240332
91. Young DA, Choi YS, Engler AJ, Christman KL. Stimulation of adipogenesis of adult adipose-derived stem cells using substrates that mimic the stiffness of adipose tissue. *Biomaterials*. 2013;34(34):8581-8588. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.07.103
92. Yuan Y, Gao J, Ogawa R. Mechanobiology and Mechanotherapy of Adipose Tissue-Effect of Mechanical Force on Fat Tissue Engineering: *Plast Reconstr Surg - Glob Open*. 2015;3(12):e578. doi:10.1097/GOX.0000000000000564
93. Dinescu S, Galateanu B, Lungu A, et al. Perilipin Expression Reveals Adipogenic Potential of hADSCs inside Superporous Polymeric Cellular Delivery Systems. *BioMed Res Int*. 2014;2014:1-9. doi:10.1155/2014/830791
94. Ramakrishnan VM, Boyd NL. The Adipose Stromal Vascular Fraction as a Complex Cellular Source for Tissue Engineering Applications. *Tissue Eng Part B Rev*. 2018;24(4):289-299. doi:10.1089/ten.teb.2017.0061
95. Ploeger DTA, Van Putten SM, Koerts JA, Van Luyn MJA, Harmsen MC. Human macrophages primed with angiogenic factors show dynamic plasticity, irrespective of extracellular matrix components. *Immunobiology*. 2012;217(3):299-306. doi:10.1016/j.imbio.2011.10.007
96. Diedrich CM, Guler Z, Hympanova L, et al. Evaluation of the short-term host response and biomechanics of an absorbable poly-4-hydroxybutyrate scaffold in a sheep model following vaginal implantation. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2022;129(7):1039-1049. doi:10.1111/1471-0528.17040
97. Luo L, He Y, Chang Q, et al. Polycaprolactone nanofibrous mesh reduces foreign body reaction and induces adipose flap expansion in tissue engineering chamber. *Int J Nanomedicine*. 2016;Volume 11:6471-6483. doi:10.2147/IJN.S114295
98. Van Natta BW, Pineda Molina C, Antonelli V, Hussey GS, Badylak SF. Histomorphologic Outcomes of GalaFLEX Scaffold Used in Breast Surgery: Clinical Follow-up From 6 Weeks to 63 Months. *Aesthet Surg J*. 2025;45(11):1130-1140. doi:10.1093/asj/sjaf100