

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TAVUK STERNAL KIKIRDAK KSENOGREFTLERİNİN TAVŞAN MODELİNDE**  
**HİSTOPATOLOJİK BİYUYUMLULUK ANALİZİ**

**DR. MİYASE ORHAN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**KONYA 2025**

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TAVUK STERNAL KIKIRDAK KSENOGREFTLERİNİN TAVŞAN MODELİNDE**  
**HİSTOPATOLOJİK BİYOUYUMLULUK ANALİZİ**

**DR. MİYASE ORHAN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN: PROF. DR. MEHMET AKİF ERYILMAZ**

**KONYA 2025**

## TEŞEKKÜR

Tez danışmanlığımı özveriyle üstlenen; yalnızca bilimsel donanımıyla değil, aynı zamanda insani yaklaşımı, sabrı ve yol göstericiliğiyle her zaman yanımda olduğunu hissettiren değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Akif Eryılmaz'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince bizleri birer evladı gibi gören, engin tecrübesi ve bilgece yaklaşımıyla kliniğimize yön veren Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hamdi Arbağ hocama; öğretirken güldüren tarzı, vaka deneyimi ve rehberliğiyle mesleki gelişimime katkı sağlayan Prof. Dr. Mitat Arıçgil hocama; hekimlikteki titizliği ve hasta-klinik yönetimindeki örnek tutumuyla yol gösteren Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Akif Dündar hocama teşekkür ederim.

Mesleki bakış açımı derinleştiren ve özellikle bilimsel motivasyonumun şekillenmesinde önemli rol oynayan Doç. Dr. Fakih Cihat Eravcı hocama teşekkür ederim. Kısa sürede birlikte birçok vaka gerçekleştirme fırsatı bulduğum, samimiyetiyle her zaman bir abla gibi yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Rukiye Özçelik Erdem'e teşekkür ederim.

Tezimin histopatolojik değerlendirme sürecinde bilgi ve emeğiyle kıymetli katkılar sunan Dr. Öğr. Üyesi Fahriye Kılınç hocama teşekkür ederim.

Eğitim sürecim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, bilgi ve dayanışmalarıyla bu süreci daha anlamlı kılan tüm kıymetli asistan arkadaşlarıma; ameliyathane ve servis hemşirelerimize, sekreterlerimize, odyometri ekibine ve tüm klinik personelimize gönülden teşekkür ederim.

İlkokul yıllarımda öğrenmeye olan ilgimi şekillendiren, değerli öğretmenim Gülşen Solak'a sevgi ve minnetle teşekkür ederim. Hayatımın her aşamasında sevgileriyle beni saran, varlıklarıyla güç veren kıymetli annem ve babama; en zorlu zamanlarımda bile yanımda olan, moral ve destek kaynağım sevgili kardeşlerim Şerife Nur ve Betül'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Necmettin Erbakan Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından desteklenen 23TU18005 numaralı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

## ÖZET

### TAVUK STERNAL KIKIRDAK KSENOGREFTLERİNİN TAVŞAN MODELİNDE HİSTOPATOLOJİK BİYOUYUMLULUK ANALİZİ

Dr. Miyase ORHAN, UZMANLIK TEZİ, KONYA, 2025

**Amaç:** Bu çalışmada, desellülarizasyon ve sterilizasyon işlemlerine tabi tutulan tavuk sternal kıkırdagının, auriküler otolog kıkırdak greftleriyle histopatolojik düzeyde karşılaştırılması ve bu materyalin biyoyumluluk özellikleri ile taşıyıcı skafold potansiyelinin deneysel hayvan modeli üzerinde değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmada 12 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Ksenogreftler, kesimhaneden temin edilen tavuklardan elde edilerek %2 sodyum dodesil sülfat içeren desellülarizasyon protokolünden geçirildi ve etilen oksit ile sterilize edildi. Her tavşana 4 otogreft ve 4 ksenogreft implante edildi. Greftler 1. hafta, 1, 3 ve 4. ayda çıkarıldı. Histopatolojik analizler Hematoksilen-Eozin, Alcian Blue, Masson Trichrome, Toluidin Blue ve Glial Fibriler Asidik Protein immünohistokimyasal boyaları ile gerçekleştirildi. Kondrosit nükleus kaybı, periferik kondrosit proliferasyonu, vaskülarizasyon, inflamasyon, fragmentasyon, dev hücre oluşumu, kemik metaplazi, kalsifikasyon, fibrozis, rezorpsiyon, glikozaminoglikan miktarı, kollajen düzeyi, metakromazi ve rejenerasyon kapasitesi parametreleri değerlendirildi.

**Bulgular:** Makroskopik olarak, yalnızca bir deneğe ait 1. ve 3. ay greftleri hariç tüm greftler eksplantasyon sırasında yerinde gözlemlendi. Otogreft ve ksenogreft gruplar karşılaştırıldığında, kondrosit nükleus kaybı, inflamasyon, greft rezorpsiyonu, GAG miktarı korunumu ve dev hücre varlığı gibi histopatolojik parametre açısından otogreft lehine anlamlı farklar saptandı ( $p<0,05$ ). Buna karşılık, kemik metaplazi, kalsifikasyon ve matriks kolajen içeriği tüm zaman noktalarında her iki greft türünde benzer düzeydeydi ( $p>0,05$ ). Zamana bağlı analizlerde; kondrosit nükleus kaybı, inflamasyon, dev hücre oluşumu, greft rezorpsiyonu ve GAG miktarı gibi parametrelerde anlamlı değişiklikler izlendi ve bu değişimlerde greft tipinin de belirgin etkisi olduğu tespit edildi ( $p<0,001$ ). Ancak matriks kolajen içeriği ile rejenerasyon kapasitesi dört aylık takip boyunca stabildi ve greft tipine bağlı anlamlı bir fark göstermedi (sırasıyla  $p=0,204$ ,  $p=0,936$ ).

**Sonuç:** Bu çalışma, desellülarize edilmiş tavuk sternal kıkırdagının otogreft auriküler kıkırdakla histopatolojik düzeyde karşılaştırıldığı literatürdeki ilk deneysel hayvan modelini sunmaktadır. Elde edilen bulgular, otogreftlerin biyolojik stabilite açısından üstün olduğunu göstermiştir. Ancak tavuk sternal kıkırdagi, şekillendirilebilir yapısı, morfolojik uygunluğu, biyogüvenliği ve taşıyıcı skafold potansiyeliyle klinik uygulamalar için umut vadeden bir ksenogreft alternatifi olarak öne çıkmaktadır. Bu materyalin, morfolojik stabilitesi ve şekillendirilebilir yapısı sayesinde, biyomühendislik temelli modifikasyonlarla nazal cerrahi ve rekonstrüktif prosedürlerde klinik olarak uygulanabilir bir skafold adayı olabileceği öngörülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Biyoyumluluk, Kıkırdak, Ksenogreft, Skafold, Deneysel Model

## ABSTRACT

### HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS OF BIOCOMPATIBILITY OF CHICKEN STERNAL CARTILAGE XENOGRAFTS IN A RABBIT MODEL

Dr. Miyase ORHAN, SPECIALIZATION THESIS, KONYA, 2025

**Objective:** This study aimed to histopathologically compare decellularized and sterilized chicken sternal cartilage with autologous auricular cartilage grafts and to evaluate the biocompatibility properties and scaffold potential of this material in an experimental animal model.

**Methods:** Twelve white New Zealand rabbits were used in the study. Xenografts were obtained from chickens sourced from a slaughterhouse, subjected to a decellularization protocol using 2% sodium dodecyl sulfate, and sterilized with ethylene oxide. Each rabbit received four autografts and four xenografts. Grafts were explanted at 1 week, and at 1, 3, and 4 months. Histopathological analyses were performed using Hematoxylin-Eosin, Alcian Blue, Masson Trichrome, Toluidine Blue, and Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) immunohistochemical stains. The evaluated parameters included chondrocyte nuclear loss, peripheral chondrocyte proliferation, vascularization, inflammation, fragmentation, giant cell formation, bone metaplasia, calcification, fibrosis, resorption, glycosaminoglycan (GAG) content, collagen level, metachromasia, and regenerative capacity.

**Results:** Macroscopically, all grafts were observed in place at the time of explantation, except for the 1st and 3rd-month grafts in a single subject. When comparing the autograft and xenograft groups, statistically significant differences favoring autografts were found in terms of chondrocyte nuclear loss, inflammation, graft resorption, preservation of GAG content, and presence of giant cells ( $p < 0.05$ ). In contrast, bone metaplasia, calcification, and matrix collagen content were similar between the two graft types across all time points ( $p > 0.05$ ). Time-dependent analyses revealed significant changes in parameters such as chondrocyte nuclear loss, inflammation, giant cell formation, graft resorption, and GAG content, with the graft type having a prominent effect on these changes ( $p < 0.001$ ). However, matrix collagen content and regenerative capacity remained stable over the four-month follow-up and showed no significant difference based on graft type ( $p = 0.204$  and  $p = 0.936$ , respectively).

**Conclusion:** This study presents the first experimental animal model in the literature comparing decellularized chicken sternal cartilage with autologous auricular cartilage at the histopathological level. The findings demonstrated that autografts were superior in terms of biological stability. However, chicken sternal cartilage stands out as a promising xenograft alternative for clinical use due to its moldable structure, morphological suitability, biosafety, and scaffold potential. With its morphological stability and malleable structure, this material may serve as a clinically applicable scaffold candidate in nasal and reconstructive surgical procedures, particularly when modified through bioengineering approaches.

**Keywords:** Biocompatibility, Cartilage, Xenograft, Scaffold, Experimental Model

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	vi
TABLolar .....	viii
ŞEKİLLER .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Kıkırdak Doku .....	2
2.2. Kıkırdak Greft Uygulamaları ve Biyoyumluluk .....	4
2.2.1. Biyoyumluluk .....	5
2.2.1.1. Desellülerizasyon (Hücre-sizleştirme) .....	5
2.2.1.1.1. Kimyasal Yöntemler .....	6
2.2.1.1.2. Enzimatik Yöntemler .....	7
2.2.1.1.3. Fiziksel Yöntemler .....	8
2.2.1.2. Sterilizasyon .....	8
2.3. KBB’de Kıkırdak Greft Kullanım Alanları ve Alternatif Materyaller .....	9
2.3.1. Rinoplasti ve Burun Rekonstrüksiyonu .....	9
2.3.1.1. Otogreft .....	9
2.3.1.1.1. Nazal Septal Kıkırdak .....	10
2.3.1.1.2. Auriküler Konkal Kıkırdak .....	10
2.3.1.1.3. Kostal Kıkırdak .....	11
2.3.1.2. Allogreft .....	11
2.3.1.2.1. Homolog Kostal Kıkırdak Greftleri .....	11
2.3.1.2.2. Tutoplast .....	13
2.3.1.2.3. Aselüler Allojenik Kadavra Dermisi .....	13
2.3.1.3. Ksenogreft .....	14
2.3.1.4. Doku Mühendisliği Yaklaşımları .....	15
2.3.1.4.1. Biyomalzemeler ve Skafoldlar .....	15
2.3.1.4.2. Hücre Bazlı Tedaviler .....	16
2.3.1.5. Alloplastik materyaller .....	16
2.3.1.5.1. Silikon İmplantlar .....	17

2.3.1.5.2. Politetrafloroetilen (Teflon, PTFE, Gore-Tex) İmplantlar .....	17
2.3.1.5.3. Yüksek Yoğunluklu Polietilen (Medpor) İmplantlar .....	18
2.3.2. Aurikula Rekonstrüksiyonu ve Orta Kulak Cerrahisi.....	18
2.3.3. Laringotrakeal Cerrahi.....	19
2.4. Amaç.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	20
3.1. Ksenogreft Hazırlığı.....	21
3.2. Denekler.....	24
3.3. Cerrahi Prosedür .....	25
3.4. Çalışma Grupları.....	27
3.5. Eksplantasyon ve Takip Süreci .....	28
3.6. Histopatolojik Analiz.....	29
3.7. Veri Analizi .....	30
4. BULGULAR .....	31
4.1. Makroskopik Gözlem .....	31
4.2. Mikroskopik Gözlem.....	34
4.3. Otogreft Grubu.....	43
4.4. Ksenogreft Grubu.....	43
4.5. Otogreft–Ksenogreft Karşılaştırması (Tablo 5) .....	46
4.6. Zaman–Greft Etkileşimi .....	48
5. TARTIŞMA .....	52
6. SONUÇ VE ÖNERİ.....	59
7. KAYNAKLAR .....	60

## TABLULAR

Tablo 1: Otogreft Grubunda Histopatolojik Bulguların Dağılımı .....	41
Tablo 2: Ksenogreft Grubunda Histopatolojik Bulguların Dağılımı .....	42
Tablo 3: Otogreft Grubunda Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması .....	44
Tablo 4: Ksenogreft Grubunda Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması .....	45
Tablo 5: Çalışma Gruplarında Otogreft ve Ksenogreft Dokularda Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması.....	47
Tablo 6: Otogreft-ksenogreft benzer sonuçları.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## ŞEKİLLER

Şekil 1: Düşük büyütmede hyalin kıkırdak kesiti. Küçük resim yüksek büyütmede (H&E kurşun kalem çizimi)(11) .....	3
Şekil 2: Düşük büyütmede elastik kıkırdak kesiti. Küçük resim yüksek büyütme (H&E kurşun kalem çizimi) (11) .....	3
Şekil 3: Kesimhaneden alınmış tavuk sternumu .....	21
Şekil 4: Perikondrium ve kas dokularından arındırılmış sternal kartilajı .....	21
Şekil 5: Metil alkol ve kloroform karışımında 48 saat bekletilen kartilaj .....	22
Şekil 6: DNAz Tip I, RNAz, EDTA .....	22
Şekil 7: SDS .....	23
Şekil 8: Steril salin ile yıkanmış tavuk sternal kartilajı .....	23
Şekil 9: EtO sterilizasyonu öncesi paketlenen ve sterilizasyon sonrası tavuk sternal kartilajları .....	24
Şekil 10: 1x1.5 cm'lik parçalar elde edilmek üzere kesilen 1 tavuk sternal kartilajının parçaları.....	24
Şekil 11: Sağ aurikuladan otogreft eksizyonu .....	25
Şekil 12: Otogreft ve ksenogreftlerin engraftasyon için hazırlanışı .....	26
Şekil 13: Tavşan sırtının implantasyona hazırlanması .....	26
Şekil 14: Greftlerin cilt altına yerleştirilmesi .....	27
Şekil 15: İmplantasyon sonrası sütürasyon .....	27
Şekil 16: Otogreftlerin eksplantasyonu.....	28
Şekil 17: Ksenogreftlerin eksplantasyonu.....	28
Şekil 18: Otogreft grubuna ait aynı üç deneğin greftlerinin 1., 3. ve 4. ay makroskopik görünüşleri. ( Üst satır: Denek 2; Orta satır: Denek 5; Alt satır: Denek 8). Görseller, zaman içinde greft hacminde oluşan bireysel farklılıkları yansıtmaktadır.....	32
Şekil 19: Rastgele seçilen üç farklı deneğe ait ksenogreftlerin 1., 3. ve 4. aylardaki makroskopik görünüşleri. ( Üst satır: Denek 2; Orta satır: Denek 5; Alt satır: Denek 8). Görseller, zaman içinde greft hacminde oluşan bireysel farklılıkları yansıtmaktadır. ....	33
Şekil 20: 12. deneğin 4. ayındaki greft bölgesinden alınan örnekte görülen yoğun inflamatuvar yanıt.....	34
Şekil 21: Farklı canlılık düzeylerine sahip greft örnekleri A: Ksenogreftte, kondrosit lakünleri belirgin şekilde kaybolmuş, hücresel yapı silinmiş ve ECM'de yaygın solukluk izlenmiştir. Bu tablo, canlılığını tamamen yitirmiş devitalize bir kıkırdak dokusunu yansıtmaktadır. B: Düşük düzeyde hücresel yoğunluk ve canlılık gösteren otogreft materyali izlenmektedir. C: Morfolojik bütünlüğü korunmuş, yüksek hücresel organizasyona sahip canlı bir otogreft yapısı görülmektedir (A,B,C: HE, x100 büyütme, Olympus BX53).....	34
Şekil 22: Greft İnflamatuvar yanıt düzeylerini gösteren ksenogreft örnekleri A: Greft çevresinde minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmekte olup, kondrosit çekirdek yapıları korunmuş, ECM düzeni büyük ölçüde devam etmektedir. Bu tablo, düşük şiddette inflamatuvar yanıtla uyumlu bir ksenogreft materyalini göstermektedir. B: Grefti çevreleyen ve yer yer içine ilerleyen lökosit infiltrasyonu, ödem ve ECM organizasyonunda bozulma ile inflamasyon şiddetlenmiştir. C: Yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu, apse	

oluşumu ve nekrotik alanlar izlenmekte; bu görünüm, ileri düzeyde inflamasyon gelişmiş bir ksenogreft materyalini temsil etmektedir (A,B,C: HE, x100 büyütme, Olympus BX53). ..35

Şekil 23: Yüksek derecede doku yıkımı içeren ksenogreft örneği. Kıkırdak dokunun yapısal bütünlüğü ileri düzeyde bozulmuş, lakün yapıları kaybolmuş ve greft materyali çevreden ayrılmıştır. Amorf yapılar içerisinde parçalanmış kıkırdak segmentleri ve yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmektedir. Bu tablo, canlılığını kaybetmiş ve fragmente olmuş bir ksenogreft materyalini göstermektedir (Fragmentasyon skoru 4 (HE, x100 büyütme, Olympus BX53). ..... **Error! Bookmark not defined.**

Şekil 24: Granümatöz yanıt gelişen ksenogreft örneği. Çok çekirdekli dev hücreler, kıkırdak matriks kalıntıları etrafında kümelenmiş olup, granümatöz inflamasyon paternini yansıtmaktadır. Çevre dokuda yaygın lenfosit, makrofaj ve nötrofil infiltrasyonu mevcuttur. Bu görünüm, ksenojenik yapıya karşı gelişen immün yanıtı ve doku yıkımını göstermektedir (HE, x100 büyütme, Olympus BX53). ..... **Error! Bookmark not defined.**

Şekil 25: Ototogreftlerde ossifikasyon sürecine ait bulgular. A: Lakünler arasında mineralize alanlar ve kemik benzeri eozinofilik matriks odakları izlenmektedir. Bu tablo, erken ossifikasyon sürecine giren bir otogreft materyalini göstermektedir. B: Yaygın kalsifikasyon alanları, matriks yoğunluğunda artış ve yer yer hücrel organizasyon bozuklukları ile karakterizedir (A,B: HE, x100 büyütme, Olympus BX53).....36

Şekil 26: Ototogreftlerde kolajen içeriğinin değerlendirilmesi. A: Düşük kolajen boyanması ve bozulmuş ECM organizasyonu (Skor 1). B: Orta düzeyde kolajen boyanması ve kısmen korunmuş doku düzeni (Skor 2). C: Homojen ve yoğun kolajen boyanması ile yüksek ECM bütünlüğü gösteren iyi organize olmuş bir otogreft materyali (Skor 3) (A,B,C: MTK, x100 büyütme, Olympus BX53). .....36

Şekil 27: Ksenogreftlerde kolajen yapısının değerlendirilmesi. A: Minimal kolajen boyanması, zayıf ECM organizasyonu (Skor 1). B: Homojen kolajen dağılımı ile kısmen korunmuş dokusal bütünlük (Skor 2). C: Yoğun ve kesintisiz kolajen boyanması ile yapısal stabiliteyi yansıtan bir ksenogreft (Skor 3) (A,B,C: MTK, x100 büyütme, Olympus BX53). .....37

Şekil 28: Ototogreftlerde matrix metakromazi kaybının değerlendirilmesi. A: Homojen, koyu mor-menekşe metakromazi (Skor 0). B: Düzensiz ve zayıflamış mor tonlar (Skor 2). C: Belirgin metakromazi kaybı ve soluk ECM boyanması (Skor 3) (A,B,C: TB, x100 büyütme, Olympus BX53).....37

Şekil 29: Ksenogreftlerde matrix metakromazi kaybının değerlendirilmesi. A: Yaygın, homojen metakromazi (Skor 0). B: Solukluk ve renk yoğunluğunda azalma (Skor 2). C: Şiddetli metakromazi kaybı ve neredeyse hiç boyanma olmayan ECM görünümü (Skor 4) (A,B,C: TB, x100 büyütme, Olympus BX53).....37

Şekil 30: Ototogreftlerde GAG varlığının değerlendirilmesi. A: Düşük ve düzensiz boyanma, azalmış GAG (Skor 1). B: Homojen boyanma ve korunmuş GAG içeriği (Skor 2). C: Yaygın, yoğun mavi boyanma ile yüksek GAG içeriği ve biyouyumluluk (Skor 3) (A,B,C: AB, x100 büyütme, Olympus BX53). .....38

Şekil 31: Ksenogreftlerde GAG varlığının değerlendirilmesi. A: Lokalize güçlü boyanma ile orta düzeyde GAG korunumu (Skor 2). B: Yaygın ve homojen mavi boyanma ile GAG varlığı (Skor 4) (A,B: HE, x100 büyütme, Olympus BX53). .....38

Şekil 32: Ototogreftlerde rejenerasyon kapasitesinin immünohistokimyasal değerlendirilmesi. A: Zayıf sitoplazmik GFAP boyanması, düşük rejeneratif aktivite (Skor 1). B: Artmış ancak dağınık pozitif GFAP boyanma alanları (Skor 2). C: Homojen ve yaygın GFAP ekspresyonu ile yüksek rejeneratif kapasite (Skor 4) (A,B,C: GFAP, x100 büyütme, Olympus BX53).	38
Şekil 33: Ksenogreftlerde rejenerasyon kapasitesinin immünohistokimyasal değerlendirilmesi. A: Pozitif boyanma izlenmemiştir, anlamlı rejeneratif yanıt yoktur (Skor 0). B: Odaklanmış GFAP pozitifliği ile orta düzeyde rejeneratif yanıt (Skor 2). C: Yaygın ve homojen GFAP ekspresyonu ile yüksek rejeneratif kapasite (Skor 4) (A,B,C: HE, x100 büyütme, Olympus BX53).	39
Şekil 34: Greft Tipine Göre Kondrosit Nukleus Kaybı Düzeyinin Zamanla Değişimi	48
Şekil 35: Greft Tipine Göre Periferik Proliferasyon Düzeyinin Zamanla Değişimi	49
Şekil 36: Greft Tipine Göre İnternal Vaskülarizasyon Düzeyinin Zamanla Değişimi	49
Şekil 37: Greft Tipine Göre İnflamasyon Düzeyinin Zamanla Değişimi	50
Şekil 38: Greft Tipine Göre Dev Hücre Düzeyinin Zamanla Değişimi	50
Şekil 39: Greft Tipine Göre Greft Rezorpsiyon Düzeyinin Zamanla Değişimi	51
Şekil 40: Greft Tipine Göre GAG Miktarı Korunma Düzeyinin Zamanla Değişimi	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde İşareti
AB	Alcian Blue
ACI	Otolog Kondrosit İmplantasyonu
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy
BX53	Olympus BX53 Işık Mikroskobu
CAD	Computer-Aided Design
CS	Chondroitin Sulfate
CSC	Cartilage Stem Cell
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ECM	Ekstrasellüler Matris
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
EGTA	Egtazik Asit
EtO	Etilen Oksit
FFRG	Taze Donmuş Kıkırdak Grefti
GAG	Glikozaminoglikan
GFAP	Glial Fibrillary Asidik Protein
GI	Gama Işını
H&E	Hematoksilen-Eozin
IHCC	Işınlanmış Kaburga Kıkırdağı
ISO	International Organization for Standardization
KBB	Kulak Burun Boğaz
KONÜDAM	Konya Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi
MHC	Major Histocompatibility Complex
MSC	Mezenkimal Kök Hücre

NaCl	Sodyum Klorür
PAA	Polyacrylic Acid
PCL	Policaprolacton
PGA	Poliglikolik Asit
PLA	Polilaktik Asit
PLGA	Polilaktik-ko-glikolik Asit
PTFE	Politetrafloroetilen
RNA	Ribonükleik Asit
SC-CO <sub>2</sub>	Süperkritik Karbondioksit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TB	Toluidin Blue
TPFL	Tutoplast ile İşlenmiş Fasya Lata
°C	Santigrat Derece
µm	Mikrometre

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kıkırdak dokusu, mekanik yük taşıyan bölgelerde yapısal bütünlüğü sağlayan, ancak düşük vaskülarizasyonu ve sınırlı rejenerasyon kapasitesi nedeniyle hasarlandığında spontan iyileşmesi oldukça güç olan bir konnektif doku türüdür (1,2). Avasküler doğası, besin difüzyonunun kısıtlılığıyla birlikte doku iyileşmesini olumsuz etkiler. Kıkırdak defektlerinin onarımı amacıyla klinik uygulamalarda otogreft, allogreft ve ksenogreft gibi çeşitli greft seçenekleri kullanılmaktadır. Otogreftler, immünojenik açıdan yüksek biyoyumluluklarıyla öne çıkarken, sınırlı donör sahası ve ek cerrahi gereksinim nedeniyle bazı dezavantajlar taşımaktadır (3). Allogreftler ise temin kolaylığına karşın immün reaksiyon riski ve yüksek maliyet gibi sınırlayıcı faktörlere sahiptir (4).

Kıkırdak greftlerinin uzun dönem başarısı, greftin konak dokuyla entegrasyonu, inflamasyon düzeyi, doku rejenerasyonu, vaskülarizasyon ve rezorpsiyon gibi biyolojik süreçlerle doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle, greft materyallerinin zamanla geçirdiği histolojik değişimlerin değerlendirilmesi, cerrahi uygulamalarda uygun greft seçimini yönlendirmek açısından kritik önemdedir (5). Özellikle revizyon rinoplasti ve aurikula rekonstrüksiyonu gibi kıkırdak ihtiyacının yüksek olduğu durumlarda kullanılan greftlerin, uzun dönemde fonksiyonel ve estetik başarıyı sürdürebilmesi için stabilite ve biyoyumluluk özellikleri önem arz etmektedir.

Son yıllarda doku mühendisliği ve biyomalzeme biliminin gelişmesiyle birlikte, alternatif greft materyallerinin geliştirilmesi yönünde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu kapsamda, biyomalzeme tabanlı skafold sistemleri ve hücre destekli yapılar üzerine yapılan deneysel çalışmalar, klinik uygulamalar açısından umut verici sonuçlar doğurmaktadır (6). Ancak bu alanda, özellikle hayvan kaynaklı ksenogreftlerin uzun dönem biyolojik performansını inceleyen deneysel çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Bu bilgi açığı, deneysel ve klinik geçiş süreçlerini destekleyen kanıta dayalı verilerin eksikliğine yol açmaktadır.

Tavuk sternal kartilajı, gerek morfolojik yapısı gerekse biyomekanik özellikleri açısından insan septal kıkırdağına benzerlik göstermesi nedeniyle dikkat çekmektedir. Literatürde, bu materyalin cerrahi eğitim simülasyonlarında kullanıldığı ve insan kıkırdağına benzer şekilde şekillendirilebildiği bildirilmiştir (7). Tavuk kıkırdağının kolay temin edilebilir olması, düşük maliyeti ve belirli biyokimyasal işlemlerle sterilize edilebilirliği, onu potansiyel bir ksenogreft adayı haline getirmektedir.

Bu çalışmada, ksenogreft olarak kullanılan tavuk sternal kartilajının belirli sterilizasyon ve doku hazırlık işlemlerinin ardından, aynı bireyden elde edilen otolog auriküler kıkırdak grefti ile histopatolojik açıdan karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Greftlerin zaman içinde geçirdiği değişimler, kondrosit viabilitesi, inflamasyon düzeyi, GAG içeriği, kollajen seviyesi ve doku entegrasyonu gibi parametreler üzerinden değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarının, kıkırdak doku mühendisliği ve alternatif greft araştırmalarına katkı sağlayarak, gelecekteki klinik uygulamalara yönelik bilimsel temelleri güçlendirmesi hedeflenmektedir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

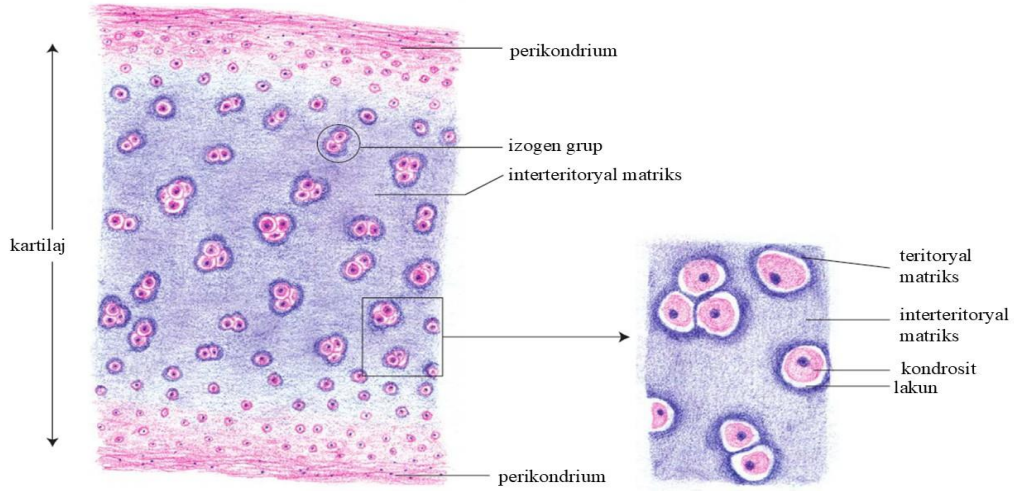
### **2.1. Kıkırdak Doku**

Kıkırdak doku, eklem hareketlerini kolaylaştıran, uzun kemiklerin gelişimine katkı sağlayan ve mekanik destek sunan özelleşmiş bir bağ dokusudur (8). Ekstrasellüler matriksi (ECM), glikozaminoglikanlar (GAG), proteoglikanlar ve kollajen liflerinden zengindir (9–11). ECM'nin sentezinden sorumlu başlıca hücreler kondrositler olup bu hücrelerin öncüsü olan kondroblastlar, doku gelişimi ve yenilenmesinde rol alır (12).

Yapısal olarak, tip II kollajen lifleri ve proteoglikanlar dokuya rijidite ve elastikiyet kazandırırken yüksek su içeriği sayesinde şok absorpsiyonu sağlar (13,14). Kıkırdak, mezenkimal kökenli hücrelerden farklılaşır ve iki temel büyüme mekanizması ile gelişim gösterir: interstisyel büyüme (kondrosit mitozu) ve apoziyonel büyüme (perikondriumdan yeni kondroblast oluşumu) (9,11). Perikondrium, eklem kıkırdağı dışında tüm kıkırdak türlerini çevreleyen yoğun bağ dokusudur; beslenmeyi destekler ve dokuya mekanik direnç kazandırır (9,15).

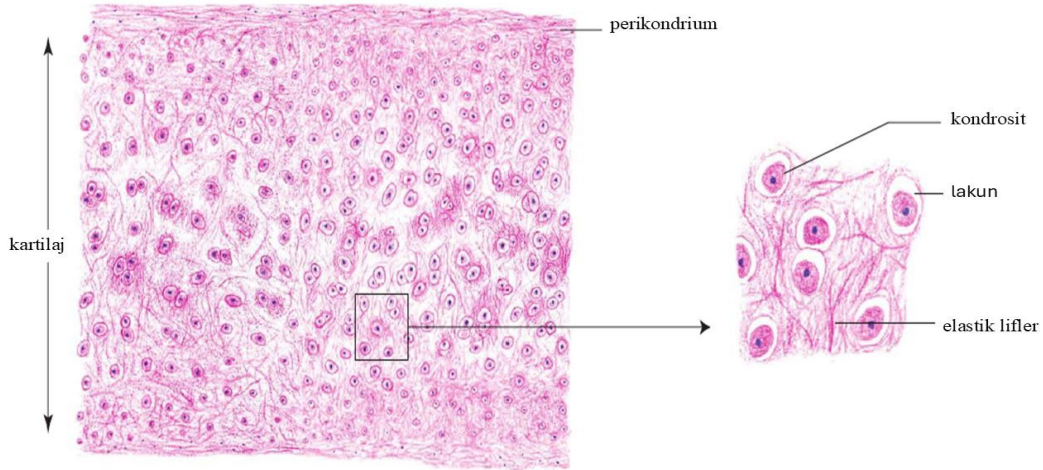
Kıkırdak dokusu histolojik olarak üç alt tipe ayrılır: hyalin, elastik ve fibröz kıkırdak (16).

- Hyalin kıkırdak en yaygın formudur; eklem yüzeyleri, burun, larenks, trakea, bronşlar ve epifiz plaklarında bulunur. Embriyonik dönemde geçici iskelet yapısını oluşturarak endokondral ossifikasyonun temelini oluşturur (13). Mikroskopik olarak, bazofilik boyanma gösterir; lakün çevresindeki yoğun proteoglikan içeriği nedeniyle koyu boyanan alanlar teritoryal matriks, daha açık alanlar ise interteritoryal matriks olarak adlandırılır (Şekil 1) (11).



Şekil 1: Düşük büyütmede hyalin kıkırdak kesiti. Küçük resim yüksek büyütmede (H&E kurşun kalem çizimi)(11)

- Elastik kıkırdak, aurikula, dış kulak yolu, östaki borusu, epiglot ve supraglottik bölgelerde yer alır (9,17). Tip II kollajene ek olarak yoğun elastik lif içeriği ile tanımlanır (13). Kondrosit yoğunluğu fazladır ancak ECM miktarı görece azdır. Makroskopik olarak sarı renkte görünür; Hematoksilen&Eozin ile eozinofilik, Elastik Van Gieson ile siyah renkte boyanır (Şekil 2) (11).



Şekil 2: Düşük büyütmede elastik kıkırdak kesiti. Küçük resim yüksek büyütme (H&E kurşun kalem çizimi) (11)

- Fibröz kıkırdak, hyalin kıkırdak ve yoğun bağ dokusunun birleşimi olup yüksek mekanik dayanım sağlar. İntervertebral diskler, pubik simfiz gibi bölgelerde bulunur. Kollajen lif yoğunluğu belirgindir ve yapısı oldukça sıkıdır (13).

Kıkırdak dokusu avaskülerdir; beslenmesi difüzyon yoluyla gerçekleşir ve bu nedenle kendini yenileme kapasitesi oldukça sınırlıdır (1). Hasar sonrası rejenerasyon çoğunlukla eksik olup, yerine bağ dokusu formasyonu ile sonuçlanabilir (13). Bu biyolojik özellikler, kıkırdak dokunun greft materyali olarak kullanımında hem avantaj hem de sınırlayıcı faktörler oluşturmaktadır.

## **2.2. Kıkırdak Greft Uygulamaları ve Biyouyumluluk**

Kıkırdak dokusu, vaskülarize dokuların aksine sınırlı rejenerasyon kapasitesine sahip olduğundan, hasar sonrası klasik yara iyileşme süreçlerini etkin şekilde gerçekleştiremez (18,19). Bu özellik, kıkırdak defektlerinin kronikleşmesine ve cerrahi müdahale gereksinimine yol açar (19). Kıkırdak lezyonlarının tedavisinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri, greft uygulamalarıdır. İdeal bir greft materyalinin; biyouyumlu, enfeksiyona dirençli, mekanik olarak stabil, şekillendirilebilir ve uzun süreli doku bütünlüğünü koruyabilir özellikte olması beklenir (5).

Kıkırdak greftleri; otogreft, homogreft ve ksenogreft olmak üzere üç ana gruba ayrılır.

- Otogreftler, aynı bireyden elde edilen greftlerdir ve yüksek biyouyumlulukları, minimal immün reaksiyon riskleri ile öne çıkarlar. Donör saha morbiditesi, sınırlı miktarda doku temini ve cerrahi zorluklar gibi dezavantajlarına rağmen, günümüzde en sık tercih edilen greft türüdür (5,20). Ancak greftin çıkarılması, şekillendirilmesi ve yerleştirilmesi; teknik uzmanlık ve cerrahi deneyim gerektirir (21).
- Homogreftler, aynı türden ancak farklı bireylerden elde edilen kıkırdak dokularıdır. KBB pratiğinde en sık kullanılan örneklerden biri ışınlanmış kostal kıkırdaktır. Bu greftler, özellikle rekonstrüktif burun cerrahilerinde yapısal destek sağlama açısından avantajlıdır (5,20). Bununla birlikte, rezorpsiyon oranlarındaki öngörülemeslik, enfeksiyon riski, deformasyon ve yüksek maliyet gibi faktörler nedeniyle sınırlayıcıdır (5).
- Ksenogreftler, farklı türlerden elde edilen kıkırdak dokularıdır. Heterolog kaynaklı olmaları nedeniyle konak bağışıklık sistemi tarafından tanınma riski taşırlar. Bu durum, immün yanıtın tetiklenmesine ve greft reddine neden olabilir. Ancak, kıkırdak dokusunun immünolojik antijenite açısından avantajlı yönleri de

bulunmaktadır: Majör histo-uyumluluk antijenlerini sınırlı düzeyde eksprese eden ECM yapısı, antijen tanınmasını azaltabilir. Ayrıca kondrositler immünojenik potansiyele sahip olsa da, yoğun ECM organizasyonu nedeniyle makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu sınırlandırılabilir (22,23).

Bu bağlamda, antijenik yapıların kimyasal, enzimatik veya fiziksel yöntemlerle azaltılması sayesinde biyouyumluluk artırılabilir. Bu işlem, ksenogreftlerin klinik uygulamalarda kullanım potansiyelini genişletmektedir. Alternatif greft kaynaklarının etkinliğini artırmak için geliştirilen bu yaklaşımlar, özellikle otogreftlerin yetersiz kaldığı durumlarda önemli bir çözüm yolu sunabilir.

### **2.2.1. Biyouyumluluk**

#### **2.2.1.1. Desellülerizasyon (Hücresizleştirme)**

Biyoyumluluk, bir materyalin konak organizma ile etkileşimi sonucunda zararlı bir immün yanıt oluşturmada hedeflenen dokuya entegre olabilme kapasitesini ifade eder. Doku mühendisliğinde biyouyumlu yapıların oluşturulabilmesi için, greft materyalinin antijenite özelliklerinden arındırılması gereklidir. Bu amaçla geliştirilen hücresizleştirme (desellülerizasyon) yöntemi, dokuların hücresel ve genetik içeriklerinden arındırılarak, yalnızca ECM'nin korunmasını ve bu matriksin yeniden hücrelenmeye uygun bir biyolojik skafold olarak işlev görmesini hedefler. Bu teknik; kalp, karaciğer, akciğer, böbrek, deri, kornea, beyin ve yağ dokusu dahil olmak üzere birçok organ ve dokuda başarıyla uygulanmıştır (10). Son yıllarda, kırık dokuların mühendisliği kapsamında da geniş kullanım alanı bulmuş; eklem (24), menisküs (25,26), larenks (27), trakea (28–30) ve nazoseptal kırık (31,32) gibi yapılarda etkili sonuçlar elde edilmiştir (33).

Hücresizleştirme teknikleri üç ana grupta toplanır:

- **Kimyasal yöntemler:** Deterjanlar (SDS, Triton X-100), hipotonik/hipertonik solüsyonlar
- **Enzimatik yöntemler:** DNaz, RNaz gibi nükleik asitleri parçalayan enzimler
- **Fiziksel yöntemler:** Dondurma-çözme döngüleri, mekanik basınç, sonikasyon

Uygulanacak yöntem, dokunun kalınlığı, hücre yoğunluğu ve hedef dokuya göre uyarlanmalıdır (10). İnce dokular kısa süreli kimyasal işlemlerle etkin şekilde arındırılabilirken, kalın ve yoğun yapılar daha uzun sürede ve kombine yöntemlerle

işlenmelidir. Ancak bu süreçte kullanılan kimyasal ajanlar, ECM'in doğal mimarisini ve biyomekanik özelliklerini olumsuz etkileyebilir (34–36). Özellikle tip II kollajen, elastin ve proteoglikanların bozulması, skafoldun biyolojik işlevini yitirmesine neden olabilir (37).

Etkin bir hücreleştirme protokolü, ECM'in yapısal bütünlüğünü ve biyokimyasal özelliklerini maksimum düzeyde korurken, hücresel komponentlerin ve immünojenik materyalin tamamen elimine edilmesini sağlamalıdır. Yetersiz arındırma → inflamatuvar yanıt; aşırı agresif işlem → rejenerasyonun bozulması gibi sonuçlara yol açabilir (35). Bu nedenle, klinik ya da deneysel uygulamalarda kullanılacak doku iskelelerinin hazırlanmasında denge gözetilen hücreleştirme stratejileri büyük önem taşımaktadır.

#### **2.2.1.1.1. Kimyasal Yöntemler**

Kimyasal hücreleştirme yöntemleri, hücresel içeriklerin ve nükleik asit kalıntılarının uzaklaştırılması amacıyla çeşitli ajanların kontrollü kullanımıyla gerçekleştirilir. Bu yöntemler, özellikle dokunun kalınlığına, hücre yoğunluğuna ve hedeflenen kullanım amacına göre seçilerek uygulanır (10).

Asit ve alkali uygulamaları, hücre membranlarının çözünmesini sağlayarak DNA ve RNA'yı uzaklaştırır. Asitler etkili dezenfeksiyon sağlarken kolajen liflerini parçalayarak dokunun mekanik bütünlüğünü zayıflatabilir. Alkali ajanlar ise büyüme faktörlerinin yapısını bozarak rejeneratif kapasiteyi düşürebilir (34,38).

Alkol bazlı çözücüler (metanol, etanol), lipitleri çözerek hücre zarını destabilize eder ve hücrelerin ECM'den ayrılmasını kolaylaştırır. Bu ajanlar, aktin iskeletini hedef alarak fokal adezyonların çözülmesini sağlar (1). Ancak, yüksek konsantrasyonda ya da uzun süreli uygulamalar ECM'nin sertleşmesine neden olabilir.

Ozmotik şok yöntemleri, hücre zarlarının parçalanmasını sağlamak için hipotonik ve hipertonic çözeltilerin dönüşümlü olarak uygulanması esasına dayanır. Hipotonik çözeltiler hücreleri şişirerek lizise neden olurken, hipertonic çözeltiler DNA-protein bağlarını çözerek kalıntılarının uzaklaştırılmasını kolaylaştırır. Ancak tek başına yeterli değildir ve genellikle kimyasal/enzimatik işlemlerle kombine edilir (34,38).

Deterjanlar, kimyasal hücreleştirme protokollerinin temelini oluşturur.

- **Triton X-100:** İyonik olmayan bir deterjandır; ECM'yi nispeten korur ancak hücresel içeriklerin uzaklaştırılmasında sınırlıdır (1).

- **Sodyum dodesil sülfat (SDS):** Güçlü bir anyonik deterjandır. Sitoplazmik proteinleri ve nükleer materyali etkili biçimde uzaklaştırır; özellikle kalın ve yoğun dokularda tercih edilir. Ancak dokuda kalıntı bırakma riski nedeniyle sitotoksositeye yol açabilir ve bu nedenle yoğun yıkama protokolleriyle birlikte kullanılmalıdır (34,38).

Hücre-sizleştirme ajanlarının etkinliği doku tipine göre farklılık gösterebilir. Örneğin, Xu ve ark., anüler fibrozis dokusunda SDS, Triton X-100 ve tripsin uygulamalarını karşılaştırmış; SDS ve tripsinin ECM yapısını bozduğunu, Triton X-100'ün ise yapısal bütünlüğü en iyi koruduğunu göstermiştir (39). Buna karşılık diğer çalışmalarda SDS'nin; böbrek, temporomandibular eklem ve akciğer dokularında daha kapsamlı bir hücre-sel temizlik sağladığı rapor edilmiştir (34,38).

Şelatlayıcı ajanlar (EDTA, EGTA), hücre-ECM etkileşiminde yer alan metal iyonlarını bağlayarak hücrelerin matriksten ayrılmasını kolaylaştırır. Ancak yüzeysel etki gösterdiklerinden dolayı genellikle enzimatik veya deterjan bazlı protokollere yardımcı ajan olarak kullanılırlar (10,34).

#### **2.2.1.1.2. Enzimatik Yöntemler**

Enzimatik hücre-sizleştirme yöntemleri, hücre içeriğinin ve nükleik asit kalıntılarının parçalanmasını sağlamak amacıyla çeşitli biyolojik katalizörlerin kontrollü şekilde uygulanmasını içerir. En sık kullanılan enzimler arasında nükleazlar (DNAz, RNAz), tripsin, kollajenaz, dispaz, lipaz ve termolizin yer alır. Nükleazlar, hücre lizisi sonrasında matrikste kalan DNA ve RNA'yı parçalayarak nükleik asit kalıntılarını uzaklaştırır. Endonükleazlar, DNA zincirini iç bölgelerden keserek kısa fragmanlara ayırır ve bu özelliği sayesinde ekzonükleazlara kıyasla daha etkili bir temizleme sağlar (34).

Tripsin ve dispaz gibi proteolitik enzimler, hücre zarındaki proteinleri ve hücre-matriks bağlantılarını parçalayarak hücrelerin ECM'den ayrılmasını kolaylaştırır. Kollajenaz ise ECM'in yapısında bulunan kollajen liflerine etki eder; bu nedenle dikkatli kullanılması gerekir çünkü aşırı uygulama ECM yapısını bozabilir.

Enzimatik yöntemler çoğunlukla tek başına yetersizdir. Özellikle kalın, yoğun veya yüksek hücre içerikli dokularda etkinlikleri sınırlıdır. Bu nedenle genellikle deterjanlarla (SDS, Triton X-100) veya fiziksel yöntemlerle kombinasyon halinde uygulanır. Literatürde, enzim-deterjan kombinasyonları ile yapılan protokollerde DNA içeriğinin %90'dan fazlasının

temizlenebildiği bildirilmiştir (1). Bu da enzimatik süreçlerin, diğer yöntemlerle entegre edildiğinde hücresizleştirme verimini belirgin şekilde artırdığını göstermektedir.

### 2.2.1.1.3. Fiziksel Yöntemler

Fiziksel hücresizleştirme yöntemleri, dokulara mekanik veya termal etki uygulayarak hücre zarlarının bozulmasını ve içeriklerinin salınmasını hedefler. En yaygın kullanılan yöntemlerden biri olan donma-çözülme döngüsü, hücre içi sıvının buz kristalleri haline gelerek hücre zarını parçalamasına dayanır. Bu yöntem, hücresel içeriğin uzaklaştırılmasına yardımcı olurken, ECM'nin makro yapısını büyük ölçüde koruyabilir. Ancak, tekrarlanan donma-çözülme işlemleri, ECM'nin ultrastrüktüründe mikroskobik düzeyde bozulmalara yol açabilir. Diğer bir yöntem olan yüksek hidrostatik basınç uygulaması, hücre zarı bütünlüğünü kısa sürede bozarak hızlı hücresizleştirme sağlar (34). Sonuç olarak, fiziksel yöntemler genellikle destekleyici protokoller olarak kullanılmakta olup, ECM yapısının korunması istenen durumlarda tercih edilir.

### 2.2.1.2. Sterilizasyon

ECM bazlı biyolojik iskelelerin sterilizasyonu, greftin güvenli transplantasyonu açısından desellülarizasyon kadar kritik bir adımdır. Bu işlem, potansiyel patojenleri ve endotoksinleri elimine ederek, immün yanıtı azaltmayı ve enfeksiyon riskini ortadan kaldırmayı hedefler (34).

Literatürde, gama ışını (GI), etilen oksit (EtO) ve süperkritik karbondioksit (SC-CO<sub>2</sub>) gibi sterilizasyon yöntemleri yaygın olarak kullanılmıştır.

- **Gama ışını (GI)**, iyonlaştırıcı radyasyon yoluyla DNA zincirlerini parçalayarak mikroorganizmaların replikasyonunu engeller (34,37). Ancak bu yöntem, 15 kGy altındaki dozlarda bile kollajen yapısını bozarak doku bütünlüğü ve mekanik dayanıklılığı olumsuz etkileyebilir (35). GI sterilizasyonu ilk kez 1961'de Dingman ve Grabb tarafından kıkırdak homogreftlerinde kullanılmıştır (40).
- **Etilen oksit (EtO)**, DNA ve proteinlere alkil grubu ekleyerek mikroorganizmaların inaktivasyonunu sağlar (37). EtO'nun sterilizasyon etkinliği yüksek olmakla birlikte, dokuda kalabilecek toksik yan ürünlerin (etilen klorohidrin, etilen glikol) uzaklaştırılması için ek işlem gereklidir (41,42). Ayrıca, doku morfolojisi üzerindeki etkileri literatürde tartışmalıdır (35). 1970'lerden itibaren EtO, NeuroSkeletal Transplantation Laboratory tarafından geliştirilerek yaygın hale getirilmiştir (41).

1980 yılında Prolo ve arkadaşları, EtO'nun bakteriler, mantarlar ve virüsler üzerinde etkili olduğunu ve doku morfolojisini koruyabildiğini göstermiştir (41,42).

- **Süperkritik karbondioksit (SC-CO<sub>2</sub>)**, toksik kalıntı bırakmayan, çevre dostu bir sterilizasyon yöntemidir. Özellikle porcine dermal ECM modellerinde mekanik özellikleri büyük oranda koruduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, farklı doku tipleri üzerindeki uzun dönem etkileri hâlen araştırılmaktadır (34,35).

### **2.3. KBB’de Kıkırdak Greft Kullanım Alanları ve Alternatif Materyaller**

#### **2.3.1. Rinoplasti ve Burun Rekonstrüksiyonu**

Nazal rekonstrüksiyon, burun iskeletini oluşturan kemik, kıkırdak ve yumuşak dokuların birlikte değerlendirilmesini gerektiren karmaşık bir cerrahi süreçtir. Bu yapıların herhangi birinde meydana gelen defektlerde, fonksiyonel ve estetik sonuçların sağlanabilmesi için yapısal onarımın mümkünse primer cerrahi sırasında gerçekleştirilmesi önerilmektedir. Böylece hem burun açıklığının korunması hem de estetik hatların yeniden oluşturulması daha başarılı biçimde sağlanabilir (43).

Tarihsel olarak, rinoplastiye ilişkin ilk girişimlerin M.Ö. 1000–800 yılları arasında Hindistan’da Sushruta tarafından uygulandığı bilinmektedir. Deri flepleriyle yapılan burun onarımlarına dair detaylı tanımlar, modern burun cerrahisinin temelini oluşturmuştur (44). Modern rinoplastinin öncüsü olarak kabul edilen Jacques Joseph, 19. yüzyılın sonlarında otojen dokuların kullanımına öncülük etmiş ve kıkırdak greftlerinin rinoplastideki yerini bilimsel temellere dayandırarak belirginleştirmiştir (45,46).

Kıkırdak greftlerin seçiminde ideal materyal; biyouyumlu, vücut tarafından emilmeye dirençli, hacim ve şekil stabilitesi sağlayabilen, kolay şekillendirilebilen ve uzun dönem komplikasyonlara yol açmayan özellikler taşımalıdır. Ancak bu kriterlerin tamamını aynı anda sağlayan tek bir greft materyali mevcut değildir. Bu nedenle her hastanın klinik özelliklerine, defektin büyüklüğüne ve cerrahinin hedeflerine göre bireyselleştirilmiş bir greft seçimi yapılması en uygun yaklaşımdır (47,48).

##### **2.3.1.1. Otogreft**

Otogreftler, immün yanıt oluşturmamaları ve uzun dönemde doku bütünlüğünü koruma potansiyelleri nedeniyle rinoplasti ve burun rekonstrüksiyonunda en sık tercih edilen greft türleridir. Nazal septum, auriküler konkal kıkırdak ve kostal kıkırdak, bu amaçla kullanılan başlıca otolog kaynaklardır (49). Greftin hastanın kendi dokusundan elde edilmesi, biyolojik

uyumu ve enfeksiyon riskinin düşük olması açısından avantaj sağlar. Bununla birlikte, donör saha morbiditesi, sınırlı doku hacmi ve cerrahi sürenin uzaması gibi bazı dezavantajlar da bulunmaktadır (3).

#### **2.3.1.1.1. Nazal Septal Kıkırdak**

Nazal septum, hem fonksiyonel hava geçişini sağlayan hem de burun yapısına destek sunan anatomik bir yapıdır. Embriyolojik gelişim sırasında, nöral krest kaynaklı ektomesenkimal hücrelerden oluşur. Posterior kısmı zamanla kemikleşirken, anterior bölümü kıkırdak formunu korur. Yaşla birlikte bu yapıdaki kıkırdak miktarında azalma görülürken, erkeklerde septal yüzey alanının kadınlara kıyasla daha büyük olduğu saptanmıştır (50).

Septal kıkırdak, düz yapısı, kolay şekillendirilebilmesi ve warping (şekil bozulması) eğiliminin düşük olması nedeniyle cerrahlar tarafından sıklıkla tercih edilir. Aynı zamanda burun içinden rahatlıkla ulaşılabilmesi, ek bir cilt kesisi gerektirmemesi sayesinde cerrahi süreci basitleştirir (4,49). Ancak en büyük dezavantajı, sınırlı hacimde elde edilebilmesidir. Özellikle burun yapısının yapısal bütünlüğünü korumak adına septumun dorsal ve kaudal kısımlarında “L” şeklinde en az 1 cm genişliğinde destek bırakılması gerektiğinden, kullanılabilir kıkırdak miktarı kısıtlıdır (5,51).

Revizyon rinoplasti gibi daha geniş hacimli greft gereksinimi olan ya da daha önce cerrahi geçirilmiş hastalarda septal kıkırdağın yeterli olmaması durumunda, auriküler veya kostal kaynaklara yönelinir. Ayrıca septal perforasyon, travma veya intranazal madde kullanımı gibi durumlarda bu bölgeden greft elde edilmesi mümkün olmayabilir (4). Literatürde septal kıkırdakla ilgili rezorpsiyon oranları %12 ile %50 arasında bildirilmektedir. Ancak bu rezorpsiyon genellikle fibröz doku ile yer değiştirerek belirgin bir estetik veya fonksiyonel probleme neden olmadan süreci tolere edilebilir kılar (49).

#### **2.3.1.1.2. Auriküler Konkal Kıkırdak**

Auriküler kıkırdak, cymba concha ve cavum concha bölgelerinden elde edilir. Bu bölgelerden hasat sırasında, özellikle dış kulak yapısının estetik bütünlüğünü korumak adına antiheliks gibi destekleyici yapıların zarar görmemesi önemlidir (5). Bu greft tipi, elastik ve kavisli yapısıyla burun sırtı gibi düz yüzeylerde kullanım açısından sınırlı olsa da, özellikle burun ucu şekillendirmelerinde ve lateral kıkırdakların desteklenmesinde uygun bir seçenektir (47). Ayrıca dinamik bölgelerde ihtiyaç duyulan esneklik gereksinimini karşılayabilme avantajına sahiptir. Düz olmayan yapısı nedeniyle şekillendirilmesi zor olabilir ve miktar olarak sınırlı hacim sunar. Ancak daha rijit greft materyalleriyle kombine

kullanıldığında rekonstrüksiyonun stabilitesini artırabilir. Dolayısıyla konkal kıkırdak, uygun hasta seçimiyle estetik ve fonksiyonel fayda sağlayabilecek değerli bir otogreft kaynağıdır (48,49).

### **2.3.1.1.3. Kostal Kıkırdak**

Kostal kıkırdak, özellikle ileri derecede deformitesi olan vakalarda veya sekonder/tersiyer rinoplastilerde sıklıkla tercih edilir. Geniş hacimli kıkırdak gereksiniminde ideal bir kaynak olarak kabul edilir (48,52). En sık tercih edilen donör bölge 7. kostadır; bunun dışında 5. ila 11. kaburgalar da greft elde etmek için uygundur (47).

Tarihte ilk kez 1900 yılında Von Mangoldt tarafından sifilitik burun deformitelerinde 7. kaburga kıkırdağı greft olarak kullanılmıştır (53,54). Daha sonra 1982’de Furlan, 8. ve 9. kostal kıkırdağın perikondriumla birlikte tek parça halinde uygulanarak deformasyon olmadan kullanılabileceğini göstermiştir (54,55).

Kostal kıkırdak, sert yapısı sayesinde kolay şekil verir ve ince dilimlense dahi şeklini koruyarak uzun süreli stabilite sunar. Dorsal büyütme gereken veya kompleks yapıların onarımı gereken durumlarda vazgeçilmez bir seçenek olabilir. Ancak bazı önemli dezavantajlara da sahiptir. En sık karşılaşılan sorunlardan biri, kıkırdak içerisindeki içsel gerilimlerin serbest kalmasıyla oluşan warping (şekil deformasyonu) riskidir (47).

Kostal kıkırdağın çıkarımı ek cerrahi alan gerektirdiği için, donör saha morbiditesi açısından dikkatli olunmalıdır. Kaburga bölgesinden greft alınması sonrası postoperatif ağrı, ciltte belirgin skar, göğüs duvarında kontur bozukluğu ve nadiren yapısal deformasyonlar gibi komplikasyonlar görülebilir (47). Diseksiyon sırasında pleura perforasyonu meydana gelirse pnömotoraks gelişme riski vardır. Bu nedenle diseksiyonun dikkatli yapılması ve pleural bütünlüğün korunması önemlidir (49). Ayrıca ileri yaşla birlikte kostal kıkırdakların kalsifikasyona uğrama eğilimi artmakta, bu durum greftin şekillendirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, operasyon öncesinde radyolojik değerlendirme yapılması önerilir (43). Cerrahinin süresini uzatması, operasyon maliyetini artırması ve postoperatif ağrıya neden olması da diğer sınırlayıcı faktörlerdir (47).

### **2.3.1.2. Allogreft**

#### **2.3.1.2.1. Homolog Kostal Kıkırdak Greftleri**

Allojenik kıkırdak greftleri, özellikle otolog greftlere erişimin sınırlı olduğu durumlarda rekonstrüktif burun cerrahisinde giderek daha fazla tercih edilen bir seçenek haline gelmiştir

(23). İlk kez 1958'de Gibson ve ark. tarafından yapılan deneysel çalışmada, allojenik kıkırdağın iki yıl boyunca canlılığını sürdürebildiği, ancak zamanla bağ dokuya dönüşme eğilimi gösterdiği bildirilmiştir. Bu dönüşüm, greftin antijenitesine bağlı olarak gelişmekte olup; immünojenitenin azaltılması ve biyolojik stabilitenin artırılması amacıyla çeşitli işleme teknikleri geliştirilmiştir (56,57). Cialit, glutaraldehit, mertiyolat, liyofilizasyon, GI ve taze dondurma bu amaçla kullanılan başlıca yöntemler arasında yer almaktadır (57).

Literatürde, kadavradan elde edilen kostal kıkırdak greftlerine bağlı komplikasyon oranlarının %3,25 ile %45 arasında değiştiği bildirilmiştir. Öte yandan yılda 50'den fazla rinoplasti gerçekleştiren cerrahların %76,8'inin kadavra kaynaklı kaburga kıkırdaklarını tercih ettiği, bunun nedeninin de otogreftlere kıyasla cerrahi sürenin kısalması ve teknik kolaylık sağlanması olduğu belirtilmektedir. Buna karşın cerrahların %10'u enfeksiyon ve şekil bozukluğu riski nedeniyle, %28'i ise rezorpsiyon endişesiyle bu greftleri tercih etmemektedir (4).

Günümüzde en çok kullanılan allojenik greft türleri arasında ışınlanmış kaburga kıkırdağı (IHCC) ve taze dondurulmuş kıkırdak (FFRG) yer almaktadır. IHCC, 30.000–60.000 Gy arası gama ışını ile sterilize edilerek hücrel ve viral ajanlardan arındırılır. Bu sayede immün yanıtın azaltılması ve dokuyla daha iyi entegrasyon sağlanması hedeflenir. IHCC'nin fibrovasküler büyüme ile bağ dokuya dönüşme eğilimi bulunsa da, uzun süreli hacim stabilitesi sağlayabildiği gösterilmiştir (58).

Kridel ve ark., 24 yıl boyunca 357 rinoplasti hastasında IHCC kullanımını değerlendirmiş; %3,25 komplikasyon oranı ile otojen greftlere güçlü bir alternatif olduğunu bildirmiştir (59). Harutyunyan ve ark. tarafından yürütülen bir başka çalışmada ise, allojenik nazal septal kıkırdak greftlerinin hasta memnuniyeti ve cerrahi başarı açısından tatmin edici sonuçlar sunduğu gösterilmiştir (23). Öte yandan bazı çalışmalarda, gama ışını uygulamasının kondrosit canlılığını azalttığı, kıkırdağın mekanik bütünlüğünü zayıflattığı ve enfeksiyon riskini %31'e kadar yükseltebileceği belirtilmektedir (23,60).

FFRG, antibiyotik solüsyonuyla sterilize edildikten sonra ışınlamaya maruz kalmaksızın -40°C ila -80°C arasında saklanarak hazırlanır. Genellikle 55 yaş altı donörlerden elde edilen bu greftlerin, kullanım öncesinde tamamen çözülmesi deformasyon riskinin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Richard G. Reish, 800'den fazla revizyon rinoplasti olgusunda FFRG kullanmış ve başarılı sonuçlar bildirmiştir (4). Son veriler, FFRG'nin otolog greftlerle benzer cerrahi sonuçlar sunduğunu ve IHCC'ye kıyasla daha düşük

komplifikasyon oranlarına sahip olduğunu göstermektedir (4,61). Ayrıca Vila ve ark. tarafından yapılan bir meta-analiz, otolog ve allogreft kostal kırıkdağlar arasında klinik anlamlı fark bulunmadığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, uygun hasta seçimiyle allogreftlerin güvenli biçimde kullanılabilceğini desteklemektedir (62).

Alternatif olarak, allojenik kırıkdağ greftlerinin immünojenisitesini azaltmak amacıyla hücreleştirme teknikleri uygulanabilir. Bu yöntemle biyoyumluluk artırılrsa da, yüksek maliyet ve erişim zorlukları klinik uygulamaları sınırlamaktadır (21). Allogreftlere yönelik araştırmalar günümüzde de devam etmekte olup, farklı işleme yöntemlerinin uzun dönemli sonuçlarını değerlendiren geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

### **2.3.1.2.2. Tutoplast**

2007 yılında Jang ve arkadaşları tarafından tanımlanan Tutoplast işleminden geçirilmiş fasya lata (TPFL), günümüzde rinoplastide kullanılan biyolojik greft materyalleri arasında yer almaktadır. Her ne kadar FDA onayı henüz bulunmasa da, Almanya’da sağlık otoriteleri tarafından onaylanmıştır (63). Tutoplast (RTI Surgical Holdings Inc.), iliotibial banttan elde edilen bir grefttir ve peroksit–aseton işlemleri ile kurutulduktan sonra 25.000 Gy gama ışını ile sterilize edilerek hazırlanır (62).

Esnek ve dayanıklı yapısı nedeniyle TPFL; burun sırtının augmentasyonu, şekil verme ve deformite düzeltme amacıyla kullanılabilir (64). Ancak literatürde bu greftin kullanımıyla ilgili sınırlılıklar ve komplifikasyonlar da bildirilmiştir. Song ve arkadaşlarının 35 hastayı içeren çalışmasında, TPFL'nin dorsal büyütme için yetersiz kaldığı ve komplifikasyon oranının %31’e ulaştığı vurgulanmıştır (65). Ayrıca Menger ve Nolst Trenité, TPFL'nin özellikle kalkan greft olarak kullanıldığında yüksek rezorpsiyon ve deformasyon riski taşıdığını, bazı hastalarda greftin tamamen emildiğini ve her üç hastadan birinde belirgin postoperatif rezorpsiyon geliştiğini rapor etmiştir (66). Bu bulgular, TPFL kullanımında özellikle hacim koruyuculuğuna ihtiyaç duyulan alanlarda dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir. Uzun vadeli stabilite açısından yeterince öngörülebilir sonuçlar sunmaması, uygulama alanını sınırlayabilir.

### **2.3.1.2.3. Aselüler Allojenik Kadavra Dermisi**

Aselüler allojenik kadavra dermisi (AlloDerm; LifeCell Corp., Kaliforniya, ABD), otojen greftlerin kamufle edilmesi, burun sırtındaki yüzeysel düzensizliklerin giderilmesi ve destekleyici doku sunulması amacıyla geliştirilen bir biyomateryaldir. Ayrıca septal perforasyon onarımları, lateral duvar desteği artırımı ve burun kemikleri ile cilt arasında

yapışıklıkların önlenmesi gibi çeşitli rekonstrüktif endikasyonlarda da kullanımı yaygındır. AlloDerm, çevre dokularla yüksek entegrasyon potansiyeline sahip olup implantasyondan sonra yaklaşık bir ay içinde stabil hale gelir ve bu aşamadan sonra çıkarılması güçleşir (58). Ancak, belirli oranda emilim gösterdiği için greft hacminin, hedef hacmi aşacak şekilde planlanması önerilmektedir. Özellikle burun dorsumunda uygulandığında, %20 ila %30 arasında değişen rezorpsiyon oranları bildirilmiştir (67).

### **2.3.1.3. Ksenogreft**

Ksenogreftler, farklı türlerden elde edilen biyolojik materyaller olup, rekonstrüktif burun cerrahisinde özellikle otolog ve allogreft alternatiflerinin yetersiz kaldığı durumlarda değerlendirilmiştir. Tarihsel olarak, rinoplasti pratiğinde pek çok farklı ksenogreft materyal denenmiş, ancak başlangıçta yüksek komplikasyon oranları nedeniyle bu uygulamalar sınırlı kalmıştır.

1892 yılında Weir, saddle nose deformitesini düzeltmek amacıyla bir ördeğin taze sternumunu subkutan olarak yerleştirmiştir. Ancak bu greft, immün yanıt nedeniyle reddedilmiş ve uygulama başarısızlıkla sonuçlanmıştır (54,68). İkinci Dünya Savaşı öncesine kadar, fildişi greftleri de çeşitli cerrahlar tarafından tercih edilmiş; ancak bu materyallerde yüksek enfeksiyon, deformasyon ve ekstrüzyon oranları görülmüştür. Fildişi grefti ile yapılan son bilinen uygulama 1926 yılına aittir ve 1987’de Benito Vilar Sancho tarafından literatüre kazandırılmıştır (54,69). 1933 yılında Stout, burun rekonstrüksiyonunda formalinle sabitlenmiş sığır kıkırdağını ilk kez kullanmış; ancak 1950–1955 yılları arasında bu materyalin de yüksek enfeksiyon ve reddedilme oranları nedeniyle klinik kullanımı terk edilmiştir (54,70).

Tüm bu başarısız deneyimlere karşın son yıllarda hücreleştirme ve sterilizasyon tekniklerindeki ilerlemeler sayesinde ksenogreftlerin yeniden değerlendirilmesi mümkün olmuştur. Bu kapsamda geliştirilen Permacol (Tissue Science Laboratories plc, İngiltere), domuz kollajeninden elde edilen ve biyolojik olarak kalıcı özellik taşıyan bir implanttır. 2001–2008 yılları arasında yapılan bir çalışmada, 42 hastada septorinoplasti sırasında kullanılmış ve otolog kıkırdak için uygun bir alternatif olarak değerlendirilmiştir (71). Permacol’ün kullanıldığı 58 hastalık bir başka çalışmada da enfeksiyon, ekstrüzyon veya ciddi komplikasyon görülmemiş; konak dokuyla başarılı kollajen entegrasyonu sağladığı bildirilmiştir (72). Benzer şekilde, Velasquez ve arkadaşları, boş burun sendromu hastalarında domuz ince bağırsak submukozasından elde edilen ksenogreftlerin etkinliğini

araştırmış ve bu materyallerin kısmen rezorbe olsa da konkaların anatomik bütünlüğünü koruduğunu ortaya koymuştur (73). Elde edilen bu olumlu sonuçlar, ksenogreftlerin uygun sterilizasyon ve hücreleştirme süreçleri ile birlikte kullanıldığında rekonstrüktif burun cerrahisinde güvenilir bir alternatif haline gelebileceğini göstermektedir. Preklinik araştırmalar, daha düşük maliyetli ve sürdürülebilir ksenogreftlerin geliştirilmesine yönelik olarak devam etmektedir. Özellikle hücreleştirilmiş ksenogreft kıkırdaklar, otolog ve allojenik greftlere alternatif olarak doku mühendisliği alanında umut vadeden materyaller arasında değerlendirilmektedir (21).

#### **2.3.1.4. Doku Mühendisliği Yaklaşımları**

Doku mühendisliği, hasarlı dokuların veya organların fonksiyonlarını yeniden kazandırmayı hedefleyen multidisipliner bir bilim alanıdır. Bu yaklaşım, üç temel bileşen etrafında şekillenir: hücreler, biyouyumlu iskele materyalleri ve büyüme faktörleri. Bu unsurlar, literatürde “doku mühendisliği üçlüsü” olarak adlandırılmakta ve bu bileşenlerin koordineli etkileşimi başarılı rejenerasyon süreci için kritik öneme sahiptir (10).

##### **2.3.1.4.1. Biyomalzemeler ve Skafoldlar**

Klinik pratikte biyomalzeme kullanımı giderek yaygınlaşmakta; çeşitli ticari iskele materyalleri rekonstrüktif cerrahide önemli rol oynamaktadır. Bu iskeleler; insan dermisi (AlloDerm®, GraftJacket®), fasya lata (AlloPatch®, FasLata®), domuz ince bağırsak submukozası (CuffPatch™, Oasis®, Stratasis®), fetal sığır derisi (Durepair®, SurgiMend™), at perikardı (DurADAPT™, OrthADAPT™) ve sığır perikardı (Peri-Guard®, Vasu-Guard®) gibi biyolojik kaynaklardan elde edilmektedir (36). Özellikle ECM bazlı skafoldlar, rejeneratif kapasitesi yüksek ve biyouyumlu yapıları sayesinde doku mühendisliğinde geniş kullanım alanı bulmuştur. Ancak ECM'nin doğrudan kullanımı, immün sistem aktivasyonuna neden olabileceğinden hücreleştirme işlemleri ile antijenite azaltılmalı ve biyouyumluluk artırılmalıdır (39,74).

Kıkırdak doku mühendisliği uygulamaları, bu iskeleler üzerine yerleştirilen kondrositler aracılığıyla yeni doku üretimini hedeflemektedir (6). Ancak uzun dönemli klinik uygulamalarda karşılaşılan en büyük sınırlılıklardan biri, bu greftlerin yeterli mekanik stabiliteye ulaşamamasıdır. Bu sorun, kıkırdağın avasküler doğası nedeniyle hücre beslenmenin kısıtlı olması ve vasküler entegrasyonun sağlanamaması ile ilişkilidir. Dolayısıyla, doku mühendisliğinde yeni nesil materyaller ve besleyici mikroçevre stratejilerine yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (75).

#### **2.3.1.4.2. Hücre Bazlı Tedaviler**

Kıkırdak rejenerasyonu, rekonstrüktif cerrahinin giderek daha fazla entegre olduğu bir alt alan haline gelmiştir. Otolog kondrosit implantasyonu (ACI), 1990'lı yıllarda İsveçli ortopedi cerrahları tarafından geliştirilmiş ve 1997 yılında FDA onayı alarak klinik uygulamaya girmiştir. Bu teknikte, artroskopik olarak hastadan alınan kondrositler, laboratuvar ortamında enzimatik olarak ayrıştırılıp çoğaltılmakta; ardından 3–4 ay süren kültürlenme sonrası defektli bölgeye cerrahi olarak implante edilmektedir (12).

Hücre tabanlı rejeneratif stratejilerde, en çok tercih edilen kaynaklar arasında mezenkimal kök hücreler (MSC'ler) yer almakta ve bu hücrelerin kondrojeneze yönlendirilerek kıkırdak üretimi sağlanabilmektedir. Pluripotent hücreler teorik olarak sınırsız çoğalma kapasitesine sahip olsa da, klinik güvenilirlikleri henüz istenen düzeye ulaşmamıştır. Buna karşın, farklılaşmış kondrositlerle yapılan uygulamalar, özellikle otolog kondrosit implantasyonu yöntemiyle uzun süredir güvenle kullanılmaktadır. Son yıllarda, bu alanda cerrahi morbiditeyi azaltmak ve tedavi etkinliğini artırmak amacıyla “burundan dize kondrosit transferi” gibi yenilikçi uygulamalar da geliştirilmiştir (2). Ayrıca, 2014 yılında Fulco ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen küçük ölçekli bir gözlemsel çalışmada, nazal septumdan elde edilen otolog kondrositler kültüre edilerek oluşturulan neokartilaj, melanom sonrası burun rekonstrüksiyonu yapılan beş hastaya başarıyla uygulanmıştır. Uygulama sonrası hiçbir komplikasyon gözlenmemiş; bir yıllık takipte estetik ve fonksiyonel sonuçların tatmin edici olduğu rapor edilmiştir (76). Bu bulgular, biyomühendislik temelli kıkırdak rejenerasyonunun yalnızca teorik değil, pratik olarak da uygulanabilir olduğunu ve gelecekte burun rekonstrüksiyonuna entegre edilebileceğini ortaya koymaktadır.

#### **2.3.1.5. Alloplastik materyaller**

Alloplastik materyaller, sınırsız temin edilebilirlikleri ve düşük maliyetleri sayesinde özellikle Asya ülkelerinde yaygın olarak tercih edilmektedir (48). En sık kullanılan alloplastik implantlar arasında politetrafloroetilen (PTFE), silikon ve yüksek yoğunluklu polietilen (Medpor) yer almaktadır (23). Bu materyallerin kullanımında gözeneklilik düzeyi, partikül yapısı, kimyasal bileşimi ve implantın yerleştirileceği anatomik bölge gibi faktörler dikkate alınmalıdır. Gözeneklilik, implant stabilitesini artırmak ve konakçı doku entegrasyonunu desteklemek açısından avantaj sağlayabilir. Ancak fazla gözeneklilik, özellikle enfeksiyon açısından risk oluşturabilecek bir yapı sunarak bakteriyel invazyonu kolaylaştırabilir. Mevcut literatürde, alloplastik materyallerin uzun dönem etkinliği ve

güvenliğine ilişkin sonuçlar halen tartışmalıdır ve bu konuda daha fazla uzun dönem takip çalışmasına ihtiyaç duyulmaktadır (58). Çoğu alloplastik materyal yeterli sertliği sağlayamadığından, yapısal destek veya rekonstrüktif onarım amacıyla yapılan uygulamalarda yetersiz kalabilmektedir (43). Bu materyallerin bazı klinik raporları olumlu sonuçlar içerse de, Batı ülkelerinde yaygın kabul görmedikleri ve kullanımlarının sınırlı olduğu belirtilmektedir (47).

#### **2.3.1.5.1. Silikon İmplantlar**

Silikon, ilk olarak 1953 yılında Barrett-Brown tarafından estetik cerrahide kullanılmıştır (54,77). Ekonomik, şekillendirilebilir ve nispeten biyouyumlu olması nedeniyle silikon implantlar, rinoplastide yaygınlık kazanmıştır. Ancak gözeneksiz yapısı nedeniyle doku ile doğrudan entegrasyon zayıftır ve stabilizasyonu sağlayabilmek için kalın fibröz kapsül oluşumuna ihtiyaç duyar (78). Bu kapsül, antibiyotik penetrasyonunu sınırlayan bir ölü alan oluşturarak enfeksiyon riskini artırabilir (58,78).

Silikon implantlar ideal olarak burun kemiği periostu altına yerleştirilmelidir. Yüzeysel yerleştirildiğinde yer değiştirme ve ekstrüzyon riski artmaktadır (78). Erken dönemde komplikasyon oranları yaklaşık %5,5 olarak bildirilmiş; uzun dönemde ise dorsal nazal implantlarda %10, kolumellar implantlarda %50'ye varan ekstrüzyon oranları rapor edilmiştir (58).

Tüm alloplastik materyallerde olduğu gibi, kontaminasyon riskini azaltmak amacıyla implant cebinin, insizyon hattından uzak tutulması önerilmektedir (58).

#### **2.3.1.5.2. Politetrafloroetilen (Teflon, PTFE, Gore-Tex) İmplantlar**

PTFE, hidrofobik yapıya sahip, 30 µm'ye kadar gözenekli bir polimerdir. Bu yapı, implantın dokuyla entegrasyonunu sağlarken gerektiğinde çıkarılmasını da kolaylaştırır (58,78). Gore-Tex® (W. L. Gore Associates, Flagstaff, Ariz.), PTFE bazlı bir materyal olarak 1993 yılında estetik cerrahide kullanım onayı almış ve özellikle yüz plastik cerrahisinde yaygınlaşmıştır. Kesilebilir ve şekillendirilebilir yapısı, yüzey düzensizliklerinin düzeltilmesi veya küçük hacimli defektlerin onarımı için avantaj sağlar. Ancak, PTFE implantlar yapısal destek gereken durumlar için yeterli dayanıklılığı sağlayamaz (58). Komplikasyon oranlarının genellikle %3–5 arasında bildirildiği bu implantlar günümüzde sınırlı kullanım alanına sahiptir (78).

### **2.3.1.5.3. Yüksek Yoğunluklu Polietilen (Medpor) İmplantlar**

Medpor® (Porex Medikal, Fairburn, Ga.), 1970'lerde geliştirilen, yüksek yoğunluklu, gözenekli bir polietilen implanttır. Biyouyumluluğu yüksektir ve esnek, sıkıştırılmaz bir yapıya sahiptir. 80–100°C sıcaklıkta steril tuzlu suya batırılarak şekillendirilebilir özellikle olup özellikle yüz implantlarında kullanımı yaygındır. Medpor, ortalama 200 µm çapındaki gözenekleri sayesinde konak doku büyümesini destekleyerek implantın çevre dokularla entegrasyonunu kolaylaştırır (58). Klinik çalışmalarda rinoplasti hastalarında başarılı estetik sonuçlar elde edilmiş, enfeksiyon oranları ise %0 ile %6,5 arasında bildirilmiştir. Ancak, özellikle ince cilt bölgelerinde ekstrüzyon riski yüksek olduğundan burun rekonstrüksiyonundaki kullanımı sınırlı kalmıştır (78).

### **2.3.2. Aurikula Rekonstrüksiyonu ve Orta Kulak Cerrahisi**

Aurikula rekonstrüksiyonu, özellikle doğuştan gelen mikrotia vakalarının onarımında uzun süredir uygulanan bir cerrahi alandır. Modern anlamda kulak rekonstrüksiyonunun temelleri, 20. yüzyılın ikinci yarısında atılmıştır. 1959 yılında Radford C. Tanzer, otolog kaburga kırıkdağını kullanarak aurikula için yapısal bir çerçeve oluşturmuş ve bu yaklaşım günümüzde hâlâ otolog rekonstrüksiyonun temel yöntemi olarak kabul edilmektedir (79,80). 1980'lerde Burt Brent, Tanzer'in tekniğini rafine ederek daha estetik sonuçlar sunan dört aşamalı cerrahi yöntemi geliştirmiştir (80,81). 1993 yılında Satoshi Nagata, daha az cerrahi aşama içeren ve detaylı kırıkdağın şekillendirme teknikleri sunan iki aşamalı bir yaklaşım tanımlamıştır (80,82). Günümüzde birçok cerrah bu yöntemi tercih etmektedir (80).

1990'ların başında John Reinisch, Medpor (poröz yüksek yoğunluklu polietilen) implantlarını kullanarak kaburga kırıkdağı gereksinimini ortadan kaldıran daha az invazif bir rekonstrüksiyon yöntemi ortaya koymuştur (83). Biyomühendislik temelli yaklaşımlar ise 1997 yılında Cao ve arkadaşlarının, sığır kırıkdağın hücreleri ile poliglaktik asit (PGA)/polilaktik asit (PLA) kombinasyonunu kullanarak ilk aurikula iskeletini üretmesiyle başlamıştır (80,84). Bu gelişmeleri, 2018'de Zhou ve ekibinin, 3D baskılı PCL/PGA/PLA bazlı aurikula iskeletlerini beş hastada başarıyla uygulaması izlemiştir (80,85). Günümüzde, biyolojik olarak işlevsel aurikula iskeletleri üretme çabaları sürmektedir (80). Ancak yeterli sayıda kondrojenik hücre elde etme, bu alandaki en büyük sınırlılıklardan biridir. Kulak kırıkdağından elde edilen hücreler sınırlı sayıdadır ve hedef hacim için 300–500 kat genişletilmesi gerekmektedir. Hücre kültürü sırasında kondrositlerin farklılaşma potansiyelini kaybetmemesi için büyüme faktörleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte, uzun

vadeli biyouyumluluk, mekanik stabilite ve klinik güvenilirlik gibi konularda hâlâ bazı belirsizlikler devam etmektedir (78).

Timpanoplasti ameliyatlarında hem otolog hem de allojenik greft materyalleri kullanılabilir. Otolog greftler arasında; tam/bölünmüş kalınlıkta deri, yağ, temporalis fasyası, tragal veya konkal perikondrium ve kıkırdak yer alırken, kadavra kaynaklı allogreftler, homogreftler ve ksenogreftler de alternatif olarak değerlendirilmektedir. Özellikle zaman kazanımı, düşük donör saha morbiditesi ve revizyon cerrahilerinde otolog doku kıtlığı gibi nedenlerle işlenmiş kollajen allogreftler tercih edilmektedir. Cass ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, otolog greftler ile kollajen allogreftler karşılaştırılmış; genel başarı oranı %81,1 olarak saptanmıştır. Perikondrium + kıkırdak greftleri, kollajen allogreftlere kıyasla 7,5 kat daha yüksek başarı olasılığı göstermiştir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Sonuç olarak, kollajen allogreftler, otolog greftlerin kullanılmadığı durumlarda etkili bir alternatif olabilir; ancak mevcut veriler, perikondrium ve kıkırdak kombinasyonunun daha yüksek başarı oranlarına sahip olduğunu göstermektedir (86).

### **2.3.3. Laringotrakeal Cerrahi**

Trakeal ve subglottik stenoz, üst solunum yolunun ciddi daralmalarına neden olan ve yaşamı tehdit edebilecek derecede morbidite ve mortaliteye yol açabilen klinik tablolardır. Trakeal stenoz tedavisinde altın standart, trakeal rezeksiyon ile uçtan uca anastomozdur. Ancak, eksize edilebilecek trakea uzunluğu sınırlı olduğu için bu yaklaşım sadece kısa segment stenozlarda uygulanabilir. Endoskopik lazer eksizyonu, balon dilatasyonu ve stentleme gibi yöntemler çoğu zaman yalnızca geçici rahatlama sağlamaktadır (78).

Subglottik stenozda ise cerrahi seçenekler arasında krikotrakeal rezeksiyon ve laringotrakeal rekonstrüksiyon yer alır. Bu işlemlerde sıklıkla otolog kostal kıkırdak greftleri kullanılsa da, donör saha morbiditesi nedeniyle alternatif doku kaynakları araştırılmaktadır. Henderson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, tavşan modelinde artiküler, auriküler ve nazal kondrositler ile üretilen doku mühendisliği ürünü kıkırdaklar karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, auriküler kondrositlerden elde edilen greftlerin en yüksek stabilite ve biyokimyasal uygunluğu sağladığını göstermiştir. Bu nedenle, auriküler kondrositlerin laringotrakeal rekonstrüksiyon için en uygun hücre kaynak olduğu düşünülmektedir (87).

Günümüzde, biyobozunur polimerler (PLA, PLGA, PCL) ve 3D biyobaskı teknikleri kullanılarak yapay trakea iskelelerinin geliştirilmesi hedeflenmektedir (78). Johnson ve

arkadaşları, hücreleştirilmiş domuz trakeası ve poli(caprolakton) bazlı iskeleleri kullanarak hibrit bir greft geliştirmiştir. Hücreleştirme sonrası iskeletin basınç dayanımı %63 azalmış; ancak 3D-bioplotting ile üretilen C-şekilli iskelelerin gama ışını ile sterilize edilmesi sonrası elde edilen dayanım, taze trakea ile benzer bulunmuştur. Bu sonuç, intraluminal stent ihtiyacını azaltabilecek bir alternatif olarak dikkat çekmektedir (88).

Sentetik trakeaların doğal vasküler kaynaktan yoksun olması ve enfeksiyona açık yapısı, klinik uygulamalarda başarısızlığa yol açmaktadır. Solunum yolu sürekli dış ortama maruz kaldığından, sentetik greftlerin kontaminasyona açık olması, anastomoz yetmezliği ve restenoz riskini artırmaktadır. Trakea sadece bir hava geçiş kanalı değil; aynı zamanda yenilenebilir, şekil alabilir ve enfeksiyona dirençli bir yapıdır. Sentetik bir tüpü, bu kadar karmaşık ve fonksiyonel bir dokuya dönüştürmek, günümüzde hâlâ çözülememiş bir problemdir (78).

2008 yılında Macchiarini ve arkadaşları, ilk insan trakea naklini gerçekleştirmiştir. Hücreleştirilmiş trakea iskeleti, olog kondrositler ve mezenkimal kök hücrelerle tohumlanmış, biyoreaktörde kültüre edilerek hastaya nakledilmiştir. Ancak, uzun dönem sonuçlar anastomoz bölgesinde tekrarlayan stenoz, stent ihtiyacı ve komplikasyon gelişimi ile sonuçlanmıştır. Sonraki vakalarda ciddi komplikasyonlar bildirilmiş, bazı çalışmalar etik ihlaller nedeniyle geri çekilmiştir (89). Bu nedenle, biyomühendislik temelli trakeal greftler teorik olarak umut vaat etse de, prelinik başarıdan klinik güvenilirliğe geçişte ciddi bir boşluk mevcuttur (78).

#### **2.4. Amaç**

Bu çalışmanın amacı, desellülarize ve sterilize edilmiş tavuk sternal kıkırdağının ksenogreft olarak uzun dönem mikroskopik biyouyumluluğunu değerlendirmek ve histopatolojik düzeyde olog auriküler kıkırdak greftleriyle karşılaştırmalı analizini yapmaktır. Elde edilen verilerin, alternatif greft materyallerine yönelik deneysel ve translasyonel araştırmalara histopatolojik açıdan bilimsel temel oluşturması hedeflenmektedir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan protokol (Karar No: 2022-077) kapsamında gerçekleştirildi. Çalışma KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütüldü. Cerrahi işlemler sırasında tüm deneklere mümkün olan en az invaziv girişim uygulandı ve postoperatif bakım

dikkatle sağlandı. Deney süresince tüm prosedürler aseptik koşullarda ve etik standartlara uygun şekilde gerçekleştirildi.

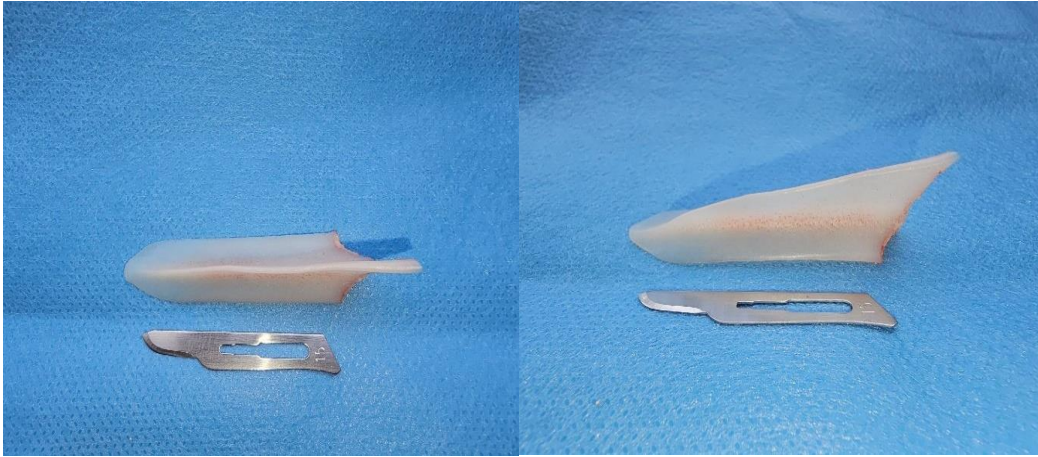
### 3.1. Ksenogreft Hazırlığı

1. Tavuk sternal kartilajları, kesimhaneden taze olarak temin edildi (Şekil 3).



Şekil 3: Kesimhaneden alınmış tavuk sternumu

2. Alınan doku örneklerinden perikondrium, kas ve tendon yapıları uzaklaştırıldı ve sadece saf kıkırdak dokusu izole edildi (Şekil 4).



Şekil 4: Perikondrium ve kas dokularından arındırılmış sternal kartilajı

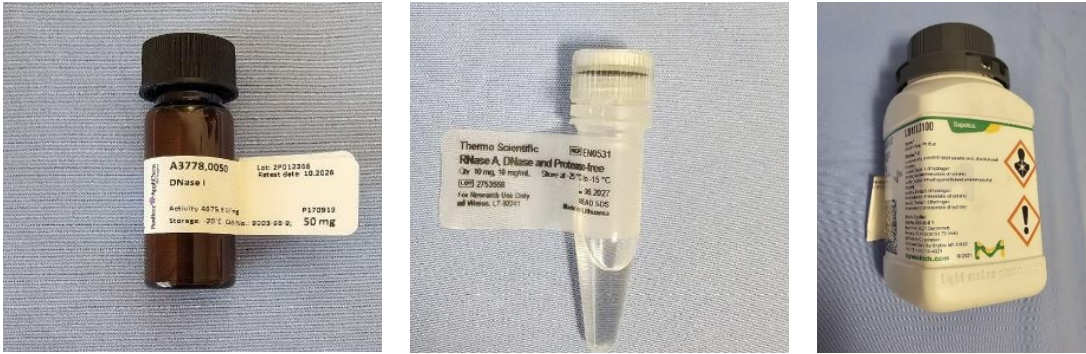
3. Lipid içeriğini uzaklaştırmak amacıyla dokular, 100 cc metil alkol ve 100 cc kloroform karışımında 48 saat süreyle bekletildi (Şekil 5)



Şekil 5: Metil alkol ve kloroform karışımında 48 saat bekletilen kartilaj

4. Desellülarizasyon amacıyla, DNA ve RNA kalıntılarının uzaklaştırılması için kıkırdak örnekleri aşağıdaki içerikte hazırlanan steril salin çözeltisinde 2 saat süreyle inkübe edildi:

- **0.5 mg/mL DNaz Tip I** (A3778.0050, PanReac AppliChem, Darmstadt, Germany)
- **50 µg/mL RNAz** (EN0531, Thermo Scientific, Vilnius, Lithuania)
- **%0.02 EDTA** (Titriplex® III) (1.08418.0100, Supelco, Merck, Darmstadt, Germany) (Şekil 6).



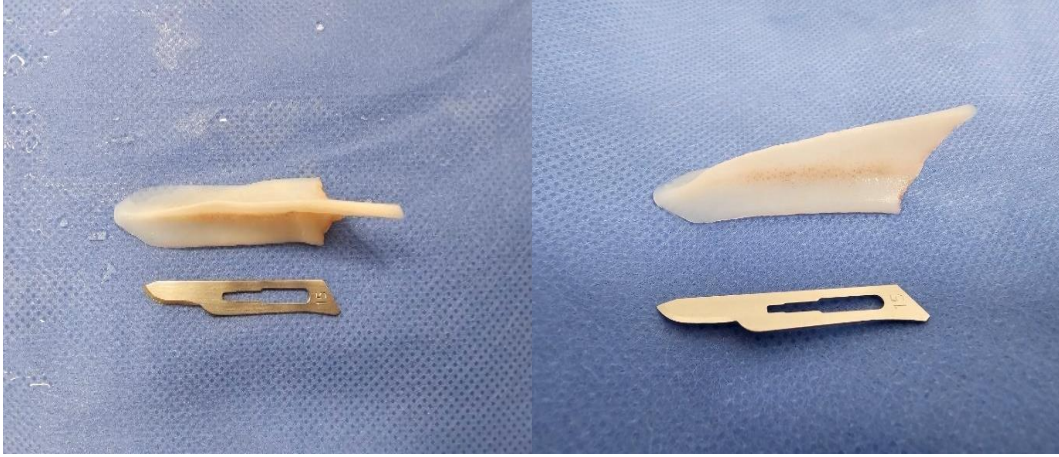
Şekil 6: DNaz Tip I, RNAz, EDTA

5. Ardından, hüresel kalıntıların uzaklaştırılması ve matrisin açığa çıkarılması amacıyla örnekler, **%2 sodyum dodesil sülfat (SDS)** (800-100-EG, MULTICELL, Wisent Inc., Canada) çözeltisinde 8 saat çalkanlandı (Şekil 7).



Şekil 7: SDS

6. Kalıntıların uzaklaştırılması için 24 saat steril salinde bekletildi (Şekil 8).



Şekil 8: Steril salin ile yıkanmış tavuk sternal kartilajı

7. Ardından @xAXIS AX-400 EO Gaz Sterilizatörü (Kordon Tıp Sağlık Araç Gereçleri Ltd. Şti., İzmir, Türkiye) ile;

4 saat boyunca %100 EtO gazına maruz bırakıldıktan sonra, 50–60 °C sıcaklıkta 12 saat süreyle havalandırıldı. Toplam sterilizasyon süresi 16 saat olarak uygulandı. İşlem süresince doku örneklerinin EtO gazı kalıntılarından tamamen arındırılması sağlandı. Sterilizasyon etkinliği, dozimetre ve biyolojik indikatörlerle kontrol edilerek doğrulandı (Şekil 9).



Şekil 9: EtO sterilizasyonu öncesi paketlenen ve sterilizasyon sonrası tavuk sternal kartilajları

8. Sonrasında 6 saat boyunca steril salinde bekletildi.
9. Ardından, her bir kıkırdak örneği  $1 \times 1.5$  cm boyutlarında standart parçalara bölündü (Şekil 10).



Şekil 10:  $1 \times 1.5$  cm'lik parçalar elde edilmek üzere kesilen 1 tavuk sternal kartilajının parçaları

10. Son aşamada, tüm ksenogreftler steril salin solüsyonunda 24 saat bekletildi ve cerrahi implantasyon öncesi kullanıma hazır hale getirildi.

### 3.2. Denekler

Bu çalışmada, ağırlıkları 2500–3000 gram arasında değişen, 4–6 aylık yaşta toplam 12 adet sağlıklı beyaz Yeni Zelanda tavşanı (*Oryctolagus cuniculus*) kullanıldı. Denekler, 22–24 °C oda sıcaklığı ve %40–60 bağıl nem oranına sahip, 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık döngüsü

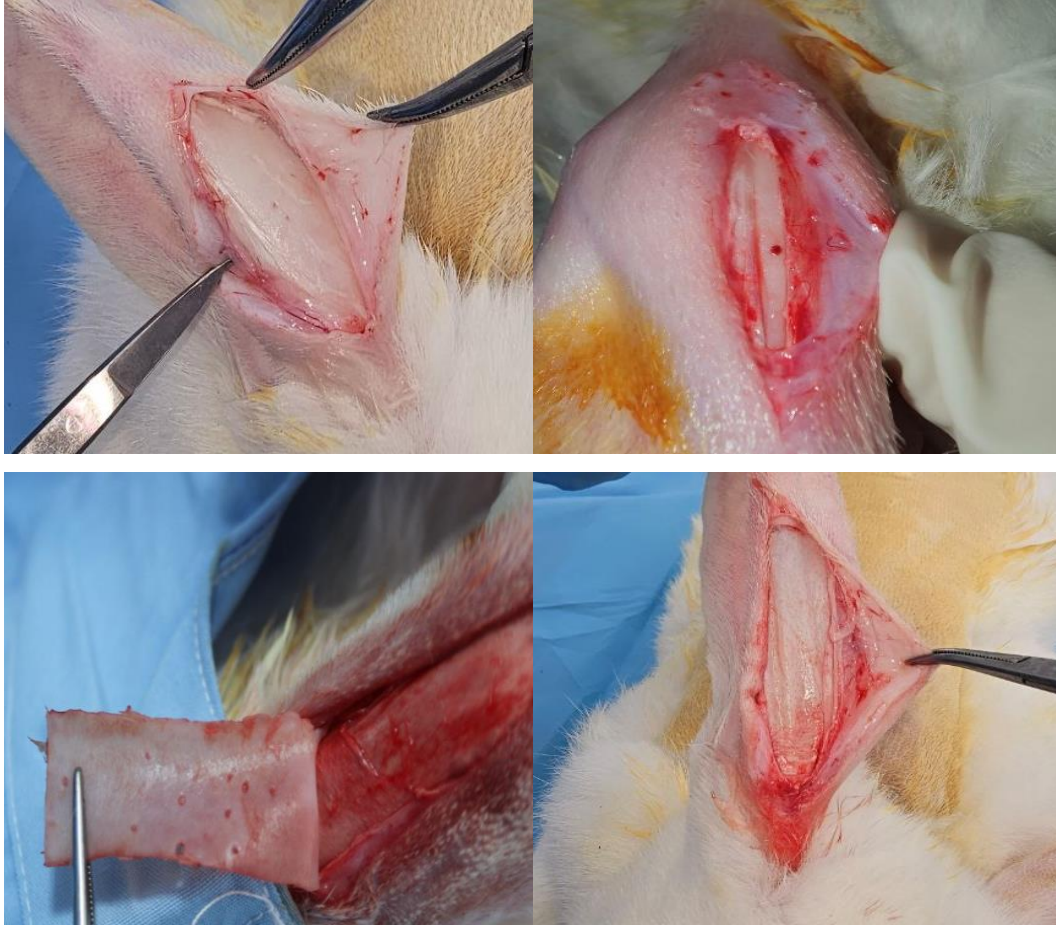
ile düzenlenmiş ortamlarda, bireysel barınaklarda muhafaza edildi. Yem ve su ad libitum (sınırsız) olarak sağlandı.

### 3.3. Cerrahi Prosedür

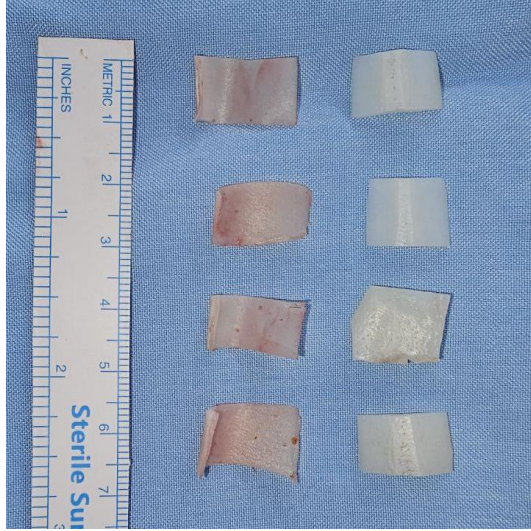
Tüm cerrahi işlemler aseptik koşullarda ve etik standartlara uygun biçimde gerçekleştirildi.

Genel anestezi amacıyla her tavşana intramüsküler yolla 5 mg/kg xylazin ve 50 mg/kg ketamin hidroklorür uygulandı. Anestezi derinliği yetersiz olduğunda, aynı karışımın 1/3'ü tekrar doz olarak verildi. Operasyon öncesi 30 mg/kg sefazolin, enfeksiyon profilaksisi için tek doz intramüsküler olarak uygulandı. Cerrahi hazırlık sürecinde, sırt bölgesi ve sağ aurikula tıraş edilerek povidon iyot ile dezenfekte edildi.

Sağ aurikulaya yapılan insizyon ile yaklaşık 5 × 1.5 cm boyutunda, perikondriumdan tamamen arındırılmış otogreft elde edildi (Şekil 11,12).

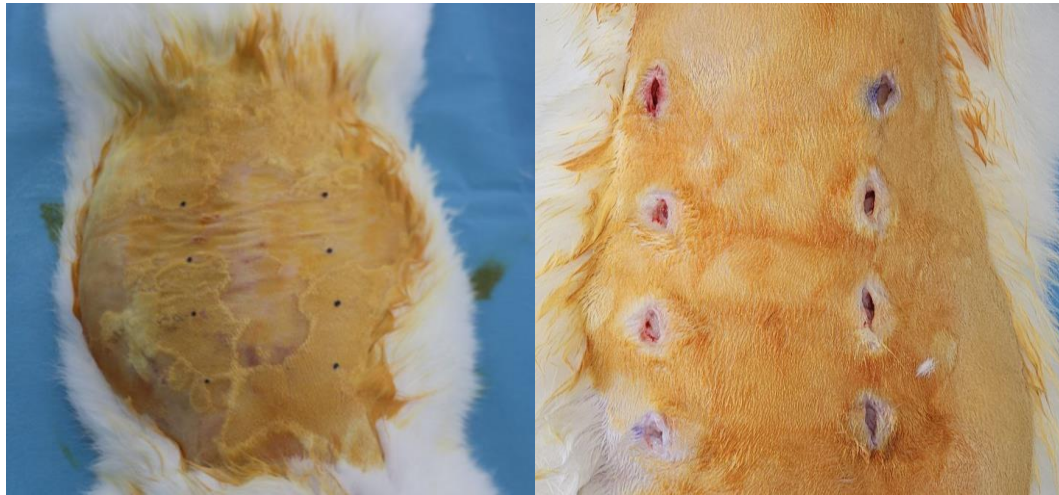


Şekil 11: Sağ aurikuladan otogreft eksizyonu



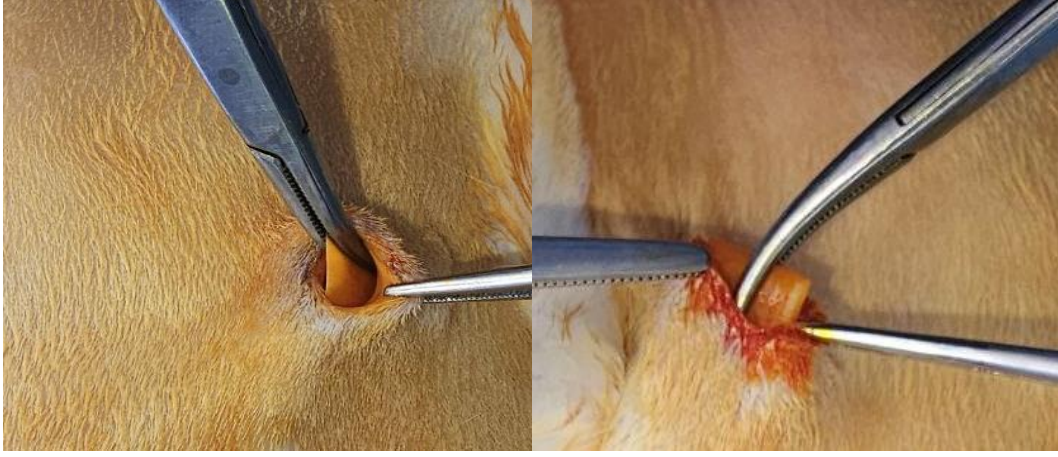
*Şekil 12: Ototogreft ve ksenogreftlerin engraftasyon için hazırlanışı*

Tavşanların sırt bölgesinde, bilateral paraspinal alanda, her biri insizyon hattından yaklaşık 1,5 cm uzaklıkta ve 2 cm aralıklarla sekiz eşit subkutan cep oluşturuldu. Greftlerin yerleştirileceği bu cepler, kırıkdağların rahatça sığabileceği şekilde flep altına hazırlandı (Şekil 13).



*Şekil 13: Tavşan sırtının implantasyona hazırlanması*

Uluslararası ISO 10993-6 standardı (Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirmesi – Bölüm 6: İmplantasyon Sonrası Lokal Etkiler İçin Testler) doğrultusunda, greftlerin çevre dokuyla etkileşimini daha doğru değerlendirebilmek amacıyla, implantasyon bölgeleri insizyon hattından en az 1,5 cm uzağa yerleştirildi. Böylece biyolojik yanıtı etkileyebilecek dış faktörler en aza indirildi (90). Ototogreftler sağ taraftaki ceplere, ksenogreftler ise sol taraftaki ceplere yerleştirildi (Şekil 14).



*Şekil 14: Greftlerin cilt altına yerleştirilmesi*

Tüm greftler implante edildikten sonra, insizyon alanları 4/0 prolene ile primer suture edildi (Şekil 15).



*Şekil 15: İmplantasyon sonrası sutureasyon*

Postoperatif dönemde greft bölgelerinde herhangi bir komplikasyon gözlenmedi. Denekler, işlem sonrası 120 gün boyunca özel bakım protokollerine uygun olarak izlendi.

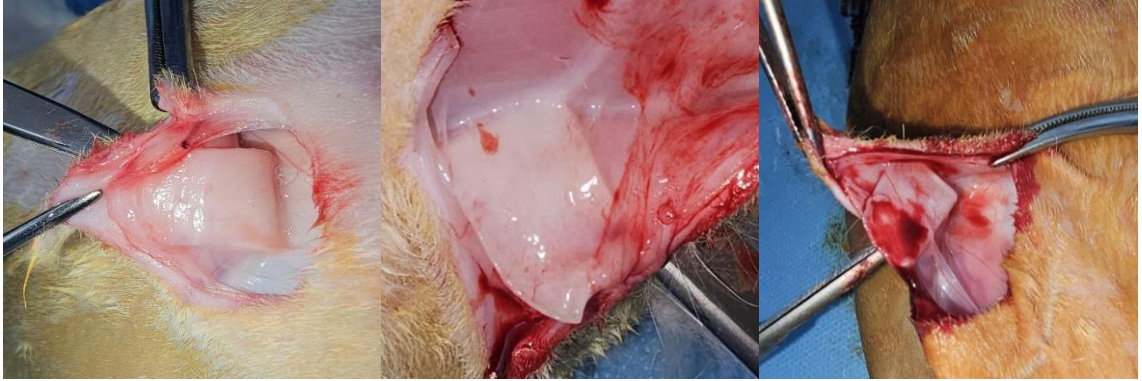
### **3.4. Çalışma Grupları**

- **Otogreft Grubu:** Sağ aurikuladan elde edilen, perikondriumdan arındırılmış otolog kıkırdak dokuları

- **Ksenogreft Grubu:** Tavuk sternumundan elde edilerek EtO ile sterilize edilmiş heterolog kıkırdak dokuları
- **Kontrol Grubu:** Her gruptan birer kıkırdak parçası herhangi bir işlem uygulanmaksızın saklandı ve histopatolojik karşılaştırmada referans olarak kullanıldı.

### 3.5. Eksplantasyon ve Takip Süreci

İşlemden sonraki 1. hafta, 1, 3 ve 4. aylarda, tavşanlara aynı anestezi protokolü uygulanarak eksplantasyon işlemi gerçekleştirildi. Her zaman noktasında, bir otogreft ve bir ksenogreft uygun şekilde çıkarılarak histopatolojik incelemeye gönderildi. Eksplantasyon sırasında sırt bölgesi tıraş edilip povidon iyot ile dezenfekte edildi. Greftlerin yerleri palpasyonla belirlendikten sonra, kıkırdak dokusunun üzerindeki cilt ve altındaki yumuşak dokuyu içeren oval insizyonlar yapıldı (Şekil 16,17). Greft çıkarıldıktan sonra kesi alanı uygun cerrahi tekniklerle kapatıldı.



Şekil 16: Otogreftlerin eksplantasyonu



Şekil 17: Ksenogreftlerin eksplantasyonu

### 3.6. Histopatolojik Analiz

Tüm örnekler, %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda ayrı ayrı olacak şekilde fikse edilerek patoloji laboratuvarına gönderildi. Rutin doku takip ve bloklama işlemlerinin ardından, parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı.

Hazırlanan kesitler, aşağıdaki boyama yöntemleri ile değerlendirildi:

- **Hematoksilen-Eozin (H&E):** Kondrosit nükleus kaybı, periferik kondrosit proliferasyonu, internal ve/veya periferik vaskülarizasyon, inflamasyon, fragmentasyon, dev hücre oluşumu, kemik metaplazisi, kalsifikasyon, fibrozis ve greft rezorpsiyonu parametreleri analiz edildi.
- **Masson Trichrome (MTK):** Matriksin kolajen içeriği değerlendirildi. Kolajen fibrilleri mavimsi renkte boyandı.
- **Toluidin Blue (TB):** Matriks metakromazisi açısından değerlendirildi.
- **Alcian Blue (AB):** GAG içeriği analiz edildi.
- **GFAP immünohistokimyasal boyama:** Kondrositlerin rejenerasyon potansiyeli değerlendirildi. Sitoplazmada gözlenen kahverengi boyanma, ara filamentler için pozitif GFAP sinyalini gösterdi. GFAP'nin olgun kondrositlerde negatif saptanması, rejenerasyonun gerçekleşmediğini ortaya koydu (91,92).

Tüm preparatlar, Olympus BX53 ışık mikroskobu (*Olympus, Tokyo, Japan*) kullanılarak değerlendirildi.

#### Değerlendirilen Histopatolojik Parametreler

1. Kondrosit nükleus kaybı
2. Periferik kondrosit proliferasyonu
3. İnternal/periferik vaskülarizasyon
4. İnflamasyon
5. Fragmentasyon
6. Dev hücre oluşumu
7. Kemik metaplazisi
8. Kalsifikasyon

9. Fibrozis
10. Greft rezorpsiyonu
11. GAG miktarı korunması
12. Matriks kolajen içeriği
13. Matriks metakromazi kaybı
14. Rejenerasyon kapasitesi

Tüm parametreler, Topkara ve arkadaşlarının yöntemiyle benzer şekilde, dokunun analiz edilen yüzdesine göre aşağıdaki sistemle puanlandı (91):

<b>Oran (%)</b>	<b>Derece</b>
%0.....	0
%1–25.....	1+
%26–50.....	2+
%51–75.....	3+
%76–100.....	4+

Histolojik değerlendirme, örneklerin ait olduğu gruplar gizli tutularak deneyden bağımsız deneyimli bir patolog tarafından yapıldı.

### **3.7. Veri Analizi**

Verileri SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 25.0 paket programı ile analiz edildi. Tanımlayıcı analizlerde frekans verileri sayı (n) olarak, sayısal veriler ortanca (minimum-maximum) ile verildi. Bağımlı ikiden fazla grupta ordinal verilerin dağılımı Friedman testi, bağımlı iki grupta sayısal verilerin dağılımı Wilcoxon işaretli sıra testi kullanılarak değerlendirildi. Bağımsız iki grupta ordinal verilerin dağılımı Mann Whitney U karşılaştırıldı. Tekrarlayan verilerin gruplar arasında zamanla değişimi Repeated Measure ANOVA testi ile değerlendirildi.

Tüm testler için istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

(Post-hoc analizlerde gruplar arası çoklu karşılaştırmalar yapılmış, ancak Bonferroni düzeltmesi uygulanmamıştır. Bu tercih, çalışmanın farklı zaman ve greft tipi değişkenlerinin etkilerini geniş kapsamlı değerlendirme amacıyla yapılmıştır. Bu nedenle elde edilen p-değerleri düzeltilmesiz sunulmuş, yorumlarda ise Tip I hata olasılığı dikkate alınmıştır.)

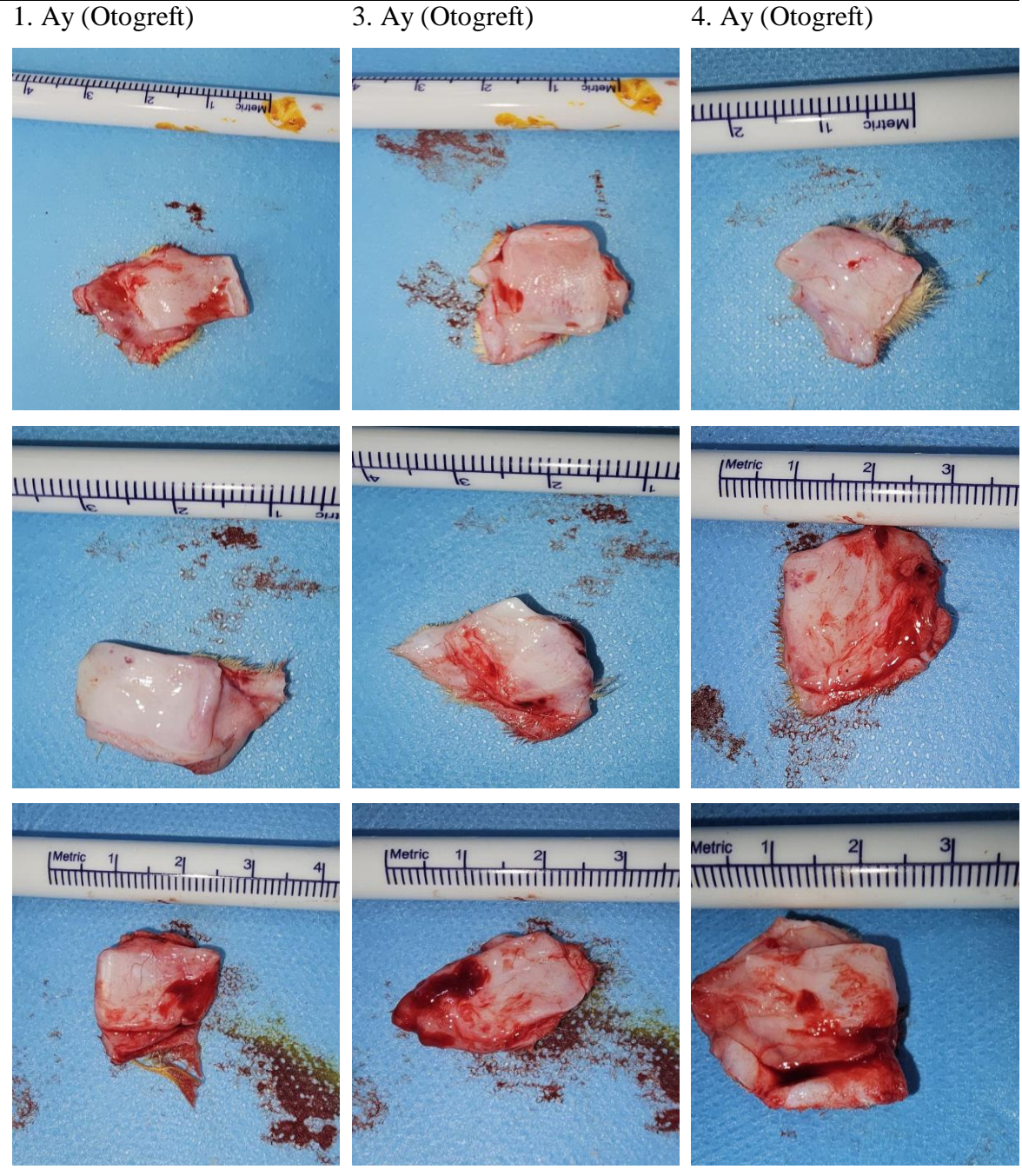
## **4. BULGULAR**

### **4.1. Makroskopik Gözlem**

Tüm greftler, çıkarıldıkları zaman noktasından bağımsız olarak eksplantasyon sırasında yerlerinde gözlemlendi. Sadece 12. deneğin 1. ve 3. ay greftlerinde tam rezorpsiyon saptandı; bu iki greft çıkarılmak istendiğinde dokuda anlamlı kıkırdak dokusu izlenemedi. Diğer tüm örneklerde greft dokusu makroskopik olarak korundu. Ancak bazı greftlerde hacimsel küçülme meydana geldiği tespit edildi. Bu hacimsel küçülmenin zamana bağlı sistematik bir desen göstermediği; bireysel biyolojik farklılıklarla ilişkili olduğu gözlemlendi.

Örneğin, bazı tavşanlarda greftler 4 ay boyunca belirgin bütünlüğünü korurken, bazı bireylerde her dönemde farklı derecelerde hacimsel azalma izlendi. Makroskopik görünüm açısından rastgele seçilen üç deneğe ait 1, 3 ve 4. ayda elde edilen greft görselleri aşağıda sunuldu (Şekil 18, 19). Bu örnekler, zaman içinde greft hacmindeki bireysel değişkenliği gösterdi. Gözlenen hacim kaybının standart ölçülebilir kriterlerle sayısallaştırılamaması ve subjektif değerlendirmeye dayanması nedeniyle bu veriler için istatistiksel analiz yapılmadı.

Ayrıca, 10. ve 12. deneklerde 4. ayda eksplantasyonu planlanan greftler yerinde gözlemlendi ve makroskopik bütünlüklerini korudukları belirlendi. Ancak bu greftlerin çevre dokularında yaygın inflamasyon saptandı. Oysa bu deneklerde üçüncü ay takiplerinde herhangi bir enfeksiyon bulgusu izlenmemiştir (Şekil 20).

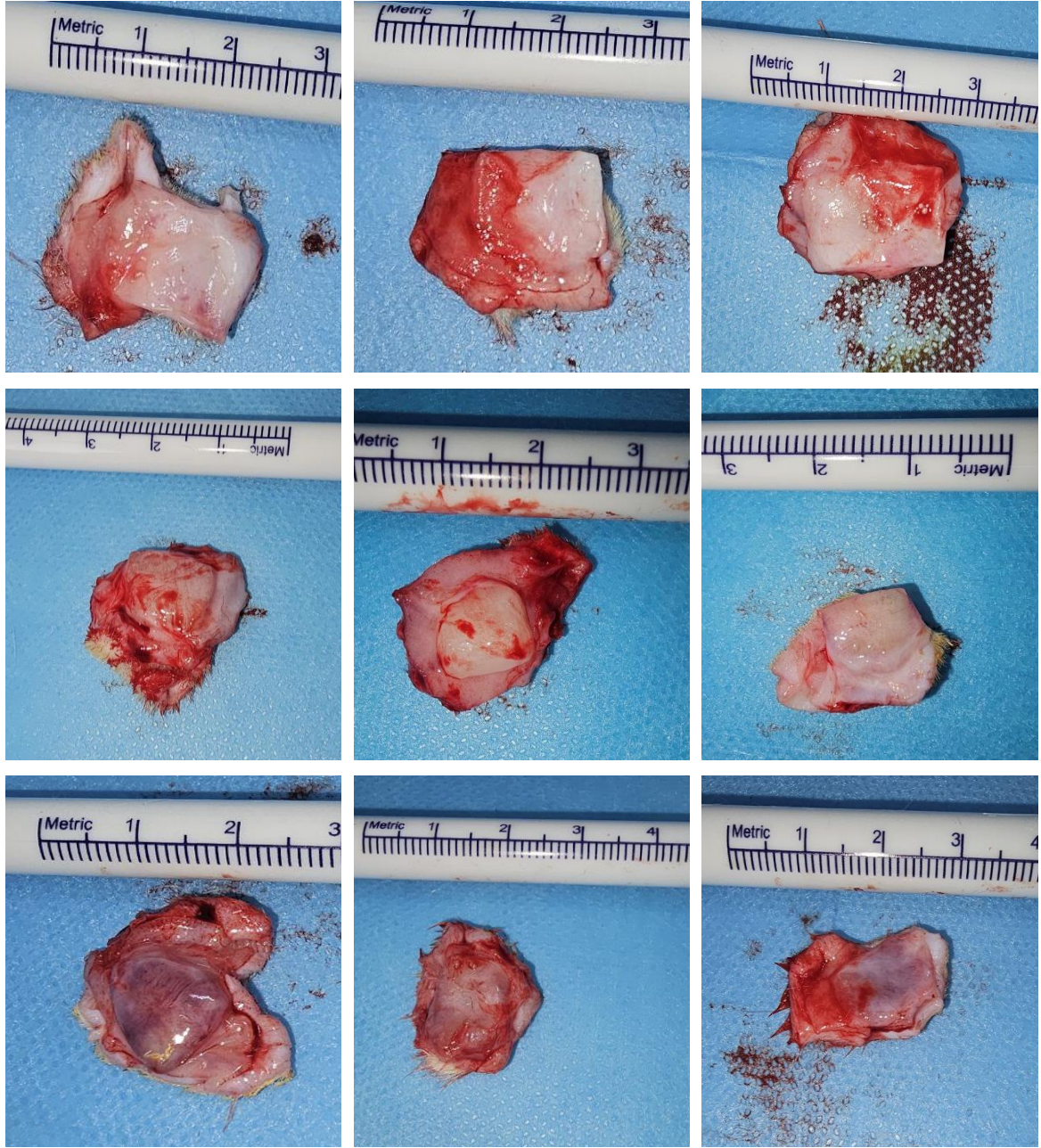


Şekil 18: Otogreft grubuna ait aynı üç deneğin greftlerinin 1., 3. ve 4. ay makroskopik görünüşleri. ( Üst satır: Denek 2; Orta satır: Denek 5; Alt satır: Denek 8). Görseller, zaman içinde greft hacminde oluşan bireysel farklılıkları yansıtmaktadır.

1. Ay (Ksenogreft)

3. Ay (Ksenogreft)

4. Ay (Ksenogreft)

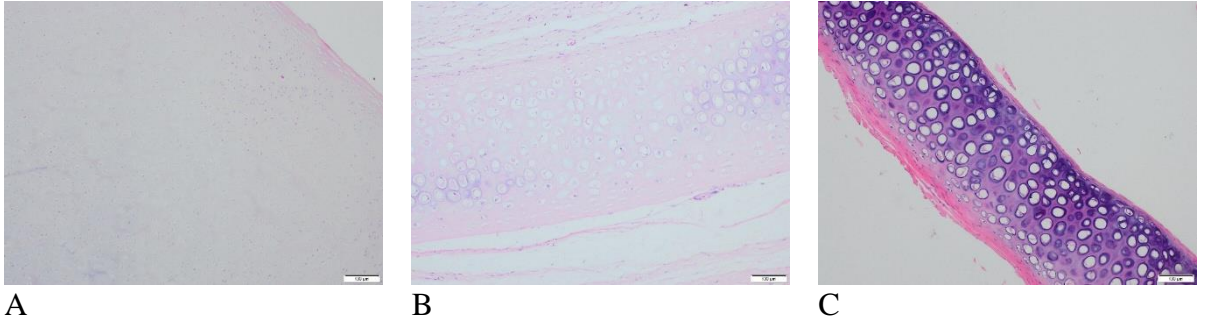


Şekil 19: Rastgele seçilen üç farklı deneye ait ksenogreftlerin 1., 3. ve 4. aylardaki makroskopik görünümleri. ( Üst satır: Denek 2; Orta satır: Denek 5; Alt satır: Denek 8). Görseller, zaman içinde greft hacminde oluşan bireysel farklılıkları yansıtmaktadır.

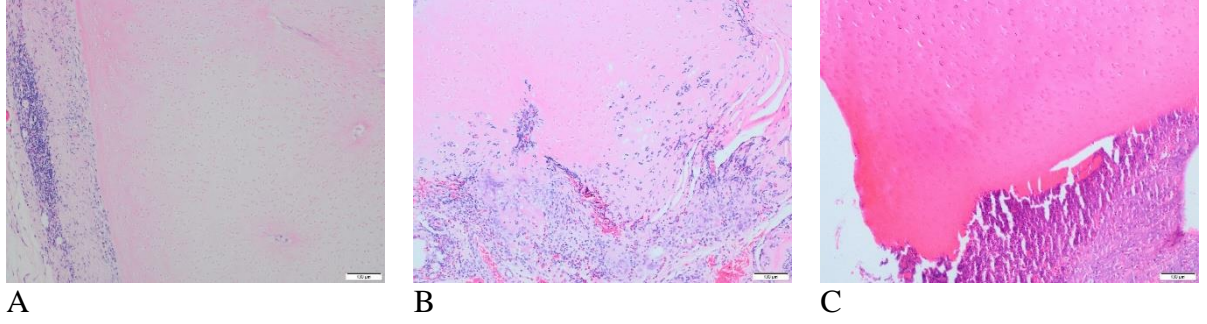


Şekil 20: 12. deneğin 4. ayındaki greft bölgesinden alınan örnekte görülen yoğun inflamatuvar yanıt.

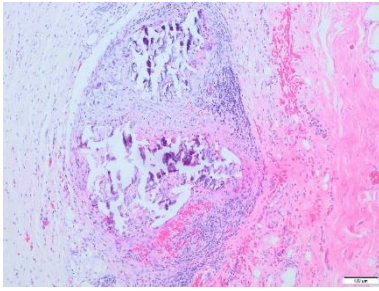
#### 4.2. Mikroskopik Gözlem



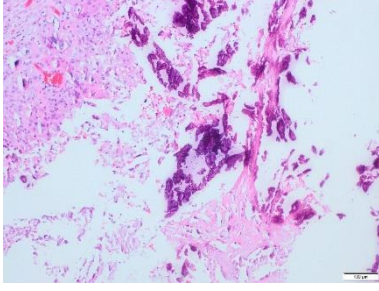
Şekil 21: Farklı canlılık düzeylerine sahip greft örnekleri A: Ksenogreftte, kondrosit lakünleri belirgin şekilde kaybolmuş, hücresel yapı silinmiş ve ECM'de yaygın solukluk izlenmiştir. Bu tablo, canlılığını tamamen yitirmiş devitalize bir kıkırdak dokusunu yansıtmaktadır. B: Düşük düzeyde hücresel yoğunluk ve canlılık gösteren otogreft materyali izlenmektedir. C: Morfolojik bütünlüğü korunmuş, yüksek hücresel organizasyona sahip canlı bir otogreft yapısı görülmektedir (A,B,C: HE, x100 büyütme, Olympus BX53).



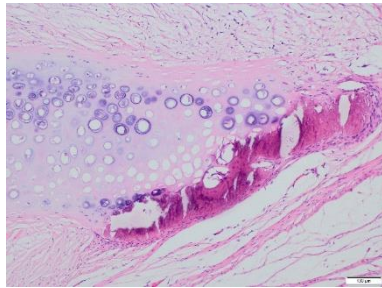
Şekil 22: Greft İnflamatuvar yanıt düzeylerini gösteren ksenogreft örnekleri A: Greft çevresinde minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmekte olup, kondrosit çekirdek yapıları korunmuş, ECM düzeni büyük ölçüde devam etmektedir. Bu tablo, düşük şiddette inflamatuvar yanıtla uyumlu bir ksenogreft materyalini göstermektedir. B: Grefti çevreleyen ve yer yer içine ilerleyen lökosit infiltrasyonu, ödem ve ECM organizasyonunda bozulma ile inflamasyon şiddetlenmiştir. C: Yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu, apse oluşumu ve nekrotik alanlar izlenmekte; bu görünüm, ileri düzeyde inflamasyon gelişmiş bir ksenogreft materyalini temsil etmektedir (A,B,C: HE, x100 büyütme, Olympus BX53).



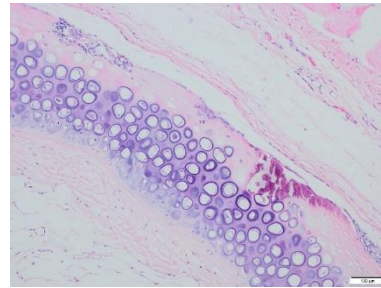
Şekil 23: Yüksek derecede doku yıkımı içeren ksenogreft örneği. Kıkırdak dokunun yapısal bütünlüğü ileri düzeyde bozulmuş, lakün yapıları kaybolmuş ve greft materyali çevreden ayrılmıştır. Amorf yapılar içerisinde parçalanmış kıkırdak segmentleri ve yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmektedir. Bu tablo, canlılığını kaybetmiş ve fragmente olmuş bir ksenogreft materyalini göstermektedir (Fragmentasyon skoru 4) (HE, x100 büyütme, Olympus BX53).



Şekil 24: Dev hücreli iltihabi granülasyon dokusu gelişen ksenogreft örneği. Çok çekirdekli dev hücreler, kıkırdak matriks kalıntıları etrafında kümelenmiş olup, yabancı cisim tipinde iltihabi granülasyon paternini yansıtmaktadır (HE, x100 büyütme, Olympus BX53).

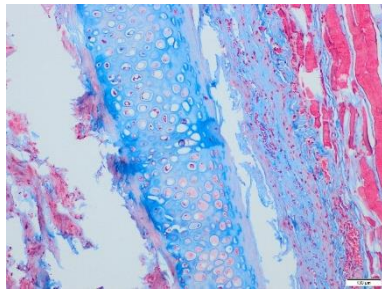


A

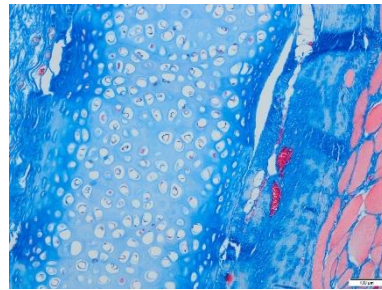


B

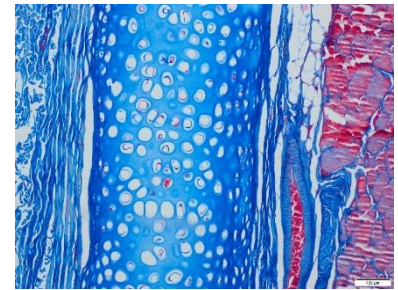
Şekil 25: Otogreftlerde ossifikasyon sürecine ait bulgular. A: Lakünler arasında mineralize alanlar ve kemik benzeri eozinofilik matriks odakları izlenmektedir. Bu tablo, erken ossifikasyon sürecine giren bir otogreft materyalini göstermektedir. B: Yaygın kalsifikasyon alanları, matriks yoğunluğunda artış ve yer yer hücresel organizasyon bozuklukları ile karakterizedir (A,B: HE, x100 büyütme, Olympus BX53).



A

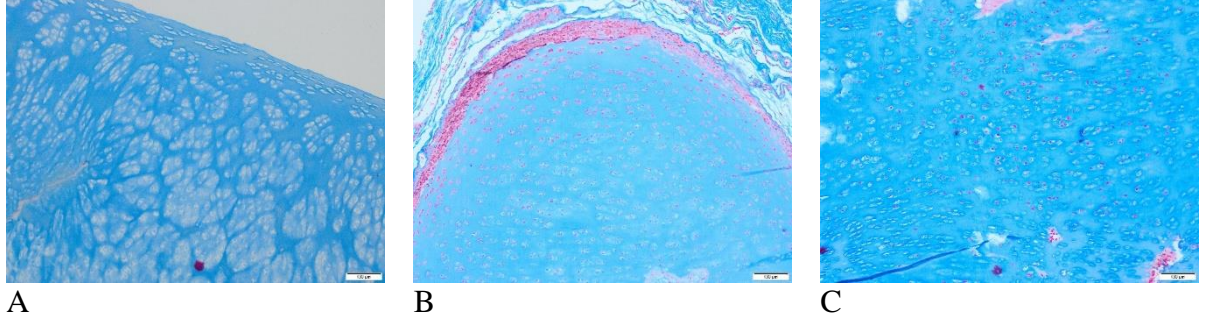


B

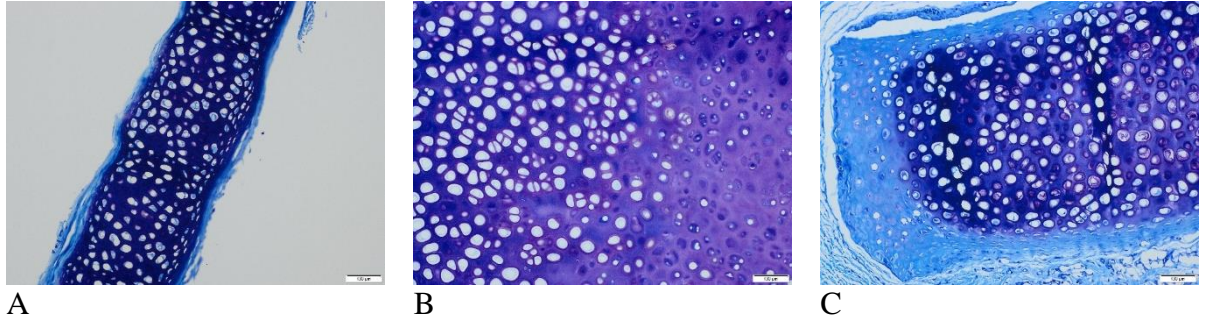


C

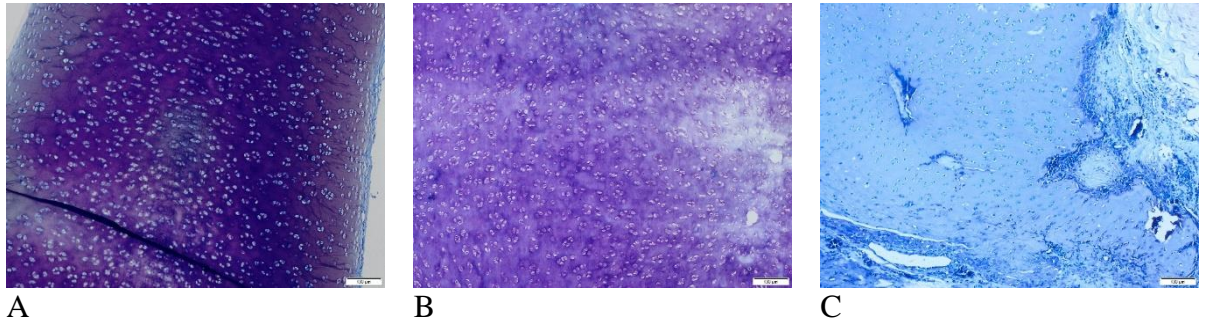
Şekil 26: Otogreftlerde kolajen içeriğinin değerlendirilmesi. A: Düşük kolajen boyanması ve bozulmuş ECM organizasyonu (Skor 1). B: Orta düzeyde kolajen boyanması ve kısmen korunmuş doku düzeni (Skor 2). C: Homojen ve yoğun kolajen boyanması ile yüksek ECM bütünlüğü gösteren iyi organize olmuş bir otogreft materyali (Skor 3) (A,B,C: MTK, x100 büyütme, Olympus BX53).



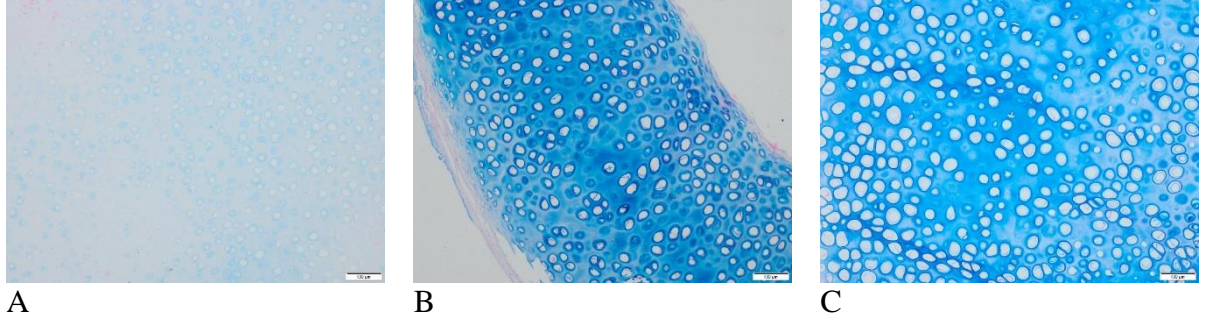
Şekil 27: Ksenogreftlerde kolajen yapısının değerlendirilmesi. A: Minimal kolajen boyanması, zayıf ECM organizasyonu (Skor 1). B: Homojen kolajen dağılımı ile kısmen korunmuş dokusal bütünlük (Skor 2). C: Yoğun ve kesintisiz kolajen boyanması ile yapısal stabiliteyi yansıtan bir ksenogreft (Skor 3) (A,B,C: MTK, x100 büyütme, Olympus BX53).



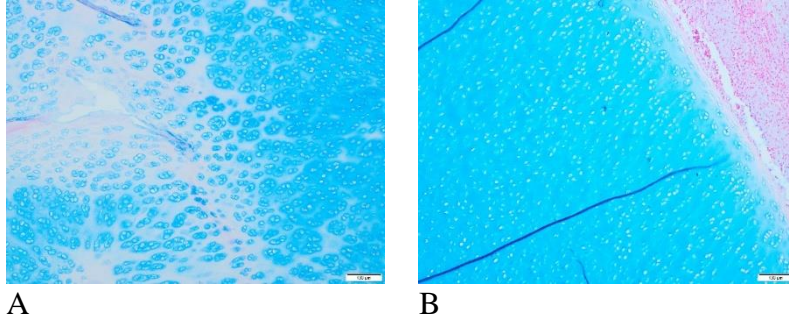
Şekil 28: Ototogreftlerde matrix metakromazi kaybının değerlendirilmesi. A: Homojen, koyu mor-menekşe metakromazi (Skor 0). B: Düzensiz ve zayıflamış mor tonlar (Skor 2). C: Belirgin metakromazi kaybı ve soluk ECM boyanması (Skor 3) (A,B,C: TB, x100 büyütme, Olympus BX53).



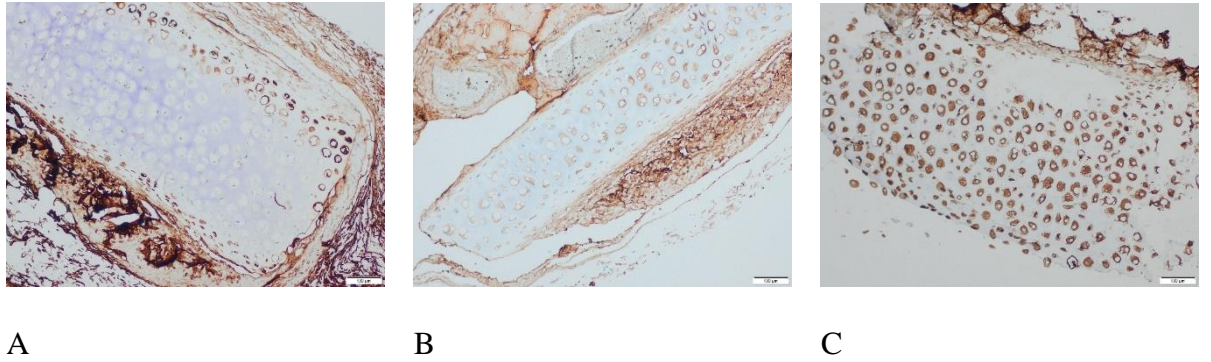
Şekil 29: Ksenogreftlerde matrix metakromazi kaybının değerlendirilmesi. A: Yaygın, homojen metakromazi (Skor 0). B: Solukluk ve renk yoğunluğunda azalma (Skor 2). C: Şiddetli metakromazi kaybı ve neredeyse hiç boyanma olmayan ECM görünümü (Skor 4) (A,B,C: TB, x100 büyütme, Olympus BX53).



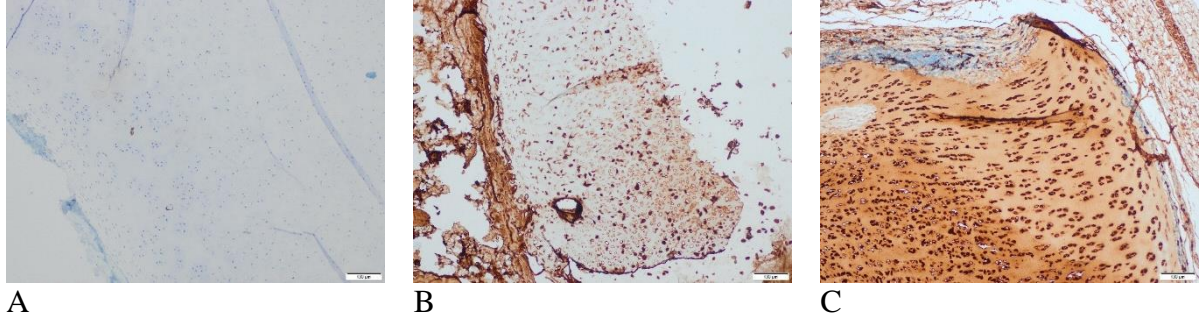
Şekil 30: Otogreftlerde GAG varlığının değerlendirilmesi. A: Düşük ve düzensiz boyanma, azalmış GAG (Skor 1). B: Homojen boyanma ve korunmuş GAG içeriği (Skor 2). C: Yaygın, yoğun mavi boyanma ile yüksek GAG içeriği ve biyouyumluluk (Skor 3) (A,B,C: AB, x100 büyütme, Olympus BX53).



Şekil 31: Ksenogreftlerde GAG varlığının değerlendirilmesi. A: Lokalize güçlü boyanma ile orta düzeyde GAG korunumu (Skor 2). B: Yaygın ve homojen mavi boyanma ile GAG varlığı (Skor 4) (A,B: HE, x100 büyütme, Olympus BX53).



Şekil 32: Otogreftlerde rejenerasyon kapasitesinin immünohistokimyasal değerlendirilmesi. A: Zayıf sitoplazmik GFAP boyanması, düşük rejeneratif aktivite (Skor 1). B: Artmış ancak dağınık pozitif GFAP boyanma alanları (Skor 2). C: Homojen ve yaygın GFAP ekspresyonu ile yüksek rejeneratif kapasite (Skor 4) (A,B,C: GFAP, x100 büyütme, Olympus BX53).



Şekil 33: Ksenogreftlerde rejenerasyon kapasitesinin immünohistokimyasal değerlendirilmesi. A: Pozitif boyanma izlenmemiştir, anlamlı rejeneratif yanıt yoktur (Skor 0). B: Odaklanmış GFAP pozitifliği ile orta düzeyde rejeneratif yanıt (Skor 2). C: Yaygın ve homojen GFAP ekspresyonu ile yüksek rejeneratif kapasite (Skor 4) (A,B,C: HE, x100 büyütme, Olympus BX53).

Otogreft grubuna ait histopatolojik parametrelerin zamana göre dağılımı Tablo 1’de, ksenogreft grubuna ait veriler ise Tablo 2’de sunulmuştur. Kontrol grubu yalnızca işlem görmemiş ve çevre dokuyla teması olmayan kıkırdak dokularından oluştuğundan, bu grupta periferik vaskülarizasyon değerlendirmesi yapılamamıştır.

Ksenogreft kontrol grubundaki örneklerde ise rejeneratif kapasiteyi değerlendirmek amacıyla uygulanan GFAP immünohistokimyasal boyama yöntemi teknik olarak yetersiz kalmıştır; sitoplazmada pozitif boyanma izlenmediğinden, bu örneklerde rejeneratif yanıt analizi gerçekleştirilememiştir.

Ayrıca 12 numaralı deneğin 2. ve 3. ay greftlerinde histopatolojik inceleme için yeterli miktarda kıkırdak dokusu bulunamamıştır. 10. ve 12. deneklere ait 4. ay greftlerinde ise, yoğun inflamasyona bağlı olarak çevre dokular net şekilde seçilememiştir. Bu nedenle bu örneklerde periferik vaskülarizasyon parametresi puanlamaya dahil edilmemiştir.

Otogreft olan kontrol grubunun tamamında kondrosit nükleus kaybı 0; Grup I’de 7’sinde 0, 5’inde 1+, Grup II’de 10’unda 1+, 1’inde 2+, 1’inde 3+, Grup III’te 1’inde 0, 4’ünde 1+, 4’ünde 2+, 3’ünde 3+, Grup IV’te 6’sında 1+, 3’ünde 2+, 2’sinde 3+ ve 1’inde 4+ olarak bulunmuştur. Otogreft olan kontrol grubunun tamamında inflamasyon 0; Grup I’de 1’inde 0, 7’sinde 1+, 3’ünde 2+, 1’inde 3+, Grup II’de 3’ünde 0, 4’ünde 1+, 5’inde 2+, Grup III’te 9’unda 0, 2’sinde 1+, 1’inde 2+, Grup IV’te 4’ünde 0, 7’sinde 1+ ve 1’inde 4+ olarak bulunmuştur. Kontrol grubundaki örnekler yalnızca işlem görmemiş kıkırdak dokularından oluştuğu ve çevre dokuyla temas etmediği için bu grupta periferik vaskülarizasyon parametresi değerlendirilememiştir.

Ksenogreft grubunda kondrosit nükleus kaybı; kontrol grubunda 2'sinde 0, 8'inde 1+, 2'sinde 2+; Grup I'de 11'inde 1+, 1'inde 2+; Grup II'de 1'inde 2+, 1'inde 3+, 9'unda 4+; Grup III'te 11'inde 4+; Grup IV'te tamamında 4+ olarak değerlendirilmiştir. Ksenogreft grubunda inflamasyon; Grup I'de 1'inde 1+, 6'sında 2+, 5'inde 3+; Grup II'de 6'sında 2+, 3'ünde 3+, 2'sinde 4+; Grup III'te 1'inde 1+, 7'sinde 2+, 2'sinde 3+, 1'inde 4+; Grup IV'te 1'inde 1+, 4'ünde 2+, 3'ünde 3+, 4'ünde 4+ olarak tespit edilmiştir.

Tablo 1: Ototogreft Grubunda Histopatolojik Bulguların Dağılımı

	Kontrol (n=12)					Grup I (n=12)					Grup II (n=12)					Grup III (n=12)					Grup IV (n=12)				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
<b>Kondrosit Nükleus Kaybı</b>	12	-	-	-	-	7	5	-	-	-	-	10	1	1	-	1	4	4	3	-	-	6	3	2	1
<b>Periferik Proliferasyon</b>	11	1	-	-	-	-	9	3	-	-	1	8	3	-	-	2	8	2	-	-	2	8	2	-	-
<b>İnternal Vaskülarizasyon</b>	12	-	-	-	-	12	-	-	-	-	12	-	-	-	-	11	1	-	-	-	12	-	-	-	-
<b>Periferik Vaskülarizasyon</b>	-	-	-	-	-	2	7	2	1	-	-	8	-	-	4	3	9	-	-	-	1	10	1	-	-
<b>İnflamasyon</b>	12	-	-	-	-	1	7	3	1	-	3	4	5	-	-	9	2	1	-	-	4	7	-	-	1
<b>Fragmentasyon</b>	12	-	-	-	-	11	1	-	-	-	12	-	-	-	-	9	3	-	-	-	10	1	1	-	-
<b>Dev Hücre</b>	12	-	-	-	-	10	2	-	-	-	8	4	-	-	-	10	2	-	-	-	10	2	-	-	-
<b>Kemik Metaplazi</b>	12	-	-	-	-	12	-	-	-	-	10	1	-	-	1	12	-	-	-	-	9	3	-	-	-
<b>Kalsifikasyon</b>	12	-	-	-	-	11	1	-	-	-	9	2	-	-	1	10	2	-	-	-	8	4	-	-	-
<b>Fibrozis</b>	12	-	-	-	-	4	7	1	-	-	1	6	5	-	-	2	7	3	-	-	1	7	4	-	-
<b>Greft Rezorbsiyonu</b>	12	-	-	-	-	11	1	-	-	-	10	2	-	-	-	5	7	-	-	-	4	7	1	-	-
<b>GAG Miktarı Korunması</b>	-	-	-	3	9	-	-	-	8	4	-	-	3	9	-	-	-	4	8	-	-	1	5	6	-
<b>Matrix Kolajen İçeriği</b>	-	1	10	1	-	-	1	8	3	-	-	6	4	2	-	-	-	7	5	-	-	3	3	5	1
<b>Matrix Metakromazisi Kaybı</b>	12	-	-	-	-	8	4	-	-	-	-	6	5	1	-	-	6	5	1	-	-	7	4	-	1
<b>Rejenerasyon Kapasitesi</b>	-	2	2	6	2	-	4	6	2	-	-	6	-	5	1	-	7	1	3	1	1	6	2	-	3

Tablo 2: Ksenogreft Grubunda Histopatolojik Bulguların Dağılımı

	Kontrol (n=12)					Grup I (n=12)					Grup II (n=12)					Grup III (n=12)					Grup IV (n=12)				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
<b>Kondrosit Nükleus Kaybı</b>	2	8	2	-	-	-	11	1	-	-	-	-	1	1	9	-	-	-	-	11	-	-	-	-	12
<b>Periferel Proliferasyon</b>	12	-	-	-	-	10	2	-	-	-	4	6	1	-	-	3	6	1	1	-	4	4	1	3	-
<b>İnternal Vaskülarizasyon</b>	1	3	3	3	-	-	5	4	3	-	4	2	5	-	-	2	7	2	-	-	2	7	3	-	-
<b>Periferel Vaskularizasyon</b>	-	-	-	-	-	-	2	7	2	1	-	-	3	8	-	-	1	5	4	1	-	3	4	3	-
<b>İnflamasyon</b>	-	-	-	-	-	-	1	6	5	-	-	-	6	3	2	-	1	7	2	1	-	1	4	3	4
<b>Fragmentasyon</b>	-	5	1	5	1	8	4	-	-	-	5	-	-	3	3	4	2	-	1	4	5	-	2	-	5
<b>Dev Hücre</b>	12	-	-	-	-	10	2	-	-	-	-	4	2	4	1	-	3	6	2	-	2	3	5	1	1
<b>Kemik Metaplazi</b>	12	-	-	-	-	12	-	-	-	-	11	-	-	-	-	11	-	-	-	-	11	1	-	-	-
<b>Kalsifikasyon</b>	12	-	-	-	-	12	-	-	-	-	8	-	1	1	1	9	-	2	-	-	10	1	-	-	1
<b>Fibrozis</b>	12	-	-	-	-	1	8	3	-	-	-	1	7	3	-	1	5	4	1	-	3	3	3	3	-
<b>Greft Rezorbsiyonu</b>	12	-	-	-	-	6	5	1	-	-	1	4	-	4	3	1	1	5	1	4	-	3	3	3	3
<b>GAG Miktarı Korunması</b>	-	-	3	8	1	-	-	2	3	7	1	5	2	4	-	5	4	3	-	-	3	7	2	-	-
<b>Matrix Kolajen İçeriği</b>	-	4	4	4	-	-	-	6	6	-	1	2	7	2	-	1	2	5	4	-	1	3	6	2	-
<b>Matrix Metakromazisi Kaybı</b>	3	5	3	1	-	7	5	-	-	-	-	2	4	4	2	-	-	6	1	5	-	1	4	3	4
<b>Rejenerasyon Kapasitesi</b>	-	-	-	-	-	-	1	2	5	4	1	1	-	4	6	3	1	-	2	6	3	-	-	2	7

### **4.3. Ototogreft Grubu**

Ototogreft grubuna ait histopatolojik bulguların zamana bağlı değişimi, kontrol, 1 hafta (Grup I), 1 ay (Grup II), 3 ay (Grup III) ve 4 ay (Grup IV) olmak üzere beş farklı grupta değerlendirilmiş ve bu bulgular Tablo 3'te karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre; kondrosit nükleus kaybı ( $p<0,001$ ), periferal proliferasyon ( $p<0,001$ ), periferal vaskülarizasyon ( $p=0,019$ ), inflamasyon ( $p<0,001$ ), fibrozis ( $p<0,001$ ), greft rezorbsiyonu ( $p<0,001$ ), GAG miktarının korunması ( $p<0,001$ ) ve matriks metakromazisi ( $p<0,001$ ) parametrelerinde gruplar arasında anlamlı düzeyde fark tespit edilmiştir.

### **4.4. Ksenogreft Grubu**

Ksenogreft grubuna ait histopatolojik bulgular, kontrol, 1 hafta (Grup I), 1 ay (Grup II), 3 ay (Grup III) ve 4 ay (Grup IV) olmak üzere beş farklı zaman noktasında değerlendirilmiş ve karşılaştırmalı veriler Tablo 4'te sunulmuştur.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre; kondrosit nükleus kaybı ( $p<0,001$ ), periferal proliferasyon ( $p<0,001$ ), inflamasyon ( $p<0,001$ ), fibrozis ( $p<0,001$ ), greft rezorbsiyonu ( $p<0,001$ ), GAG miktarının korunması ( $p<0,001$ ) ve matriks metakromazisi ( $p<0,001$ ) parametrelerinde gruplar arasında anlamlı düzeyde fark saptanmıştır.

Tablo 3: Ototogreft Grubunda Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması

	OTOGREFT GRUBU					p*	Post-hoc p value**									
	Kontrol (n=12) <sup>A</sup>	Grup I (n=12) <sup>B</sup>	Grup II (n=12) <sup>C</sup>	Grup III (n=12) <sup>D</sup>	Grup IV (n=12) <sup>E</sup>		p <sup>A-B</sup>	p <sup>A-C</sup>	p <sup>A-D</sup>	p <sup>A-E</sup>	p <sup>B-C</sup>	p <sup>B-D</sup>	p <sup>B-E</sup>	p <sup>C-D</sup>	p <sup>C-E</sup>	p <sup>D-E</sup>
<b>Kondrosit Nükleus Kaybı</b>	0 (0-0)	0 (0-1)	1 (1-3)	2 (0-3)	1,5 (1-4)	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,025</b>	<b>0,001</b>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	<b>0,014</b>	<b>0,011</b>	<b>0,007</b>	0,141	0,176	0,655
<b>Periferel Proliferasyon</b>	0 (0-1)	1 (1-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,004</b>	<b>0,008</b>	<b>0,005</b>	0,655	0,180	0,180	0,414	0,414	1,000
<b>İnternal Vaskülarizasyon</b>	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-0)	0,406	1,000	1,000	0,317	1,000	1,000	0,317	1,000	0,317	1,000	0,317
<b>Periferel Vaskülarizasyon</b>	-	1 (0-3)	1 (1-4)	1 (0-1)	1 (0-2)	<b>0,019</b>	-	-	-	-	0,126	0,096	0,414	<b>0,026</b>	<b>0,039</b>	0,083
<b>İnflamasyon</b>	0 (0-0)	1 (0-3)	1 (0-2)	0 (0-2)	1 (0-4)	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,006</b>	0,102	<b>0,007</b>	0,564	<b>0,022</b>	0,339	<b>0,020</b>	0,454	<b>0,035</b>
<b>Fragmentasyon</b>	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-2)	0,186	0,317	1,000	0,083	0,180	0,317	0,317	0,414	0,083	0,180	1,000
<b>Dev Hücre</b>	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,319	0,157	<b>0,046</b>	0,157	0,157	0,414	1,000	1,000	0,317	0,414	1,000
<b>Kemik Metaplazi</b>	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-4)	0 (0-0)	0 (0-1)	0,064	1,000	0,180	1,000	0,083	0,180	1,000	0,083	0,180	1,000	0,083
<b>Kalsifikasyon</b>	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-4)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,155	0,317	0,102	0,157	<b>0,046</b>	0,257	0,564	0,180	0,414	1,000	0,157
<b>Fibrozis</b>	0 (0-0)	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,007</b>	<b>0,003</b>	<b>0,004</b>	<b>0,002</b>	<b>0,008</b>	0,194	0,084	0,366	0,763	0,317
<b>Greft Rezorbsiyonu</b>	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-2)	<b>&lt;0,001</b>	0,317	0,157	<b>0,008</b>	<b>0,007</b>	0,317	<b>0,014</b>	<b>0,011</b>	<b>0,025</b>	<b>0,020</b>	0,157
<b>GAG Miktarı Korunması</b>	4 (3-4)	3 (3-4)	3 (2-3)	3 (2-3)	2,5 (1-3)	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,025</b>	<b>0,006</b>	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>	<b>0,020</b>	<b>0,011</b>	<b>0,009</b>	0,705	0,157	0,180
<b>Matrix Kolajen İçeriği</b>	2 (1-3)	2 (1-3)	1,5 (1-3)	2 (2-3)	2,5 (1-4)	0,119	0,317	0,206	0,096	0,417	0,058	0,317	0,782	<b>0,021</b>	0,101	0,705
<b>Matrix Metakromazisi Kaybı</b>	0 (0-0)	0 (0-1)	1,5 (1-3)	1,5 (1-3)	1 (1-4)	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,046</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,004</b>	<b>0,010</b>	<b>0,010</b>	1,000	0,861	1,000
<b>Rejenerasyon Kapasitesi</b>	3 (1-4)	2 (1-3)	2 (1-4)	1 (1-4)	1 (0-4)	0,184	<b>0,031</b>	0,168	0,077	0,077	0,465	1,000	0,951	0,751	0,643	0,885

Median (min-max); \*: Friedman Testi; \*\*: Wilcoxon İşaretli Sıra Testi (bonferoni düzeltmesi uygulanmadan p değerleri sunulmuştur)

Tablo 4: Ksenogreft Grubunda Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması

	KSENOGREFT GRUBU					p*	Post-hoc p value**									
	Kontrol (n=12) <sup>A</sup>	Grup I (n=12) <sup>B</sup>	Grup II (n=12) <sup>C</sup>	Grup III (n=12) <sup>D</sup>	Grup IV (n=12) <sup>E</sup>		p <sup>A-B</sup>	p <sup>A-C</sup>	p <sup>A-D</sup>	p <sup>A-E</sup>	p <sup>B-C</sup>	p <sup>B-D</sup>	p <sup>B-E</sup>	p <sup>C-D</sup>	p <sup>C-E</sup>	p <sup>D-E</sup>
Kondrosit Nükleus Kaybı	1 (0-2)	1 (1-2)	4 (2-4)	4 (4-4)	4 (4-4)	<0,001	0,705	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	0,180	0,180	1,000
Periferel Proliferasyon	0 (0-0)	0 (0-1)	1 (0-2)	1 (0-3)	1 (0-3)	<0,001	0,157	<b>0,011</b>	<b>0,008</b>	<b>0,010</b>	<b>0,020</b>	<b>0,008</b>	<b>0,017</b>	0,380	0,132	0,496
İnternal Vaskülarizasyon	2 (0-3)	2 (1-3)	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	0,070	0,708	<b>0,047</b>	0,054	<b>0,013</b>	0,107	<b>0,047</b>	0,101	0,873	1,000	0,655
Periferel Vaskülarizasyon	-	2 (1-4)	3 (2-3)	2 (1-4)	2 (1-3)	0,392	-	-	-	-	0,166	0,608	0,257	0,317	0,068	0,336
İnflamasyon	0 (0-0)	2 (2-3)	2 (2-4)	2 (1-4)	3 (1-4)	<0,001	<b>0,002</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	0,564	0,577	0,226	0,206	0,755	0,160
Fragmentasyon	3 (1-4)	0 (0-1)	3 (0-4)	1 (0-4)	2 (0-4)	0,074	<b>0,006</b>	0,590	0,640	0,750	<b>0,034</b>	<b>0,017</b>	<b>0,020</b>	0,722	0,670	0,670
Dev Hücre	0 (0-0)	0 (0-1)	2 (1-4)	2 (1-3)	2 (0-4)	<0,001	0,157	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,004</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,004</b>	0,564	0,380	0,748
Kemik Metaplazi	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,406	1,000	0,317	0,317	0,317	0,317	0,317	0,317	1,000	1,000	1,000
Kalsifikasyon	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-4)	0 (0-2)	0 (0-4)	0,236	1,000	0,109	0,157	0,180	0,109	0,157	0,180	0,336	0,465	1,000
Fibrozis	0 (0-0)	1 (0-2)	2 (1-3)	1 (0-3)	2 (0-3)	<0,001	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,004</b>	<b>0,007</b>	<b>0,016</b>	0,380	0,431	<b>0,046</b>	0,194	0,608
Greft Rezorbsiyonu	0 (0-0)	0,5 (0-2)	3 (0-4)	2 (0-4)	2,5 (1-4)	<0,001	<b>0,020</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	0,719	0,794	0,943
GAG Miktarı Korunması	3 (2-4)	4 (2-4)	1,5 (0-3)	1 (0-2)	1 (0-2)	<0,001	<b>0,035</b>	<b>0,006</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	0,060	0,086	0,725
Matrix Kolajen İçeriği	2 (1-3)	2,5 (2-3)	2 (0-3)	2 (0-3)	2 (0-3)	0,159	0,109	0,660	0,931	0,582	0,070	0,190	<b>0,024</b>	0,527	0,666	0,206
Matrix Metakromazisi Kaybı	1 (0-3)	0 (0-1)	2,5 (1-4)	2,5 (2-4)	3 (1-4)	<0,001	0,070	<b>0,007</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	<b>0,003</b>	0,365	0,476	0,887
Rejenerasyon Kapasitesi	-	3 (1-4)	3,5 (0-4)	3,5 (0-4)	4 (0-4)	0,873	-	-	-	-	0,714	0,629	0,903	0,391	0,669	0,671

Median (min-max); \*: Friedman Testi; \*\*: Wilcoxon İşaretli Sıra Testi (bonferoni düzeltmesi uygulanmadan p değerleri sunulmuştur)

#### 4.5. Otogreft–Ksenogreft Karşılaştırması (Tablo 5)

Kontrol grubu ile Grup I, II, III ve IV'te otogreft dokularında, ksenogreft dokulara kıyasla **kondrosit nükleus kaybı** anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p=0,008$ ;  $p<0,001$ ;  $p<0,001$ ;  $p<0,001$ ).

**Periferik proliferasyon**, yalnızca Grup I'de otogreftlerde anlamlı düzeyde daha yüksek saptanmıştır ( $p<0,001$ ).

**İnternal vaskülarizasyon**, tüm gruplarda otogreftlerde ksenogreftlere kıyasla anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,009$ ;  $p=0,001$ ;  $p<0,001$ ).

**Periferik vaskülarizasyon**, Grup I, III ve IV'te otogreftlerde daha düşük düzeyde izlenmiştir (sırasıyla  $p=0,010$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,007$ ).

Grup I–IV'te, otogreftlerde **inflamasyon düzeyi**, ksenogreftlere kıyasla anlamlı şekilde daha düşüktür (sırasıyla  $p=0,006$ ;  $p=0,001$ ;  $p<0,001$ ;  $p<0,001$ ).

**Fragmentasyon**, kontrol grubu ile Grup II–IV'te otogreftlerde daha düşük oranda saptanmıştır (sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p=0,027$ ;  $p=0,044$ ;  $p=0,039$ ).

**Dev hücre oluşumu**, Grup II, III ve IV'te otogreftlerde anlamlı şekilde daha az gözlenmiştir (sırasıyla  $p<0,001$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,001$ ).

**Fibrozis düzeyi**, yalnızca Grup II'de ksenogreftlerde anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,011$ ).

**Greft rezorbsiyonu**, Grup II–IV'te otogreftlerde anlamlı olarak daha düşüktür ( $p<0,001$ ).

**GAG miktarı korunumu**, kontrol grubu ile Grup II–IV'te otogreftlerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla  $p=0,001$ ;  $p=0,024$ ;  $p<0,001$ ;  $p<0,001$ ).

Benzer şekilde, **matriks metakromazi kaybı**, bu gruplarda otogreftlerde anlamlı derecede daha düşüktür (sırasıyla  $p=0,001$ ;  $p=0,028$ ;  $p=0,002$ ;  $p=0,006$ ).

Son olarak, **rejenerasyon kapasitesi**, yalnızca Grup I'te otogreftlerde ksenogreftlere göre daha düşük bulunmuştur ( $p=0,006$ ).

**Kemik metaplazi ve kalsifikasyon**, her iki greft türünde de tüm gruplarda oldukça düşük düzeyde gözlenmiş ve bu parametreler açısından otogreft ile ksenogreftler arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). **Matriks kolajen içeriği** de tüm zaman noktalarında her iki greft türünde benzer düzeyde bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

Tablo 5: Çalışma Gruplarında Otogreft ve Ksenogreft Dokularda Histopatolojik Bulguların Karşılaştırılması

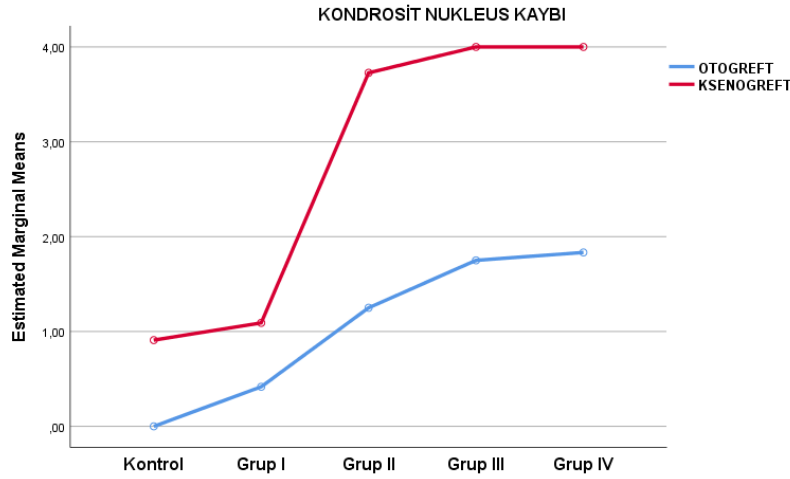
	Kontrol (n=12)			Grup I (n=12)			Grup II (n=12)			Grup III (n=12)			Grup IV (n=12)		
	Otogreft	Ksenogreft	p	Otogreft	Ksenogreft	p	Otogreft	Ksenogreft	p	Otogreft	Ksenogreft	P	Otogreft	Ksenogreft	P
Kondrosit Nükleus Kaybı	0 (0-0)	1 (0-2)	<0,001	0 (0-1)	1 (1-2)	0,008	1 (1-3)	4 (2-4)	<0,001	2 (0-3)	4 (4-4)	<0,001	1,5 (1-4)	4 (4-4)	<0,001
Periferel Proliferasyon	0 (0-1)	0 (0-0)	0,755	1 (1-2)	0 (0-1)	<0,001	1 (0-2)	1 (0-2)	0,151	1 (0-2)	1 (0-3)	0,833	1 (0-2)	1 (0-3)	0,887
İnternal Vaskularizasyon	0 (0-0)	2 (0-3)	<0,001	0 (0-0)	2 (1-3)	<0,001	0 (0-0)	1 (0-2)	0,009	0 (0-1)	1 (0-2)	0,001	0 (0-0)	1 (0-2)	<0,001
Periferel Vaskularizasyon	-	-	-	1 (0-3)	2 (1-4)	0,010	1 (1-4)	3 (2-3)	0,190	1 (0-1)	2 (1-4)	<0,001	1 (0-2)	2 (1-3)	0,007
İmmünasyon	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000	1 (0-3)	2 (2-3)	0,006	1 (0-2)	2 (2-4)	0,001	0 (0-2)	2 (1-4)	<0,001	1 (0-4)	3 (1-4)	<0,001
Fragmantasyon	0 (0-0)	3 (1-4)	<0,001	0 (0-1)	0 (0-1)	0,319	0 (0-0)	3 (0-4)	0,027	0 (0-1)	1 (0-4)	0,044	0 (0-2)	2 (0-4)	0,039
Dev hücre	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000	0 (0-1)	0 (0-1)	1,000	0 (0-1)	2 (1-4)	<0,001	0 (0-1)	2 (1-3)	<0,001	0 (0-1)	2 (0-4)	0,001
Kemik Metaplazi	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000	0 (0-4)	0 (0-1)	0,713	0 (0-0)	0 (0-1)	0,755	0 (0-1)	0 (0-1)	0,514
Kalsifikasyon	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000	0 (0-1)	0 (0-0)	0,755	0 (0-4)	0 (0-4)	0,833	0 (0-1)	0 (0-2)	0,880	0 (0-1)	0 (0-4)	0,590
Fibrozis	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000	1 (0-2)	1 (0-2)	0,160	1 (0-2)	2 (1-3)	0,011	1 (0-2)	1 (0-3)	0,316	1 (0-2)	2 (0-3)	0,630
Kemik Rezorbsiyonu	0 (0-0)	0 (0-0)	1,000	0 (0-1)	0,5 (0-2)	0,078	0 (0-1)	3 (0-4)	<0,001	0 (0-1)	2 (0-4)	<0,001	0 (0-2)	2,5 (1-4)	<0,001
LAG Miktarı Korunması	4 (3-4)	3 (2-4)	0,001	3 (3-4)	4 (2-4)	0,590	3 (2-3)	1,5 (0-3)	0,024	3 (2-3)	1 (0-2)	<0,001	2,5 (1-3)	1 (0-2)	<0,001
Matris Kolajen İçeriği	2 (1-3)	2 (1-3)	1,000	2 (1-3)	2,5 (2-3)	0,242	1,5 (1-3)	2 (0-3)	0,514	2 (2-3)	2 (0-3)	0,347	2,5 (1-4)	2 (0-3)	0,178
Matris Metakromazi Kaybı	0 (0-0)	1 (0-3)	0,001	0 (0-1)	0 (0-1)	0,755	1,5 (1-3)	2,5 (1-4)	0,028	1,5 (1-3)	2,5 (2-4)	0,002	1 (1-4)	3 (1-4)	0,006
Kemik Yetersizliği	3 (1-4)	-	-	2 (1-3)	3 (1-4)	0,006	2 (1-4)	3,5 (0-4)	0,052	1 (1-4)	3,5 (0-4)	0,266	1 (0-4)	4 (0-4)	0,242

Median (min-max); \*: Mann Whitney U Test

#### 4.6. Zaman–Graft Etkileşimi

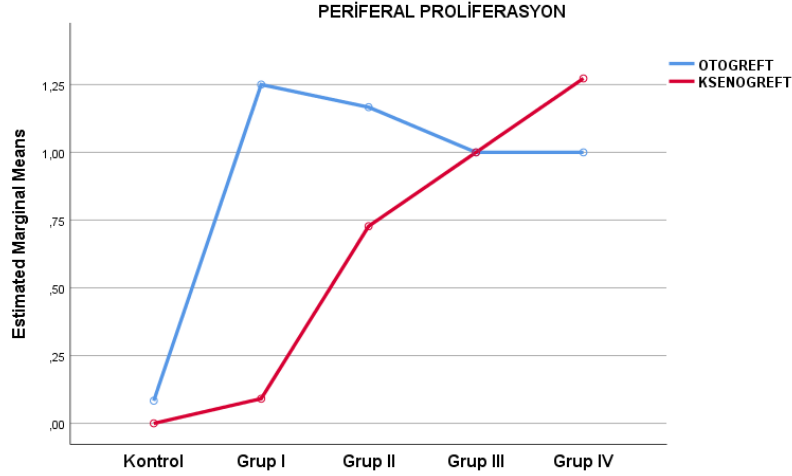
Otograft ve ksenograft grupları arasında histopatolojik bulguların zamanla değişimi Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi ile incelendi.

**Kondrosit nükleus kaybının** zamanla değişiminde anlamlı düzeyde fark bulundu ( $p<0,001$ ) ve graft tipinin de bu farkta etkisi olduğu tespit edildi ( $p<0,001$ ) (Şekil 34).



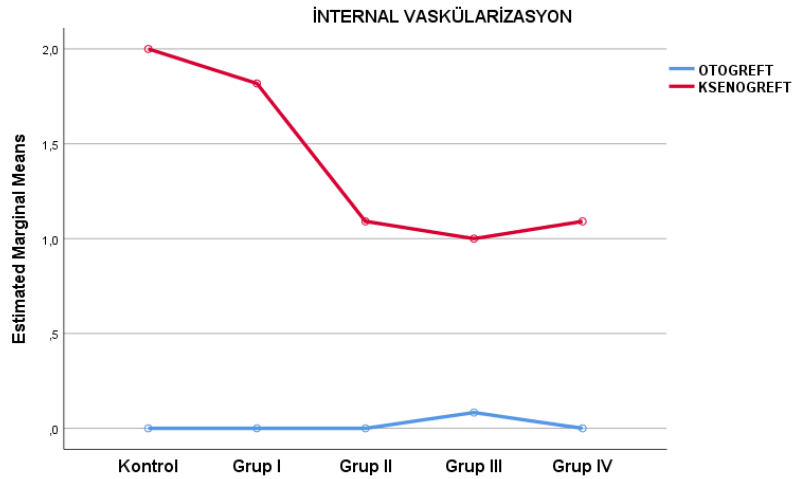
Şekil 34: Graft Tipine Göre Kondrosit Nükleus Kaybı Düzeyinin Zamanla Değişimi

**Periferik proliferasyon** düzeyinin zamanla değişiminde anlamlı düzeyde fark bulundu ( $p<0,001$ ) ve graft tipinin de bu farkta etkisi olduğu tespit edildi ( $p=0,005$ ) (Şekil 35).



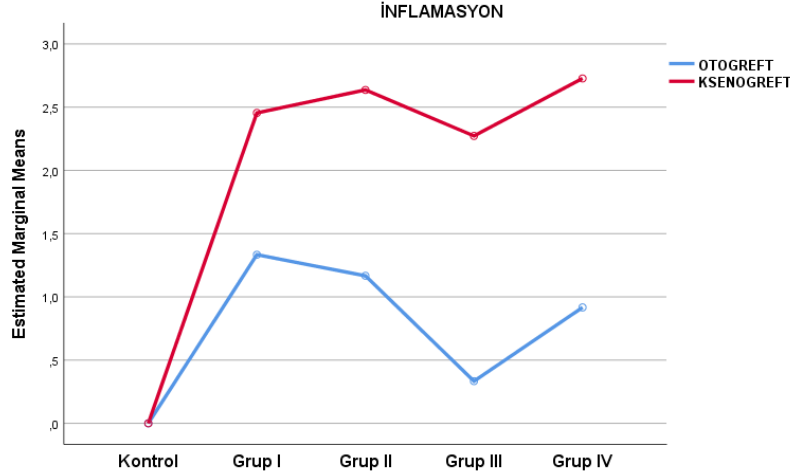
Şekil 35: Greft Tipine Göre Periferal Proliferasyon Düzeyinin Zamanla Değişimi

**İnternal vaskülarizasyon** düzeyinin zamanla değişiminde anlamlı düzeyde fark bulundu ( $p=0,048$ ) ve greft tipinin de bu farkta etkisi olduğu tespit edildi ( $p=0,029$ ) (Şekil 36).



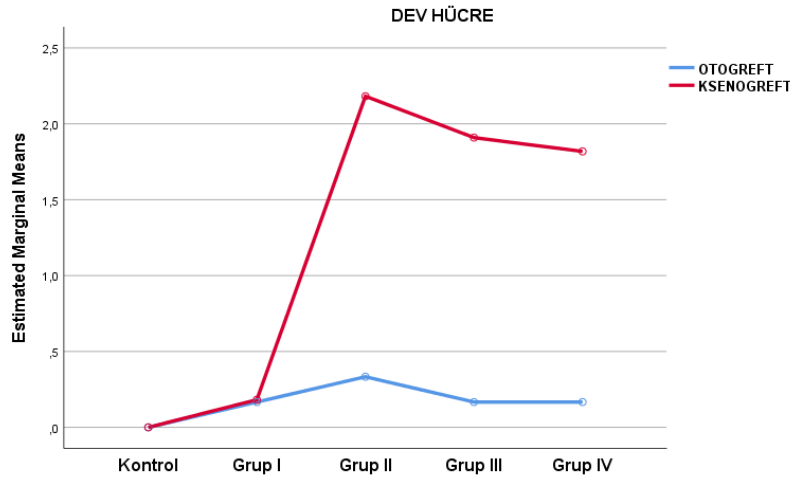
Şekil 36: Greft Tipine Göre İnternal Vaskülarizasyon Düzeyinin Zamanla Değişimi

Tavşanlarda incelenen **inflamasyon** düzeyinin zamanla değişimi anlamlı düzeyde fark kaydedildi ( $p<0,001$ ); inflamasyonun zamanla değişiminde greft tipinin de etkisi olduğu belirlendi ( $p<0,001$ ) (Şekil 37).



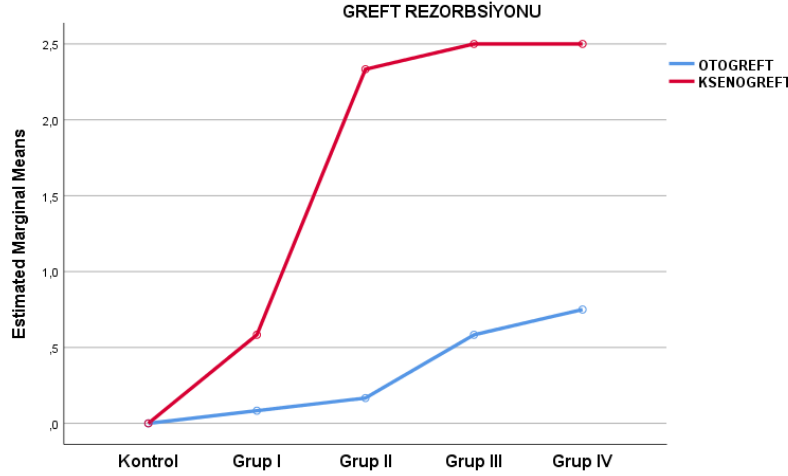
Şekil 37: Greft Tipine Göre İnflamasyon Düzeyinin Zamanla Değişimi

**Dev hücre** düzeyinin zamanla değişiminde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark kaydedildi ( $p < 0,001$ ); dev hücre düzeyinin zamanla değişiminde greft tipinin de etkisi olduğu belirlendi ( $p = 0,001$ ) (Şekil 38).



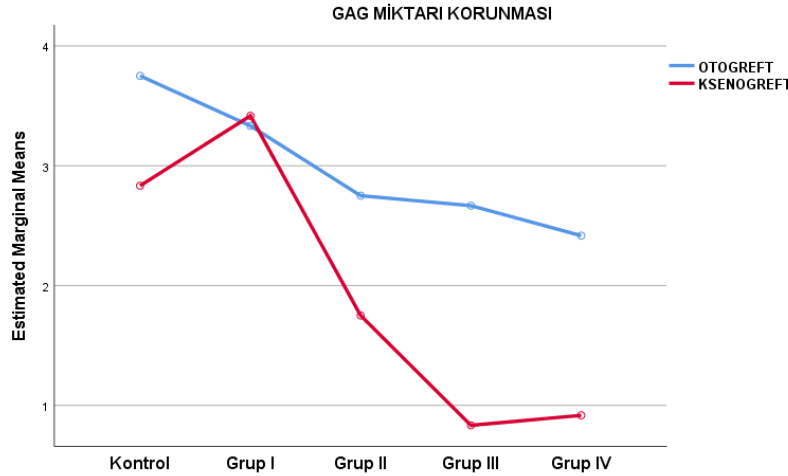
Şekil 38: Greft Tipine Göre Dev Hücre Düzeyinin Zamanla Değişimi

**Greft rezorbsiyon** düzeyinin zamanla değişiminde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark kaydedildi ( $p < 0,001$ ); greft rezorbsiyonunun zamanla değişiminde greft tipinin de etkisi olduğu belirlendi ( $p < 0,001$ ) (Şekil 39).



Şekil 39: Greft Tipine Göre Greft Rezorbsiyon Düzeyinin Zamanla Değişimi

**GAG miktarı korunma** düzeyinin zamanla değişiminde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark kaydedildi ( $p < 0,001$ ); GAG miktarı korunma düzeyinin zamanla değişiminde greft tipinin de etkisi olduğu belirlendi ( $p < 0,001$ ) (Şekil 40).



Şekil 40: Greft Tipine Göre GAG Miktarı Korunma Düzeyinin Zamanla Değişimi

**Periferik vaskülarizasyon** (zaman  $p = 0,011$ ; greft  $p = 0,285$ ), **fragmentasyon** (zaman  $p = 0,047$ ; greft  $p = 0,059$ ), **fibrozis** (zaman  $p < 0,001$ ; greft  $p = 0,292$ ) ve **matriks metakromazisi kaybı** (zaman  $p < 0,001$ ; greft  $p = 0,070$ ) bulunarak değerlerin zamana bağlı anlamlı değiştiği, ancak iki greft tipi arasında kalıcı seviye farkı olmadığı görüldü.

**Kemik metaplazi** (zaman  $p = 0,068$ ; greft  $p = 0,392$ ) ile **kalsifikasyon** (zaman  $p = 0,068$ ; greft  $p = 0,798$ ) yalnızca sınırdaki zayıf etkiler sergilerken, **matriks kollajen içeriği** (zaman

$p = 0,115$ ; greft  $p = 0,204$ ) ve **rejenerasyon kapasitesi** (zaman  $p = 0,745$ ; greft  $p = 0,936$ ) dört aylık izlem boyunca tamamen stabil kaldı.

## 5. TARTIŞMA

Kıkırdak doku, düşük vaskülaritesi ve sınırlı rejeneratif kapasitesi nedeniyle spontan iyileşme potansiyeli düşük bir dokudur. Bu nedenle, kıkırdak defektlerinin onarımında sıklıkla cerrahi greft uygulamaları tercih edilmektedir. Klinik pratikte otogreft, allogreft ve ksenogreft gibi farklı greft türlerinden yararlanılmaktadır (22). Otogreftler, yüksek biyouyumlulukları sayesinde minimal immün yanıt oluşturma avantajı sunmakla birlikte; sınırlı doku kaynağı ve ek cerrahi saha gereksinimi gibi önemli dezavantajlara sahiptir. Bu sınırlamalar, alternatif olarak özellikle ışınlanmış homogreft kostal kıkırdak gibi allogreftlerin kullanımını gündeme getirmiştir. Nitekim, bu tür greftlerin düşük komplikasyon oranları ile uzun dönemli stabilite sağlayabildiği bildirilmektedir (23,59). Ancak yüksek maliyet ve sınırlı erişim gibi faktörler, bu materyallerin yaygın kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle hayvan kaynaklı ksenogreftler; kolay temin edilebilirlikleri ve düşük maliyetleriyle cazip alternatifler olarak değerlendirilmektedir.

Kangesu ve arkadaşları, 1987–1990 yılları arasında glutaraldehit ile korunmuş ve ışınlanmış sığır kıkırdağının (Chondroplast) nazal rekonstrüksiyon amacıyla kullanımını incelemiş; 18 hastanın 7'sinde greftin rezorbe olduğunu ve ortalama 6.8 ay içinde deformitenin tekrarladığını bildirmiştir. Dört hastada enfeksiyon nedeniyle greftlerin çıkarıldığı; yalnızca yedi hastada greftlerin uzun vadede stabil kaldığı rapor edilmiştir (93). Buna karşılık, 1993 yılında yayımlanan bir başka çalışmada ışınlanmış sığır kıkırdağı spreader greft olarak kullanılmış ve beş yıllık takip sürecinde tatmin edici hacimsel stabilite sağladığı belirtilmiştir (94). Benzer şekilde, Bhattacharya ve arkadaşları, keçi konkal kıkırdağını alkol, gama ışınlama ve glutaraldehit uygulamaları ile desellülarize ederek immünojenitesini değerlendirmiş; in vivo testlerde dört aylık implantasyon sonrasında inflamatuvar hücre infiltrasyonuna rastlamamıştır. Çalışmanın insan fazında ise 15 hastada otogreftlerle karşılaştırma yapılmış; ksenogreftlerin 18 aylık takip süresince stabil kaldığı ve rezorpsiyon göstermediği belirtilmiştir (95). Ancak bu çalışmalarda kullanılan glutaraldehit, gama ışınlama ve alkol gibi yöntemlerin ECM üzerinde potansiyel toksik etkiler taşıdığı bilinmektedir. Bu ajanlar, özellikle GAG ve kollajen içeriklerinde bozulmalara yol açarak greftin biyomekanik bütünlüğünü zayıflatabilir. Bu nedenle çalışmamızda, daha kontrollü ve

doğru konsantrasyonda ECM yapısını koruyabilecek SDS temelli desellülarizasyon yöntemi tercih edilmiştir.

SDS'nin farklı konsantrasyon ve uygulama süreleriyle kullanıldığı çeşitli desellülarizasyon protokolleri, literatürde kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir. Bu çalışmalar, yalnızca hücrel içeriğın uzaklaştırılması değil, aynı zamanda ECM'in yapısal ve biyokimyasal bütünlüğünün korunması açısından da önemli sonuçlar ortaya koymuştur. Bhamare ve arkadaşları keçi auriküler kırırdağında uyguladıkları farklı yöntemlerden yalnızca üçünde —%2 sodyum deoksikolat + %2 SDS, %5 dimetil sülfoksit + %2 SDS ve %1 tripsin + damıtılmış su— GAG ve kollajen içeriklerinin korunduğunu ve mekanik dayanımı yüksek iskeleler elde edildiğini bildirmiştir (74). Benzer şekilde, Kang ve arkadaşları insan nazal septum kırırdağında yalnızca 1 saat süreyle uygulanan %1 Triton X-100 + %2 SDS kombinasyonunun MHC-I/II ekspresyonunu baskılayarak immünojenisiteyi belirgin şekilde azalttığını bildirmiştir (32). Bu bulgu, SDS'nin Triton X-100 ile birlikte kullanıldığında kısa sürede etkili bir antijen eliminasyonu sağlayabildiğini göstermektedir. Ancak burada gözlenen başarının, esas olarak SDS'nin etkinliğinden kaynaklandığı, Dahl ve arkadaşlarının çalışmasıyla desteklenmektedir; söz konusu çalışmada %1 Triton X-100'ün tek başına uygulandığında DNA uzaklaştırmada yetersiz kaldığı, buna karşın SDS içeren protokollerin belirgin şekilde daha etkili bir desellülarizasyon sağladığı raporlanmıştır (96). Benzer şekilde, Schneider ve arkadaşları, insan eklem kırırdağında uygulanan 24 farklı protokol arasında SDS'nin DNA eliminasyonundaki üstünlüğünü ortaya koymuştur (24). Öte yandan, SDS'nin yüksek etkinliğine rağmen uzun süreli uygulamaların ECM bütünlüğü üzerinde olumsuz etkiler oluşturabileceği de rapor edilmiştir. Elder ve arkadaşları, %2 SDS'nin kısa süreli uygulanmasıyla DNA içeriğinde %33 oranında azalma sağlandığını ve ECM stabilitesinin korunduğunu bildirmiştir. Ancak uygulama süresi 8 saate uzatıldığında, DNA içeriği %46'ya kadar azalmış; bununla birlikte GAG kaybı artmış ve bu durum, doku hidrasyonu ile mekanik dayanımda belirgin azalmaya yol açmıştır (97). Bu bulgular, SDS'nin etkinliğinin süreyle birlikte arttığını; ancak aşırı maruziyetin ECM bütünlüğünü olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir. Öte yandan, Sandmann ve arkadaşlarının insan menisküs dokusu üzerinde yürüttükleri çalışmada %2 SDS'nin iki haftalık uygulaması ile etkili hücre eliminasyonu sağlanmış; ancak daha düşük konsantrasyon (%1 SDS) yetersiz bulunmuştur (26). Uzun uygulama süresi, büyük ve yoğun menisküs dokusu için gerekli olup; Elder çalışmasında tercih edilen daha kısa sürenin ise daha küçük hacimli kırırdağlara yönelik olarak optimize edildiği düşünülmektedir. Bu durum, kırırdağ dokusunun boyut ve

yoğunluğunun, desellülarizasyon sürecinin süresi ve etkinliği üzerinde belirleyici bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Çalışmamızda kullanılan greft boyutu, literatürde en yakın örnek olan Ryu ve arkadaşlarının çalışmasına benzerlik göstermektedir. Bu nedenle, söz konusu çalışmada uygulanan %2 SDS ile 8 saatlik desellülarizasyon protokolü, doku özellikleri açısından en uygun yaklaşım olarak değerlendirilmiş ve aynı yöntem tercih edilmiştir (17).

Desellülarizasyonun temel amacı, hücresel içeriğin mümkün olan en üst düzeyde uzaklaştırılmasıdır. Ancak literatürde yaygın kabul gördüğü üzere, uygulanan yöntemle bakılmaksızın DNA'nın %100 oranında elimine edilmesi teknik olarak mümkün değildir. Bu nedenle, protokollerin başarısı yalnızca mutlak eliminasyon kriterine göre değil, immün yanıt oluşturmaz düzeyde bir hücresel azaltım sağlama yeterliliği üzerinden değerlendirilmelidir. Gilbert ve arkadaşları, ticari olarak kullanılan desellülarize doku ürünlerinde dahi düşük miktarda artık DNA kalıntısının bulunabildiğini; ancak bu düzeydeki kalıntıların immünojenite açısından klinik olarak anlamlı bir sorun oluşturmadığını bildirmiştir (98). Çalışmamızda elde edilen histopatolojik veriler değerlendirildiğinde, desellülarizasyonun etkinliğinin yalnızca başlangıçta değil, zaman içinde de sürdüğü gözlemlenmiştir. İlk hafta greftlerinde bazı kondrosit nükleuslarının silik ve fragmente yapıda izlenmiş olması, işlemin tam etkinliğine dair yüzeysel bir soru işareti doğurabilecek gibi görünse de; bu yapıların canlılık belirtisi taşımadığı ve yalnızca morfolojik artıklar olduğu, takip eden dönemlerde nükleusların tamamen kaybolmasıyla doğrulanmıştır. Nitekim birinci aydan itibaren greftlerde belirgin nükleus kaybı saptanmış; üçüncü ve dördüncü ay örneklerinde ise kondrosit lakünlerinin tamamına yakınının boş olduğu tespit edilmiştir. Bu progresif yapı kaybı, uygulanan desellülarizasyon protokolünün hücresel immünojeniteyi anlamlı ölçüde ortadan kaldırıldığını düşündürmektedir. Ayrıca, histolojik kesitlerde ECM'in morfolojik bütünlüğünün korunmuş olması, hem etkili hücresel eliminasyona hem de yapısal stabiliteye işaret etmektedir. Bu bulgular, uygulanan protokolün klinik kullanım için potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Desellülarizasyon işlemiyle ksenogreftlerde hücresel immünojenite büyük ölçüde azaltılmış olsa da, bu materyallerin biyolojik güvenliğinin tam anlamıyla sağlanabilmesi için, doku bütünlüğünü bozmadan etkili sterilizasyonun gerçekleştirilmesi zorunludur. Klinik uygulamalarda yaygın şekilde kullanılan allogreft ve ksenogreftlerin sterilizasyonunda GI sıklıkla tercih edilmektedir. Bununla birlikte, GI uygulamasının kollajen yapıda denatürasyona yol açarak biyomekanik özellikleri zayıflatabileceğine dair literatürde bazı

veriler bulunmaktadır. Bu nedenle sterilizasyon amacıyla yalnızca teorik değil deneysel kanıtlarla da desteklenen EtO tercih edilmiştir. Lee ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, liyofilize kostal kıkırdak greftlerine uygulanan GI, EtO ve otoklav yöntemleri incelenmiş; ilk beş haftada GI ile sterilize edilen greftlerin daha stabil olduğu bildirilmiş, ancak 10. haftada EtO ve GI arasında biyouyumluluk açısından anlamlı bir fark kalmadığı gösterilmiştir (57). Bu sonuç, EtO'nun uzun dönem dokusal stabilite açısından yeterli düzeyde etkinlik sunduğunu desteklemektedir. Çalışmamızda EtO ile sterilize edilen greftlerde erken dönemde herhangi bir enfeksiyon bulgusu izlenmemiştir. Dördüncü ayda iki ksenogreft örneğinde sınırlı apse formasyonu tespit edilmiştir; ancak bu durumun, greftin tavşan sırtında eklem hareketlerine yakın bir bölgeye implante edilmesi nedeniyle gelişen gecikmiş yara iyileşmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Yine bu olgularda üçüncü ay kontrollerinde herhangi bir inflamatuvar bulguya rastlanmamış olması, apse oluşumunun geç dönemde ve olasılıkla subklinik bir inflamatuvar sürecin ilerlemesiyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, EtO sterilizasyon yönteminin hem dokunun bütünlüğünü büyük ölçüde koruduğu hem de immünolojik açıdan kabul edilebilir bir güvenlik profili sunduğu kanaatine varılmıştır.

Desellülarizasyon ve sterilizasyon süreçlerinin başarıyla tamamlanmasının ardından elde edilen ksenogreft dokular, rejeneratif tıpta biyolojik skafold olarak dikkat çekici bir potansiyele sahiptir (33,99). Bu tür yapıların hücre dışı matriks bileşenlerini koruyarak yeniden hücrelenmeye olanak tanınması, onları özellikle kıkırdak doku mühendisliği uygulamalarında cazip hâle getirmektedir. Örneğin, domuz nazal septum kıkırdağı; yüksek mekanik dayanıklılığı ve yapısal stabilitesi nedeniyle replasman materyali olarak ön plana çıkmaktadır (100). Schwarz ve arkadaşları, bu dokudan elde ettikleri skafoldları insan septal kondrositleri ile üç boyutlu kültür ortamında incelemiş ve kollajen tip II ile agrekan sentezinin desteklendiğini göstermiştir (3). Gong ve arkadaşları ise domuz auriküler kıkırdağından hazırladıkları liyofilize tabakaları kondrositlerle sandviç modeliyle kombine ederek subkutan olarak implante etmiş; sonuçta olgun kıkırdak benzeri yapıların elde edildiğini raporlamıştır (101). Buna karşın, Kim ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, domuz kıkırdağı kaynaklı skafoldlar tavşan kondrositleriyle kültüre edilerek tavşan burun sırtına implante edilmiş; inflamasyonsuz bir yapı oluşmasına rağmen, anlamlı düzeyde neo-kıkırdak oluşumu gözlenmemiştir (102). Bu bulgu, hücre ekiminin rejeneratif kapasiteyi artırmadaki rolü konusunda literatürde hâlen fikir birliği sağlanamadığını göstermektedir. Bomhard ve arkadaşları, desellülarize edilmiş domuz nazal septum

kıkırdağını tavşan modelinde test etmiş ve hücre ekimi yapılan ile yapılmayan grupları karşılaştırmıştır. Hücre ekimi yapılan grupta septum perforasyon oranı düşük bulunmuş olsa da, hücresiz greftlerin daha yüksek yapısal stabilite ve biyouyumluluk gösterdiği raporlanmıştır (90). Tüm bu bulgular doğrultusunda, çalışmamızda yalnızca ekstrasellüler matriksin biyolojik skafold potansiyeli incelenmiş, herhangi bir hücre ekimi gerçekleştirilmemiştir. Elde edilen histopatolojik bulgular, desellülarize edilen ksenogreftlerde matriks kolajen içeriğinin ve rejeneratif kapasitenin otogreftlerle benzer ölçüde korunduğunu ortaya koymuştur. Bulgularımız, uygulanan protokolün ECM bütünlüğünü koruduğunu ve bu yapıların biyolojik skafold olarak kullanım potansiyelini desteklediğini düşündürmektedir.

Ksenogreft materyalinin seçiminde yalnızca morfolojik uygunluk ve mekanik dayanıklılık değil, aynı zamanda biyogüvenlik faktörleri de temel belirleyici olmuştur. Özellikle sterilizasyon ve dezenfeksiyon işlemlerine en dirençli ajanlar arasında yer alan prion hastalıklarına yatkınlık açısından değerlendirildiğinde; sığır, keçi ve geyik gibi türlerin yüksek risk taşıdığı; buna karşın tavuk, at ve köpeklerin bu hastalıklara doğal direnç gösterdiği, çok sayıda epidemiyolojik ve deneysel çalışma ile gösterilmiştir (103). (104). Tavukların özellikle Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) gibi prion hastalıklarına yüksek dozlu parenteral veya oral maruziyet karşısında dahi dirençli olması, bu türü ksenogreft biyogüvenliği açısından güçlü kılmaktadır. Bu sebeple çalışmamızda, prion riski taşımayan bir türden elde edilen ksenogreft materyali tercih edilmiştir.

Son yıllarda, otolog greftlere alternatif olarak farklı biyomateryallerin rinoplasti uygulamalarında kullanımına yönelik ilgi artmıştır. Bu kapsamda, Marianetti ve arkadaşları revizyon rinoplasti vakalarında burun sırtı düzensizliklerini önlemek amacıyla at perikard zarını kullanmış ve bu materyalin güvenli ve etkili olduğunu bildirmiştir (105). Benzer şekilde Chang ve arkadaşları, at skapular kıkırdağından elde edilen Mega Kıkırdak-E (L&C Bio, Seul, Kore) materyalini silikon implantlarla karşılaştırmış; benzer dorsal büyütme sağladığını ve düşük rezorpsiyon oranı sunduğunu raporlamıştır. Ancak bu çalışmada greftlerin yanlış pozisyonlanma oranı yüksek bulunmuş ve uzun vadeli doku entegrasyonuna ilişkin veriler yetersiz kalmıştır (48). Bu durum, elde edilen sonuçların dikkatli yorumlanmasını gerektirmektedir. Önemli bir sınırlılık olarak, mevcut klinik çalışmalarda alternatif materyallerin etkinliği çoğunlukla tek başına değerlendirilmiş; otogreftlerle histolojik ya da immünolojik düzeyde doğrudan bir karşılaştırma yapılmamıştır. Bizim çalışmamızda ise, desellülarize edilmiş tavuk sternal kıkırdağı, otogreftlerle aynı hayvan

modelinde ve eş zamanlı koşullarda sistematik biçimde karşılaştırılmıştır. Bu yönüyle çalışmamız, yalnızca yeni bir biyomateryalin potansiyel kullanımını ortaya koymakla kalmayıp aynı zamanda bu materyalin klinik translasyona uygunluğunu çok boyutlu ve objektif kriterlerle değerlendiren öncü bir deneysel model sunmaktadır.

Desellülarize kıkırdak materyallerin biyolojik davranışlarını inceleyen deneysel çalışmalar, bu yapıların uzun vadeli güvenliği ve dayanıklılığına ilişkin önemli bilgiler sunmaktadır. Ryu ve arkadaşlarının sıçan modelinde gerçekleştirdiği çalışmada, subkutan yerleştirilen desellülarize kıkırdaklarda ilk iki ay boyunca inflamasyon gözlenmiş, ancak bu yanıt beşinci ayda kaybolmuştur. Kolajen yapısının korunduğu tespit edilirken üçüncü aydan itibaren kalsifikasyon geliştiği bildirilmiştir (17). Bizim çalışmamızda ise kemik metaplazisi ve kalsifikasyon gibi istenmeyen histopatolojik değişikliklerin her iki grupta da düşük düzeyde ve benzer oranlarda izlendi. Bunun yanında mikroskobik incelemelerde greft rezorpsiyonunun zamanla belirgin şekilde arttığı ve histolojik bütünlüğün azaldığı saptandı. Ancak bu bulgular her zaman makroskobik gözlemlerle birebir örtüşmedi. Örneğin, mikroskobik olarak %75–100 oranında rezorpsiyon izlenen ve 4+ skoru verilen bazı greftler eksplantasyon sırasında hâlen yerindeydi. Bu greftlerde sadece hacimsel küçülme veya yoğunlukta azalma gözlemlendi. Bu durum, rezorpsiyon skorlarının greftin tamamen ortadan kalkmasını değil, mikroskopik düzeydeki doku kaybını ifade ettiğini göstermektedir. Ayrıca bazı hayvanlarda dört ay sonunda greftlerin büyük oranda korunmuş olmasına karşın bazı bireylerde erken dönemde bile belirgin hacim kaybı izlenmesi; bireysel immün yanıt farklılıkları, mikrosirkülasyon düzeyi ve fizyolojik özelliklerin rezorpsiyon sürecini etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Tavuk sternal kıkırdağının alternatif greft materyali olarak değerlendirilmesine yönelik bulgulardan biri, Weinfeld'in çalışmasında ortaya konmuştur. Bu çalışmada, söz konusu materyalin insan nazal septumuna olan morfolojik benzerliği nedeniyle cerrahi simülasyon modeli olarak kullanıldığı bildirilmiş; şekillendirilebilir yapısı ve farklı greft türlerine dönüştürülebilme yeteneği açısından dikkat çekici bulunduğu vurgulanmıştır (7). Bu özellikler, tavuk sternal kıkırdağını yalnızca deneysel araştırmalar için değil, potansiyel klinik uygulamalar açısından da değerli bir biyomateryal adayı hâline getirmektedir. Mevcut çalışmamız ise, bu materyalin potansiyel kullanımını ortaya koymakla kalmamış; aynı zamanda birçok histolojik parametre üzerinden otoplastik greftlerle eş zamanlı ve sistematik biçimde karşılaştırıldığı literatürdeki ilk kapsamlı deneysel çalışmadır.

Çalışmamızın en güçlü yönlerinden biri, zamana bağlı doku yanıtlarının çok sayıda histopatolojik parametre üzerinden detaylı ve çok boyutlu biçimde değerlendirilmiş olmasıdır. Ayrıca, ksenogreft ve otogreftlerin aynı hayvan modeli içerisinde karşılaştırmalı olarak test edilmesi, bulguların nesnel ve doğrudan yorumlanmasına olanak tanımıştır. Ancak çalışmanın bazı sınırlamaları da mevcuttur: örnek sayısının nispeten düşük olması, greftlerin insan burun anatomisinden farklı bir anatomik bölgede test edilmesi ve bazı örneklerde enfeksiyon ya da teknik nedenlerle veri kayıplarının yaşanması bu sınırlamalar arasında yer almaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİ

Otogreftler, halen kıkırdak rekonstrüksiyonunda histolojik bütünlük ve biyolojik uyum açısından altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak doku kaynağının sınırlı olması ve ek cerrahi alan gereksinimi gibi dezavantajlar, alternatif materyallere olan ilgiyi artırmaktadır. Desellülarize edilmiş tavuk sternal kıkırdağı; geniş erişilebilirliği, düşük maliyeti, şekillendirilebilir yapısı ve prion riski taşıyamaması gibi avantajlarıyla dikkat çekici bir ksenogreft adayıdır.

Literatürde ilk kez, tavuk sternal kıkırdağı otogreftlerle aynı hayvan modelinde eş zamanlı ve sistematik şekilde karşılaştırılmış; böylece biyolojik davranışı çok boyutlu olarak değerlendirilmiştir. Tavuk kıkırdağının morfolojik olarak insan nazal septumuna benzerliği ve cerrahi olarak kolay şekillendirilebilmesi, özellikle rinoplasti ve yüz rekonstrüksiyonlarında kullanılabilirliğini desteklemektedir. Ancak uzun vadeli prelinik ve klinik araştırmalarla biyogüvenlik ve fonksiyonel etkinliğinin daha kapsamlı biçimde değerlendirilmesi gerekmektedir.

### Öneriler:

1. Desellülarizasyon protokollerinin standardizasyonu sağlanmalı, farklı çözücü kombinasyonlarının doku bütünlüğü, GAG içeriği ve kollajen stabilitesi üzerindeki etkileri uzun vadeli olarak değerlendirilmelidir.
2. Farklı sterilizasyon yöntemlerinin (özellikle gama ışınlama, EtO ve ultraviyole tekniklerinin) tavuk kıkırdağı üzerindeki biyomekanik ve histolojik etkileri karşılaştırılmalıdır.
3. Canlı hücre ekimi (örneğin kondrosit veya mezenkimal kök hücre) ile kombine edilen ksenogreftlerin neovaskülarizasyon ve rejenerasyon kapasitesi araştırılmalıdır.
4. İmmünohistokimyasal ve moleküler analizler ile ksenogreftlere karşı oluşabilecek düşük düzeydeki immün yanıtlar ayrıntılı şekilde incelenmelidir.
5. Klinik öncesi modellerde, burun sırtı veya auriküler rekonstrüksiyon gibi spesifik anatomik bölgelerde bu materyalin fonksiyonel performansı test edilmelidir.
6. Uzun dönem takip çalışmalarıyla, greftin kalıcılığı, rezorpsiyon profili ve potansiyel komplikasyonları değerlendirilmelidir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Nouri Barkestani M, Naserian S, Uzan G, Shamdani S. Post-decellularization techniques ameliorate cartilage decellularization process for tissue engineering applications. Vol. 12, Journal of Tissue Engineering. 2021.
2. Urlić I, Ivković A. Cell Sources for Cartilage Repair—Biological and Clinical Perspective. *Cells*. 2021 Sep 21;10(9):2496.
3. Schwarz S, Elsaesser AF, Koerber L, Goldberg-Bockhorn E, Seitz AM, Bermueller C, et al. Processed xenogenic cartilage as innovative biomatrix for cartilage tissue engineering: effects on chondrocyte differentiation and function. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015 Dec;9(12):E239–51.
4. Salzano G, Audino G, Dell’Aversana Orabona G, Committeri U, Troise S, Arena A, et al. Fresh Frozen Homologous Rib Cartilage: A Narrative Review of a New Trend in Rhinoplasty. *J Clin Med*. 2024 Mar 16;13(6):1715.
5. Hahn S. Osseous and Cartilaginous Nasal Reconstruction. *Facial Plastic Surgery*. 2017;33(1).
6. Antunes JC, Tsaryk R, Gonçalves RM, Pereira CL, Landes C, Brochhausen C, et al. Poly( $\gamma$ -Glutamic Acid) as an Exogenous Promoter of Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem/Stromal Cells. *Tissue Eng Part A*. 2015 Jun;21(11–12):1869–85.
7. Weinfeld AB. Chicken Sternal Cartilage for Simulated Septal Cartilage Graft Carving. *Aesthet Surg J*. 2010 Nov 1;30(6):810–3.
8. Urlić I, Ivković A. Cell Sources for Cartilage Repair—Biological and Clinical Perspective. *Cells*. 2021 Sep 21;10(9):2496.
9. Mescher A. Junqueira’s Basic Histology: Text and Atlas, Fifteenth Edition [Internet]. McGraw Hill LLC; 2018. Available from: <https://books.google.com.tr/books?id=eLJhDwAAQBAJ>
10. Nouri Barkestani M, Naserian S, Uzan G, Shamdani S. Post-decellularization techniques ameliorate cartilage decellularization process for tissue engineering applications. Vol. 12, Journal of Tissue Engineering. 2021.
11. Kumar B. Histology - A Text & Atlas [Internet]. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013. Available from: <https://books.google.com.tr/books?id=IMO2nQAACAAJ>
12. Nahian A, Sapra A. Histology, Chondrocytes. 2025.
13. Mescher A. Junqueira’s Basic Histology: Text and Atlas, Fifteenth Edition [Internet]. McGraw Hill LLC; 2018. Available from: <https://books.google.com.tr/books?id=eLJhDwAAQBAJ>

14. Ross MH, Pawlina W. Histology: A Text and Atlas : with Correlated Cell and Molecular Biology [Internet]. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health; 2011. (Histology (Ross)). Available from: <https://books.google.ru/books?id=SVjtwAEACAAJ>
15. Sun H, Zhou J, Wang Q, Jiang H, Yang Q. Contribution of perichondrium to the mechanical properties of auricular cartilage. *J Biomech*. 2021 Sep;126:110638.
16. Nahian A, Sapra A. Histology, Chondrocytes. 2025.
17. Ryu YA, Jin M, Kang N. Histological, Physical Studies after Xenograft of Porcine Ear Cartilage. *Arch Craniofac Surg*. 2017 Sep 20;18(3):155–61.
18. Nemoto H, Watson D, Masuda K. Transplantation of Tissue-Engineered Cartilage in an Animal Model (Xenograft and Autograft): Construct Validation. In 2015. p. 247–59.
19. Antunes JC, Tsaryk R, Gonçalves RM, Pereira CL, Landes C, Brochhausen C, et al. Poly( $\gamma$ -Glutamic Acid) as an Exogenous Promoter of Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem/Stromal Cells. *Tissue Eng Part A*. 2015 Jun;21(11–12):1869–85.
20. Romo T, Pearson JM. Nasal Implants. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2008 Feb;16(1):123–32.
21. Vernice NA, Berri N, Bender RJ, Dong X, Spector JA. Production of a Low-Cost, Off-the-Shelf, Decellularized Cartilage Xenograft for Tissue Regeneration. *Ann Plast Surg*. 2022 May;88(3):S296–301.
22. Smith B, Sigal IR, Grande DA. Immunology and cartilage regeneration. *Immunol Res*. 2015 Dec 19;63(1–3):181–6.
23. Harutyunyan A, Hakobyan G. Dorsal Augmentation Rhinoplasty by Cartilage Allograft. *J Cosmet Dermatol*. 2024 Dec 12;
24. Schneider C, Lehmann J, van Osch GJVM, Hildner F, Teuschl A, Monforte X, et al. Systematic Comparison of Protocols for the Preparation of Human Articular Cartilage for Use as Scaffold Material in Cartilage Tissue Engineering. *Tissue Eng Part C Methods*. 2016 Dec;22(12):1095–107.
25. Chen Y, Chen J, Zhang Z, Lou K, Zhang Q, Wang S, et al. Current advances in the development of natural meniscus scaffolds: innovative approaches to decellularization and recellularization. *Cell Tissue Res*. 2017 Oct 31;370(1):41–52.
26. Sandmann GH, Eichhorn S, Vogt S, Adamczyk C, Aryee S, Hoberg M, et al. Generation and characterization of a human acellular meniscus scaffold for tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*. 2009 Nov 4;91A(2):567–74.

27. Baiguera S, Gonfiotti A, Jaus M, Comin CE, Paglierani M, Del Gaudio C, et al. Development of bioengineered human larynx. *Biomaterials*. 2011 Jul;32(19):4433–42.
28. Butler CR, Hynds RE, Crowley C, Gowers KHC, Partington L, Hamilton NJ, et al. Vacuum-assisted decellularization: an accelerated protocol to generate tissue-engineered human tracheal scaffolds. *Biomaterials*. 2017 Apr;124:95–105.
29. Elliott MJ, De Coppi P, Speggorin S, Roebuck D, Butler CR, Samuel E, et al. Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. *The Lancet*. 2012 Sep;380(9846):994–1000.
30. Hamilton NJ, Kanani M, Roebuck DJ, Hewitt RJ, Cetto R, Culme-Seymour EJ, et al. Tissue-Engineered Tracheal Replacement in a Child: A 4-Year Follow-Up Study. *American Journal of Transplantation*. 2015 Oct;15(10):2750–7.
31. Schwarz S, Koerber L, Elsaesser AF, Goldberg-Bockhorn E, Seitz AM, Dürselen L, et al. Decellularized Cartilage Matrix as a Novel Biomatrix for Cartilage Tissue-Engineering Applications. *Tissue Eng Part A*. 2012 Nov;18(21–22):2195–209.
32. Kang DW, Shin SC, Jang JY, Park HY, Lee JC, Wang SG, et al. Decellularization of Human Nasal Septal Cartilage for the Novel Filler Material of Vocal Fold Augmentation. *Journal of Voice*. 2017 Jan;31(1):127.e1-127.e6.
33. Porzionato A, Stocco E, Barbon S, Grandi F, Macchi V, De Caro R. Tissue-Engineered Grafts from Human Decellularized Extracellular Matrices: A Systematic Review and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2018 Dec 18;19(12):4117.
34. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011 Apr;32(12):3233–43.
35. Keane TJ, Swinehart IT, Badylak SF. Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance. *Methods*. 2015 Aug;84:25–34.
36. BADYLAK S, FREYTES D, GILBERT T. Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function. *Acta Biomater*. 2009 Jan;5(1):1–13.
37. Matuska AM, McFetridge PS. The effect of terminal sterilization on structural and biophysical properties of a decellularized collagen-based scaffold; implications for stem cell adhesion. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015 Feb 3;103(2):397–406.
38. GILBERT T, SELLARO T, BADYLAK S. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*. 2006 Mar 7;
39. Xu H, Xu B, Yang Q, Li X, Ma X, Xia Q, et al. Comparison of decellularization protocols for preparing a decellularized porcine annulus fibrosus scaffold. *PLoS One*. 2014;9(1).

40. Dingman RO, Grabb WC. Costal cartilage homografts preserved by irradiation. *Plast Reconstr Surg.* 1961;28(5).
41. Prolo DJ, Oklund PhD, SK, Borer M. Efficacy and Safety of Ethylene Oxide Sterilization of Allogeneic Bone for Human Transplantation: A Forty-year Experience. *Cureus.* 2013 Jun 7;
42. Prolo DJ, Pedrotti PW, White DH. Ethylene oxide sterilization of bone, dura mater, and fascia lata for human transplantation. *Neurosurgery.* 1980;6(5).
43. Hahn S. Osseous and Cartilaginous Nasal Reconstruction. *Facial Plastic Surgery.* 2017;33(1).
44. Champaneria MC, Workman AD, Gupta SC. Sushruta: Father of plastic surgery. *Ann Plast Surg.* 2014;73(1).
45. Whitaker IS, Karoo RO, Spyrou G, Fenton OM. The Birth of Plastic Surgery: The Story of Nasal Reconstruction from the Edwin Smith Papyrus to the Twenty-First Century. *Plast Reconstr Surg.* 2007 Jul;120(1):327–36.
46. Joseph J. Operative reduction of the size of a nose (Rhinomiosis). *Plast Reconstr Surg.* 1970;46(2).
47. Wright JM, Halsey JN, Rottgers SA. Dorsal Augmentation: A Review of Current Graft Options. *Eplasty.* 2023;23:e4.
48. Chang Y, Yun H, Choi JW, Suh JM, Jeong WS, Park H, et al. Efficacy and safety of equine cartilage for rhinoplasty: a multicenter double-blind non-inferiority randomized confirmatory clinical trial. *Arch Craniofac Surg.* 2022 Aug 20;23(4):152–62.
49. Yoon SH, Kim CS, Oh JW, Lee KC. Optimal harvest and efficient use of septal cartilage in rhinoplasty. *Arch Craniofac Surg.* 2021 Feb 20;22(1):11–6.
50. Baddam P, Bayona-Rodriguez F, Campbell SM, El-Hakim H, Graf D. Properties of the Nasal Cartilage, from Development to Adulthood: A Scoping Review. *Cartilage.* 2022 Jan 28;13(1).
51. Sajjadian A, Rubinstein R, Naghshineh N. Current Status of Grafts and Implants in Rhinoplasty: Part I. Autologous Grafts. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Feb;125(2):40e–9e.
52. Rohrich RodJ, Dayan E, Durand PD, Brito I, Gronet E. Warping Characteristics of Rib Allograft Cartilage. *Plast Reconstr Surg.* 2020 Jul;146(1):37e–42e.
53. von Mangoldt HH. Die Einpflanzung von Rippenknorpel in den Kehlkopf zu Heilung schwerer Stenosen und Defecte, und Heilung der Sattelnase durch Knorpelübertragung. 1900.

54. Lupo G. The History of Aesthetic Rhinoplasty: Special Emphasis on the Saddle Nose. *Aesthetic Plast Surg.* 1997 Sep 1;21(5):309–27.
55. Furlan S. Correction of saddle nose deformities by costal cartilage grafts: A technique. *Ann Plast Surg.* 1982;9(1).
56. Gibson T, Brian Davis W, Curran RC. The long-term survival of cartilage homografts in man. *Br J Plast Surg.* 1958;11(C).
57. Lee JH, Chang CH, Seo SW, Kim J kyu. The Effects of Sterilization Methods on Lyophilized Cartilage Grafts in an Experimental Model. *Journal of Craniofacial Surgery.* 2013 Jul;24(4):1436–40.
58. Sajjadian A, Naghshineh N, Rubinstein R. Current Status of Grafts and Implants in Rhinoplasty: Part II. Homologous Grafts and Allogenic Implants. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Mar;125(3):99e–109e.
59. Kridel RWH, Ashoori F, Liu ES, Hart CG. Long-term Use and Follow-up of Irradiated Homologous Costal Cartilage Grafts in the Nose. *Arch Facial Plast Surg.* 2009 Dec 1;11(6).
60. Lee JH, Chang CH, Seo SW, Kim J kyu. The Effects of Sterilization Methods on Lyophilized Cartilage Grafts in an Experimental Model. *Journal of Craniofacial Surgery.* 2013 Jul;24(4):1436–40.
61. Kadhum M, Khan K, Al-Ghanim K, Castanov V, Symonette C, Javed MU. Fresh Frozen Cartilage in Rhinoplasty Surgery: A Systematic Review of Outcomes. *Aesthetic Plast Surg.* 2024 Sep 25;48(17):3269–75.
62. Vila PM, Jeanpierre LM, Rizzi CJ, Yaeger LH, Chi JJ. Comparison of Autologous vs Homologous Costal Cartilage Grafts in Dorsal Augmentation Rhinoplasty. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery.* 2020 Apr 1;146(4):347.
63. Jang YJ, Wang JH, Sinha V, Song HM, Lee B. Tutoplast-Processed Fascia Lata for Dorsal Augmentation in Rhinoplasty. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery.* 2007 Jul 17;137(1):88–92.
64. Al-Sebeih KH, Albazee E, Abu-Zaid A, Alsakka MA. Long-Term Safety and Reliability of Using Tutoplast-Processed Fascia Lata to Refine the Nasal Dorsum in Primary and Revision Rhinoplasty. *Aesthetic Plast Surg.* 2024 Jul 20;48(14):2651–62.
65. Song HM, Lee BJ, Jang YJ. Processed Costal Cartilage Homograft in Rhinoplasty. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008 May 1;134(5):485.
66. Menger DJ, Trenité GJN. Irradiated Homologous Rib Grafts in Nasal Reconstruction. *Arch Facial Plast Surg.* 2010 Mar 1;12(2).
67. Gryskiewicz J. Dorsal Augmentation with AlloDerm. *Semin Plast Surg.* 2008 May;22(2):090–103.

68. WEIR RF. ON RESTORING SUNKEN NOSES WITHOUT SCARRING THE FACE. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 1970;45(4). Available from: [https://journals.lww.com/plasreconsurg/fulltext/1970/04000/on\\_restoring\\_sunken\\_noses\\_without\\_scarring\\_the.12.aspx](https://journals.lww.com/plasreconsurg/fulltext/1970/04000/on_restoring_sunken_noses_without_scarring_the.12.aspx)
69. Vilar-Sancho B. An old story: An Ivory nasal implant. *Aesthetic Plast Surg*. 1987;11(1).
70. Stout PS. Bovine cartilage in correction of nasal deformities. Vol. 43, *Laryngoscope*. 1933.
71. Lo S, Kenway B, Hosni A. Acellular Porcine Dermal Collagen Implant in Saddle Nose Deformity. *Plast Reconstr Surg*. 2011 Aug;128(2):82e–4e.
72. Hopkins C, Walker R, Lee S, Roberts D. Permacol in augmentation rhinoplasty: how we do it. *Clinical Otolaryngology*. 2009 Feb 19;34(1):68–75.
73. Velasquez N, Huang Z, Humphreys IM, Nayak J V. Inferior turbinate reconstruction using porcine small intestine submucosal xenograft demonstrates improved quality of life outcomes in patients with empty nose syndrome. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2015 Nov 2;5(11):1077–81.
74. Bhamare NC, Tardalkar KR, Kshersagar J, Desai SR, Marsale TB, Nimbalkar MS, et al. Tissue engineered human ear pinna derived from decellularized goat ear cartilage: clinically useful and biocompatible auricle construct. *Cell Tissue Bank*. 2022 Mar 3;23(1):43–55.
75. Rotter N, Haisch A, Bücheler M. Cartilage and bone tissue engineering for reconstructive head and neck surgery. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2005 Jul 10;262(7):539–45.
76. Fulco I, Miot S, Haug MD, Barbero A, Wixmerten A, Feliciano S, et al. Engineered autologous cartilage tissue for nasal reconstruction after tumour resection: an observational first-in-human trial. *The Lancet*. 2014 Jul;384(9940):337–46.
77. BROWN JB, FRYER MP, RANDALL P, LU M. SILICONES IN PLASTIC SURGERY. *Plast Reconstr Surg*. 1953;12(5).
78. Feng M, Ahmed KH, Punjabi N, Inman JC. A Contemporary Review of Trachea, Nose, and Ear Cartilage Bioengineering and Additive Manufacturing. *Biomimetics (Basel)*. 2024 May 29;9(6).
79. Tanzer RC. Microtia-A long-term follow-up of 44 reconstructed auricles. *Plast Reconstr Surg*. 1978;61(2).
80. Wei Y, Li L, Xie C, Wei Y, Huang C, Wang Y, et al. Current Status of Auricular Reconstruction Strategy Development. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2023 Nov 20;
81. Brent B. The correction of microtia with autogenous cartilage grafts: I. The classic deformity. *Plast Reconstr Surg*. 1980;66(1).

82. Nagata S. A new method of total reconstruction of the auricle for microtia. *Plast Reconstr Surg.* 1993;92(2).
83. Reinisch J, Lewin S. Ear Reconstruction Using a Porous Polyethylene Framework and Temporoparietal Fascia Flap. *Facial Plastic Surgery.* 2009 Aug 6;25(03):181–9.
84. Cao Y, Vacanti JP, Paige KT, Upton J, Vacanti CA. Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100(2).
85. Zhou G, Jiang H, Yin Z, Liu Y, Zhang Q, Zhang C, et al. In Vitro Regeneration of Patient-specific Ear-shaped Cartilage and Its First Clinical Application for Auricular Reconstruction. *EBioMedicine.* 2018;28.
86. Cass ND, Patten L, Cass SP. Collagen Allografts Compared With Autologous Tissue in Tympanoplasty. *Otology & Neurotology.* 2019 Jul;40(6):767–71.
87. Henderson JH, Welter JF, Mansour JM, Niyibizi C, Caplan AI, Dennis JE. Cartilage tissue engineering for laryngotracheal reconstruction: comparison of chondrocytes from three anatomic locations in the rabbit. *Tissue Eng.* 2007 Apr;13(4):843–53.
88. Johnson C, Sheshadri P, Ketchum JM, Narayanan LK, Weinberger PM, Shirwaiker RA. In vitro characterization of design and compressive properties of 3D-biofabricated/decellularized hybrid grafts for tracheal tissue engineering. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2016 Jun;59:572–85.
89. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, et al. RETRACTED: Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *The Lancet.* 2008 Dec;372(9655):2023–30.
90. von Bomhard A, Elsaesser A, Riepl R, Pippich K, Faust J, Schwarz S, et al. Cartilage regeneration using decellularized cartilage matrix: Long-term comparison of subcutaneous and intranasal placement in a rabbit model. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* 2019 Apr;47(4):682–94.
91. Topkara A, Özkan A, Özcan RH, Öksüz M, Akbulut M. Effect of Concentrated Growth Factor on Survival of Diced Cartilage Graft. *Aesthet Surg J.* 2016 Nov;36(10):1176–87.
92. Motamed S, Mohammadi Torbati P, Zaferani Arani H, Motabar AR, Zabolian A, Madadi Z. Effects of the Human Amniotic Membrane on the Cartilage Graft: Prognosis and Absorption in White Rabbits. *World J Plast Surg.* 2019 Apr 1;8(2):219–28.
93. Kangesu L, Goodacre TEE, Stanley PRW. Survival of irradiated gluteraldehyde preserved bovine cartilage in nasal reconstruction: a retrospective study. *Br J Plast Surg.* 1991;44(7):483–5.

94. Ferrante B, Biessy R, Ducroz V, Gzaïel D, Leyder P. [Correction of nose deviations using latero-septal grafts from irradiated bovine cartilage]. *Ann Chir Plast Esthet.* 1993 Oct;38(5):555–60.
95. Bhattacharya R, Das P, Joardar SN, Biswas BK, Batabyal S, Das PK, et al. Novel decellularized animal conchal cartilage graft for application in human patient. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019 Jan;13(1):46–57.
96. Dahl SLM, Koh J, Prabhakar V, Niklason LE. Decellularized Native and Engineered Arterial Scaffolds for Transplantation. *Cell Transplant.* 2003 Sep 22;12(6):659–66.
97. Elder BD, Eleswarapu S V., Athanasiou KA. Extraction techniques for the decellularization of tissue engineered articular cartilage constructs. *Biomaterials.* 2009 Aug;30(22):3749–56.
98. Gilbert TW, Freund JM, Badylak SF. Quantification of DNA in Biologic Scaffold Materials. *Journal of Surgical Research.* 2009 Mar;152(1):135–9.
99. Messaoudi O, Henrionnet C, Bourge K, Loeuille D, Gillet P, Pinzano A. Stem Cells and Extrusion 3D Printing for Hyaline Cartilage Engineering. *Cells.* 2020 Dec 22;10(1):2.
100. Tluczynski K, Breiter R. A compositional analysis of native and decellularized porcine nasal septum cartilage. *Xenotransplantation.* 2022 Nov 20;29(6).
101. Gong YY, Xue JX, Zhang WJ, Zhou GD, Liu W, Cao Y. A sandwich model for engineering cartilage with acellular cartilage sheets and chondrocytes. *Biomaterials.* 2011 Mar;32(9):2265–73.
102. Kim YS, Park DY, Cho YH, Chang JW, Choi JW, Park JK, et al. Cultured chondrocyte and porcine cartilage-derived substance (PCS) construct as a possible dorsal augmentation material in rhinoplasty: A preliminary animal study. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* 2015 May;68(5):659–66.
103. Choi DI, Zayed M, Kim YC, Jeong BH. Novel polymorphisms and genetic studies of the shadow of prion protein gene (SPRN) in pheasants. *Front Vet Sci.* 2024 May 14;11.
104. Moore J, Hawkins SA, Austin AR, Konold T, Green RB, Blamire IW, et al. Studies of the transmissibility of the agent of bovine spongiform encephalopathy to the domestic chicken. *BMC Res Notes.* 2011 Dec 17;4(1):501.
105. Marianetti TM, Grussu F, Cervelli D, Gasparini G, Pelo S. Equine Pericardium Membrane to Prevent Dorsal Irregularities in Rhinoplasty. *Ann Plast Surg.* 2014 Aug;73(2):128–30.