

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

RAT TAM KALINLIKLI DERİ DEFEKTLERİNDE
DERMAL ANALOGLARIN KONTRAKSİYON
ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Özlem CEMBOLUK

Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2015

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

RAT TAM KALINLIKLI DERİ DEFEKTLERİNDE
DERMAL ANALOGLARIN KONTRAKSİYON
ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Özlem CEMBOLUK

Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. A. Aydan KÖSE

ESKİŞEHİR
2015

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Özlem CEMBOLUK'a ait “ Rat tam kalınlıklı deri defektlerinde dermal analogların kontraksiyon üzerine etkileri ” adlı çalışma jürimiz tarafından Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı Prof. Dr. Cengiz ÇETİN
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.D

Üye Prof. Dr. A. Aydan KÖSE
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.D

Üye Prof. Dr. Alpagan Mustafa YILDIRIM
Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi A.D

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulunun/..../.....
Tarih ve/.... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Enver İHTİYAR
Dekan

TEŞEKKÜR

Eğitim sürem boyunca mesleki bilgi ve becerilerinin yanı sıra hayat tecrübelerinden büyük kazançlar sağladığım, değerli hocalarım Sn. Prof. Dr. Cengiz ÇETİN, Sn. Prof. Dr. A.Aydan KÖSE, Sn. Prof. Dr. Yakup KARABAĞLI ve Sn. Yard. Doç. Dr. A.Emre KOÇMAN'a teşekkürlerimi arz ederim.

ÖZET

Cemboluk, Ö. Rat tam kalınlıklı deri defektlerinde dermal analogların kontraksiyon üzerine etkileri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2015. Çalışmamızda, hayvan yara kontraksiyon modelinde, kollajen-glukozaminoglikan dermal analog (*Integra®*) ile kollajen-elastin dermal analog (*Matriderm®*)'in etkilerini karşılaştırmak amaçlanmıştır. Dermal analogların yara iyileşme özellikleri makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada 3 gruba ayrılan 21 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. Deney grubu-I ve II'de (n=7), ratların sırtlarına, 2 adet 2.5 x 2.5 cm'lik tam kat cilt defekti oluşturularak, defektlerden biri kollajen-GAG dermal matriks (*Integra®*) veya kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm®*) ile; diğeri dermal analogsuz yalnızca tam kalınlıklı deri grefti ile iyileştirilmiştir. Deney grubu I ve II, greftleme sonrası 0., 7., 14. ve 30. günlerde fotoğraflanmıştır. Deney grubu-III'te (n=7), ratların sırtına 3 adet 1.5 x 1.5 cmlik defekt oluşturularak defektler kollajen-GAG dermal matriks (*Integra®*), kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm®*) ve de yalnızca ince tam kalınlıklı deri grefti ile onarılmıştır. Deney grubu-III'ten greftleme sonrası 14. ve 30. günlerde histolojik değerlendirme için biyopsi alınmıştır. Histolojik incelemede epidermis ve dermis kalınlıkları, granülasyon dokusu, kollajen depolanması, elastin lifler, inflamatuvar hücreler ve myofibroblastik hücreler değerlendirilmiştir. Makroskopik olarak her iki dermal analog, TKDG'ne göre kontraksiyonu azaltmıştır. Ancak bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Histolojik olarak, dermal analog gruplarındaki inflamatuvar hücre popülasyonu TKDG grubundan daha az bulunmuştur ancak yabancı cisim reaksiyonu gruplar arası farklılık göstermemiştir. 30. gün biyopsilerinde, kollajen ve elastin liflerin dağılımının skar dokusu ile benzer olduğu görülmüştür. TKDG grubunda myofibroblast popülasyonu da dermal analog grubundan fazla bulunmuştur; ki bu fazlalık zaman içerisinde gerçekleşecek olan yara kontraksiyonunun göstergesi olarak kabul edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Tam kat deri defektleri, dermal analog, greft kontraksiyonu

ABSTRACT

Cemboluk, Ö. The Effects of Dermal Substitutes on the Contraction of the Full Thickness Skin Defects in Rats. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Eskişehir, 2015. The purpose of this study was to compare the effectiveness of collagen-glycosaminoglycan dermal matrix (*Integra*®) and collagen-elastin dermal matrix (*Matriderm*®) in an animal model of wound contraction. Wound healing attributes of the dermal substitutes were evaluated both macroscopically and histologically. Twenty one Sprague-Dawley rats divided in 3 groups were used for the study. In the experimental group-I (n=7) and group-II (n=7), rats received two full-thickness 2.5×2.5 cm dorsal skin wounds which were either implanted with collagen-GAG dermal matrix (*Integra*®) or collagen-elastin dermal matrix (*Matriderm*®) or full thickness skin graft without dermal substitute. Wounds were photographed on day 0, 7, 14 ,30 after skin grafting. In the experimental group-III, rats received three full-thickness 1.5×1.5 cm dorsal skin wounds which were either implanted with collagen-GAG dermal matrix (*Integra*®) or collagen-elastin dermal matrix (*Matriderm*®) or with only skin graft. On the days 14 and 30, biopsies were taken for histological evaluating characteristics. Histological sections were analysed with regard to epidermal and dermal thickness, granulation tissue, collagen deposition, elastic fibers, inflammatory cells and myofibroblasts. Macroscopically both dermal substitutes decreased wound contracture compared FTDG but it was not significant statistically. Histologically the inflammatory cell population in the dermal substitute groups was less than FTSG group but the foreign body reaction showed no difference between substitutes and FTSG. In 30th day biopsies, the distribution of collagen and elastic fibers was noted to be analogous with scar tissue. The myofibroblast population in FTSG group was also greater than dermal substitute groups which may indicate further wound contraction in time.

Keywords : Full-thickness skin defects, dermal substitutes, graft contraction

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Derinin Yapısı	3
2.2. Yara İyileşmesi	6
2.3. Yara İyileşmesinin Fazları	7
2.4. Deri Greftleri	10
2.5. Greft Kontraksiyonu	13
2.6. Deri Analogları	16
2.7. Dermal Analoglar	23
2.8. Dermal Analogların Sınıflandırılması	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Deney Hayvanları	38
3.2. Deney Protokolü	38
3.3. Cilt Greftlerinin Hazırlanması ve Saklanması	39
3.4. Cerrahi Prosedür	39
3.5. Deneklerin Takibi ve Parametrik Ölçümler	42
3.6. Verilerin İstatistiksel Analizi	42
4. BULGULAR	44
4.1. Komplikasyonlar	44

	Sayfa
4.2. Makroskopik Bulgular	44
4.3. Histolojik Bulgular	47
4.4. İstatistik Değerlendirme Sonuçları	53
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

C3	Compleman 3
C4	Compleman 4
ECM	Extracellular Matrix
EGF	Epidermal Growth Factor
ESOGÜ	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
FTSG	Full Thickness Skin Graft
GAG	Glycosaminoglycan
HIV	Human Immunodeficiency Virus
KGF	Keratinocyte Growth Factor
MMP	Matrix Metalloproteinases
MÖ	Milattan Önce
PAF	Platelet-activating Factor
PDGF	Platelet-derived growth factor
TICAM	Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi
TGF- β	Tumor Growth Factor- β
TGF- α	Tumor Growth Factor- α
TKDG	Tam Kalınlıklı Deri Grefti
TNF- α	Tumor Necrose Factor- α
Yy	Yüzyıl

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Derinin katmanları	4
2.2. Yara iyileşme dönemleri ve bu dönemlerde etkili hücre tipleri	7
2.3. Deri greftlerinin içerikleri	13
2.4. Ebers Papirüsünden bir sayfa	17
2.5. Dermal analoglarda hücre matriks etkileşimleri	32
2.6. İki katmanlı analogun şematik tanımı	35
2.7. Matriderm®'in deri grefti ile eş zamanlı uygulaması	36
3.1. Ratların sırtlarındaki defektlerin isimlendirilmesi	40
3.2. Ratların sırtlarındaki defektlerin greftlenmesi	41
4.1. Grupların günlere göre ortalama yüzey ölçüm sonuçları yüzde oranları	46
4.2. Greftleme sonrası 14. gün <i>I</i> ve <i>M</i> grubunun histolojik görüntüsü	47
4.3. Greftleme sonrası 30. gün grupların histolojik görüntüsü	49
4.4. Greftleme sonrası 30. günde <i>Integra</i> ® grubunda elastin liflerin görünüşü	50
4.5. Greftleme sonrası 30. günde kontrol grubunda myofibroblastların görünüşü	51
4.6. Grupların 14. ve 30. gün ortalama dermis kalınlıkları histolojik ölçüm sonuçları	53

TABLolar

	Sayfa
2.1. Yanık hastalarında cilt grefti sonrası kontraktür oluşumu relatif risk faktörleri	16
2.2. İdeal deri analogunun özellikleri	18
2.3. İçeriklerine göre cilt analogları	19
2.4. Dermal analogların öngörülen fonksiyonları	25
2.5. Sentetik dermal analoglar	28
2.6. Konstrükte biyolojik dermal analoglar	30
2.7. Rekonstrüktif cerrahide <i>Integra</i> ® kullanım endikasyonları	35
4.1. Grupların günlere göre ortalama yüzey ölçüm sonuçları	46
4.2. Grupların 30. gün ortalama epidermis ve dermis kalınlıkları histolojik ölçüm sonuçları	52
4.3. Grupların günlere göre yüzey ölçüm sonuç ortalamaları	54

1. GİRİŞ

Vücutun en büyük organı olan deri, önemli fizyolojik ve immünolojik özellikleriyle, organizmayı dış etkenlerden koruma, ısı düzenlemesi ve sıvı kaybının önlenmesi gibi hayati fonksiyonlara sahiptir [1, 2].

Yanık hastalarında veya travmatik cilt kaybı olan hastalarda, bu organın geniş kayıplarının tedavisi sıklıkla cilt greftlemeleri ile yapılmaktadır. İnsan cildinin greftleme sonrası kontraksiyona uğraması, ilave düzeltme cerrahileri gerektiren problemli bir postoperatif komplikasyondur. Günümüzde gelişen dünya ile birlikte, yanık vakaları daha sık ve yaygın olarak görülmekte ve her yıl 6 milyondan fazla hastaya cilt grefti uygulanmaktadır. Greftlenen hastaların en az %30'u, operasyonu takip eden aylarda, sıklıkla hipertrofik skar ve eklem hareketlerini kısıtlayan greft kontraksiyonu şikayetleri ile tekrar tedavi edilmektedir. Greft kontraksiyonunun bu derece büyük morbiditelere yol açmasına rağmen; etyolojisi ve kontraksiyonu önleme yolları ile ilgili bilgiler halen kısıtlıdır [3].

Dermis ve epiderminin tümünü içeren tam kat cilt defektlerinin iyileşme süreci, yeni doku oluşumu ile karakterize karmaşık bir dönemdir. Yara kontraksiyonu ve skar oluşumu yara iyileşme sürecinin kaçınılmaz bileşenleridir. Skar dokusu normal ciltten daha az esnek ve kozmetik olarak bozuk bir dokuyken; yara kontraksiyonu, özellikle eklemlere yakın bölgelerde hareketleri kısıtlayarak ciddi morbiditelere yol açabilen bir süreçtir. Yara kontraksiyonu ve skar oluşumunun; yetersiz dermal rejenerasyon, yoğun ekstraselüler matriks (ECM) remodelingi ve fibroblastların miyofibroblastlara diferensiyasyonu ile indüklendiğine inanılmaktadır [4].

Greft kontraksiyonunu önlemede halen geçerli olan klinik uygulamalar; eklem atelleme ve basınç giysileridir. Postoperatif dönemde alınan bu önlemlere ek ve/veya alternatif olarak 1900'lü yıllarda, kontraksiyon oluşmadan operasyon esnasında yapılabilecekler ile ilgili doku mühendisliği çalışmaları gündeme gelmiştir. Bu çalışmalarda yetersiz dermal rejenerasyonun önlenmesi üzerinde durulmuş, üç boyutlu dermal analog modeller geliştirilmiştir.

Günümüz piyasasında gün geçtikçe dermal analogların çeşitliliği ve yaygınlığı artmakta; ürünlere ulaşım daha kolay hale gelmektedir. Analogların, yeni oluşacak

dermis için taslak oluşturacağı, skar dokusunu ve yara kontraksiyonunu minimize edeceği öne sürölmektedir. Klinikte yaygın kullanılmaya başlanılan bu analoglar ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır.

Bu çalışmanın amacı, günümüzde özellikle deri kaybı tedavisinde, tam kat cilt defektleri onarımında sıklıkla kullanılan iki dermal analogun kontraksiyon üzerine etkilerini saptamaktır. Dermal analogların kontraksiyon üzerine etkilerinin belirlenmesinin, hastaların tedavi süreçlerini ve yaşam kalitelerini etkileyen greftleme sonrası kontraktürün önleme tedavisine katkıda bulunabileceği düşünölmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Derinin Yapısı

Deri vücudun tek başına en ağır organıdır. Toplam vücut ağırlığının yaklaşık % 16'sını meydana getirir ve yetişkinlerde 1,2 - 2,3 m², yenidoğanda 0.2 - 0.3 m²'lik yüzey oluşturur. Deri ektodermal orijinli epitelyal bir tabaka olan epidermis ve mezodermal orijinli bağ dokusu tabakası olan dermisten meydana gelir [5].

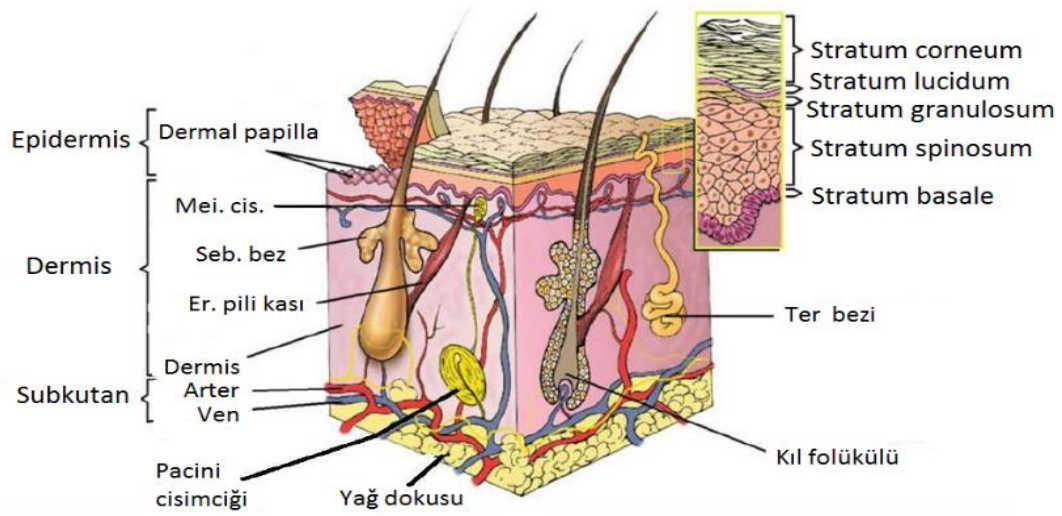
Derinin özellikleri kişiden kişiye ve aynı kişide farklı anatomik bölgelerde renk, elastikiyet, kalınlık, kıl ve sebace yağ bezleri bakımından değişkenlik göstermektedir. Derinin gerçek kalınlığı (epidermis/dermis kalınlığı), kişinin yaşına, cinsine ve vücuttaki bölgelere göre değişir. Yenidoğanın derisi erişkinlere göre 3.5 kat incedir. 5 yaşında erişkin kalınlığına ulaşır [2].

Anatomik ve fonksiyonel özellikleriyle farklı olan dermis ve epidermis katmanlarının birleşme yerleri düzensizdir ve papillâ denilen dermis uzantıları epidermal çıkıntılar ile içiçedir. Dermisin altında panniculus adiposus da denilen yağ hücrelerinin yer alabileceği bir gevşek bağ dokusu olan hipodermis veya subkutan doku uzanır. Derinin bir parçası olarak kabul edilmeyen hipodermis deriyi alttaki dokulara gevşekçe bağlar ve makroskopik anatomisi süperfisyal fasyaya benzemektedir. Epidermis ve ekleri (kıl, tırnak, ter ve yağ bezleri) ektodermden, dermis (karium), subkutis (bağ-yag dokusu, kollajen lifler, elastin lifler, kaslar, lenf ve kan damarları) mezodermden, sinirler ve melanositler ise nöroektoderm ve nöral çıkıntıdan meydana gelir [6, 7].

2.1.1 Epidermis

Derinin en üst tabakası olan epidermis, su geçirmez özelliği olan ve görünen kısımdır. Derideki renk, elastikiyet ve belirli bir deformite veya skar bu katmanda kendini gösterir. Çok katlı yassı keratinize epitelden meydana gelir. Epidermis başlıca keratinositlerden oluşmuştur ve tipik olarak 0,05-0,1 mm kalınlığındadır. Bazal tabakadaki hücrelerin bölünerek spinoz tabakaya doru yükselmesi ile oluşturulur [8]. Keratinositler epiderminin %95'ini oluşturur ve bazal tabaka tüm çoğalan keratinositlerin kaynağıdır. Yara iyileşmesindeki epidermal cevaptan primer olarak bu keratinositler sorumludur [9]. Epidermis tamamen altındaki dermis

tabakasına bağımlı bir tabakadır. Bu tabakadaki hücreler difüzyon sayesinde varlıklarını sürdürürler [10]. Dermisten yukarı doğru keratin üreten 5 hücre tabakasından meydana gelir (Şekil 2.1). Bunlar dıştan içe doğru sırasıyla korneum, lusidum, granulozum, spinosum ve bazal tabakalarıdır. En alt tabakadan cilt yüzeyine kadar olan hücresel progresyon yaklaşık 30 gün sürer.



Şekil 2.1. Derinin katmanları [10]

2.1.2 Dermis

Dermis, dikkate değer bir su tutma kapasitesine sahip olan makromolekülleri üretmek üzere bir araya gelen polisakkarid ve proteinleri barındıran destekleyici matrikstir. İnsan dermisinin kalınlığı 0,5 mm ile 5 mm arasında değişkenlik göstermektedir. Avuç içi ve ayak tabanı dermisin en kalın olduğu yerlerdir, koltukaltı ve göz kapağı derisinde ise en ince durumdadır. Kadınlarda genel olarak erkeklere göre daha incedir [2, 8, 10].

Dermis, ince ve yüzeysel papiller dermis ile kalın ve derinde bulunan retiküler dermis olarak iki kısımdan oluşur. Üç komponentten meydana gelir:

- i. Hücreler (fibroblast, histiyosit, lenfosit, plazma ve mast hücreleri)
- ii. Lifler (kollajen, elastin ve retikulum)

- iii. Temel madde (fibronektin, glikozaminoglikan, hyaluronik asid, kondroitin sülfat ve dermatan sülfat)

Fibroblastlar dermisin başlıca hücre tipidir. Yaşlanma ile sayıları azalır. Yara iyileşmesinde en önemli rolü oynarlar ve kollajen, elastin ve zemin maddesinin üretilmesinden sorumludurlar. Yara kontraksiyonunda da rolleri vardır. Prokollajenler terminal olarak proteolitik enzimler tarafından kollajene ayrıştırılarak çapraz-bağlı yapı haline gelirler. Bu sıkı çapraz bağlı kollajen fibrilleri mekanik güçlere karşı gerilme kuvveti ve direnci sağlar. Dermis ağırlığının %70'i kollajen liflerden oluşmaktadır. Total kollajenin % 85'i tip 1 kollajenden, %15'i tip 3 kollajenden meydana gelmektedir. Erişkinde her yıl deri kollajeni %1 oranında azalır. Elastin fibriller dermis ağırlığının %1'inden daha azını teşkil etmesine rağmen, deforme edici güçlere dirençte ve cildin dinlenme haline dönmesinde büyük bir role sahiptir [8].

Tam kat cilt defektlerinde iyileşme, dermal ve epidermal bileşenlerin kapsamlı sentez ve remodeling aşamalarını gerektirir. Fibroblastlar bu süreçte önemli bir role sahiptir ve en son geliştirilen suni dermal analoglarının yapısına dahil edilmiştir [11].

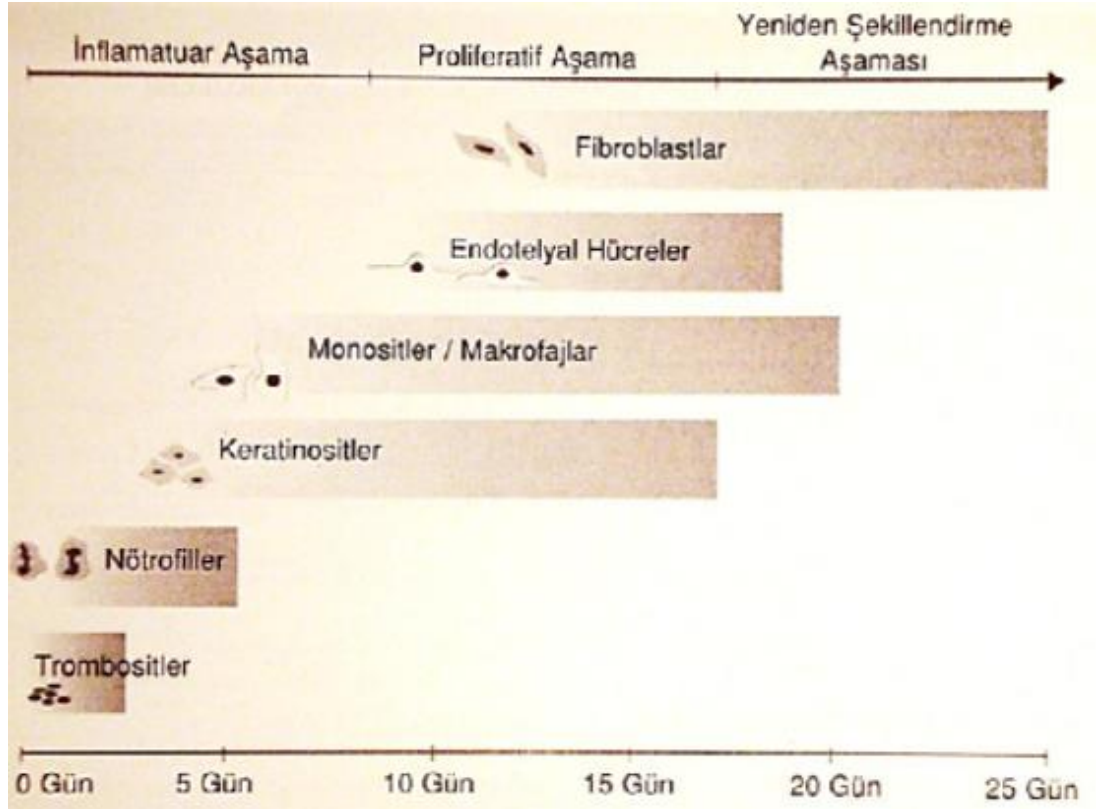
2.1.3 Hipodermis

Dermisin altında yer alan, değişik miktarlarda yağ hücresi içeren gevşek bağ dokusudur. Yapısındaki kollajen ve elastin fibriller dermis içerisinde devam eder. Isı kaybını engelleme, travmalara karşı koruma ve yedek besin deposu görevini görür. Karın bölgesinde kalınlığı 3cm'ye kadar çıkabilir. Bu kısımda bulunan fibrillerin az ya da çok oluşu, dermisin bu tabakaya sıkı ya da gevşek bağlanmasına neden olacağından derinin hareketliliği hipodermis fibrillerinin sayısına bağlıdır [10].

2.2. Yara İyileşmesi

Yara, dokunun normal anatomik yapısı ve fonksiyonunda hasarlanma veya bozulma olarak tanımlanır [12, 13]. Yaralanma veya hastalıklar sonucu meydana gelen geniş cilt defektleri ciddi sakatlıklara hatta ölüme yol açabilmektedir.

Travmatik bir doku hasarı sonucu organizmanın bu hasarı onarmak için verdiği yanıt, hasarlı dokunun yapı ve fonksiyonunun düzeltilmesidir. Yara iyileşme süreci, yaralanma anından itibaren başlayan, günler, aylar hatta yıllar sürebilen aktif dinamik bir süreçtir. Bu süreçte medyatörler, kan hücreleri, ekstraselüler matriks ve parenkimal hücreler görev alır [9, 14, 15]. Aslında iyileşme evreleri birbirinin içine geçmiş, karmaşık bir takım etkiler ile birbirini izleyen, sınırlarını tam olarak çizmenin mümkün olmadığı bir süreçtir [9]. Yaranın farklı bölgelerinde iyileşmenin farklı fazları yer alabilir [7]. Bu dinamik süreç, birbiriyle bağlantılı ve içi içe geçen üç fazda incelenebilir: inflamasyon, proliferasyon ve yeniden yapılanma (remodeling) [16]. İyileşmenin doğal kaskadını bozan herhangi bir durum, sonraki fazları da etkileyerek anormal iyileşme, kronik yara ve skar oluşumuyla sonuçlanabilir [14, 17].



Şekil 2.2. Yara iyileşme dönemleri ve bu dönemlerde etkili hücre tipleri [14].

2.3. Yara İyileşmesinin Fazları

2.3.1 İnflamatuvar Faz (1-6. günler)

İnflamatuvar faz, hemostaz ve inflamasyon ile karakterizedir [18]. Bu faz yaralanma anında başlar, fibroblastların yarada görülmeye başladığı 5-6. güne kadar devam eder. Bu aşamanın fonksiyonel öncelikleri, hemostazın sağlanması ve devitalize olmuş dokuların ortamdaki uzaklaştırılması ile özellikle de bakteriler tarafından oluşturulacak kolonizasyonların ve invaziv enfeksiyonların önlenmesidir [14].

İlk olarak yara bölgesindeki damarlarda zorunlu ve geçici vazokonstriksiyon oluşur. Bu olay koagülasyonun sağlanmasına yönelik olup çok kısa sürer. Travma sonucu ortaya çıkan kollajen, koagülasyon kaskadını aktive ederek inflamasyon fazını başlatır [18]. Trombositler onarımı başlatacak mekanizmayı harekete

geçirirler. Trombositlerden açığa çıkan Tromboksan A2 (TXA2), vazokonstrüksiyon ve trombosit agregasyonuna neden olarak trombosit tıkaçını oluştururlar. Bu süreçte ortaya çıkan fibrin, hem bir örgü oluşturarak bariyer oluşturur, hem de inflamatuvar hücre ve fibroblast göçü için uygun bir yer hazırlar [18]. Fibriler kollajen ve doku faktörü başta olmak üzere, yaralanmış dokunun komponentleri hemostazı sağlamak amaçlı etkilerini göstermeye başlar [14]. Trombosit agregasyonu ve koagülasyon kaskadı aktivasyonu başlayan bu süreçte trombositlerden sitokinler, serotonin, kallikrein ve büyüme faktörleri salınır. Bu mediyatörlerin etkisi ile bir taraftan yara bölgesindeki kapillerlerde vazodilatasyon ve permeabilite artışı olurken diğer taraftan kemotaksis etkisi ile nötrofiller, makrofaj ve diğer inflamatuvar hücreler yara bölgesine göç ederler.

Migrasyonla vasküler permeabilite artar ve yarada proteinden zengin olan eksuda sıvısı birikir. Sonuçta yara alanında ödem ve hiperemi gözlenir. Başta C3 olmak üzere kompleman sistemi aktive olur ve bu da kemik iliğinden yeni nötrofil yapımını uyarır. Aynı zamanda 1–2 dakika gibi çok kısa bir sürede yara etrafındaki vasküler yapılarda lökositlerin endotele yapışması sonucu lokal sitokinlerin (C5, lökotrienler, trombosit aktive edici faktör -PAF) salınımı gerçekleşir. Ardından nötrofiller yara alanına gelir. Tüm bu gelişmeler yaralanmadan sonraki ilk 2 gün içinde gerçekleşir [19].

Enflamasyonun devamında nötrofillerden ziyade makrofajlar ve lenfositler kritik rol oynar. Makrofajların yara iyileşmesindeki temel görevleri ana hatları ile fagositoz ve antimikrobiyal etki, yara debridmanı, matriks sentez regülasyonu, hücre aktivasyonu ve anjiogenezdır [9]. Aktive makrofajlar yara iyileşmesinde kilit rol oynayan hücrelerdir . Proliferatif faza geçişte oldukça önemlidir [9, 14, 17]. Makrofajlar sadece fagositoz yapmakla kalmaz, aynı zamanda çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımını gerçekleştirir [14]. Özellikle TGF- β gibi makrofaj kaynaklı sitokinler ikinci günden itibaren yaradaki fibroblastlarda fenotipik değişikliğe ve proliferasyona yol açarak esas olarak kollajen sentezini ve yara kontraksiyonunu sağlarlar [9].

2.3.2 Onarım (Proliferasyon) Fazı (5–21. günler)

Yara iyileşmesinin bu fazı epitelizasyon, anjiogenez, granülasyon dokusu oluşumu ve kollajen depozisyonu ile karakterizedir. Re-epitelizasyon, yaralanma sonrası saatler içerisinde başlar ve inflamatuvar sitokinler tarafından stimüle edilir [16]. Bazal tabaka intakt ise epitel hücreleri yukarıya doğru normal süreçlerinde ilerlerler. Bazal tabakanın hasarlanmış olduğu durumlarda ise, yara kenarlarındaki epitel hücreleri proliferasyon olarak, sıvı kaybı ve bakteriyel invazyonu önleyen koruyucu bariyeri tekrar oluşturmaya başlarlar. Epitelial proliferasyon ve kemotaksis, aktive olmuş platelet ve makrofajlardan üretilen EGF, TNF- α ve TGF- α tarafından stimüle edilir. TNF- α , fibroblastlarda keratinosit büyüme faktörü (KGF) gen ekspresyonunu uyararak komşu doku keratinositlerinin yaraya göçünü, çoğalmalarını ve epidermiste diferansiyasyon olmalarını sağlar.

Makrofaj kaynaklı TNF- α tarafından stimüle olan anjiogenez süreci, endotelial hücre migrasyonu ve kapiller formasyon ile karakterizedir. Yaranın metabolik aktivitesi de neovaskülarizasyon da etkilidir; oksijen miktarında azalma, pH düşüklüğü ve laktat yüksekliği gibi faktörler anjiogenez uyarıcı rol oynar. Kapiller damarların bölgeye göçü, düzgün yara iyileşmesi için kritiktir. Granülasyon fazı ve dokuların çoğalması için gerekli olan besin desteği bu kapillerler tarafından sağlanır ve bu aşamadaki bir hata kronik iyileşmeyen yara ile sonuçlanır [18].

Proliferasyon fazının son aşaması granülasyon dokusunun oluşumudur. Granülasyon dokusu yaralanmayı takiben yaklaşık 4. günde ortaya çıkar [14]. Çevre dokulardan fibroblastlar yara alanına göç ederek aktive olurlar ve kollajen sentezleyerek çoğalırlar. Platelet ve makrofajlardan kaynaklanan PDGF ve EGF, fibroblastları etkileyen başlıca medyatörlerdir. Yara yerinde var olan ve yara fibroblastları olarak adlandırılan fibroblastlar, makrofaj kaynaklı medyatör olan TGF- β 1 ile aktive olarak kollajen sentezlemeye ve yara kontraksiyonu için miyofibroblastlara dönüşmeye başlarlar. Bu fibroblastlar, çevre dokulardan gelen fibroblastlara oranla daha az proliferasyon olurlar. PDGF'e cevap olarak, fibroblastlardan tip 3 kollajen, glikozaminoglikan ve fibronektinden meydana gelen geçici bir matriks sentezlenir, yarada konnektif doku birikimi olur [9, 18].

2.3.3 Yeniden yapılanma (Remodeling) Fazı (22. gün–1 yıl)

Olgunlaşma, yeniden şekillenme anlamına gelen bu faz yara iyileşmesinin en uzun ve son fazıdır. Yara granülasyon dokusu ile dolduğunda ve keratinosit migrasyonu ile üzeri tekrar epitelize olduğunda, yeniden şekillenme aşaması başlar. Klinik olarak en önemli aşama olan bu fazda, kollajenin absorpsiyon ve yeniden yapılandırılması gerçekleşir. Hücre sayısı azalır. Bu dönemin başlangıcında yara gerinim kuvveti yaklaşık %20 iken, dönemin sonunda hemen hemen % 70 olacaktır. Yeniden şekillenme aşaması yaranın kontraksiyonu ve kollajen şekillendirilmesi süreçlerinin her ikisinin birlikteliği ile karakterizedir. Ortalama 3. haftadan sonra başlayan bu fazda kollajenin yeniden şekillenmesi ve matur skar oluşumu gerçekleşir [13, 14, 18].

Yaranın kontraksiyonu işlemi yara miyofibroblastları tarafından yapılır. Bunlar, bölünme ve matriksin kontraksiyonunu gerçekleştirme potansiyeli olan intrasellüler aktin mikrofilamentlerine sahip fibroblastlardır. Miyofibroblastlar, yarayı, kollajen matriksle spesifik integrin etkileşimleri yaparak kontrakte ederler [14].

Yarada kollajen sentezi, yaralanmayı takiben en az 4-5 hafta boyunca sürer. Yarada fibroblastlar tarafından sentezlenen ilk kollajen olan tip III kollajen, organize olmamış ve daha çok jel benzeri yapıdadır. Bu fazda tip III kollajen giderek yıkılır ve yerini tip I kollajene bırakır. Oluşan bu yeni kollajen lifleri uygulanan stres çizgilerine uygun dizilirler ve organize olurlar. Bu fazda fibroblast ve inflamasyon hücreleri giderek azalır [18, 20].

2.4. Deri Greftleri

Greft, beslenmesi verici alandan tamamen ayrılan, alıcı alanda yeterli beslenmeyi sağlayabilecek yataktan beslenerek canlılığını devam ettiren doku parçasıdır [14].

Flep ve greft ile cilt kaybı onarımları kavramı uzun yıllardır varlığını sürdürmektedir. Deri greftlerinin tarihte kayıtlı ilk kullanımı yaklaşık 2500 yıl önce Hindistan'da gerçekleşmiştir. 16. yüzyılda Gaspare Tagliacozzi cilt fleplerini

tarifleyen bir kitap yazmış; 1823 yılında Alman hekim olan Buenger, kalçadan buruna cilt transferini yaparak, ilk başarılı insan deri greftini belgelemiştir. 1870'li yıllarda, Reverdin ve George David Pollack ayrı ayrı yaptıkları cilt grefti girişimlerini yayınlamışlardır [21].

1872'de Ollier, cilt greftlerinde dermisin önemine dikkat çekmiş; 1886 yılında Thiersch, geniş yaraların kapatılmasında ince yarı kalınlıklı deri greftini kullanmıştır. Günümüzde ince yarı-kalınlıklı deri greftleri (0.005-0.01"/ 0.13-0.3 mm) Ollier ve Thiersch ortak isimleriyle anılır.

Lawson, Le Fort ve Wolfe, alt göz kapağı ektropiyonlarını düzeltmede tam kat deri greftlerini kullandılar. Krause, 1893'te tam kat deri defektlerinin kullanımını yaygınlaştırmıştır, günümüzde bu greft Wolfe-Krause grefti olarak bilinir. Brown ve McDowell, 1942 yılında kalın tam kat deri greftlerinin (0.01-0.022"/ 0.3-0.6 mm) yanık tedavisinde kullanımı ile ilgili çalışmalarını yayınlamıştır [22].

Plastik ve rekonstrüktif cerrahi pratik uygulamalarında, 20. yy başlarında hızlı bir ilerleme kaydedilmiştir. I. Dünya savaşı öncesinde ya çok ince ya da tam kalınlıklı cilt greftleri kullanılmaktaydı. Blair ve Brown, başarılı yarı kalınlıklı cilt greftleri raporlamış; Padgett ve Hood, günümüzde halen kullanılmakta olan dermatomu icat etmişlerdir. II. Dünya savaşı sırasında; özellikle uçak kazaları sonucu birçok askerin maruz kaldığı yaralanmalar, özellikle yanık tedavisinde plastik cerrahi uygulamalarında yeni ve geliştirilmiş yöntemlere fırsat tanımıştır [23].

1964'te Tanner, Vandeput ve Olley, grefti meş biçimine getirerek 12 kat daha geniş yüzey alanında kullanılmasına olanak veren makinayı buldular. 1975'te Rheinwald ve Green tarafından epitel doku kültürü teknolojisi yayınlanmış; 1979 yılında greftleme için yeterli epitel dokuyu sağlayacak insan keratinosit kültürü üretilmesi başarılmıştır [22].

2.4.1 Greftlerin Kaynağına Göre Sınıflandırılması

Deri greftleri alıcı ve vericilerin özelliklerine göre 4 farklı şekilde isimlendirilir.

Otogreft : Alıcı ve vericinin aynı canlı olduğu greftlerdir. Bireyin kendisinden alınan cilt greftleri en sık tercih edilen ve uygulanan greftlerdir. Günümüzde epitelyal otogreft kültürlerinin kullanımı da yaygınlaşmıştır.

İsogreft : Alıcı ve verici arasında genetik benzerlik mevcut olan greftlerdir. İkiz kardeşler arasında uygulanan greftler isogreftlere örnektir.

Allogreft (homogreft) : Aynı tür, farklı bireyden alınan greftlerdir. Günümüzde en sık uygulanan cilt allogreftleri kadavradan elde edilen greftlerdir. Canlı donörlerden elde edilen allogreftin kullanımı yaygın değildir.

Ksenogreft (heterogreft) : Bir canlı türünden diğerine geçici greft olarak uygulanan dokulardır. Günümüzde en sık uygulanan ksenogreft ürünleri domuzdan temin edilmektedir.

2.4.2 Greftlerin Kalınlıklarına Göre Sınıflandırılması

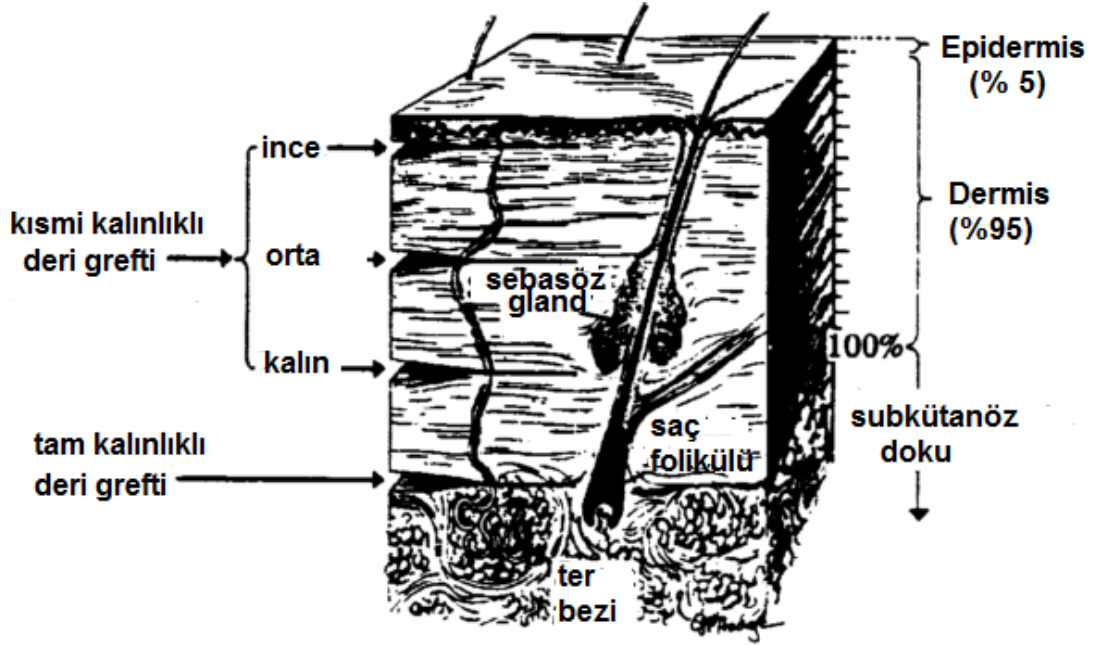
A. Kısmi (Split) Kalınlıkta Deri Grefti:

Kısmi kalınlıkta deri greftleri epidermisin tamamını ve de kalınlıklarına göre değişken miktarda dermis içerirler.

- Thin (ince) split-thickness (0,005-0,012 inch/ 0.13-0.31 mm)
- Medium (orta) split-thickness (0,012-0,018 inch/ 0.31-0.47 mm)
- Thick (kalın) split-thickness.(0,018-0,030 inch/ 0.47-0.78 mm)

B. Tam (Full) Kalınlıkta Deri Grefti

Normalde, tam kat cilt defektlerinde yara kenarlarından epitel dokunun ilerlemesi ortalama olarak 1-2 mm/gün kadardır. Geniş cilt kayıplı yaralar için çeşitli greftleme teknikleri geliştirilmiştir. Hem dermis hem de epidermis içeren otolog tam kat greftler ile en iyi kozmetik ve fonksiyonel sonuçlar sağlanır. Cilt grefti ile transfer edilen dermis miktarı arttıkça rejenerasyon hızlanır; kontraksiyon ve skar dokusu gelişimi azalır [24]. Tam kalınlıkta deri grefti tüm dermis ve epidermisi içerirken kısmi kalınlıkta deri grefti çeşitli oranlarda dermisi içerir. Bu tip greftler salgı bezleri, ter bezleri, saç follikülleri ve kapiller damar gibi adneksal yapıları da içerirler. Donör saha primer kapatılır [14].



Şekil 2.3. Deri greftlerinin içerikleri. Kısmi kalınlıklı deri grefti çeşitli miktarlarda dermis içerebilir. Tam kalınlıklı deri greftleri dermisin bütünü ile birlikte alınır [22].

İnsanlarda, tam kat cilt greftlerinin kontraksiyona dirençli olduğu, minimal kontraksiyona uğradığı kabul edilmektedir. Sekonder iyileşmeye bırakılan ve kısmi kalınlıklı cilt grefti ile onarılan yaralarda iyileşme esnasında kontraksiyon kaçınılmazdır. Tam kalınlıktaki deri greftlerinin, iyileşen yarayı atele alır gibi sabitleyerek kontraksiyonu engellediği düşünülmektedir. Kontraksiyonda hem kullanılan greftin hem de yara yatağının katkıları olmaktadır. Tam kat cilt greftleri; primer onarımın, sekonder iyileşmenin ve kısmi kalınlıklı cilt greftleri kullanımının fonksiyonel ve kozmetik olarak istenmeyen sonuçlar doğuracağı durumlarda tercih edilir [25].

2.5. Greft Kontraksiyonu

Yara kontraksiyonu, tam kat yaraların alanını küçülterek kapanmasını hızlandıran normal fizyolojik bir olgudur. Gevşek derili hayvanlarda *panniculus carnosus* adı verilen, cildin alttaki dokular üzerinde rahatça kaymasını sağlayan subkütanöz kas tabakası bulunur. Ancak insanlarda böyle bir kas tabakası mevcut

olmadığından cilt, alttaki dokulara daha sıkı bağlıdır ve iyileşme sırasında meydana gelen kontraksiyon, çevre dokuların distorsiyonu sonucu kozmetik deformasyonlara ve eklem hareketliliğinin kısıtlanmasına yol açar. Hayvan derisi ile insan derisi arasındaki bu farktan dolayı, yara ve greft kontraksiyonu üzerinde yapılan çalışmalar için kullanılan hayvan modelleri ideal modeller değildir [3, 26].

Sekonder iyileşmeye bırakılmış tam kat yaralar ile kısmi kalınlıklı deri grefti uygulanmış yaralar karşılaştırıldığında; kısmi kalınlıklı deri greftinin kontraksiyonu ve hipertrofik skar gelişimini azalttığı yaygın olarak kabul görmektedir. Ancak, cilt greftleri de eklem mobilizasyonunu engelleyecek kadar kontrakte olabilirler. Gelişen kontraktürler genellikle, cerrahi serbestleştirilmenin yapılarak alanın yine başka bir greft ile onarılması ile düzeltilir. Girişimler hem hasta için yeni morbiditelere yol açar hem de mali yükler getirir.

Cilt greftlerinin kontraksiyonu 2 aşamada meydana gelir. Greft donör sahasından ilk ayrıldığında, anında meydana gelen boyut küçülmesi primer kontraksiyon olarak adlandırılır. Primer kontraksiyonun, dermisin içeriğindeki elastin liflerin pasif olarak kasılması sonucu meydana geldiği kabul edilir [3]. Greftlerin kontraksiyon oranları greft kalınlığına bağlı olarak değişir. Tam kalınlıklı bir deri grefti primer kontraksiyon sonucu % 40 oranında küçülürken; orta kalınlıkta bir kısmi deri grefti % 20, ince bir kısmi kalınlıklı deri grefti %10 oranında küçülür [22]. Vücudun aynı bölgesinden alınan greftler karşılaştırıldığında en fazla primer kontraksiyon tam kat greftlerde görülür. Dermis miktarı azaldıkça elastin içeriği de azalacağından greft inceldikçe primer kontraksiyon azalır. Dermis içermeyen saf epidermal greftlerin primer kontraksiyona uğramadıkları kabul edilir [3, 22].

Cilt grefti alıcı sahasına yerleştirildiğinde sekonder kontraksiyon meydana gelir. Bu kontraksiyonda greftin kenarlarının merkeze doğru hareketiyle; greftin hem yara yatağı ile temas eden yüzü hem de çevresi küçülür. Yine, kontraksiyon eğilimi greft kalınlığı ile ilişkili iken; kısmi kalınlıklı deri greftleri tam kalınlıklı greftlere göre daha fazla sekonder kontraksiyona uğrarlar. Primer kontraksiyonun aksi olan bu durumun, greftlerin içerdiği dermisin hücrel ve matriks komponentlerindeki farklılıklardan olabileceği düşünülmektedir. Greftleme sonrası 4. haftada epidermal hiperplazi ve dermal fibrozisin tam kat deri greftlerinde daha az görüldüğü gösterilmiştir.

Greftlenen sahanın da kontraksiyon derecesi üzerinde etkisi vardır. Direkt fasya üzerine uygulanan greftler, daha mobil dokular üzerine uygulananlara göre daha az kontrakte olurlar. Ayrıca, granülasyon dokusu üzerine uygulanan greftler, tanjansiyel eksizyon uygulanmış yara yataklarına uygulanmış olanlara göre çok daha fazla kontraksiyona uğrarlar. Yanık yüzeyi genişledikçe kontraksiyon riski ve derecesi de artar. Kontraksiyon derecesi çocuk hastalarda daha fazladır. Çocuklardaki bu risk fazlalığının, TGF- β düzeyinin yaşa bağlı olarak değişimi ile ilişkili olduğu var sayılmaktadır.

Bir hastaya uygulanan greftin fazla kontrakte olup, başka bir hastada kontrakte olmayışının sebebinin bireysel varyasyonlar olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, aynı hasta üzerinde uygulanan greftler uygulama bölgelerine göre farklı kontraksiyon oranlarına sahiptir. Greft kontraksiyonunun mobil olan boyun, aksilla, el ve diz bölgesinde daha belirgin olması bu bölgelerdeki mekanik direnç eksikliğinden meydana gelmektedir. Greftin alındığı donör sahanın da kontraksiyonda rolü vardır. Gövdenin arka tarafından alınan greftler, göğüs ön duvarı ve batın anterioruna göre daha fazla kontrakte olurlar. Bunun sebebi tam olarak bilinmese de, cildin bölgeye spesifik özelliklerinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir [3].

Tablo 2.1. Yanık hastalarında cilt grefti sonrası kontraktür oluşumu relatif risk faktörleri [22].

<i>Faktör</i>	<i>Düşük risk</i>	<i>Yüksek risk</i>
Yaş	Erişkin	Çocuk
Yanık alanı	Küçük	Geniş
Yanık lokalizasyonu	Gövde, eklemden uzak ekstremite	Boyun, aksilla, el, diz
Yara yatağı hazırlanışı	Tanjensiyel eksizyon	Granülasyon dokusu
Yara yatağı mobilizasyonu	Düşük	Yüksek
Greft kalınlığı	Kalın	İnce
Donör alan	Anterior gövde	Posterior gövde

2.6. Deri Analogları

Deri analoglarının kullanımı ile ilgili ilk yazılı belge M.Ö 15. yy'a ait olup Ebers Papirüsünde yer almaktadır. Yazıtta, yanık hastalarında kurbağa derisinin geçici pansuman olarak kullanımı tariflenmiştir. İnsan deri allogreftlerinin klinikte ilk kullanımı 1503 yılında tanımlanmıştır [27]. Günümüzde biyoteknoloji ve doku mühendisliğindeki ilerlemeler sayesinde, piyasada birçok çeşit deri analogu mevcuttur [27].



Şekil 2.4. Ebers Papirüsünden bir sayfa. Eser yaklaşık M.Ö 1700 yılında yazılmıştır ancak içerdiği bilgilerin çoğu M.Ö 2640 yılına aittir [28].

Günümüzde yaranın ve kullanılan malzemenin özelliklerine göre kalıcı veya geçici yara kapamaya yardımcı birçok çeşit deri analogu mevcuttur [29]. Deri analogları; derin dermal ve tam kat cilt defektli yaraların tedavisinde önemli role sahiptir [27]. Bu ürünler, cerrahi debridman veya flep ile onarım gibi standart cerrahi tedaviler tercih edilmediğinde, asıl tedavilere alternatif olarak kullanılır. Daha az vaskülerize yara yatağı gereksinimleri, iyileşmiş yarada dermal bileşenleri arttırmaları, inhibitör faktörleri azaltmaları, inflamatuvar yanıtı azaltmaları, hızlı ve güvenli yara kapatma sağlamaları açısından diğer mevcut seçeneklerden daha üstün rekonstrüksiyon çözümü sunabilirler. Böylece; rekonstrüksiyon basamakları arasında değişikliklere yol açarak, istenildiği takdirde uç tedavilere yönelmeden çözüme ulaştırabilirler.

Günümüzde kusursuz ve ideal bir cilt analogu ürünü halen mevcut değildir [27, 29-33]. Doku mühendisliği ve biyoteknoloji, optimal deri analogunu oluşturmak üzere çalışmalarını sürdürmektedir [27, 33]. İdeal ürünün niteliksel özellikleri Tablo 2.2’de sıralanmıştır. Bütün bu özellikleri tek bir üründe bulmak mümkün olmasa da,

kullanıcıların ürün seçiminde bu ilkeleri dikkate alarak kişisel tedavi deneyimlerini oluşturdukları var sayılmaktadır [29]. Piyasada mevcut olan ürünlerin üzerinde yapılan çalışmalar ürünlerin farklı klinik tablolarındaki etkinlik ve verimliliği hakkındaki bilinmezlikleri aydınlatmaktadır [34]. Her ürün tipinin kendine ait uygulama yöntemi ve kliniğe göre değişen avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Bu çeşitlilik öyle fazladır ki, bütün ürünlerin birebir karşılaştırmalarının yapılması olanaksızdır.

Tablo 2.2. İdeal deri analogunun özellikleri [29].

-
- Enfeksiyonlara karşı dirençli
 - Yara hipoksisine karşı dayanıklı
 - Fayda maliyet oranı yüksek
 - Hazırlanışı kolay
 - Saklanması/depolanması kolay
 - Kullanımı kolay
 - Değişken kalınlıkta
 - Antijenitesi olmayan
 - Uzun süreli yara stabilitesi sağlayan
 - Kalıcı yara kapama sağlayan
 - Dermal ve epidermal bileşimleri tekrar sağlayan
 - Gerilme kuvvetlerine dayanıklı
 - Yaygın olarak kullanılabilir
-

2.6.1 Cilt Analoglarının Sınıflandırılması

Cilt analoglarını çeşitli özelliklerine göre sınıflamak mümkündür. Bileşenlerine göre önerilen sınıflama Tablo 2.3’de gösterilmiştir.

Tablo 2.3. İçeriklerine göre cilt analogları [27].

<p>I. Kategori : Geçirgen olmayan, kalıcı olmayan pansuman malzemeleri:</p> <p>a) Tek katmanlı malzemeler</p> <ul style="list-style-type: none"> • Doğal ya da biyolojik analoglar. Örn. Amniyotik membran, patates kabuğu • Sentetik analoglar. Örn. Sentetik polimer tabaka (<i>Tegaderm</i>®, <i>Opsite</i>®) <p>b) Çift katmanlı, doku mühendisliği malzemeleri. Örn. <i>TransCyte</i>®</p> <p>II. Kategori: Tek katmanlı, kalıcı cilt analogları</p> <p>a) Epidermal analoglar. Örn. Epitelyal otogreft kültürleri (<i>Apligraf</i>®)</p> <p>b) Dermal analoglar.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sığır kollajen tabaka. Örn. <i>Kollagen</i>® • Domuz kollajen tabaka • Sığır dermal matriks. Örn. <i>Matriderm</i>® • İnsan dermal matriks. Örn. <i>Alloderm</i>® <p>III. Kategori: Kompozit cilt analogları</p> <p>a) Cilt greftleri</p> <ul style="list-style-type: none"> • Allogreft • Ksenogreft <p>b) Doku mühendisliği greftleri</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dermal rejenerasyon modeli. Örn. <i>Integra</i>® • <i>Biobrane</i>® 	<hr/>
--	-------

Uygulamada kolaylık olarak ele alındığında cilt analogları, kalıcı olan veya olmayan; sentetik veya biyolojik olarak sınıflanabilirler.

2.6.2 Kalıcı olmayan cilt analogları

Geçici cilt analogları, yarayı mekanik travmalardan korur, bakterilere karşı fiziksel bariyer oluşturur ve nemli yara ortamının devamını sağlar. Böylece, bir süreliğine yaranın fizyolojisini koruyarak yara örtülmesine yardımcı olur.

Geçici cilt analoglarının genel kullanım amaçları:

- Donör sahaların epitelizasyonunu kolaylaştırmak ve ağrı kontrolünü sağlamak;
- Epitelizasyon gerçekleşene kadar yüzeysel temiz yaraların pansumanını yapmak,
- Eksizyon sonrası otogreft için beklenirken, derin dermal veya tam kat yaraları fizyolojik olarak kapatmak,
- Yaygın bir şekilde meşlenmiş otogreftlerin üzerini örtmek,
- Şüpheli yara zeminlerinde bir deneme grefti olarak kullanmak.

2.6.3 Kalıcı cilt analogları

Kalıcı cilt analogları; kalıcı olarak yarayı kapatır, cilt bileşenlerinin yerini alır ve ince otolog cilt greftlerinden daha kaliteli bir cilt elde edilmesini sağlar.

2.6.4 Biyolojik cilt analogları

Geçici bir süreliğine cilt gibi görev yapan biyolojik cilt analoglarının, temin edilmesi daha kolay ve ücretlerinin pahalı olmaması gibi avantajları mevcuttur. Sentetik cilt analogları talep üzerine üretilip temel bileşenleri özel amaçlar için modifiye edilebilirken; biyolojik analogların, daha doğal bir dermis oluşmasını sağlayan daha intakt ve doğal bir ekstrasellüler matriksi mevcuttur. Ayrıca bazal membran varlığından dolayı daha düzgün reepitelizasyon niteliğine ulaşılmasını sağlar. Ancak malzemenin yavaş vaskülarizasyonu karşılaşılabilen bir problemdir. Günümüzde en yaygın kullanılan biyolojik analog kadavradan elde edilen cilt allogrefti, domuz cilt ksenogrefti ve amniondur [27].

Ksenogreftler

Ksenogreftler; bir canlı türünden diğerine geçici greft olarak uygulanan dokulardır. Bu greft türü ilk olarak M.Ö 1500 yıllarda, yara örtülmesi amaçlı kullanılmıştır. Bu amaçla kullanılan ilk deri kurbağa derisi olup, Vietnam ve Güney Amerika'da olduğu gibi modern dünyada zaman zaman bu greftlere tekrar başvurulmuştur. Günümüz piyasasında en sık kullanılan ksenogreft ürünleri domuzlardan temin edilmektedir. Ürünlerdeki epidermis uzaklaştırılmış olup, değişik kalınlıklarda dermis içerirler. Muhafaza edilme süreçlerine bağlı olarak; dondurularak veya soğutularak depolanırlar. Sadece geçici yara örtmede kullanılan bu ürünlerin temiz, parsiyel kalınlıklı yaralarda uygulanılmaları endikedir.

Amnion

Amnion, fetal membranın en iç katmanını oluşturan, ince yarı geçirgen zar tabakasıdır. 1910 yılından itibaren yanık tedavisinde aktif olarak kullanılmaktadır. Taze amnion kontaminasyon ve hastalık geçişi için risk oluşturduğundan seçilmiş ve takipli hastaların plasentasından toplanır [27]. Düşük miktarda bakteri barındırdığından, yanık yarasında kullanılan en etkili biyolojik cilt analogu olduğu ileri sürülmektedir. Protein, elektrolit ve sıvı kaybını azaltır, enfeksiyon riskini düşürür, ağrıyı minimize eder, yara iyileşmesini destekler [35].

Amnion esas olarak, parsiyel kalınlıklı yanıklarda tam iyileşme sağlanana kadar yarayı kapamada kullanılır. Özellikle yüzeysel kısmi kalınlıklı yüz yanıklarında kullanımı faydalıdır. Yüz yanıklarında kullanımında, uygulaması ve çıkarılması kolaydır. Ayrıca yara yatağı hazırlamak için zaman kazanmada geçici greft olarak ve sandviç greftleme tekniğinde kullanılır [27].

Cilt Allogreftleri

Cilt allogreftlerinin kullanımı II. Dünya Savaşı dönemlerinde başlamıştır. Dünya genelinde büyük yanık merkezlerinde en sık uygulanan cilt allogreftleri kadavradan elde edilen greftlerdir. Canlı donörlerden elde edilen allogreftler ile ilgili yayınlar da mevcut olmasına rağmen çok tercih edilen bir yöntem değildir [27]. Canlı allogreft kullanımını iyi bir seçenek olmasına rağmen acil durumlarda temini oldukça güçtür. Ayrıca canlı allogreftler, işlenmiş olanlara göre daha antijeniktir ve hepatit B,

C ve HIV gibi enfektif hastalıklar geçisi açısından daha risklidir [30]. Canlı cilt allogreftleri, tıpkı yarı kalınlıklı cilt greftleri gibi, inoskölasyon ile revaskülarize olabilirler. Ayrıca bu greftler; büyüme faktörleri ve temel sitokinleri sağlayarak yara yataklarında kemotaksis ve proliferasyon oluştururlar [27].

Cilt allogreftleri; yara zemini hazırlanmasında, nihai pansumanda ve sandviç greftleme tekniğinde endikedir [27]. Allogreftler, daha sıklıkla otogreftlerin yeterince alınmadığı geniş doku ihtiyacının olduğu yanık hastalarında ve bebek hastalarda oldukça faydalıdır [30]. Anjiogenezi destekleyerek yara yatağında vaskülariteyi arttırdıklarından, yanık yara yatağı hazırlanmasında kullanılırlar [27]. Sandviç greftleme tekniğinde, otogreftin üzerini örtmek için kullanıldıklarında, geniş meşlenmiş otogreftin aralarında kalan yara yatağının kurummasını engeller ve bakteriyel kolonizasyonu önlerler. Greftin kayması önlenir. Ayrıca, cilt allogrefti kullanıldığında, yara yatağı epitelizasyonu hızlanır [27].

İlk fonksiyonel deri bankası kurulması ile ilgili çalışmalar 1971 yılında Burke ve Bondoc tarafından gerçekleştirilmiştir. Geniş yanık sahasına sahip hastalarda, travmalarda ve yumuşak doku kayıplarında allogreftlerin kullanımının giderek yaygınlaşması ile son 2 dekatta deri bankalarına olan ihtiyaç giderek artmıştır. Günümüzde birçok ülkede büyük yanık merkezleri ile yakın temasta çalışan kadavreik deri grefti bankaları mevcuttur [36]. Ülkemizde doku bankası kurulması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Epitelyal Otogreft Kültürleri

Keratinosit kültürlerinin kullanılmaya başlanması yanık tedavisinde önemli bir gelişmedir. İlk klinik çalışma, 1981 yılında, geniş tam kat bir yanık hastasında yayınlanmıştır. Çalışmada O'Connor ve arkadaşları, insanda ilk başarılı epitelyal greft kültürü ototransplantasyonunu gerçekleştirmiştir [37]. Keratinositlerin kullanıldığı geniş yüzey alanı için hastanın sağlıklı cildinden alınan küçük bir cilt dokusu yeterli olmaktadır. Otolog keratinositler izole edilerek, 3-5 haftalık süre kültürde çoğaltılır. Fibrin yapıştırıcı süspansiyon tekniği (fibrin glue) ile bu süre 2 haftaya indirilebilir. Epitelyal otogreft kültürleri, parsiyel kalınlıklı otogreftlerin meşli görüntüsünden ve donör saha sıkıntılarından kaçınılmasını sağlar. Cilt

otogreftlerinden daha frajil oluşu ve elde edilişindeki güçlükler, maliyetinin yüksek olması keratinosit kültürlerinin kullanımını sınırlar [27, 34].

2.6.5 Sentetik Cilt Analogları

Sentetik cilt analogları, normal ciltte mevcut olmayan, non-biyolojik moleküller ve polimerlerden yapılır. Bu yapılar, stabil ve biyolojik olarak parçalanabilir olup doku rejenerasyonu için elverişli bir ortam sağlamalıdır. Kapillerlerin ve fibroblastların çoğalarak epitel hücreleri ile örtülmenin gerçekleşebilmesi için üç boyutlu yapı, en az 3 hafta korunmalıdır. Biyolojik parçalanma bu periyottan sonra gerçekleşir. Bu sürecin yoğun yabancı cisim reaksiyonu ile gerçekleşmesi fazla skar oluşumu ile ilişkilendirilir. Ayrıca analoglar, immün reaksiyonlardan sakınmak için immüniteyi uyarmayacak materyaller içermelidir.

Bu cilt analoglarının suni yapısı, biyolojik ürünlerin doğal yapılarıyla karşılaştırıldığında bazı belirgin avantaj ve dezavantajlara sahiptir. Ürünlerin bileşimleri ve özellikleri tam olarak kontrol altındadır. Etkiyi arttırmak için büyüme faktörü ve matriks komponentleri gibi eklentiler yapılabilir. Bu ürünlerde, potansiyel hastalık geçişinin komplikasyonları ortadan kaldırılmıştır. Ancak sentetik analoglar genellikle bazal membran içermezler ve yapıları birebir normal cilt benzerliğinde değildir. Biyolojik olarak tamamen uyumlu materyal üretme amaçlanırken, kullanılmakta olan non-biyolojik bileşenler problemlere yol açabilmektedir [38].

Günümüzde piyasada çeşitli sentetik cilt analogları mevcuttur. Ayrıca in vitro çalışmalarda ve hayvan deneyi aşamalarında olan birçok sentetik analog çalışması devam etmektedir [38-41]. Piyasada mevcut ürünler: Biobrane®, Dermagraft®, Integra®, Apligraf®, Matriderm®, Orcel®, Hyalomatrix®, Renoskin®.

2.7. Dermal Analoglar

Yaygın yanıklarda olduğu gibi, geniş cilt defektlerinde daha etkin yara kapama için sıklıkla meşlenmiş kısmi kalınlıklı deri greftleri kullanılır. Özellikle derin dermal defektlerde, skar oluşumu ve yara kontraksiyonu gelişmesi bu tekniği tam kat greftlere göre daha dezavantajlı kılmaktadır. Meşlenmiş kısmi kalınlıklı deri

grefleri ile beraber biyolojik olarak parçalanabilen yapay dermal analogların kullanımı, hem geniş alanların greftlenebilmesine hem de istenilen yeterli dermal rekonstrüksiyonun elde edilmesine olanak vermiştir [24].

Cilt kayıplarının tedavisi amaçlanarak üretilen çift katmanlı cilt benzeri ürünler, literatürde ilk olarak ‘suni deri’ olarak adlandırılmışlardır. Bu adlandırma; sentetik analogun anında kayıp cildin yerini alarak; cildin mekanik dayanıklılığının, renginin, hissinin ve diğer fizyolojik özelliklerinin tamamen telafi edildiği gibi kafa karıştırıcı bir düşünceye yol açmaktadır. Gerçekte bu analoglar, ilk literatüre giren isimlerinin çağrıştırdıklarından daha farklı görevler üstlenmektedir. Analog yaygın kullanılmaya başlandığında; iki katmandan biri olan porlu kollajen glukozaminoglikan (GAG) iskelelenin, tam kat cilt yaralarında, dermisin yeni baştan sentezlenmesine yol açan alışılmadık bir rejenerasyon faaliyetine sahip olduğu anlaşılmıştır. Erişkinlerde, epidermis spontan olarak rejenere olurken dermis spontan rejenere olmaz. Bu iskele yapının varlığı durumunda dermis rejenerasyonu, yetişkin iyileşme sürecinin tersine dönmesini sağlayacak en kritik basamaktır. Bu basamak, cilt fonksiyonunun parsiyel restorasyonuna yol açan yeni bir terapi için temel oluşturur [41].

Yaranın enfeksiyondan ve sıvı kaybından korunması, dermal analogun geçirgen olmayan bir yara örtüsü ile kaplanmasıyla başarılabilir. Bunu sağlayabilmek için yıllar içerisinde iki yöntem geliştirilmiştir. Yöntemlerden biri, dermal analoga genellikle silikondan yapılmış bir tabaka ekleyerek geçici olarak yaranın üzerini örtmek; yeterli vaskülarite sağlandıktan sonra silikon tabakayı çıkararak otolog kısmi kalınlıklı deri grefti ile bölgeyi kapatmaktır. Bu uygulama ‘iki basamaklı prosedür’ olarak bilinir. Vaskülaritenin sağlanması üç haftalık bir süreç gerektirir. Bu süreç içerisinde yara enfeksiyonu tehlikesi halen devam etmektedir. İki basamaklı prosedürün dezavantajı bekleme süresindeki bu enfeksiyon riskinin varlığıdır. Bu nedenle ‘tek basamaklı prosedür’ olarak bilinen ikinci bir uygulama yöntemi geliştirilmiştir. Yara debridmanını takiben, dermal analogun yerleştirilmesiyle eş zamanlı olarak otolog deri grefti ile yara kapatılır. Bu yöntem erken yara kapatılmasını sağlarken, vaskülerize olmamış dermal analogun varlığı üzerindeki greftin yaşamasını engelleyebilir. Porların büyüklüğü ve göç eden hücrelerin

yerleşim alanı gibi, dermal analogun üretim özellikleriyle birebir ilişkili olduğundan her üründe uygulanabilecek bir yöntem değildir.

Tablo 2.4. Dermal analogların öngörülen fonksiyonları [38].

-
- A. Yarayı enfeksiyondan ve sıvı kaybından korumak
 - B. Neodermal doku sentezi için stabil ve biyolojik olarak parçalanabilen bir şablon sağlamak
 - C. Dermal hücre olarak görev yapacak olan hücrelerin göçüne yardımcı olarak yerleşecek alan sağlamak, skar dokusundan ziyade dermal doku oluşturmak
 - D. Gerilme ve yırtılmaya karşı direnç göstermek
-

Dayanıklılık, biyolojik olarak çözünebilirlik ve immünite ile uyumluluk; bir dermal analogun tasarım ve fonksiyonunda en önemli konulardır. Analog, geçici olarak kayıp dermal dokunun yerini almalı; yeni ve fonksiyonel dermis için uygun ortamı sağlamalıdır.

Dermal analogun malzemesinin stabilitesi çok az ise, yani parçalanması kısa sürede gerçekleşiyor ise, analogun iskele yapı görme görevi yerine gelememiş olacaktır. İnsanlarda, yara iyileşme sürecinin proliferasyon fazı yaklaşık 3 haftalık bir süreçtir. En azından bu faz boyunca dermal analogun geçici üç boyutlu yapısı; vaskülarizasyonun gerçekleşmesine, fibroblastların çoğalmasına ve epitelizasyonun sağlanmasına olanak verecektir. Genel olarak, analogların stabilitesi, biyomateryallerin içeriğinde fiziksel ve kimyasal çapraz bağlar oluşturularak artırılır. Çapraz bağ oluştururken kullanılan glutaraldehit gibi ajanların, yara iyileşmesi üzerinde toksik etkileri veya yabancı cisim reaksiyonunu indüklemeleri gibi ciddi etkileri olacağından, uygulamada dikkatli olunmalıdır.

Üçüncü haftayı takiben gerçekleşecek olan biyolojik çözünmenin, masif yabancı cisim reaksiyonu olmadan gerçekleşmesi beklenmektedir. Aksi takdirde, yanık yaralarında zaten artmış olan enflamatuar yanıt daha da artacak ve bu da geniş skarlara yol açacaktır.

Hücre göçü ve hücre fonksiyonları, dermal analogun bileşimi, por boyutları ve biyolojik çözünürlüğü ile yakından ilişkilidir. Matriks üzerinde hücrelerin tutunabilmesi, özellikle fibroblastlar olmak üzere hücrelerin bölgeye göçüne olan gereksinimi azaltır. Fakat endotelial hücrelerin göçünde bir azalma olmamaktadır. Analoglar üretilirken çeşitli hücrelerin eklenmesi bilimsel görüş ve kullanım kolaylığı açısından çok faydalı gibi gözükse de üretilmesi ve kullanılabilirliğindeki sıkıntılar oldukça fazladır. Hücre tipinin seçimi ve hücre kültürü prosedürü ile ilgili komplikasyonlar (maliyet, potansiyel hastalık bulaşı), doku mühendisliği ve canlı cilt analogları ile ilişkili zorluklardan bazılarıdır.

Son olarak, analog, cerrah tarafından istenilen bölgeye rahatça yerleştirilebilmeli ve özellikle sırt, gluteal bölge ve eklemler gibi uygulanması zor olan bölgelerde gerilme kuvvetlerine dayanıklı olmalıdır. Dermal analog ile yara yatağı arasında hava kabarcıklarından ve ölü boşluklardan kaçınılmalıdır [38].

2.8. Dermal Analogların Sınıflandırılması

1. Doğal biyolojik ürünler
2. Sentetik analoglar
3. Konstrükte biyolojik ürünler

2.8.1 Doğal Biyolojik Ürünler

Doğal biyolojik ürünler, insan veya domuz kadavra dokusunun işlenerek aselüler skafold haline getirilmesi ile elde edilir. Dermal analog olarak biyolojik maddelerin kullanılmasının en büyük avantajı, skafold bileşenlerinin ve organizasyonunun doğal deriye benzer oluşudur. Ancak, bu ürünlerin allojenik yapıları, üzerlerinde kalan hücre kalıntıları nedeniyle rejeksiyon yanıtını uyatabilmektedir. Alıcıda immün yanıtı uyarmasına bağlı olarak, ürün adapte olmayarak uygulamadan 10-21 gün sonra dökülmeye başlar. Donör hücre kalıntılarının tamamen arındırılması mümkün olmasına rağmen, bu agresif sterilizasyon işlemleri sırasında skafoldun doğal dermis ile yakın benzerliği ortadan kalkar. Dermisin doğal yapısının korunmasının, bu doğal biyolojik ürünlerde çok

önemli olduğu bilinmektedir. Dermal analogun korunan doğal, örgü benzeri yapısının fibroblast infiltrasyonuna uygun bir yatak oluşturarak daha doğal bir neodermisin oluşmasını sağlayacağı ve skar dokusu için tipik olan anormal kollajen paternlerinin üretimini inhibe edeceği düşünülmektedir. Bu dezavantajları nedeniyle doğal biyolojik ürünler, kalıcı dermal analog olarak değil geçici biyolojik pansuman malzemeleri olarak tercih edilirler. Ayrıca, bu ürünler kadavradan elde edildiklerinden alıcıya hastalık bulaştırma riskleri de mevcuttur.

Doğal biyolojik ürünler genellikle papiller dermis kısımlarında bir parça intakt bazal membran barındırırlar. Birçok çalışmada, bazal membran varlığının, keratinositlerin bölgeye bağlanmasını, gelişmesini ve diferansiyasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Shakespeare ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada asellüler retiküler dermisin in vitro keratinosit büyümesi için uygun bir tabaka olmadığını göstermelerinin ardından, Krejci ve arkadaşları bu etkinin bazal membranda mevcut olan laminin ve tip 4 kollajenden kaynaklandığını göstermişlerdir. Çalışmada de-epidermize dermisin tripsin ile maruziyeti sonucu tip 4 kollajen ve lamininden tamamen arındığında, dermiste keratinosit yerleşmesi ve büyümesi görülmediği gösterilmiştir [42]. MacNeil ve arkadaşları çalışmalarında deepidermizasyon için seçilen prosedürün bazal membranın akibeti için kritik olduğunu göstermişlerdir. Enzimatik deepidermizasyon ile önemli miktarda bazal membran kaybı yaşanırken, fosfat tamponlu salin ile yapılan deepidermizasyon sonucu daha intakt bir bazal membran elde edilmekte ve tam kat cilt konstrükte edildiğinde daha kaliteli bir epidermis ortaya çıkmaktadır [38, 40]. Bu ürünlerin piyasada mevcut olan ve klinikte kullanılan örnekleri *Alloderm*® ve *Gyladerm*®'dir

2.8.2 Sentetik Analoglar

Normalde cilt dokusunda bulunmayan non-biyolojik moleküller ve polimerlerden de dermal analoglar üretilebilmektedir. Biyolojik olmayan molleküllerin kullanımı, ürünün içeriğinin tamamen seçilebilir olmasıyla ürünün daha kontrollü olmasını sağlarken; biyolojik olarak uyumlu analog üretmekte problemlere yol açmaktadır [38, 40]. Sentetik polimerlerde biyolojik sinyallerin

kısıtlı oluşu, bölgeye göç eden hücrelerin analog üzerine tutunma zorluğuna ve hücrelerin daha az proliferasyonuna neden olarak klinik başarısızlığı yol açmaktadır [1]. Klinik kullanımda olan sentetik analogların sayısı az iken, in vitro ve hayvan deneyi aşamasında olan birçok ürün mevcuttur. Sentetik analogların piyasada mevcut olan örnekleri *Dermagraft*® ve *Polyactive*®'dir.

Tablo 2.5. Sentetik dermal analoglar [38].

<i>İsim</i>	<i>İçerik</i>	<i>Kalınlık</i>	<i>Por boyutu</i>	<i>Çapraz bağ</i>	<i>Uygulama alanı</i>
<i>Dermagraft</i> ®	Poliglaktim meş + allojenik fibroblast	0.19 mm	280 x 400 µm	yok	Yanık yaraları, kronik yaralar, diyabetik ülserler
<i>Polyactive</i> ®	Polietilen oksid + polibutilterefitalat	~ 0.25 mm (250 µm)	100-200 µm	yok	Kemik ve tendon onarımı

2.8.3 Konstrükte biyolojik ürünler

Konstrükte biyolojik ürünler, biyolojik moleküllerin liyofilizasyon yöntemi ile ayrıştırılarak dermal analog formuna getirilmesi ile elde edilir. Genellikle % 1-2 solid komponent içerirler. Düşük solid komponent içerikleri ve yüksek biyoyumluluklarından dolayı nispeten stabil olmayan özelliktedirler. Ürünün yeterli süre yara üzerinde kalıp etkisini gösterebilmesi için, çapraz bağlar ile stabilitesinin güçlendirilmesi ve yapılarının glukozaminoglykanlar tarafından desteklenmesi gerekmektedir. Ana bileşen olarak sıklıkla kollajen kullanılır. İskelet yapımının üretimi sırasında, porların boyutları ve porlar arası bağlantıların standardizasyonu için değişik dondurarak kurutma işlemleri uygulanır. Bu ürünlerin suni yapılarının, doğal

biyolojik ürünlere kıyasla belirgin avantajları ve dezavantajları mevcuttur. Artırılmış cilt komponentlerinin kullanılıyor olması, tasarlama esnasında rejeksiyon yanıtına yol açmayacak maddelerin seçilebilmesine olanak sağlar. Ayrıca, ürünün kompozisyonu ve nitelikleri tam olarak kontrol edilebilir ve teorik olarak faydalı olan büyüme faktörleri ve matriks komponentleri ürüne eklenebilir. Ancak, günümüzde bu ürünlerin içerisine nelerin dahil edilmesi, nelerden sakınılması gerektiğine yönelik çalışmalar halen tamamlanmış değildir [38].

Konstrükte biyolojik ürünlerin genellikle bazal membranı yoktur ve yapıları doğal cilde benzemez. Bu ürünlerin en iyi bilinen ve yanık tedavilerinde yaygın kullanılan örnekleri *Apligraf®*, *Hyalomatrix®*, *İntegra®*, *Matriderm®*, *Orcel®*, *Renoskin®*'dir.

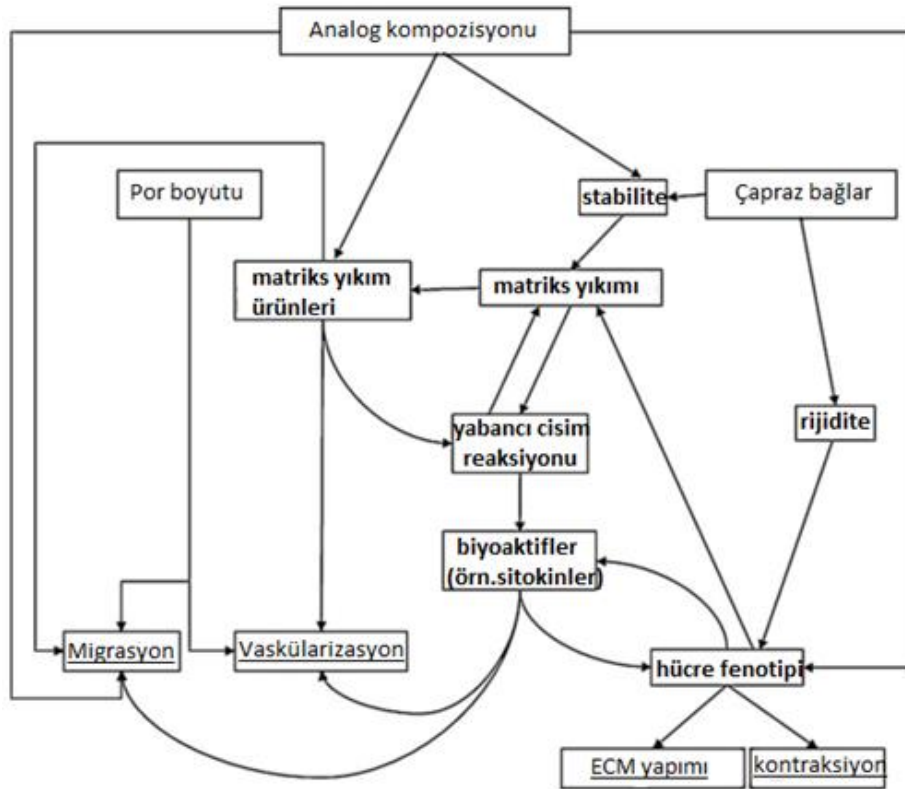
Tablo 2.6. Konstrükte biyolojik dermal analoglar [38].

<i>İsim</i>	<i>İçerik</i>	<i>Kalınlık</i>	<i>Por boyutu</i>	<i>Çapraz bağ</i>	<i>Uygulama alanı</i>
<i>Apligraf®</i>	sığır kollajeni, allojenik fibroblast, keratinosit	0.4 - 0.75 mm	por yok	yok	parsiyel ve tam kalınlıklı yara, cilt grefti donör saha, kronik yaralar, epidermolizis bülloza
<i>Hyalomatrix®</i>	hiyalüronan bazlı yapı iskele, otolog fibroblast	~ 1.2 mm	ölçülemez	yok	yanık, kronik yara
<i>Integra®</i>	tip 1 insan kollajeni, GAG	1.3 mm	30 -120 µm	var	yanık, kronik yaralar, yumuşak doku defektleri
<i>Matriderm®</i>	tip 1 sığır kollajeni, elastin	1 veya 2 mm	75 µm	yok	yanık yaraları, kronik yaralar
<i>Orcel®</i>	tip 1 kollajen, allojenik fibroblast, keratinosit	~ 1 mm	50-250 µm	var	kronik yaralar, cilt greft donör sahası
<i>Renoskin®</i>	tip 1 sığır kollajeni, GAG	1.5 - 2.5 mm	~ 100 µm	var	yanık yarası, doku defekti

Bu ürünlerin başlıca avantajı, dermal analogun konstrüksiyonu sırasında kullanılacak olan proteinlerin genellikle kollajen gibi rejeksiyon yanıtlarına yol açmayacak moleküllerden seçilebilmesidir. Kollajenlerin immünojenitesinin doğası ve kapsamı halen tam olarak netliğe kavuşmuş bir konu değildir. Yapılan çeşitli çalışmaların sonucunda üçlü sarmal kollajen molekülünün sonunda yer alan telopeptidlerin immün cevabı provake edebileceği yayınlanmıştır; bu peptidlerin

molekülden ayrılarak immünojenik olmayan atelokollajen elde edilerek dermal analoglarda kullanılması gündeme gelmiştir [38]. Fakat sonrasında yayınlanan bir çalışmada, kollajenin immüjenitesi ve telopeptidlerin molekülden ayrılmasının sağladığı öne sürülen avantaj sorgulanmıştır. Telopeptidleri ayrılmamış kollajen bazlı analoglarda rejeksiyon problemlerinin görülmemiş olması, kollajenin sergileyeceği herhangi bir immüjenitenin yara iyileşmesinde problem oluşturmayacağını düşündürmüştür [43].

Normal dokuda hücreler ekstraselüler matrikse, spesifik hücre yüzey reseptörleri olan integrinler ile bağlanırlar. İntegrinlerin çoğu, fibronektin ve vitronektinlerin RGD sekansı (Arg-Gly-Asp) gibi spesifik aminoasit dizilimlerini tanır. İntegrinlerin bu sekanslar ile etkileşimi hücrelerin fibronektinlere tutunmasına olanak sağlar. Dermal analogla infiltre olacak veya analogun etrafını kaplayacak olan fibroblast ve diğer hücreler; analog içerisinde, bağlanma yerlerine ve hücre göçü ile hücre fonksiyonlarını düzenleyecek kemotaktik sinyallerin kılavuzluğuna ihtiyaç duyarlar. Birçok hücre tipi, geleneksel hücre kültür tekniklerinde kullanılan plastik malzemesi gibi yüzeylere rahatça tutunabilirken, hücrelerin bu malzemelerle etkileşimleri doğal ECM’te gerçekleşen etkileşimlerden oldukça farklıdır. Analogların yapısı ve bileşenleri; hücrelerin bağlanmasını, göçünü, stabilitesini, sinyalizasyonunu ve fonksiyonlarını olumlu veya olumsuz olarak etkiler. Sentetik ve konstrükte biyolojik analogların, göç eden hücrelere doğal dokularda mevcut olmayan bağlanma sahaları sunması, bu ürünlerin dermal analog olarak biyolojik fonksiyon görmesinde problemlere yol açmaktadır. Bu problemin üstesinden gelmek için, üretilen matrikslere RDG gibi biyomimetik protein sekansları eklenmektedir. Birçok çalışmada, bu RDG sekanslarının analoglara dahil edilmesinin, fibroblastların matrikse göçünü ve bölgede kalıcılığını arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca daha doğal hücre morfolojisi elde edildiği ve kontraksiyon gibi hücre etkileşimlerinin arttığı kanıtlanmıştır. İntegrinlerin intraselüler parçaları iskelete bağlıdır ve ekstraselüler matriksin hücreleri yönlendirmesinde sinyal dönüştürücü olarak işlev görür. Ayrıca, fibroblastlar ve keratinositler, matriks metalloproteinazları (MMP) salgılayarak çoğu ekstraselüler komponenti indirgeyebilirler. İntegrinlerin ve MMP’lerin birlikte etkileri ile hücrelerin analogla doğru göç etmesiyle remodeling gerçekleşmiş olur [38].



Şekil 2.5. Dermal analoglarda hücre matriks etkileşimleri [38].

Çapraz bağlar ile matriksin yara alanındaki ömrünün uzatılması başarılıırken, çapraz bağların yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkileri görülebilir. Çapraz bağ kurulumunda kullanılan maddeler yarada istenmeyen reaksiyonlara neden olabilir [38]. De Vries ve arkadaşlarının domuzlarda tam kat yaralarda yaptıkları çalışmada; glutraldehid çapraz bağlı matriksin, çapraz bağ içermeyen matriksle karşılaştırıldığında daha fazla yabancı cisim reaksiyonunu indüklediği gösterilmiştir. Çapraz bağ içermeyen ürünün parçalanması daha kısa sürede gerçekleşmiştir. Çapraz bağ içermeyen ürünün hızlı parçalanması; dermis formasyonunu, kısmi kalınlıklı deri greftinin adaptasyonunu ve kontraksiyon sonuç parametrelerini olumsuz yönde etkilemiştir [24]. Ayrıca kimyasal reaksiyonlar ile oluşturulan çapraz bağların tepkime ürünleri hücreler üzerinde toksik etkiler yapabilir. Kimyasal çapraz bağlı kollajen matriksler üzerinde yapılan birçok çalışmada, çapraz bağ içeren matrikslerde, fibroblast sağ kalım ve proliferasyonunda azalma olduğu gösterilmiştir.

Çapraz bağlarla ilgili diğer bir mesele de artmış olan ECM rijiditesi ve bu artışın fibroblast fenotipleri üzerindeki etkisidir. Artmış ECM rijiditesi, ortamda myofibroblast differansiyasyonunu arttıran önemli bir faktördür. Myofibroblastlar her ne kadar yara iyileşme sürecinde önemli role sahip olsalar da, myofibroblastların ortamda aşırı miktarda bulunmaları yara kontraksiyonunda ve kollajen depozisyonunda artmaya yol açarak hipertrofik skara sebep olacaktır [38].

Ürünlere ECM bileşenleri eklenerek, kollajen ana yapısının MMP tarafından indirgenmesinden korunması diğer bir alternatif düşüncedir. Yannas ve arkadaşları suni cilt analogu üzerinde çalışmalarını yaparlarken, kollajen yapı iskelesine kondroitin 6-sülfat, kondroitin 4-sülfat, dermatan sülfat, heparin ve heparan sülfat gibi glukozaminoglukanların (GAG) eklenmesinin kollajenazlara karşı direnci arttırabileceğini bulmuşlardır. Bu da fazla çapraz bağ gereksinimini ortadan kaldırmıştır. Ayrıca; GAG'ların kullanımı, skafoldun belli mekanik özelliklerinin ve por boyutlarının kontrolüne olanak sağlamıştır [44]. De Vries ve arkadaşları domuzlarda tam kat yaralarda, dermal analogdaki kollajen liflerinin fibronektin, hyolüranik asit veya elastin ile kaplanmasının matriksi stabilize edebileceğini göstermiştir [24]. İşlem görmemiş kollajen matriks 1-2 hafta içerisinde çözünürken, diğer materyalin 4 hafta kadar yara üzerinde mevcudiyetini koruduğu görülmüştür [38]. Matrikse eklenen moleküllerin etkileri değişkendir. Hyalüronik asit ve fibronektin yara iyileşmesini arttırmazken, granülasyon doku gelişiminde ve reepitelizasyonda bazı yan etkileri görülür. Elastin eklenmiş kollajen matrikslerde granülasyon doku formasyonu, fibrozis ve kontraksiyon azalırken, fibroblastların kollajen depolaması stimüle olur.

Matrikse yapılan ilave moleküller ayrıca dermal analogların vaskülarizasyonunda da önemli rol oynarlar. *Integra®* gibi kollajen\kondroitin-6-sülfat yapılar, kısmi kalınlıklı cilt grefti öncesinde dermal analogun vaskülarizasyonu için iki basamaklı cerrahi prosedür gerektirirler. Dermal analogun tamamen vaskülarize olması 3 haftadan fazla zaman alacağından, matriksin ve greftin eş zamanlı uygulanması genellikle greft kaybıyla sonuçlanır [45]. Lamme ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, domuz eksizyonel yara modelinde, kollajen\elastin yapılar, kısmi kalınlıklı cilt grefti ile karşılaştırıldığında, uygulama sonrası 1. haftada artmış vaskülarizasyon gösterilmiştir. Bu artmış vaskülarizasyon

oranı, *Matriderm*®'in tek basamaklı prosedüründe uygulanmış olan kısmi kalınlıklı deri greftinin yaşayabilmesini açıklar [4].

2.8.4 Integra

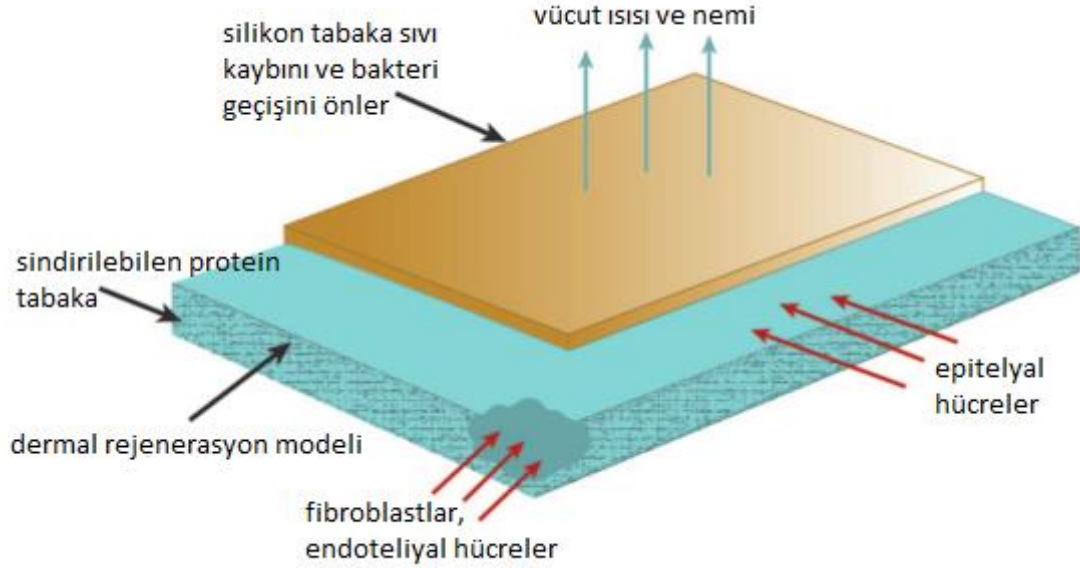
Yanık hastalarda kullanım amaçlı geliştirilmiş olan *Integra*®, günümüzde en yaygın kabul görmüş sentetik cilt analogudur [34]. Dermal rejenerasyon modeli olan *Integra*®'nın, otolog dermal dokunun kalıcı rejenerasyonuna olanak sağlayan; tam kat cilt greftine, doku ekspansiyonuna ve de bazı klinik tablolarda cilt fleplerine alternatif olarak görülen yeni bir teknoloji olduğu ileri sürülmektedir [45].

Analog, Yannas ve arkadaşları tarafından ilk olarak 1970'lerde tasarlanmış 1980 yılında analog ile ilgili ilk bilimsel yayın yapılmıştır. Yayında, tam kat cilt kayıplarında cildin yerini alabilecek eşdeğer bir yapının fizikokimyasal, biyokimyasal ve mekanik özellikleri anahatlarıyla ilk defa tariflenmiştir. Ayrıca tam kat cilt defekti oluşturulan domuz modellerinde çalışma yapılmış, ürünün defekt alanında adaptasyonu izlenmiştir [44]. Yapay dermisin akut yanık vakalarında kullanımı giderek yaygınlaşmış ve çoklu merkezlerdeki deneyimler 1988 yılında yayınlanmıştır [46]. Bu çalışmayı takiben aynı hasta grubu üzerinde yara iyileşmesi fazları incelenerek analogla ilgili ilk histolojik çalışma yapılmıştır [47].

Çapraz-bağlı tip 1 kollajen ve glukozaminoglikan (GAG)'dan oluşan katman üzerinde epidermal fonksiyon sağlayan silikon tabaka olmak üzere iki tabakadan meydana gelir. En dışta mevcut olan polidimetilsiloksan tabaka, çok ince elastik bir tabakadır. Bu distal tabaka yanık hastası için acil ve hayat kurtarıcı olan iki ihtiyacı karşılar. Hızlı sıvı kaybını önleyerek fizyolojik devamlılığı sağlar ve hastayı masif enfeksiyondan korur [41].

GAG ve kollajenden oluşan tabakasında sık porlar mevcuttur. Bu porların çapı, hastanın kendi endotelial hücre ve fibroblastlarının göçüne izin verecek şekilde, 70-200 µm olarak tasarlanmıştır. Daha küçük porlar, biyoentegrasyonu geciktirip engelleyebilirken; daha büyük porlar, hücrelerin tutunması için yeterli alan yokluğuna neden olabilirler. Yeni eksize edilmiş yaraya analogun yerleştirilmesinin ardından, kollajen tabaka vasküler neodermis oluşturmak üzere yaraya biyoentegre olur. Bu süreç yaklaşık 3-6 haftalık bir zamanda gerçekleşir. Bu safhaya ulaşıldıktan

sonra, silikon tabaka kaldırılarak çok ince kısmi kalınlıklı cilt grefti yerleştirilebilir [34].



Şekil 2.6. İki katmanlı analogun şematik tanımı [41].

1981 yılında, Burke ve arkadaşları, *Integra®*'nin akut yanık yaralarında kullanımı için uygun cerrahi tekniği tanımlamışlardır. Sonrasında edinilen cerrahi deneyimler ile mevcut teknik modifiye edilerek, dermal modelin rekonstrüktif cerrahide kullanımına başlanmıştır [45].

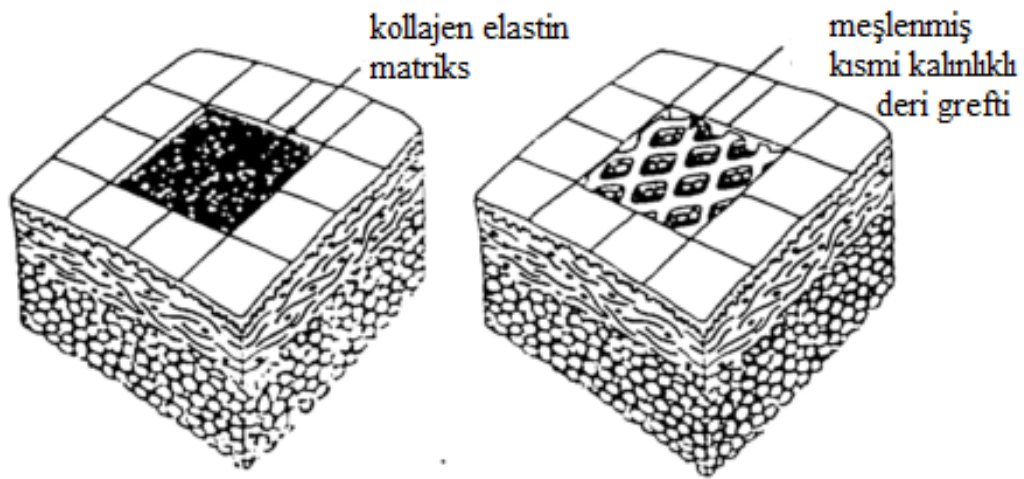
Tablo 2.7. Rekonstrüktif cerrahide *Integra®* kullanım endikasyonları [45].

-
- Kontraktür
 - Ağrılı skar dokusu
 - Cilt yenileme
 - Gergin skar dokusu
 - Donör saha onarımı
-

2.8.5 Matriderm

1980'lerde kullanıma sunulan çift katmanlı dermal analog *Integra®*'nin yanık tedavisinde kullanımının yaygınlaşmasının ardından dermal analoglar üzerinde yapılmakta olan çalışmalar hız kazanmıştır. *Integra®*'nin iki basamaklı prosedürünün uygulama zorluğu ve bekleme aşamasındaki enfeksiyon riski gibi dezavantajları, tek basamak uygulamalı analog olan *Matriderm®*'i gündeme getirmiştir.

Matriderm®, tip 1, 3, 5 sığır dermal kollajeni ve sığır nukal elastini içeren 3 boyutlu dermal matriks ürünüdür [27]. Kollajen elastin matriks ile ilgili ilk çalışma 2000 yılında Van Zuijen tarafından yayınlanmıştır [48]. Çalışmalarda; dermal rejenerasyon hedeflenerek tasarlanan ürünün, büyük yanık yaralarında meşlenmiş deri greftleri ile beraber umut verici sonuçlar sunduğu gösterilmiştir [27, 48]. Endikasyonları tam kat ya da derin dermal yanıklar ve kronik yaralardır. Analogla ilgili yapılan çalışmalarda kemik, kırık ya da tendon ekspozisyonu olan yumuşak doku defektlerinin rekonstrüksiyonunda matriksin başarılı olduğu gösterilmiştir [49]. Ürünün piyasada 1 mm ve 2 mm olmak üzere iki formu mevcuttur. Her iki kalınlıktaki matriks de tek basamaklı uygulama ile, bekleme gerektirmeksizin deri grefti ile eş zamanlı kullanılır [27].



Şekil 2.7. *Matriderm®*'in deri grefti ile eş zamanlı uygulaması [50].

Matriks, hücre ve damarların yerleşerek büyümesi için uygun destek yapı olarak görev yapar. İçerisindeki elastin bileşen, rejenere olan dokunun dayanıklılığını ve esnekliğini artırır [27]. İnsan skarlarında elastin lifleri yaralanma sonrası ancak yıllar sonra tespit edilebilir [4]. İyileşme süreci ilerledikçe fibroblastlar ekstrasellüler matriks boyunca yerleşir ve *Matriderm*® tarafından absorbe edilirler [27].

Matriderm®'in kullanım endikasyonları *İntegra*® ile benzerdir. Schneider ve arkadaşları sıçan modeli üzerinde yaptıkları çalışmada *İntegra*® ve *Matriderm*®'in adaptasyon ve vaskülarizasyon oranlarını karşılaştırmışlar, iki matriks arasında fark olmadığını ortaya koymuşlardır [51].

Ancak, *İntegra*®'nın aksine, *Matriderm*® eş zamanlı olarak kısmi kalınlıklı deri grefti uygulamasına uygun bir matrikstir. Deneysel modellerde matriksin yara kontraksiyonunu azalttığı ve skar dokusundaki kollajen demetlerinin daha gelişigüzel uzandığı görülmüştür. Uzun dönemli klinik çalışmalarda, yalnızca kısmi kalınlıklı deri grefti ile *Matriderm*®'in arasında skar esnekliği arasında fark saptanmamıştır [52]. Yara kontraktürü gelişimi üzerinde uzun dönem klinik çalışma mevcut değildir [27].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışma, 20.10.2012 - 17.06.2013 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (TICAM) gerçekleştirildi. Çalışma öncesinde, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu ve Deney Hayvanları Araştırmaları Alt Komisyonu'nun onayı alındı. (26.07.2012, onay no:282-1)

Çalışmada 6-8 aylık 21 adet 300 - 350 gr ağırlığında *Sprague-Dawley* cinsi dişi sıçan (ESOGÜ Tıp Fak. TICAM Laboratuvarı, Eskişehir) kullanıldı. Çalışma süresince tüm sıçanlar tek tek ayrı kafeslerde barındırıldı. Denekler gece gündüz döngüsüne maruz bırakıldı. Deneklerin bakımı, sınırsız su ve kuru pelet ile yapıldı. Çalışma boyunca ortam sıcaklığı 20 °C olarak korundu. Cerrahiler esnasında ve cerrahi sonrasında ölen sıçanlar yenileri ile değiştirildi.

Çalışmada cerrahi işlem aynı çalışmacı tarafından gerçekleştirildi. Anestezi, intraperitoneal yolla verilmek üzere 80 mg/kg dozunda Ketamin (*Ketalar 500 mg. Flakon*. Pfizer İlaçları Ltd. Şti., 34347 Ortaköy-İstanbul) ile sağlandı.

3.2. Deney Protokolü

Deney, histolojik inceleme ve yüzey alanı ile kontraksiyon değerlendirme olarak 2 aşamalı olarak planlandı.

Deneyde kullanılan ratlar her grupta 7 adet olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Grup 1 (I) (n:7): 2 adet 2.5x2.5 cmlik tam kat cilt defekti oluşturulan ve kaudal bölgedeki defekti kollajen-GAG dermal matriks (*Integra®*) + ince tam kalınlıklı deri grefti, sefalik bölgedeki defekti yalnızca ince tam kalınlıklı deri grefti ile onarılan; greftleme sonrası 0., 7., 14. ve 30. günlerde fotoğraflanan rat grubu

Grup 2 (II) (n:7): 2 adet 2.5x2.5 cmlik tam kat cilt defekti oluşturulan ve kaudal bölgedeki defekti kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm®*) + ince tam

kalınlıklı deri grefti, sefalik bölgedeki defekti yalnızca ince tam kalınlıklı deri grefti ile onarılan; greftleme sonrası 0., 7., 14. ve 30. günlerde fotoğraflanan rat grubu

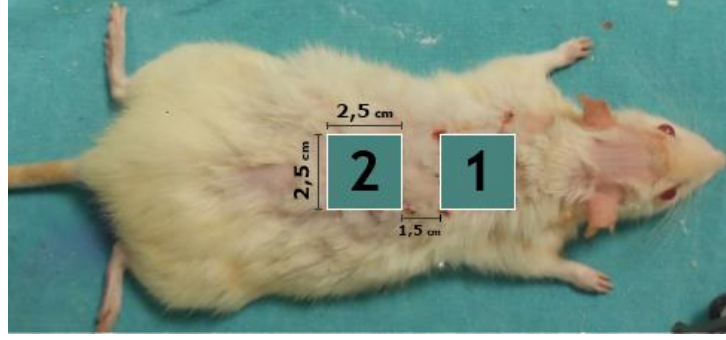
Grup 3 (III) (n:7): 3 adet 1.5 x 1.5 cmlık tam kat cilt defekti oluşturulan ve kaudal bölgedeki defekti *İntegra* + ince tam kalınlıklı deri grefti, orta bölgedeki defekti *Matriderm* + ince tam kalınlıklı deri grefti ve sefalik bölgedeki defekti yalnızca ince tam kalınlıklı deri grefti ile onarılan; greftleme sonrası 14. ve 30. günlerde histolojik inceleme için biyopsi alınan rat grubu

3.3. Cilt Greftlerinin Hazırlanması ve Saklanması

Deneklerin sırtında tam kat cilt defekti oluşturulmak üzere kaldırılmış olan greftlerin dermis katmanı çıkarılarak greftler ince tam kalınlıklı greft haline getirildi. 1. ve 3. grup farelerin defektlerine yerleştirilen kollajen-GAG dermal matriks (*İntegra*®)'in uygulama prensibine uygun olarak matriksin adapte olması için 21 gün beklendi. Hazırlanmış olan cilt greftleri serum fizyolojik ile ıslatılmış gazlı beze sarıldıktan sonra, hava ile temas etmeyecek steril kaplara konularak greftlerin hangi rata ait olduğu ve tarih bilgileri kabın üzerine not edildi. Greftler +4 °C ısıda 3 hafta boyunca muhafaza edildi. 3. haftanın sonunda ürünün üzerindeki silikon tabaka çıkarılarak vaskülarize olmuş olan matriks üzerleri greftlendi. Kollajen-elastin matriks ürün (*Matriderm*®) üzeri uygulama ile eş zamanlı olarak greftlendi.

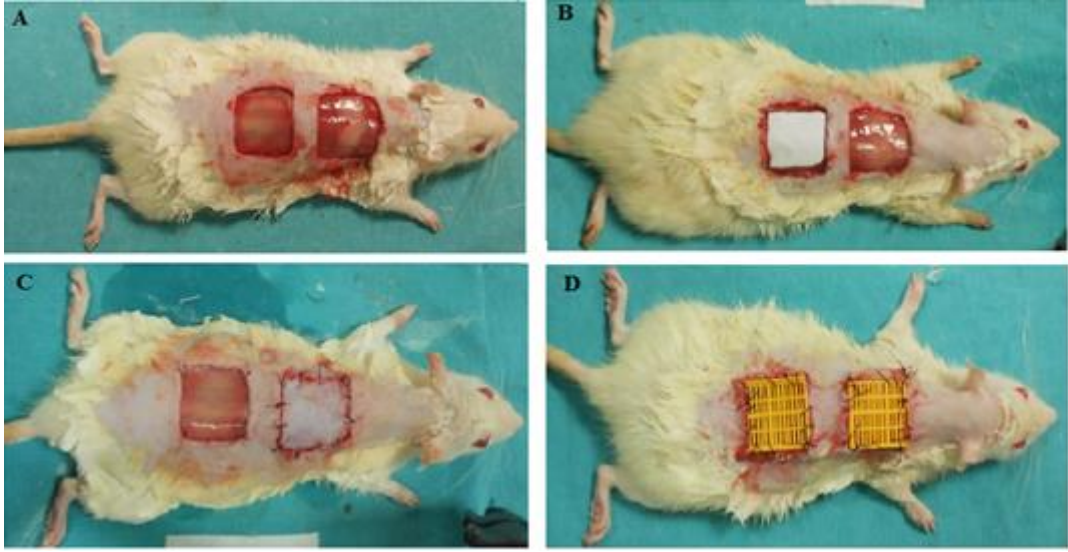
3.4. Cerrahi Prosedür

Ratlar; anestezi sonrası yüzüstü yatırılarak 4 ekstremitesinden ayrı ayrı sabitlendi. Sırtlarındaki kıllar tüy dökücü krem kullanılarak temizlendi. 1. gruptaki sıçanların sırt orta hattında 2 adet 2.5x2.5 cmlık tam kat cilt defekti alanları planlandı. Sefalik ve kaudal defektlerin arasına 1.5 cmlık intakt alan bırakıldı.



Şekil 3.1. Ratlarda sırtlarındaki defektlerin isimlendirilmesi. Sefalik bölgedeki alan 1 nolu, kaudal bölgedeki alan 2 nolu alan olarak isimlendirildi.

Kaudaldeki defekte kollajen-GAG dermal matriks (*Integra*®, Integra LifeSciences Corp., Plainsboro, NJ, USA), sefalik defekte bölgeden kaldırılmış ve inceltilmiş olan greft yerleştirildi. 2. gruptaki sıçanların kaudalinde meydana getirilen defekte kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm*® 1 mm, De Suwelack Skin and Health Care AG, Billerbeck, Germany) yerleştirilerek her iki defektin üzeri de inceltilmiş tam kalınlıklı cilt grefti ile örtüldü. Histolojik çalışma için planlanmış olan 3. grup sıçanların sırtına 3 adet 1.5 x1.5 cmlik tam kat cilt defekti oluşturularak bölgelere her iki dermal matriks ve yalnızca ince tam kalınlıklı cilt greftleri yerleştirildi.



Şekil 3.2. Ratların sırtlarındaki defektlerin greftlenmesi. **A.** 1. ve 2. grup sıçanların sırtında 2 adet 2.5x2.5 cm'lik tam kat cilt defekti oluşturulması **B.** 2. grup sıçanların kaudal defektine kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm® 1 mm*) yerleştirilmesi **C.** 1. grup sıçanların kaudal defektine kollajen-GAG dermal matriks (*Integra®*) yerleştirilmesi **D.** Greftleme sonrası pansuman üzerine polipropilen splintlerin yerleştirilmesi.

Dermal matriksler ve cilt greftleri ayrı ayrı non-absorbable polyester sütürler ile (Ethibond® , Ethicon, Piscataway, NJ, USA) defekt kenarlarına ve zemine tespit edildi. Greftlerin üzeri klorheksidinli pansuman malzemesi (*Bactigras®*, Smith & Nephew, Canada) ile baskılı olarak kapatıldı. Pansumanların üzeri defektlerin boyutlarına uygun (2x2 cm ve 1.5 x 1.5 cm'lik) polipropilen splintler ile kapatılarak, otokanibalizasyon ve akut yara kontraksiyonunun engellenmesi planlandı. Greftleme sonrası 3. haftada splinte son verildi.

3.5. Deneklerin Takibi ve Parametrik Ölçümler

3.5.1. Makroskopik Ölçümler

1. ve 2. gruplarda; greftleme sonrası 0., 7., 14. ve 30. günlerde, genel anestezi altında pansuman değişimini takiben fotoğraflama yapıldı. Fotoğraflar; *Nikon Coolpix S2600* (*Nikon inc., Japonya*) fotoğraf makinası ile, denekler yüzüstü yatırılarak 4 ekstremitesinden sabitlenmiş pozisyonda ve sabit 25 cm uzaklıktan tripot ayaklık ile çekildi. Greft sahalarının yüzey alanı *ImageJ* (<http://rsb.info.nih.gov>) bilgisayar programı ile hesaplanarak makroskopik karşılaştırmaları yapıldı. 0. gündeki yüzey ölçümleri % 100 kabul edilerek; 7, 14 ve 30 .günlerdeki değişiklikler yüzde cinsine çevrildi.

3.5.2. Histolojik Ölçümler

3. grup sıçanlardan, greftleme sonrası 14. ve 30. günlerde, 4 mm punch biyopsi iğnesi ile tam kat biyopsiler alındı. Biyopsiler histolojik inceleme için %10'luk formaline konuldu. Parafin bloklardan 5 µm'lik kesitler alınarak kesitler Hematoksilen Eozin, Masson Trikrom, Elastin Van Gieson ve düz kas aktin boyası ile boyandı. Histolojik incelemede epidermis ve dermis kalınlıkları, granülasyon dokusu, kollajen depolanması, elastin lifler, inflamatuvar hücreler ve myofibroblastik hücreler değerlendirildi. Dermis ve epidermis kalınlığı rastgele seçilen beş farklı x10 büyütme objektif alanında ölçüldü. Nikon Digital Sight DS-U3 dijital görüntüleme sistemi'nde NIS-Elements D 4.20 (*Laboratory Imaging, Za Drahov, Praha*) programı kullanılarak ölçümler yapıldı. Kollajen ve elastin lifler rastgele seçilen üç farklı x100 ve x200 objektif alanında saptandı. İnflamatuvar hücreler, ve myofibroblastik hücre yoğunlukları rastgele seçilen beş farklı x200 büyütme objektif alanda değerlendirilerek; (-) : yok, (+) : seyrek, (++) : hafif, (+++) : orta, (++++) : belirgin olarak skorlandı. Kollajen demetlerin ve elastin liflerin dağılımı homojen ve heterojen olarak skorlandı.

3.6. Verilerin İstatistiksel Analizi

Veriler, istatistiksel olarak IBM SPSS 21 (<http://www-01.ibm.com/software/analytics/spss>) ve MINITAB 16 (<http://www.minitab.com/en->

us/products/minitab) paket programları kullanılarak; iki yönlü varyans analizi (tek faktör tekrarlı), Mann-Whitney U, ki kare analizi ve Kruskal-Wallis testleri ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk normallik testi ile saptandı. Nicel veriler ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Komplikasyonlar

I. Grup I'de kullanılmış olan kollajen-GAG dermal matriksin uygulama prensibi gereği 3 haftalık bekleme aşamasında 4 sıçan enfeksiyon nedeni ile, 5 sıçan greftlemeyi takiben greft adaptasyonu olmaması nedeniyle çalışmadan çıkarıldı. Grup II'de kollajen-elastin dermal matriks ile eş zamanlı uygulanan greftlemeyi takiben 5 sıçan greft nekrozu nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Çalışmadan çıkarılan tüm hayvanlar yenileri ile değiştirilerek uygulamalar tekrarlandı.

4.2. Makroskopik Bulgular

Pilot çalışmalar sırasında deneklerin sırtlarında meydana getirilen defektlerin başlangıç ölçümlerinin ve şekillerinin, deneğin gevşek bağ dokusu nedeniyle planlanan standart boyutlarda tutulmadığı görüldü. Panniculus carnosus tabakası kesilerek defekt kenarları alttaki kas dokusuna non-absorbable polyester sütürler ile suture edildi. Planlanan 2.5x2.5 cm'lik düzgün kareler elde edildi.

Dermal matrikslerin uygulanması esnasında, üzerinde silikon tabaka mevcut olan kollajen-GAG dermal matriksin (*Integra*®) defekt alanında daha rahat yerleştirildiği ve sütür ile tespitinin daha kolay olduğu görüldü.

Dermal matrikslerin adaptasyonunda fark gözlemlendi. Kollajen-GAG dermal matriksin (*Integra*®) bölgeye adaptasyonunun makroskopik olarak 14. gün başladığı 21 günde tamamen adapte olduğu görüldü. Adapte olamayan matrikslerin bekleme aşamasında başlayan enfeksiyon nedeniyle kaybedildikleri gözlemlendi. Adapte olamayan matriksler ve greftler deney grubundan çıkarılarak işlemler en baştan tekrarlandı.

Çalışmamızda dermal analogların üzerine uygulanan greftlerden tam adapte olmayanlar deney dışı bırakıldı. Fakat yapılan ön çalışmalarda cilt greflerinin adaptasyonunda farklılıklar olduğu gözlemlendi. Kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm*®) üzerine eş zamanlı uygulanan otolog cilt greftinin adaptasyonunun daha zor olduğu, deneklerin bir kısmında özellikle orta sahalarda greft nekrozunun geliştiği gözlemlendi.

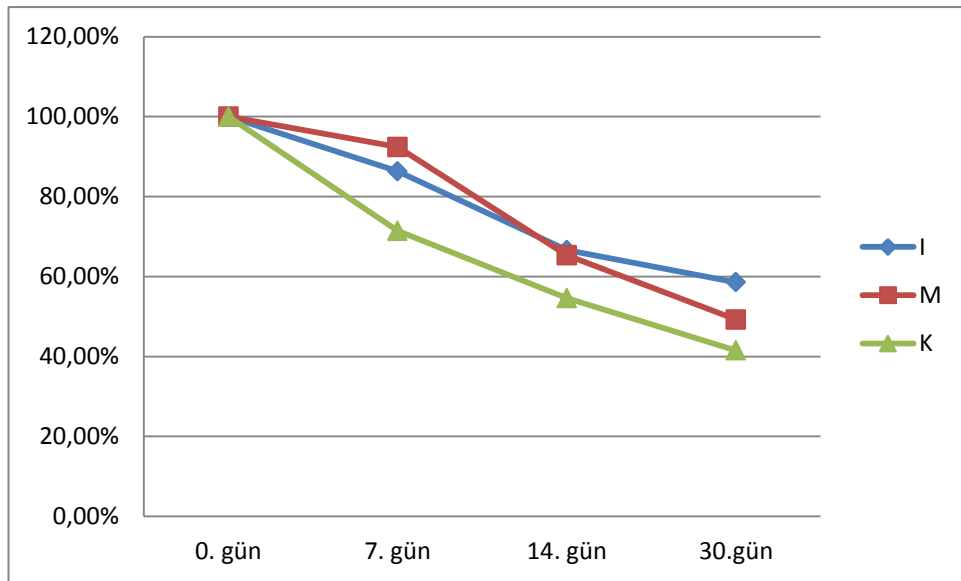
Dermal analogların ve inceltilmiş tam kat deri greftinin defekt alanlarına yerleştirilmesinden sonra 7, 14 ve 30. günlerde pansuman değişimleri ve ölçümler yapıldı. 0, 7, 14 ve 30. günlerde yapılan ölçümler tablo 4.1’de; 0. gün baz alınarak grup içerisi yüzdelerik değişimler şekil 4.1’de gösterilmiştir. 0. günde I, M ve K gruplarında greft yüzey alanları ortalamaları sırasıyla 329.55 mm², 345.65 mm², 361.64 mm², iken; 7. günde 284,11 mm², 318.21 mm², 257.59 mm²; 14. günde 218.00 mm², 225.76 mm², 196.01 mm²; 30. günde 191.23 mm², 169.04 mm², 146.56 mm² ölçülmüştür (Tablo 4.1).

Komplikasyon olmayan ve deney süreci normal seyreden hayvanlarda yara yerlerinde 0. günden 30. güne kadar yara yüzey alanında küçülmeler görüldü.

7. gün pansumanları açıldığında greftlerin yaşadığı ve adapte olduğu ve greftlerin kontrakte olmaya başladıkları gözlemlendi fakat gruplar arası belirgin kontraksiyon farkı gözlenmedi. 14. gün greftlerin daha vaskülarize ve daha yumuşak oldukları görüldü. Yalnızca deri grefti uygulanan sahanın alanının diğer gruplara göre daha fazla küçüldüğü gözlemlendi. 30. gün bütün grupların yüzey alanlarında küçülme olduğu; en az küçülmenin *Integra*® grubunda, en fazla küçülmenin ise yalnızca greft kullanılan grupta olduğu görüldü (Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Grupların günlere göre ortalama yüzey ölçüm sonuçları (mm²). 0. gün baz alınarak hesaplanan grup içerisi yüzdelik değişimler parantez içerisinde değerlendirilmiştir.

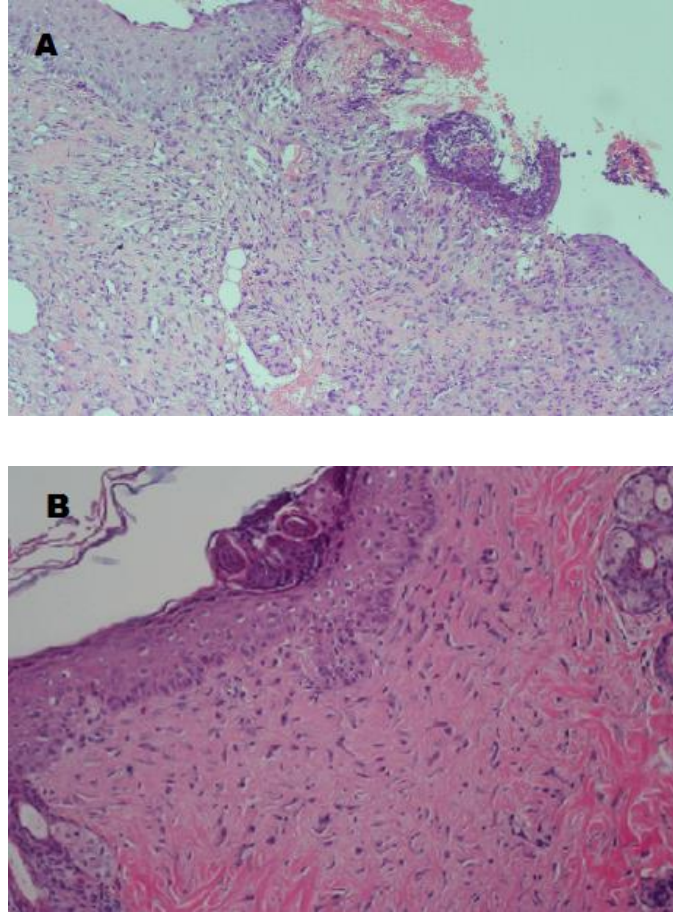
	0. gün	7. gün	14. gün	30. gün
I	329,55 ± 19,69 (% 100,00)	284,11 ± 32,85 (% 86,33 ± 9,90)	218,00 ± 26,88 (% 66,61 ± 11,33)	191,23 ± 33,43 (% 58,56 ± 13,26)
M	345,65 ± 38,69 (% 100,00)	318,21 ± 26,45 (% 92,41 ± 5,36)	225,76 ± 52,42 (% 65,35 ± 14,79)	169,04 ± 24,99 (% 49,23 ± 8,31)
K	361,64 ± 33,82 (% 100,00)	257,59 ± 26,74 (% 71,44 ± 6,88)	196,01 ± 24,04 (% 54,61 ± 8,11)	146,56 ± 34,65 (% 41,53 ± 13,28)



Şekil 4.1. Grupların günlere göre ortalama yüzey ölçüm sonuçları yüzde oranları.

4.3. Histolojik Bulgular

Sıçanların sırt derisinden alınan parça yerine yerleştirilen; iki ayrı dermal analog ve kontrol grubunun örnekleri 14. ve 30. günlerde ışık mikroskopi düzeyinde incelenmiştir.



Şekil 4.2. Greftleme sonrası 14. gün kontrol grubunda (A) hücreden zengin, (B) *Integra*® grubunda hücreden fakir granülasyon dokusunun görüntüsü. (H&E boyama, A: x100, B: x 200 büyütme)

4.3.1. Granülasyon Dokusu ve İnflamatuar Hücreler

Yaralanma sonrası ilk 2 haftada kontrol grubunda hücreden yoğun granülasyon dokusu geliştiği gözlemlendi. Dermal matriks uygulanmış olan gruplarda granülasyon dokusunun hücre içeriğinin daha az olduğu görüldü. (Şekil

4.2). 4. hafta biyopsilerinde granülasyon dokusunda toplam hücre yoğunluğunun gruplar arası farklılığının devam ettiği görüldü. Kontrol grubunda, dermal matriks uygulanan gruplara kıyasla daha yoğun hücre mevcudiyeti izlendi.

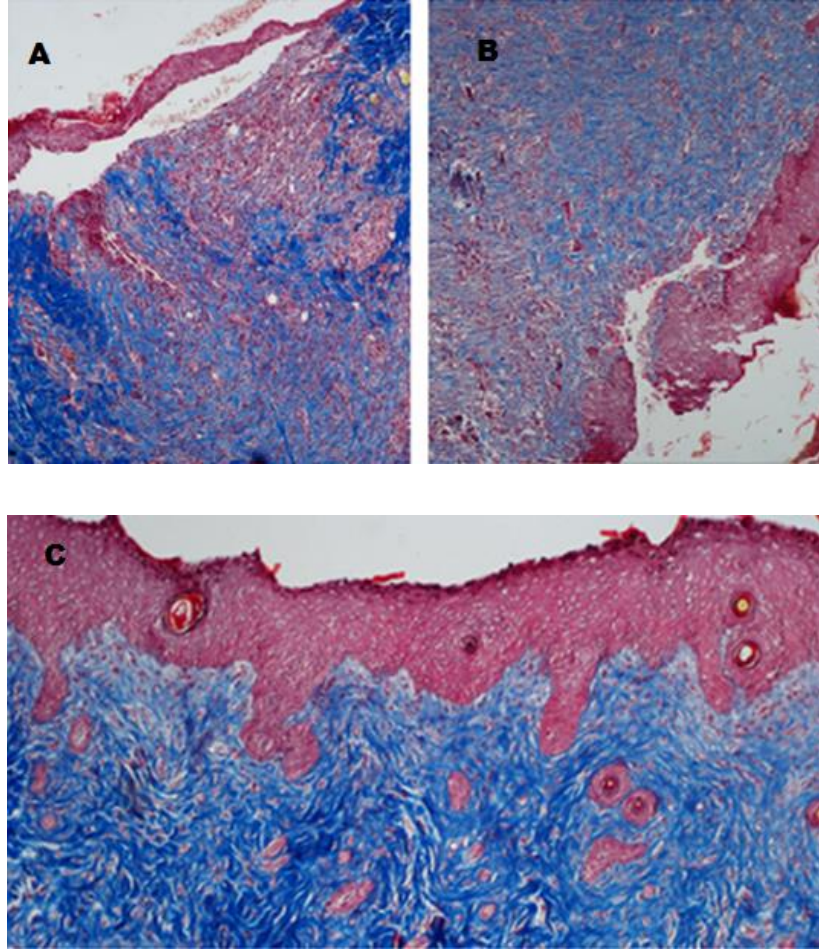
Tüm gruplarda nötrofil 14. günde daha yoğun olduğu, 30 günde nötrofil yoğunluğunun azalığı gözlemlendi.

Eozinofil yoğunluğu, grupların hepsinde 14. gün daha çok bulunmuşken 30. gün eozinofil sayısının azaldığı gözlemlendi.

Ortalama granülasyon dokusu kalınlığı ölçümlerinin *Integra*® grubunda 14. gün $959.25 \pm 692.40 \mu\text{m}$ iken 30. gün $1039.77 \pm 730,45 \mu\text{m}$; *Matriderm*® grubunda 14. gün $401.44 \pm 258.35 \mu\text{m}$ iken 30. günde $830.03 \pm 368.83 \mu\text{m}$; kontrol grubunda 14. gün $166.50 \pm 100.64 \mu\text{m}$ iken 30. günde $366.55 \pm 115,89 \mu\text{m}$ olduğu görülmüştür. Bütün grupların ortalama granülasyon dokusu kalınlıkları zamanla artmıştır.

4.3.2. Kollajen Demetleri

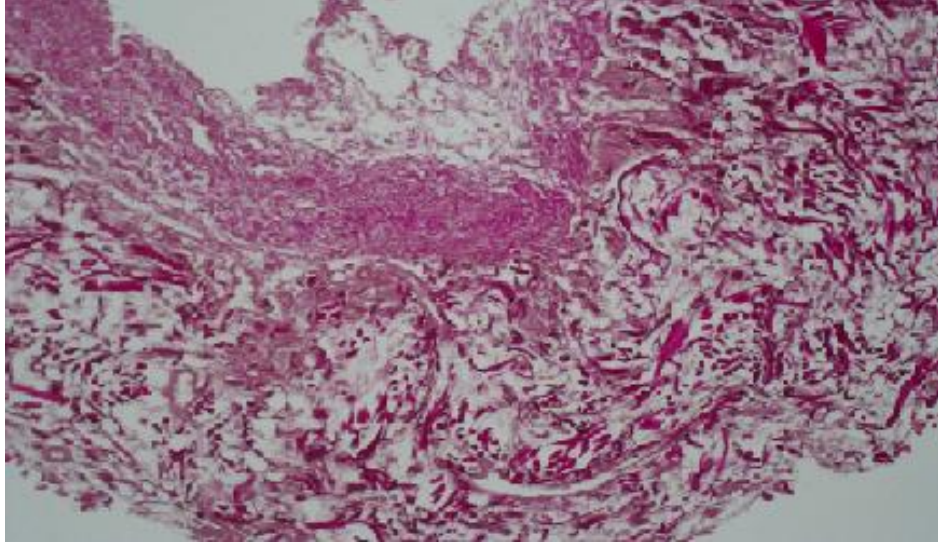
14. gün kollajen demetleri uzanımı bakımından gruplar arası farklılık görülmezken; 30. gün histolojik incelemelerinde, kollajen demetlerinin; kontrol grubunda epidermise paralel uzandığı görüldü. Dermal matriks uygulanan gruplarda ise dermiste randomize kollajen demetleri izlendi. (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Greftleme sonrası 30. gün. *Matriderm*® grubu (A) ile *Integra*® grubunda (B) dermiste randomize kollajen demetleri mevcut iken, kontrol grubunda (C) kollajen demetleri epidermise paralel uzanmakta. (Masson trikrom boyama. A, B x 100 ; C: x 200 büyütme)

4.3.3. Elastin Lifler

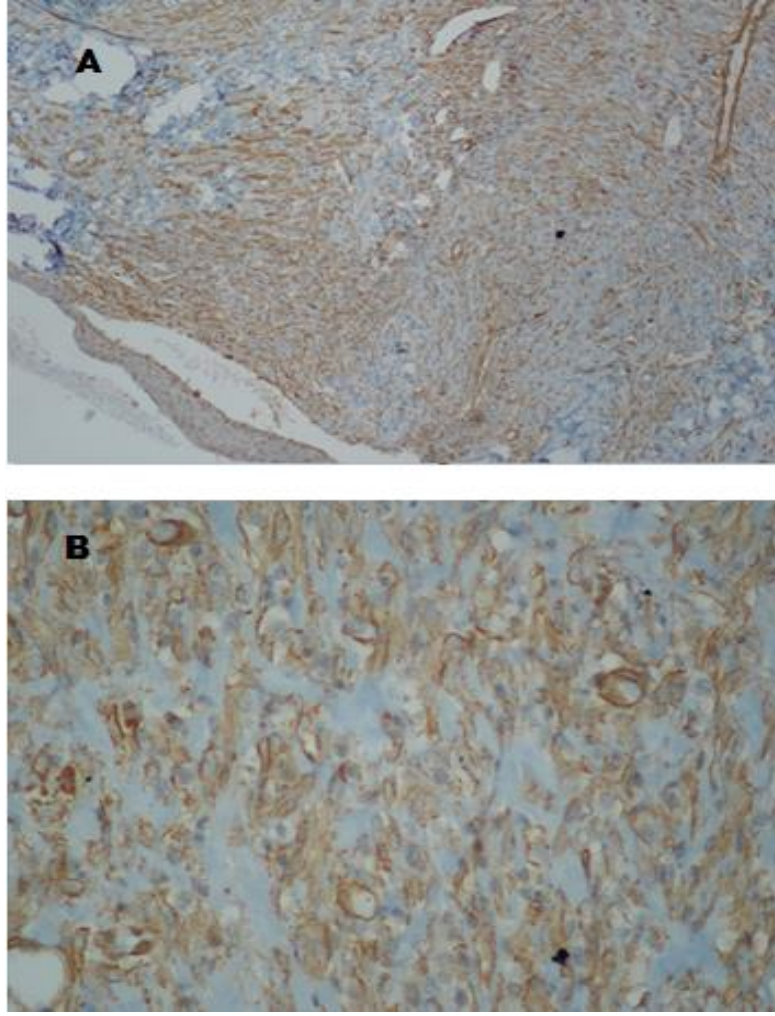
Grupların hepsinde greftleme sonrası 14. günde epidermisin altında yeni oluşan elastin lifler görüldü. 30. gün alınan biyopsilerde elastin liflerin derin dermiste de mevcudiyeti saptandı. Dermal matriks uygulanan gruplarda derin dermiste elastin lifler daha yaygın iken, liflerin kontrol grubunda daha çok epidermisin altında uzandığı gözlemlendi. (Şekil 4.4)



Şekil. 4.4. *Integra*® grubunda greftleme sonrası 30. günde dermiste elastin liflerin görünüşü. (Aktin boyama, x 200 büyütme)

4.3.4. Myofibroblastlar

Greftleme sonrası 14. gün histolojik incelemelerinde bütün gruplarda myofibroblastlar görüldü. Gruplar arasında myofibroblast yoğunlukları bakımından fark gözlemlenmedi. 30. gün, myofibroblastların kontrol grubunda dermal analog kullanılan gruplara göre daha fazla olduğu görüldü (Şekil 4.5)



Şekil 4.5. Greftleme sonrası 30. günde kontrol grubunda aktin boyama ile myofibroblastların görünüşü. (A: x 100, B: x 400 büyütme)

4.3.5. Epidermis

Ortalama epidermis kalınlığının *Integra*® grubunda 14. gün 99.98 ± 44.36 μm iken 30. gün 134.14 ± 39.93 μm olduğu; *Matriderm*® grubunda 14. gün 111.41 ± 79.18 μm iken 30. günde 144.61 ± 95.80 μm olduğu; kontrol grubunda 14. gün 55.98 ± 22.92 μm iken 30. günde 91.85 ± 26.07 μm olduğu görülmüştür. Bütün grupların ortalama epidermis kalınlıkları zamanla artmıştır. En kalın nihai epidermis ölçümlerinin *Matriderm*® grubuna ait olduğu görülmüştür.

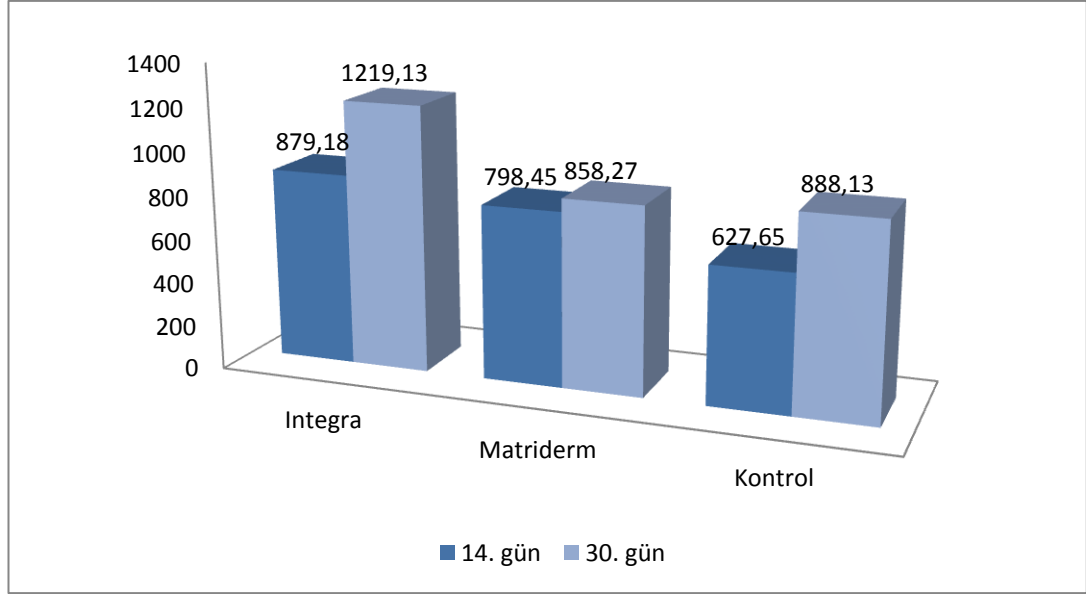
Tablo 4.2. Grupların 30. gün ortalama epidermis ve dermis kalınlıkları histolojik ölçüm sonuçları (μm).

	<i>Integra®</i> grubu	<i>Matriderm®</i> grubu	Kontrol grubu
<i>Epidermis kalınlığı</i>	134.14 \pm 39.93	144.61 \pm 95.80	91.85 \pm 26.07
<i>Papiller dermis kalınlığı</i>	151.71 \pm 74.48	112.42 \pm 77.14	143.42 \pm 34.82
<i>Retiküler dermis kalınlığı</i>	1067.42 \pm 422.45	475.85 \pm 437.07	744.71 \pm 258.56

4.3.6. Dermis

Dermis ölçümlerine bakıldığında; *Integra®* grubunun ortalama papiller dermis kalınlığı 14. günde $98.30 \pm 72.56 \mu\text{m}$ iken, 30. günde $151.71 \pm 74.48 \mu\text{m}$ ölçülmüştür. *Matriderm®* grubunun ortalama papiller dermis kalınlığı 14. günde $114.85 \pm 69.66 \mu\text{m}$; 30. günde $112.42 \pm 77.14 \mu\text{m}$ 'dir. Yalnızca greft uygulanan grupta ise ortalama papiller dermis kalınlığı 14. günde $79.50 \pm 48.65 \mu\text{m}$, 30. günde $143.42 \pm 34.82 \mu\text{m}$ ölçülmüştür. Ortalama retiküler dermis kalınlığı *Integra®* grubunda 14. günde $780.88 \pm 413.07 \mu\text{m}$ iken, 30. günde $1067.42 \pm 422.45 \mu\text{m}$; *Matriderm®* grubunda 14. günde $683.60 \pm 357.51 \mu\text{m}$ iken, 30. günde $475.85 \pm 437.07 \mu\text{m}$; yalnızca greft uygulanan grupta ise ortalama retiküler dermis kalınlığı 14. günde $548.15 \pm 249.41 \mu\text{m}$, 30. günde $744.71 \pm 258.56 \mu\text{m}$ ölçülmüştür. (Tablo 4.2)

Bu değerlere bakıldığında; bütün grupların ortalama dermis kalınlıklarının 14. günden 30. güne arttığı; normal dermis kalınlığına yakın artışın *Integra®* grubunda görüldüğü; kontrol grubundaki artışın *Matriderm®* grubundan daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Grupların 14. ve 30. gün ortalama dermis kalınlıkları histolojik ölçüm sonuçları (µm).

4.4. İstatistik Değerlendirme Sonuçları

4.4.1. Makroskopik değerlendirme sonuçları

0. haftada gruplar arasında yüzey ölçümlerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. 7. Günde *Matriderm*® grubu ölçümlerinde, kontrol grubu yüzey ölçümlerine göre anlamlı bir azalma saptanmış ($p < 0.05$); *Integra*® grubuna göre anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). 14. günde ve 30. günde gruplar arasında yüzey ölçümlerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Grupların günlere göre yüzey ölçüm sonuç ortalamaları (mm²). (Kruskal-Wallis test).

	0. gün	7. gün	14. gün	30. gün
I	329,55	284,11	218,00	191,23
<i>Standart sapma</i>	± 19,69	± 32,85	± 26,88	± 33,43
M	345,65	318,21	225,76	169,04
<i>Standart sapma</i>	± 38,69	± 26,45	± 52,42	± 24,99
K	361,64	257,59	196,01	146,56
<i>Standart sapma</i>	± 33,82	± 26,74	± 24,04	± 34,65

4.4.2. Mikroskopik değerlendirme sonuçları

Granülasyon Dokusu ve İnflamatuar Hücreler

14. gün granülasyon dokusu kalınlığında *Integra*® grubunda diğer iki gruba göre anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0.05$). *Integra*® grubunda granülasyon dokusu kalınlığı daha fazladır. 30. gün granülasyon dokusu kalınlığında *Integra*® grubu ile *Matriderm*® grubu arasında anlamlı fark saptanmamış ($p > 0.05$); her iki dermal matriksli grubun granülasyon dokusunun kontrol grubundan kalın olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$).

14. günde nötrofil yoğunluğu açısından gruplar arası fark saptanmamıştır ($p = 0.582$). 30. günde nötrofil yoğunluğu açısından gruplar arasında fark saptanmamıştır ($p = 0.610$).

14. günde eozinofil değerleri açısından I ve K grupları arası fark saptanmamıştır ($p=0.376$). 30. günde eozinofil değerleri açısından gruplar arası herhangi bir fark öne sürülemediği ($p=0.041$).

Granülasyon dokusundaki toplam hücre sayısı ele alındığında 14. günde gruplar arası anlamlı farklılık saptanmıştır. I grubu ve M grubunda toplam hücreler seyrek iken, kontrol grubunda daha yoğun bulunmuştur. ($p < 0.01$). 30. günde toplam hücre sayısı değerlerindeki farklılık devam etmektedir. I ve M grubunda toplam hücre sayısı seyrek iken, kontrol grubunda daha yoğun hücre sayısı saptanmıştır. ($p < 0.01$)

Kollajen Demetleri

Kollajen yoğunluğu açısından 14. ve 30. günlerde gruplar arasında fark bulunamamıştır (sırasıyla $p=0.375$, $p=0.345$). 14. günde ve 30. günde kollajen yoğunluğu açısından ki kare testi ile yapılan karşılaştırma sonucunda gruplar arası anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla $p=0.034$, $p=2.98$).

Kollajen dağılımı açısından 14. günde gruplar arası fark saptanmadı. 30. günde ise kollajen demetleri K grubunda homojen iken; I ve M gruplarında heterojen ağırlıklı bir dağılım sergilemektedir. ($p < 0.001$).

Elastin Lifler

14. gün elastin lif dağılımında gruplar arası fark saptanmadı. 30. günde ise I ve M gruplarında homojen ağırlıklı dağılım mevcutken, K grubunda heterojen bir dağılım saptanmıştır. ($p < 0.05$).

Myofibroblastlar

Myofibroblast yoğunluğunda 14. günlerde anlamlı fark yoktur ($p=0.730$). 30. günde myofibroblast yoğunluğu açısından *M grubu* ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.040$). Kontrol grubunda myofibroblast yoğunluğu daha fazla bulunmuştur.

Epidermis

14. günde ve 30. günde epidermis kalınlığı açısından M grubu, K grubundan anlamlı kalın saptanmıştır ($p<0.05$). I grubunun diğer gruplar ile arasında epidermis kalınlığında fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Dermis

Papiller dermis ve retiküler dermis kalınlığı açısından 14. ve 30. günlerde gruplar arası anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Yara iyileşmesi, yaralanma ile başlayan ve çok uzun bir süreye yayılan ve birbiri içerisine geçmiş komplike ara dönemlerin oluşturduğu bir süreçtir. Deri kaybı ile sonuçlanan yaralanmalarda vücudun çok önemli fiziksel ve biyolojik bariyeri ortadan kalkmaktadır ve günümüzde bunun yeniden tesis edilmesi için cildin yerini tutabilecek, yeni dermis oluşması esnasında bölgede biyolojik ve fiziksel bir iskelet vazifesi görebilecek analoglar ile bu sürecin; enfeksiyon gelişmeden, yeterli epidermis ve dermis oluşumu ile, uygun skar dokusu ve minimum kontraksiyon gelişimi ile tamamlanması hedef alınmaktadır.

Günümüz piyasasında, çeşitli ticari yapay dermal analog ürünlerine kolaylıkla ulaşmak mümkündür. Bu ürünlerin herbirinin rakiplerinden daha özel ve üstün özelliklere sahip olduğu iddia edilmesine rağmen, dermal matrikslerin etkilerini karşılaştıran çok az çalışma mevcuttur. Bu çalışma, klinikte en sık kullanılan iki dermal analogun kontraksiyon ve dermal rejenerasyon üzerine etkilerini karşılaştıran kısıtlı çalışmalardan biridir. Ayrıca çalışma, tek basamaklı ve iki basamaklı prosedürün her ikisinin de uygulandığı; makroskopik ve mikroskopik incelemenin ortak yapıldığı ilk çalışmalardandır.

Dermal analog çalışmalarında amaç; analogun biyolojik ortam ile uyumu, yeni dermis oluşumu sağlanmasındaki yetkinliği ve kontraksiyon gelişimini önleme başarısıdır. Literatürde, dermal analogların karşılaştırılması ile ilgili yapılan ilk çalışma Truong ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada, beş farklı dermal analogun yara kontraksiyonuna etkileri ve yara iyileşme sürecindeki histolojik özellikleri karşılaştırılmıştır [53]. Bu çalışmada ve literatürde yapılmış olan benzer çalışmalarda, çalışma esnasında akut dönemde, çevre dokuların kontraksiyon ile yarayı kapattığı görülmüş, bu akut dönem kontraksiyonunu önlemek amaçlı çeşitli çözüm yolları geliştirilmiştir. Çalışma öncesi yaptığımız ön çalışmalarda, tıpkı daha önce yapılmış benzer çalışmalarda olduğu gibi, karşılaşılan en büyük problemin çevre dokuların kontraksiyonu ile yaranın küçülmesi ile yüz ölçüm çalışmasının sağlıklı yapılamaması ve deneğin otokanibalizasyon ile yaraya zarar vermesi olduğu görüldü. Truong ve arkadaşları, bu problemleri çözmek adına, pansuman üzerini ince paslanmaz çelik meş ile kaplamışlar, böylece hem yaranın

akut dönem kontraksiyonunu hem de deneğin otokanibalizasyon ile yaraya zarar vermesini önlemişlerdir. Cerrahiden 2-3 hafta sonra çelik meş splint uygulamasını sonlandırmışlardır. Benzer problem ile karşılaşan Schneider ve arkadaşları, *Integra*® ve *Matriderm*® 'in greft adaptasyon ve vaskülarizasyon özelliklerini karşılaştırdıkları deneysel çalışmalarında [51], kendi laboratuvarlarında ürettikleri poliprolen halkaları kullanmışlardır. Halkaları defekt kenarlarına emilmeyen polyester suturler ile sabitleyerek çevre dokulardan yaranın kapanmasını önlemişlerdir. S.Böttcher-Haberzeth ve arkadaşları *Integra*® ve *Matriderm*® 'in neodermal kalınlık, kollajen birikimi, vaskülarizasyon ve inflamatuvar yanıt özelliklerini karşılaştırdıkları deneysel çalışmalarında [54], teflon halkaları kullanarak, çevre dokuların kontraksiyon ile bölgeyi kapatmasını önlemişlerdir. Çalışmamızda greftleme sonrası başlanan ve 3 hafta süre ile uygulanan poliprolen splint ile hem akut yara kontraksiyonu engellendi hem de greft pansumanı deneğin zararlı hareketlerinden korundu. Ayrıca, sert splint tabaka, mobil rat derisi üzerinde greft pansumanının stabilitesine ve baskılı greft pansumanına katkıda bulunmuş oldu.

Truong 2005 yılında [53], nude fare modelinde yaptığı çalışmasında beş farklı dermal analogun yara kontraksiyonuna etkileri ve yara iyileşme sürecindeki histolojik özelliklerini karşılaştırmıştır. Çalışmada karşılaştırılan dermal ürünler; aselüler dermal matriks (ADM), *Alloderm*® (LifeCell Corporation, Branchburg, NJ), *Dermagraft-TC*® (Advanced Tissue Sciences, La Jolla, Calif), *Dermalogen*® (Collagenesis, Beverly, Mass), ve *Integra*®'dir. Çalışma sonucunda bütün dermal analogların yara kontraksiyonunu azalttığı, insan dermisi kaynaklı ürünler olan aselüler dermal matriks, *Alloderm*® ve *Dermalogen*®'in diğer ürünlerden daha az kontraksiyona sebebiyet verdiği gösterilmiştir. Nude farede yapılan bu çalışmada, defektler fare sırtında, 2 x 2 cm ebatlarında planlanmış olup, tam kat cildi ve panniculus carnosus kas tabakasını içerir. Philandrianos ve arkadaşları 2012 yılında yapmış oldukları çalışmada [55], domuz modelinde beş ayrı aselüler dermal analogun yara iyileşmesi özelliklerini karşılaştırmıştır. 2 basamaklı prosedüre uygun yapılan çalışmada *Integra*®, *ProDerm*®, *Renoskin*®, *Matriderm*® ve *Hyalomatrix*® PA kullanılmış; dermal analogların adaptasyonu, epidermal greftlerin tutması, yara kontraksiyonu ve histolojik incelemeleri yapılmıştır. Çalışma sonunda, dermis adaptasyonu ve erken yara kontraksiyonunda analoglar arası farklar görülmesine

rağmen, geç dönemde yara kontraksiyonu arasında fark bulunmamıştır. Çalışmada, akut kontraksiyonun önlenmesine yönelik herhangi bir uygulamada yapılmamıştır. Akut kontraksiyonu önleyici uygulama yapılmayışı, domuz derisindeki kontraksiyonun, rat ya da fare derisinden farklı olarak insan derisine daha yakın özellikler göstermesine bağlıdır. 21. günde yapılan ölçümlerde *Integra*®, *Matriderm*® ve *Hyalomatrix*® kullanılan yaralarda kontraksiyonun daha az olduğunu gösterilmesine rağmen; 2. ay sonunda gruplar arası bu farklılığın ortadan kalktığı gösterilmiştir. Devam ettirilen çalışmada 6. ayda dermal analogların tümünde ve kontrol grubunda skar dokusunda ekspansiyon olduğu görülmüştür. Skar dokusunda 2. ay ile 6. ay arasında meydana gelen bu ekspansiyonu, çalışmanın başında immatür olan Yorkshire domuzlarının, çalışmanın sonuna doğru matür hale gelmesinin sonucu olarak yorumlamışlardır. Deneklerin hızlı büyümesi ile sırtlarındaki skar dokusu da genişlemiştir. Lamme ve arkadaşları 1995 yılında yaptıkları çalışmalarında [4], domuz modelinde tam kat yaraların iyileşmesi esnasında ekstraselüler matriks yapılıma karakterlerini incelemişlerdir. Çalışmada, epidermal greft ile eş zamanlı olarak kollajen elastin matriks (*Matriderm*®) kullanılmış olan yara yerlerinde, yalnızca epidermal greft ile tedavi edilen yara yerlerine göre daha az yara kontraksiyonu görüldüğü ve doku rejenerasyonunun daha iyi olduğu ortaya konulmuştur.

Çalışmamızda, kontraksiyon açısından bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da *Integra*® grubunun kontraksiyonu diğer gruplara göre daha azdır. 30. gün sonunda *Integra*® uygulanan yaralar % 41,44 oranında küçülmüştür. Yaraların küçülme oranı *Matriderm*® grubunda % 50,77, kontrol grubunda ise % 58,47 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda elde ettiğimiz kontraksiyona yönelik bulgular; *Integra*® ya da *Matriderm*®'in, belirtildiği üzere, kontraksiyonu ciddi anlamda önlemediği yönündedir. Her ne kadar Truong benzer hayvanda yaptığı çalışmasında kontraksiyon oranının azaldığını bulsa da [53], bunun nedeni deney hayvanının türü ile açıklanabilir. Daha uzun süreli kontraksiyon takibinin, bu hayvanlarda daha iyi ya da daha az kontraksiyon sonucu vermesi beklenmemektedir.

Dermal analogların kontraksiyona etkisi üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda, kontraksiyonun makroskopik değerlendirilmesinde farklı metodlar kullanılmıştır. Truong ve arkadaşları, beş farklı dermal analog ürününün kontraksiyon üzerine

etkilerini incelediği çalışmasında [53], düzlem yüzölçümü yazılım programı olan *Image Tool 2.0* (<http://compdent.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>) bilgisayar programını; Schneider ve arkadaşları [51] ile S.Böttcher-Haberzeth ve arkadaşları [54], *Matriderm®* ve *Integra®*'yı karşılaştırdıkları çalışmalarında, görüntü işlem ve analiz yazılım programı olan *ImageJ* programını; Philandrianos ve arkadaşları beş ayrı aselüler dermal analogu karşılaştırdıkları çalışmalarında [55], endüstriyel grafik tasarım programı olan *Autocad* (<http://www.autodesk.com/products/autodesk-autocad/overview>) yazılım programını kullanmışlardır. Çalışmamızda, makroskopik kontraksiyonun ölçümlerinde ve hem grup içerisinde hem de gruplar arası greftlenmiş alanların karşılaştırmalarında *ImageJ* (<http://rsb.info.nih.gov>) bilgisayar programı kullanılmıştır. Yapılmış olan her çalışmada, makroskopik kontraksiyon değerlendirilmesi çalışılan grupların kendi içerisinde karşılaştırma sağladığından, değerlendirmede başvurulan yöntem farklılığı, çalışma sonuçlarını ve sonuçların diğer çalışmalarla karşılaştırılmasını engellemektedir. Çalışmamızda makroskopik kontraksiyon değerlendirmesinde kullandığımız, *ImageJ* bilgisayar programının, çalışma sonuçlarının diğer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırılmasına ve sonuçların objektif olarak yorumlanmasına olumsuz bir etkisi olmamıştır.

Çalışmamızda kullanılan iki dermal matriks ürününün, önceki çalışmalarda gösterildiği üzere, yabancı cisim reaksiyonunu provoke etmediği ve 4-6 hafta içerisinde çözünerek yerini yeni dermise bıraktığı bilinmektedir. Çalışmamızda, erken matriks formasyonu sırasında, dermal analog uygulanmış olan yaralarda, kontrol grubuna göre, eozinofil ve nötrofil yoğunluğu bakımından fark gösterilememesi bu görüşü desteklemektedir. Normal yara iyileşmesinde, yaralanma bölgesine ilk göç eden hücreler olan nötrofiller maksimum sayıya 1-2 günde ulaşırlar, eğer bölgede enfeksiyon ve yabancı cisim yok ise 2-3 günden sonra sayıları azalır. Ortamda bakteri veya yabancı cisimler var ise inflamatuvar süreç devam eder ve ileriki haftalarda da bölgede nötrofil yoğunluğu görülür. Çalışmada, tüm gruplarda enfeksiyon durumu ekarte edildiğinden; nötrofillerin ortamı normal süreçlerinde terk etmelerini, ortamda yabancı cisim reaksiyonu olmadığı yönünde yorumlamak yanlış olmayacaktır. Eozinofil sayısı ise, normal iyileşme sürecinde, yaralanmanın 7-14. günlerinde artar. Bugünler kollajen üretimi ve remodelizasyonunun en fazla olduğu günler olduğundan, eozinofillerin kollajen

yapımı ve yeniden şekillendirilmesinde rolü olduğu düşünülmektedir [56]. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilemese de, çalışmada kollajen üretimin fazla olduğu 2. hafta biopsilerinde, grupların hepsinde, eozinofil sayısının daha fazla olduğu; kollajen üretiminin azaldığı 4. haftada ise bölgede mevcut eozinofil sayısının da azaldığı görülmüştür. Eozinofil sayısı ile kollajen üretimi arasındaki korelasyon, eozinofillerin kollajen yapımında rol oynadığı düşüncesini desteklemektedir. Nomura ve arkadaşlarına göre, eozinofiller, özellikle solunum yollarındaki kollajen sentezini TGF- β salarak arttırmaktadırlar [56]. Ayrıca, eozinofil sayısının normal iyileşme sürecinde olduğu gibi azalması, bölgede yabancı cisim reaksiyonu olmadığını gösterir. S.Böttcher-Haberzeth ve arkadaşlarının *Integra*® ve *Matriderm*® ile yaptıkları deneysel çalışmalarında [54], 14. günde granülosit ve makrofaj sayılarının dermal analog ile iyileşen yaralar ile kontrol grubu arasında farklı olmadığını göstermişler ve analogların klinik kullanımda istenmeyen yabancı cisim reaksiyonuna yol açmadığını vurgulamışlardır. Çalışmamızda gruplar arası nötrofil ve eozinofil sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar elde edilememiş olmasına rağmen; granülasyon dokusundaki toplam inflamatuvar hücre yoğunluğuna bakıldığında, dermal analoglu gruplarda kontrol grubuna göre daha az hücre mevcudiyeti saptanmıştır. Normal yara iyileşmesi sürecinde, başlangıç matriksi, fibroblastlar tarafından üretilen fibronektin, GAG ve kollajen liflerinden meydana gelmektedir. Fibronektinin kemotaktik aktivite üzerine olumlu etkilerinin yanı sıra; bölgeye göç eden inflamatuvar hücreler ve fibroblastlar için adezyon alanı oluşturduğu bilinmektedir. Lamme ve arkadaşları kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm*®) kullanarak yaptıkları çalışmasında [4], *Matriderm*® uygulanmış yaralarda fibronektin boyamanın daha lokalize sahalarda ve daha az olduğunu göstermiş; fibronektin azlığının daha az kemotaktik aktivite demek olduğunu vurgulamışlardır. Kemotaktik aktivitenin az oluşunun iyileşme süresince daha az hücre göçüne sebebiyet vereceğinden matriksli yaralarda erken granülasyon dokusunda hücrelerin daha az yoğun olacağını kanıtlamışlardır. Çalışmamıza, dermal analoglu gruplarda, erken dönem hücre migrasyonunun daha az oluşu bölgede kemotaktik aktivitenin daha az olduğu anlamına gelebilir. Erken matrikste kemotaktik aktivitede ana rol oynayan yapı fibroblastlar tarafından üretilen fibronektindir. Bu sonuç, dermal analoglu gruplarda bölgede fibronektinin daha az

olduğunu kanıtlar. Çalışmaya fibronektin ve fibronektin peptid tespiti ve elektron mikroskopik inceleme dahil edilmiş olsa idi, erken matriks formasyonu esnasında önceki çalışmalar gibi fibronektin boyamanın daha az bulunabileceği düşünülmektedir. Çalışmada kullanılan iki dermal analogun da temel yapı maddesinin kollajen olduğu göz önüne alınacak olur ise; başlıca görevleri kollajen üretmek olan fibroblastlara ihtiyaç azalacağından bölgeye fibroblast akını azalacak, belki de bunun sonucunda ürettikleri diğer maddeler ve de fibronektin miktarı azalacaktır. Dermal analoglarda erken matriksteki kemotaktik aktivite azlığı ve daha az hücre yoğunluğu, bölgeye daha az fibroblast göçü gereksinimi ve daha az fibronektin üretimi ile açıklanabilir. Ayrıca, dikkat çeken bir diğer nokta, yara iyileşmesi için elzem maddeler olan kollajen ve GAG'dan üretilen dermal matriks (*Integra®*)'in fibroblastlara düşen görevi iyice azalttığıdır. Analogda hazır mevcut olan kondroitin-6- sülfat, erken matriks oluşumu esnasında üretilen ana GAG'lardan birisidir. Bu da, bize zaman kaybı yaşanmadan ve fazla hücre maruziyetine gerek kalmadan erken matriks oluşabilmesini açıklar.

Çalışmamızda yapılan histolojik incelemede; 14. günde kollajen liflerinin dağılımı gruplar arası benzer iken; 4. hafta incelemelerinde dermal matriks kullanılan gruplarda kollajen liflerinin dermiste randomize olarak bulunduğu, kontrol grubunda ise epiderminin altında epidermise paralel olarak uzandığı saptanmıştır. Lif dağılımındaki bu değişimin, greftlemenin ilk haftasında başlayan ve 4. haftaya kadar devam eden makroskopik kontraksiyon ile paralellik göstermesi beklenen bir sonuçtur. Normal yara iyileşmesi sürecinde, 72. saatte makrofajlardan salınmaya başlayan TGF- β , fibroblastları yaraya doğru harekete geçirir ve proliferatif evrenin başlangıç sinyalini oluşturur. Fibroblastlar kollajen üreterek ECM'e salar. 2-3 hafta boyunca kollajen sentezi düzenli olarak artar. Bu artışa paralel olarak yaranın gerilmeye olan dayanıklılığı da hızla artar. 3. hafta sonunda, remodelling fazı başlangıcında, kollajen sentezi ve yıkımı dengededir. 4. haftadan sonra kollajen sentezi azalmaya başlar. Remodelling fazından itibaren kollajen lifleri organize olarak, liflerin dağılımları, lokalizasyonları ve uzanım yönleri belirir. Ayrıca remodelling fazında, fibroblastlardan salgılanan glikozaminoglikan ve fibronektinden geçici bir matriks sentezlenir. Yara yerinde oluşan bu matriks kollajen liflerin agregasyonunda görevlidir. Yeni kollajen liflerinin ve hücrelerin organizasyonunun

sağlanmasında destek görevi görür, kollajen liflerin oryantasyonu ve boyutlarının kontrolü ile ilişkilidir. Normal yara iyileşmesinde, yeni sentezlenen kollajen lifler bu matriks iskelete dezorganize şekilde yerleşir. Skar dokusunda ise, kollajen lifler yüzeysel dermise yerleşir ve epidermise paralel organize olmuş halde izlenir [57]. Çalışmada kullanılan her iki dermal analog yapısında kollajen içerdiğinden, ilk haftalardaki kollajen yoğunluklarının takibinin anlamı olmamakla beraber, 4. hafta kollajen demetlerinin değerlendirilmesi önem arz eder. Dermal analogun kullanıldığı her iki grupta da 4. haftada kollajen demetlerinin dermiste randomize olarak bulunması, normal yara iyileşmesinde remodelling fazı öncesi görülen bir durumdur. Kontrol grubundaki epidermise paralel uzanan kollajen liflerinin skar dokusundaki organizasyona benzerlik göstermesi dikkat çekicidir. 1996 yılında Lamme ve arkadaşları domuzlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında [4], kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm*®) kullanılan ve kullanılmayan tam kat yaralarda ECM yapılanmasını incelemişlerdir. 6 hafta süren çalışmada, yarı kalınlıklı cilt grefti ile onarılan grubun kollajen liflerinin, epidermise, dermal analoglu gruba göre daha paralel uzandığını saptamışlardır. Daha önce De Vries ve arkadaşları, tip 1 sığır kollajenine hyalüronik asid, fibronektin veya elastin eklenerek üretilen üç ayrı dermal matriks ile yapmış oldukları klinik çalışmada [58], kollajen-elastin dermal matriks (*Matriderm*®) uygulanmış olan hastalarda, kollajen bantlarının daha randomize organizasyon gösterdiğini kanıtlamışlardır. S.Böttcher-Haberzeth ve arkadaşları 2012 yılında sıçanlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmalarında [54], tam kat cilt defektlerinin tek basamaklı kapatılmasında *Integra*® ve *Matriderm*® 'i kullanmış; dermal analogların neodermal kalınlık, kollajen birikimi, vaskülarizasyon ve inflamatuvar yanıt özelliklerini karşılaştırmışlardır. Daha önceki çalışmaların sonuçlarının aksine; bu çalışmada, 14. günde yapılan histolojik incelemelerde, dermal analog kullanılan gruplarda daha yetersiz kollajen depozisyonu olduğu, kontrol grubunda kollajen liflerinin daha belirgin ve homojen dağılımlı olduklarını göstermişlerdir. Çalışmanın bu aksi sonucunun sebebi, histolojik incelemenin 14. günde yapılmış olmasıyla açıklanabilir. 2 haftalık süreçte alınan sonuçlar, remodelling fazı henüz başlamadan, kollajen liflerinin organizasyonu tam gerçekleşmeden yapılan biyopsiler ile elde edilmiştir. Çalışmanın süresi remodelling fazına kadar uzatılarak kollajen liflerin organizasyonuna yeterli zaman tanındığında,

önceki çalışmalarda görüldüğü gibi, dermal analog kullanılan gruplarda kollajen bantlarının dermiste randomize dağılımda görüleceği düşünülebilir.

Çalışmamızda ve diğer çalışmalarda elde edilen, analog kullanılan durumlarda kollajen liflerinin organizasyonu ile ilgili benzer sonuçlar; dermal matriks uygulamasının, greftleme sonrası iyileşme aşamasında, skar dokusu oluşumu ve her ne kadar istatistiksel olarak çalışmamızda anlamlı olduğu gösterilememiş olsa da bazı analogların kontraksiyon eğilimini azalttığını düşündürmektedir.

Yara iyileşme sürecinde en az kollajen lifleri kadar önemli göreve sahip olan ve kontraksiyonda ana rolü oynayan myofibroblastlar, başta TGF- β olmak üzere büyüme faktörlerinin ve mekanik güçlerin etkisiyle fibroblastların differansiyasyonu sonucu meydana gelirler. Normal iyileşme sürecinde, yaralanmanın 5. gününde, myofibroblastların bölgede mevcudiyeti beklenir. İyileşmenin 2. haftasında, bölgedeki myofibroblastların çoğu apoptoza uğrayarak ortadan kaybolur. Geriye az hücre içeren konnektif skar dokusu kalır. Ortamda daha çok myofibroblast kalması ve remodelling sürecine devam etmesi, daha abartılı yara kontraksiyonu gelişmesine neden olur [59]. Lamme ve arkadaşları, 1995 yılında yaptıkları tam kat yaraların iyileşmesi esnasında ekstraselüler matriks yapılanma karakterlerini inceledikleri çalışmalarında [4], kollajen-elastin dermal matriks ile iyileşen yaralarda daha az myofibroblast görüldüğünü göstermişlerdir. Çalışmada, matriks kullanımının fibroblastların myofibroblastlara transformasyonunu azalttığı açıkça vurgulanmıştır.

Çalışmamızda, 14. gün gruplar arası myofibroblast yoğunlukları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemesine rağmen 30. günde kontrol grubunda daha yoğun myofibroblast olduğu gösterildi. Çalışmamızda 30. günde dermal matriks uygulanmamış sahada halen myofibroblastların fazla görülüyor olması, dermal matriks uygulamasının kontraksiyonu azalttığı düşüncesini destekler. Yannas, 1998 yılında kollajen-GAG dermal analogun biyolojik aktiviteleri üzerinde yaptığı çalışmasında [60], dermal analog ile greftleme yapıldığında, iyileşme sürecinde myofibroblast kontraksiyonunun inhibe edildiğini vurgulamıştır. Murphy ve arkadaşlarının erişkin kobaylarda yaptıkları çalışmada [61], kollajen-GAG dermal matriks kullanılan tam kat yaralarda 14. günde fibroblastların %10'unda myofibroblast transformasyon görülürken; greftlenmeyen yaralarda %50'den daha fazla myofibroblast görülmüştür. Çalışma sonuçları dermal analog uygulamasının

fibroblastların myofibroblastlara transformasyonunu azalttığı düşüncesini akla getirir. Çalışmamızda myofibroblast yoğunluğu ile makroskopik kontraksiyon takipleri karşılaştırıldığında; ortamda en fazla myofibroblast mevcudiyetinin olduğu 2. hafta süresi *Integra*® ve *Matriderm*® gruplarında makroskopik kontraksiyonun en hızlı olduğu dönemdir. 3. haftada myofibroblast yoğunluğunun azalması ile paralel olarak kontraksiyon da azalır. Kontrol grubunda ise hızlı kontraksiyon süreci ilk haftada görülür. Bu sonuçlar, dermal analog uygulamasının fibroblastların myofibroblastlara transformasyonunu azalttığı düşüncesini kuvvetle destekler. Kontrol grubunda ilk 7 günde daha hızlı kontraksiyon oluyor olması, dermal analog uygulamasının fibroblastların myofibroblastta transformasyonunu azaltmakla beraber, transformasyon sürecinin daha yavaş ilerlemesine neden olabildiği düşüncesini akla getirir. Bunun sebebi de, hem bölgedeki inflamasyon azlığından mediyatörlerin daha az salınıyor olması, hem de hali hazırda kollajen bulunduran dermal analoglara fibroblast göçünün daha az olması olarak yorumlanabilir.

Normalde rat derisinde elastin lifleri, dermis genelinde ve vasküler yapıların periferinde yer alır. Elastin liflerin rejenerasyonu, iyileşme sürecinin daha geç evrelerini gösterir. Erken granülasyon dokusunda elastin mevcudiyeti beklenmez. Elastin liflerinin insan skarlarında yapılanması yıllar alan bir süreç iken, sıçanlarda yara iyileşmesi sürecinin ilk 90 gününde elastin lifleri belirir. Bu durum, klinik çalışmalarda 2. haftada elastin lif görülmesi beklenmezken çalışmamızda 2. hafta biyopsilerinde elastine rastlanmasının sebebini açıklamaktadır. Ayrıca, içeriğinde kollajen ve elastin mevcut olan dermal matriks ürünün (*Matriderm*®) kullanıldığı grupta erken dönemde elastin görülmesi beklenen bir durumdur. Oldukça kompleks bir yapı olan elastinin, insan greftlemelerinden sonra 40 gün gibi erken evrelerde erken depozisyonunu rapor eden çalışmalar mevcuttur [53]. Çalışmamızda greftleme sonrası 2. haftada alınan biyopsilerin sonucunda grupların hepsinde epidermisin altında yüzeysel dermiste yeni oluşan elastin lifler görüldü. *Matriderm*® grubunda yeni oluşan ve dermal analogda mevcut olan elastin liflerin yoğunlukları hakkında yorum yapılmazken, 4. hafta biyopsilerindeki dağılımları dikkate alındı. Elastin liflerin yoğunlukları *Integra*® ve kontrol grubu arası benzerdi. 4. hafta biyopsilerinde, dermal matriks uygulanmış olan grupların derin dermislerinde elastin lifler görülürken, yalnızca otogreft uygulanmış olan grupta derin dermiste elastin

lifler çok nadir görüldü. Daha önce de belirtildiği gibi, kollajen-elastin dermal matriks grubundaki elastin lif yoğunluğu öngörülebilir iken, kollajen-GAG matriks grubunda elastin lif üretiminin kontrol grubuna göre daha çok olması dikkat çekicidir. Bilindiği gibi, skar dokusu gelişen yara iyileşme modellerinde elastin lif daha az görülür. Çalışmamız 4 hafta ile sınırlı olduğundan ileriki haftalarda elastin liflerin dağılımı ile ilgili yorum yapılamamaktadır. Lamme ve arkadaşları çalışmalarını [4] 16. haftaya kadar sürdürmüş ve bu farkın sürdüğünü göstermişlerdir. Fakat; hayvan modellerinde, elastin lif rejenerasyonunun insanlardan çok daha hızlı olduğu bilinmektedir. De Vries ve arkadaşlarının klinik çalışmasında [58], greftleme ile eş zamanlı kollajen-elastin dermal matriks uygulanan ayak ülseri hastalarında, ciltten greftleme sonrası 3. ayda alınan punch biyopsilerde halen elastin rejenerasyonunun olmadığı görülmüştür. Bu çalışmanın avantajı uzun süreli klinik bir çalışma olmasıdır. Çalışmamızda ve benzer deneysel çalışmalarda; dermal matriks kullanılmayan cilt grefti uygulamalarında azalmış elastin üretiminin skar dokusu oluşmasını gösterip göstermediği; dermal matriks uygulanmış yaralardaki fazla elastin lifinin yaradaki daha yavaş bir iyileşmeyi ya da dermal matriksin içeriğindeki elastin liflerini temsil edip etmediği tam anlaşılammıştır. Uzun süreli klinik çalışmalarda sonuçlar daha açıktır. Histolojik incelemenin dahil edilmediği klinik çalışmalarda, cildin elastikiyeti objektif ölçümler ile ölçülmüş, cilt elastikiyetini sağlayan başlıca yapı elastin lifler olduğundan, cilt elastikiyetinin iyi oluşu elastin liflerin sayısının ve dizilimlerinin iyi oluşu ile ilişkilendirilmiştir. Dermiste mevcut olan elastin lifler sayesinde gerilen cilt tekrar eski haline döner [62]. Günümüzde dermal analogların en yaygın kullanım alanları yanık hastaları olduğundan ve yanık hastalarında onarılan cildin elastikiyetinin sağlanması hedeflendiğinden, dermal analog klinik çalışmalarının çoğu yanık hastalarında yapılmıştır. Literatürde ilk sentetik cilt analogu, 1981 yılında Burke tarafından termal yanık hastalarında kullanılmıştır [63]. 3. derece yanığı mevcut olan 10 hasta, kollajen-GAG dermal analog (*Integra®*) uygulamasını takiben 16 ay boyunca takip edilmiş, dermal analog uygulanmış olan greft alanlarında cilt elastikiyetinin korunduğu klinik olarak gözlemlenmiştir. Yanık hastalarında tek basamaklı kollajen-elastin dermal analog modeli (*Matriderm®*) klinik çalışması ilk olarak Van Zuijen ve arkadaşları tarafından 2000 yılında yapılmıştır [64]. Çalışmaya, akut yanık hastaları

ile rekonstrüktif cerrahi hastaları dahil edilmiş olup postoperatif 3. ve 4. aylarda skar elastikiyeti değerlendirilmiştir. Rekonstrüktif cerrahi sonrası *Matriderm*® kullanılmış olan greft sahalarda cilt elastikiyetinde anlamlı artma gösterilmiş olmasına rağmen akut yanık hastalarında bu fark gösterilememiştir. Çalışmada, yanık hastaların operasyonunu yaralanmadan 3 hafta sonra yapan Van Zuijen ve arkadaşları, dermal analog ile iyileşen yanık hastalarında beklenen cilt elastikiyetinin elde edilemeyişi, akut yanıklardaki bakteri mevcudiyetine ve lizozomal enzimlerin etkisine bağlamıştır. Daha sonra yapılan benzer çalışmalarda enfeksiyonu minimize etmek amaçlı yaralanmadan sonraki ilk 5 gün içerisinde müdahale edilerek dermal matriks ve cilt greftlemeleri uygulanmıştır. Dermal analog uygulamaları klinikte yaygınlaştıkça, uzun süreli klinik çalışmalar da artmıştır. Chou ve arkadaşları, 2001 yılında 13 yanık hasta ile yaptıkları klinik çalışmada [65], üst ekstremitte yanık kontraktürlerinin rekonstrüksiyonunda kollajen-GAG dermal matriks kullanmış 2 yıl süren çalışmanın 8. ve 24. ayında skar durumunu değerlendirmiştir. Vancouver skar skalası ile yapılan değerlendirmede cilt elastikiyetinin dermal matriks kullanılan sahalarda iyi olduğu gösterilmiştir. 2007 yılında Haslik ve arkadaşları [48], kollajen-elastin dermal matriksi ilk defa el yanıklarında kullandıkları klinik çalışmalarını yayınlamıştır. Greftlemeden 3 ay sonra yapılan klinik değerlendirmede, dermal analog kullanılarak greftlenmiş olan sahalarda cilt elastikiyetinin oldukça iyi olduğunu göstermişlerdir. Ryssel ve arkadaşları 2008 yılında yanık hastaları üzerinde yaptıkları uzun dönem klinik çalışmalarında [66], yanıkta erken eksizyon ve eş zamanlı otolog cilt grefti uygulamalarında kollajen-elastin dermal analog kullanmış; greftlemeden 3 ay sonra Vancouver skar skalası kullanarak cilt elastikiyetini değerlendirmiştir. Çalışma ile; eş zamanlı dermal matriks uygulamasının, cilt elastikiyeti açısından önemli ölçüde daha iyi sonuçlar verdiği sonucuna varılmıştır. Çalışmada, benzer çalışmalara ek olarak, eksizyonun anatomik seviyesinin sonuçlar üzerinde etkisi araştırılmış ve hem yarı kalınlıklı hem de tam kalınlıklı yaralar çalışmaya dahil edilmiştir. Tam kat yaralarda dermal matriks ve otogreft, fasya üzerine uygulanmış olup, cilt elastikiyeti bakımından greftlerin klinik değerlendirilmesinde farklılık olmadığı gösterilmiştir. Skar dokusu gelişen yara iyileşme modellerinde daha az elastin lif bekleneceğinden; bu çalışmalarda ve yapılan benzer klinik çalışmalarda, kollajen-GAG ve kollajen-elastin dermal analog

ile iyileşen yaralarda skar dokusunun gelişmeyip, cilt elastikiyetinin iyi derecede sağlanmış olması; her iki dermal analog ürünle iyileşen yaralarda daha çok elastin lif mevcudiyeti olduğu düşüncesini destekler. Çalışmamızın kısıtlı süresinden dolayı elastin lif formasyonu ile ilgili tam bir yorum yapmak doğru olmayacaktır. Çalışmanın süresi uzatılarak elastin liflerinin oluşum ve dağılımının değerlendirilmesi ile daha farklı sonuçlar bulunabilir.

Dermal analoglar ile başarılı tedavi sağlanabilmesi için; analogun düşük antijeniteye sahip olması, hızlı vaskülarizasyon için yatak oluşturması ve stabil bir dermal yapı iskelesi sağlaması gerekmektedir. Truong ve arkadaşları, 5 farklı dermal analog üzerinde yaptıkları çalışmalarında [53], insan dermisinden üretilen ürünler olan aselüler dermal matriks ve *Alloderm*® ile; sentetik dermal analoglar olan *Dermagraft-TC*®, *Dermalogen*® ve *Integra*®'ya göre daha kalın bir dermis elde etmişlerdir. Çalışma sonucunda; insan kaynaklı dermal analogların; makrofaj ve fibroblastların infiltre olup yerleşebileceği, anjiogenezisi başlatabileceği daha büyük bir kollajen ve diğer fibril ağına sahip olmasının, daha kalın bir yeni dermise neden olacağı öne sürülmüştür. Lamme ve arkadaşları 1995 yılında yaptıkları çalışmalarında [4], domuz modelinde tam kat yaraların iyileşmesi esnasında ekstraselüler matriks yapılanma karakterlerini incelemiştir. Çalışmada, epidermal greft ile eş zamanlı olarak kollajen elastin matriks kullanılmış olan yara yerlerinde, yalnızca epidermal greft ile tedavi edilen yara yerlerine göre daha az yara kontraksiyonu görüldüğü ve doku rejenerasyonunun daha iyi olduğu ortaya konulmuştur. Yapılan bazı çalışmalarda, yapay dermis uygulanan cilt greft sahalarının epitelizasyonunu hızlandırmak ve arttırmak için keratinosit ve epitelial otogreft kültürleri kullanılmıştır [67-69]. Burke, kollajen-GAG dermal analog kullanarak yaptığı çalışmasında [63], analog üzerine uygulanan ince epidermal greflerin kolayca adapte olduğunu ve 14 günde normal epidermis kalınlığına ulaştığını göstermiştir. Dermal analogun adaptasyonunu ve epitelizasyon hızını olumsuz yönde etkilemesine rağmen, kullanılan greftte bir miktar dermisin bulunmasının dermal analoga göç edecek olan hücrelere fazladan bir yatak oluşturabileceği ve daha sağlam bir neodermis elde edilebileceği düşünülebilir. Çalışmamızda inceltirilmiş tam katlı cilt grefti yerine, ince epidermal greft kullanılmasının neodermis sonuçlarını etkileyebileceği öne sürülebilir.

Şüphesiz ki, yalnızca neodermis kalınlığı ölçümlerinin kıyaslanması ile yeni dermis formasyonunu yorumlamak doğru olmayacaktır. Çalışmamızda kullanılan iki dermal analogun başlangıçtaki kalınlık farkı, oluşturdukları yapı iskelesinin boyutunu etkileyecek hücrelerin göç ederek tutundukları alanı belirleyecektir. Ayrıca *Integra*®'da çapraz bağların mevcut olup *Matriderm*®'de olmaması; *Integra*®'nın biyolojik olarak yıkımının, *Matriderm*®'den daha geç olacağı anlamına gelir. De Vries ve arkadaşları yaptıkları çalışmada çapraz bağ içermeyen ürünün hızlı parçalanmasının; dermis formasyonunu, kısmi kalınlıklı deri greftinin adaptasyonunu ve kontraksiyon sonuç parametrelerini olumsuz yönde etkileyebileceğini öne sürmüşlerdir [24]. Çalışmamızda, her ne kadar istatistiksel farklılık gösterilemese de, 30. günde *Matriderm*® ile iyileşen grupta *Integra*® grubuna göre daha fazla kontraksiyon görülmüştür ve *Matriderm*® grubu takiplerinde kısmi kalınlıklı deri greft adaptasyonunda zorluklarla karşılaşmaktadır. Çalışmamızdaki bu gözlemler De Vries ve arkadaşlarının; çapraz bağ içermeyen ürünün hızlı parçalanmasının, kısmi kalınlıklı deri greftinin adaptasyonunu ve kontraksiyon sonuç parametrelerini olumsuz yönde etkileyebileceğini düşüncesini desteklemektedir. Ancak; Schneider ve arkadaşlarının 2009 yılında [51], *Integra*® ve *Matriderm*®'i karşılaştırdıkları çalışmada her iki dermal analog grubunda greft adaptasyonu açısından fark olmadığını göstermişlerdir. Ayrıca çalışmamızda uygulanan iki dermal analogun porlarının çapı, hastanın kendi endotelial hücre ve fibroblastlarının göçüne izin verecek şekilde, uygun boyutlarda planlanmıştır. *Matriderm*®'deki porların çapı sabit olup 75 µm iken; *Integra*®'nın por çapı 30 ile 120 µm arasında değişmektedir. Por boyutları arasındaki farklılıklar da hücrelerin infiltrasyon özelliklerini, anjiogenezisin başlama hızını ve nihayetinde dermal yapılanmayı etkileyecektir. Çalışmamızda yapılan gözlemlerde de, *Matriderm*® grubunda daha hızlı vaskülarizasyon olduğu görülmüş, *Integra*® grubu vaskülarizasyonu için 3 hafta beklenerek, dermal analogun üzeri 3 hafta sonra greftlenmiştir. Schneider ve arkadaşlarının çalışmasında [51], *Integra*® ve *Matriderm*® uygulayarak yaptıkları greftlemeden sonraki 3. hafta immunohistokimyasal incelemelerinde her iki dermal analog grubunda vaskülarizasyon ve yeni dermis kalınlığı bakımından fark saptamamışlardır. Çalışmamızda, bu sonuçlara benzer olarak iki dermal analog arasında yeni dermis kalınlığı bakımından anlamlı farklılıklar gösterilmemiştir. İki

ürün arasındaki başlangıçtaki dermal kalınlık farkı, uygulandıkları bölgede zaman içinde eşitlenmiştir. Her iki dermal analog, geçici dermal yapı iskelesi görevlerini tamamlayıp biyolojik çözünmeye uğradıklarında, yerlerinde bıraktıkları yeni dermis kalınlıkları benzerdir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda; tam kat cilt defekterinde, greftleme sonrası dermis kalitesinin artırılmasında ve kontraksiyonların önlenmesinde klinik kullanımı yaygın olan iki dermal analog ürün olan *Integra*® ve *Matriderm*® karşılaştırılmıştır. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmamış olsa da makroskopik değerlendirmelerde, en fazla kontraksiyonun kontrol grubunda, en az kontraksiyonun *Integra*® grubunda olduğu görülmüştür. Histolojik incelemelerde, 30. gün toplam hücre sayısı kontrol grubunda daha fazla bulunmuş, yabancı cisim reaksiyonunun ise gruplar arası benzer olduğu gösterilmiştir. 30. gün miyofibroblast sayısının kontrol grubunda, dermal analog kullanılan gruplardan daha fazla çıkması dikkat çekmiştir. Kontraksiyonda rol alan hücrelerin en önemlisi olan myofibroblastların, iyileşmenin remodelling fazında fazla olması, zamanla daha fazla kontraksiyon gelişeceğinin göstergesi olarak yorumlanabilir. Çalışmanın kısıtlı zamanının 30. günden sonraya uzatılarak makroskopik olarak kontraksiyonda artış olup olmayacağı ve histolojik olarak da myofibroblast sayı ve özelliklerindeki değişiklikler olup olmayacağı ileri bir araştırma konusu olabilir.

Bu deneysel hayvan çalışmasında, histolojik incelemelerde dermal analog ile iyileşen yaralarda kontraksiyona eğilimin daha az olduğu gösterilmiştir. Klinikte tam kat cilt defektli hastalarda kontraksiyonu önlemek amaçlı, yüksek maliyetli bu dermal ürünlerin klinik kullanımının gerekliliği halen bir tartışma konusudur. Her ne kadar çeşitli klinik çalışmalarda bu ürünlerin dermis kalitesini artırarak, cilt elastikiyetini sağladığı ve kontraksiyonu önlediği yönünde bulgular mevcut olsa da kliniğimizde uygulanmış olan vakalarda, klinik gözlemlerimizde, kontraksiyonu önlemediği görülmüştür. Dermal analoglar ile ilgili daha uzun dönem çalışmalarına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Zhong, S.P., Y.Z. Zhang, and C.T. Lim, *Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction*. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2010. **2**(5): p. 510-25.
2. Freedberg I.M., E.A.Z., Wolff K., Austen K.F., Goldsmith L.A., Katz S.I., Fitzpatrick T.B. , *Dermatology in general medicine*. 5 ed. 1999.
3. Harrison, C.A. and S. MacNeil, *The mechanism of skin graft contraction: an update on current research and potential future therapies*. Burns, 2008. **34**(2): p. 153-63.
4. Lamme, E.N., et al., *Extracellular matrix characterization during healing of full-thickness wounds treated with a collagen/elastin dermal substitute shows improved skin regeneration in pigs*. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 1996. **44**(11): p. 1311-1322.
5. Standring S., E.C.L., *Gray H. Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* ed. 39th. 2005, London. 931-33.
6. J.W, S. Grabb and Smith's Plastic Surgery Fourth Edition. 20-21.
7. Gantwerker EA, H.D., *Skin: histology and physiology of wound healing*. Clin Plast Surg, 2012 Jan. **39**: p. 85-97.
8. BM, C., *Integumentary, skeletal, and muscular systems*. Human Embryology and Developmental Biology. 1994, St. Louis: Mosby. 153-81.
9. George Broughton, J.E.J., Christopher E. Attinger, *The Basic Science of Wound Healing*. Plastic and Reconstructive Surgery, 2006. **117**: p. 12S-34S.
10. Burns DA, B.S., Cox N, Griffiths CE *Rook's Textbook of Dermatology*. 7th ed. 2004: Mass: Blackwell Science.
11. Nguyen D, D.W., *A review of the use of a dermal skin substitute in burns care*. J Wound Care, 2006. **15**(8): p. 373-6.

12. Robson MC, S.D., Franz MG, *Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories*. *Curr Probl Surg*, 2001. **38**: p. 72-140.
13. T Velnar, T.B., V Smrkolj, *The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms*. *Journal of International Medical Research*, 2009. **37**: p. 1528 – 1542
14. Gurtner, G.C., *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 6th ed. Wound Healing: Normal And Abnormal. 2007, Philadelphia: Lippincott-Williams and Wilkins.
15. Steed, D.L., *Wound healing*. *Surgical Clinics of North America*, 2003. **83**(3): p. xi-xii.
16. Singer AJ, C.R., *Cutaneous Wound Healing*. *N Engl J Med*, September 2, 1999. **341**: p. 738-746.
17. DiPietro, S.G.a.L.A., *Factors Affecting Wound Healing*. *J Dent Res* 2010. **89**(3): p. 219-229.
18. Broughton, G., 2nd, J.E. Janis, and C.E. Attinger, *Wound healing: an overview*. *Plast Reconstr Surg*, 2006. **117**(7 Suppl): p. 1e-S-32e-S.
19. Sayek, I., *Temel Cerrahi*. Yara İyileşmesi, ed. A. Engin. Vol. 3. baskı. 2004, Ankara: Güneş Kitabevi.
20. Berry DP, H.K., Stanton MR, Jasani B, Ehrlich HP, *Human wound contraction: collagen organization, fibroblasts, and myofibroblasts*. *Plast Reconstr Surg*, 1998 Jul. **102** (1): p. 124-31.
21. Fisher JC, D., *Skin Grafting*. 2 ed. *Textbook of Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery*, ed. G.N. Georgiade GS, Riefkohl R, Barwick WJ. 1992.
22. Kelton, P.L., *Skin Grafts and Skin Substitutes*. *SRPS*, 1999. **9**(1): p. 1-24.
23. Jo Jo Leung, J.F., *Skin Grafts*. *UTMJ*, 2009 March. **Volume 86**(2): p. 61-64.

24. De Vries HJ, M.J., Middelkoop E, Hinrichs WL, Wildevuur CR, Westerhof W. , *Dermal substitutes for full-thickness wounds in a one-stage grafting model*. Wound Repair Regen, 1993, October **1**(4): p. 244-52.
25. Stephenson, A.J., R.W. Griffiths, and T.P. La Hausse-Brown, *Patterns of contraction in human full thickness skin grafts*. Br J Plast Surg, 2000. **53**(5): p. 397-402.
26. Susan W. Volk VMD, M.W.B., *Comparative wound healing—Are the small animal veterinarian’s clinical patients an improved translational model for human wound healing research?* Wound Rep Reg 2013. **21**: p. 372–381.
27. Halim, A.S., T.L. Khoo, and S.J. Mohd Yussof, *Biologic and synthetic skin substitutes: An overview*. Indian J Plast Surg, 2010. **43**(Suppl): p. S23-8.
28. *Cal State J Med*. May 1912; **10**(5): 219. .
29. Jaimie T. Shores, A.G., Subhas Gupta, *Skin Substitutes and Alternatives: A Review*. ADVANCES IN SKIN & WOUND CARE, 2007. **20**(9): p. 493-508.
30. Singh, A.K. and Y.R. Shenoy, *Skin substitutes: An Indian perspective*. Indian J Plast Surg, 2012. **45**(2): p. 388-95.
31. Ho, W.-S., *Skin substitutes: An overview*. Ann. Coll. Surg. , 2002. **6**: p. 102-108.
32. Manimalha Balasubramani, T.R.K., Mary Babu, *Skin substitutes: a review*. Burns 2001. **27**: p. 534-544.
33. Ferguson, A.D.M.a.M.W.J., *Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration*. J. R. Soc. Interface 2007. **4**: p. 413-437.
34. I. Jones, L.C.a.R.M., *A guide to biological skin substitutes*. British Journal of Plastic Surgery, 2002. **55**: p. 185-193.
35. Loeffelbein, D.J., et al., *Amniotic membrane as part of a skin substitute for full-thickness wounds: an experimental evaluation in a porcine model*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2012. **100**(5): p. 1245-56.

36. Kagan, R.J., E.C. Robb, and R.T. Plessinger, *Human skin banking*. Clin Lab Med, 2005. **25**(3): p. 587-605.
37. Munster AM, W.S., Spence RJ., *Cultured Epidermis for the Coverage of Massive Burn Wounds*. Ann Surg., 1990 Jun. **211**(6): p. 676-9.
38. van der Veen, V.C., et al., *Biological background of dermal substitutes*. Burns, 2010. **36**(3): p. 305-21.
39. KH., L., *Tissue-engineered human living skin substitutes: development and clinical application*. Yonsei Med J, 2000. **41**(6): p. 774-779.
40. van der Veen, V.C., et al., *New dermal substitutes*. Wound Repair Regen, 2011. **19 Suppl 1**: p. s59-65.
41. Ioannis V. Yannas, D.P.O., Ph.D. John F. Burke, *Template for Skin Regeneration*. Plastic and Reconstructive Surgery, 2011. **127**(1): p. 60-70.
42. Krejci NC, C.C., Langdon RC, McGuire J., *In vitro reconstitution of skin: fibroblasts facilitate keratinocyte growth and differentiation on acellular reticular dermis*. J.Invest Dermatol 1991, 1991 **97**((November (5))): p. 843-8.
43. Lynn AK, Y.I., Bonfield W., *Antigenicity and immunogenicity of collagen*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2004. **71**(2): p. 343-54.
44. Burke, I.V.Y.a.J.F., *Design of an artificial skin. I. Basic design principles*. Journal of Biomedical Materials Research, 1980. **14**: p. 65-81.
45. Moiemmen, N.S., et al., *Reconstructive surgery with Integra dermal regeneration template: histologic study, clinical evaluation, and current practice*. Plast Reconstr Surg, 2006. **117**(7 Suppl): p. 160S-174S.
46. Heimbach, D., Luterman, A., Burke, J., et al. , *Artificial dermis for major burns: A multi-center randomized clinical trial*. Ann. Surg., 1988. **208**: p. 313-20.
47. Stern, R., McPherson, M., and Longaker, M. T. , *Histologic study of artificial skin used in the treatment of full-thickness thermal injury*. J. Burn Care Rehabil. , 1990. **11**(1): p. 7-13.

48. Haslik, W., et al., *First experiences with the collagen-elastin matrix Matriderm as a dermal substitute in severe burn injuries of the hand*. Burns, 2007. **33**(3): p. 364-8.
49. Wollina U, M.A., Weber A, *Use of a collagen–elastin matrix for hard to treat soft tissue defects*. Int Wound J., 2011 jun. **8**(3): p. 291-6.
50. De Vries HJ, M.J., Middelkoop E, Hinrichs WL, Wildevuur CR, Westerhof W., *Dermal substitutes for full-thickness wounds in a one-stage grafting model*. Wound Rep Reg, 1993 Oct. **1**(4): p. 244-52.
51. Schneider, J., et al., *Matriderm versus Integra: a comparative experimental study*. Burns, 2009. **35**(1): p. 51-7.
52. Kolokythas P, A.M., Vogt PM, Paulsen F., *Dermal substitute with the collagen-elastin matrix Matriderm in burn injuries: a comprehensive review*. Handchir Mikrochir Plast Chir, 2008. **40**: p. 367-71.
53. Anh-Tuan N. Truong, A.K.-V., Barbara A. Latenser, Dorion E. Wiley, and Robert J.Walter, *Comparison of Dermal Substitutes in Wound Healing Utilizing a Nude Mouse Model*. J Burns Wounds, 2005. **4**.
54. Bottcher-Haberzeth, S., et al., *Matriderm(R) 1 mm versus Integra(R) Single Layer 1.3 mm for one-step closure of full thickness skin defects: a comparative experimental study in rats*. Pediatr Surg Int, 2012. **28**(2): p. 171-7.
55. Philandrianos, C., et al., *Comparison of five dermal substitutes in full-thickness skin wound healing in a porcine model*. Burns, 2012. **38**(6): p. 820-9.
56. A. Nomura, Y.U., T. Sakamoto, Y. Ishii, *Increases in collagen type I synthesis in asthma: the role of eosinophils and transforming growth factor- β* . Clinical & Experimental Allergy, June 2002. **32**(6): p. 860-865.
57. Mathes, S.J., *second edition*. **vol. 1**: p. 209-219.
58. De Vries HJ, Z.J., Middelkoop E, Gijbsbers G, Van Marle J, Wildevuur CH, Westerhof W., *Reduced wound contraction and scar formation in punch*

- biopsy wounds. Native collagen dermal substitutes. A clinical study.* Br J Dermatol. , 1995 May. **132**(5): p. 690-7.
59. Ross, M.H. and W. Pawlina, *Histology: A Text and Atlas 6th Edition.*
 60. Yannas, I.V., *Studies on the biological activity of the dermal regeneration template.* Wound Rep Reg, 1998. **6**: p. 518-24.
 61. Murphy GF, O.D., Yannas IV., *Partial dermal regeneration is induced by biodegradable collagen-glycosaminoglycan grafts.* Lab Invest., 1990 Mar. **62**(3): p. 305-13.
 62. Sullivan, T., Smith, J., Kermode, J., McIver, E., and Courtemanche, D. J. , *Rating the burn scar.* . J. Burn Care Rehabil. , 1990: p. 11:256.
 63. JOHN F. BURKE, I.V.Y., WILLIAM C. QUINBY, CONRADO C. BONDOC, WALTER K. JUNG., *Successful Use of a Physiologically Acceptable Artificial Skin in the Treatment of Extensive Burn Injury.* Ann Surg. , Oct 1981. **194**(4): p. 413-28.
 64. Paul P. M. van Zuijlen, A.J.M.v.T., Jos F. P. M. Vloemans, Frits Groenevelt, Robert W. Kreis, Esther Middelkoop., *Graft Survival and Effectiveness of Dermal Substitution in Burns and Reconstructive Surgery in a One-Stage Grafting Model.* Plast Reconstr Surg. , 2000 Sep. **106**(3): p. 615-23.
 65. Trong-Duo Chou, S.-L.C., Tz-Wen Lee, Shyi-Gen Chen, Tian-Yeu Cheng, Chiu-Heng Lee, Tim-Mo Chen, Hsian-Jenn Wang, *Reconstruction of Burn Scar of the Upper Extremities with Artificial Skin.* Plast Reconstr Surg, 2001: p. 108:378.
 66. Ryssel, H., et al., *The use of MatriDerm in early excision and simultaneous autologous skin grafting in burns--a pilot study.* Burns, 2008. **34**(1): p. 93-7.
 67. Butler CE, Y.I., Compton CC, Correia CA, Orgill DP, *Comparison of cultured and uncultured keratinocytes seeded into a collagen-GAG matrix for skin replacements.* Br J Plast Surg, 1999 Mar. **52**(2): p. 127-32.

68. Butler CE, O.D., Yannas IV, Compton CC, *Effect of keratinocyte seeding of collagen-glycosaminoglycan membranes on the regeneration of skin in a porcine model*. *Plast Reconstr Surg*, 1998 May. **101**(6): p. 1572-9.
69. Myers, S.R., et al., *Hyalomatrix: a temporary epidermal barrier, hyaluronan delivery, and neodermis induction system for keratinocyte stem cell therapy*. *Tissue Eng*, 2007. **13**(11): p. 2733-41.

