

LİYOFİLİZE HETEROLOG KOLLAJENİN EPİTELİZASYONA ETKİSİ

Serhat ÖZBEK, Zeynep KAHVECİ, Ramazan KAHVECİ, Mesut ÖZCAN, Şahin SIRMALI

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi AD, BURSA Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, BURSA

ÖZET

Organizmada, değişik etiolojik etkenlerle, parsiyel kalınlıkta deri defekti oluştuğunda bu defekt yalnız başına epitelizasyonla onarılabilmektedir. Epitelizasyon ise, tabandaki ve kenarlardaki sağlam epitel hücrelerinin farklılaşması, çoğalması ve migrasyonu ile başarılabilmektedir. Epitelizasyonu hızlandırdığı gösterilebilmiş en önemli etken, ortamın nemli olmasıdır. Bu çalışmada, ağırlıkları 2,5-3 kg. arasında değişen 20 adet Yeni Zelanda türü tavşan kullanıldı. Tavşanın sırt derisi, tüylerden arındırıldıktan sonra, orta hattın heriki tarafından yaklaşık 5x5 santimetrekarelik parsiyel kalınlıkta deri grefti alınarak, parsiyel kalınlıkta deri defekti oluşturuldu. Oluşturulan bu defektlerin bir tanesine liyofilize heterolog kollajen sünger, diğerine ise tülgre uygulandı ve değişik zamanlarda deri biyopsileri alınarak, histolojik inceleme yapıldı. Sonuç olarak, tülgre ile karşılaştırıldığında, heterolog kollajenin tavşanlarda epitelizasyonu hızlandırdığı izlenimi edinildi.

Anahtar Kelimeler: Epitelizasyon, kollajen.

SUMMARY

The effect of the lyophilized heterologous collagen on the epithelization

In human organism, partial thickness skin defects of various etiology can be repaired by epithelization alone and reepithelization can be achieved with dedifferentiation, mitosis and migration of the intact cells which are located on the base and in the periphery of the defect. The only factor proved to accelerate epithelization is moisture of the medium.

In this study, the effect of lyophilized heterologous collagen sponge on epithelization of the split-thickness skin graft donor sites, in rabbits, was searched. After shaving the hair on the dorsum of twenty rabbits, split-thickness skin graft of approximately 5x5 sq.cm. was harvested, bilaterally. On one side, collagen sponge was used as a dressing, while conventional tulle-grease was preferred on the other side. Skin biopsies from both sides and histological examination have been performed at different intervals. As a result, heterologous collagen seems to accelerate epithelization, in rabbits, when compared with tulle-grease.

Key Words: Epithelization, collagen.

GİRİŞ

Parsiyel kalınlıkta deri grefti donör alanlarında, birinci ve ikinci derece yüzeysel yanıklarda ve dermabrazyon alanlarında oluşan yüzeysel deri defektleri, organizma tarafından epitelizasyonla onarılabilmektedir. Bilindiği gibi epitelizasyon, lezyon kenarlarındaki sağlam epitel hücreleri ve zemindeki ter ve yağ bezlerinin yapısındaki epitel hücrelerinin farklılaşması, çoğalması ve migrasyonu ile sağlanabilmektedir. Epitelizasyon sürecinin hızlandırılması; iş gücü kaybının azalması, immobilizasyon süresinin kısalması, enfeksiyon riskinin azalması, pansuman süresinin kısalması gibi birçok faydalar sağlar. Bu amaçla pek çok araştırma yapılmıştır. Konvansiyonel olarak kullanılan tülgreye karşın Op-site¹, Duoderm², kalsiyum alginat³, scarlet red⁴, kollajen film (cutycol)⁵ gibi birçok pansuman materyali denenmiş ve başarılı sonuçlar yayınlanmıştır.

Ortamın nemli olması durumunda epitelizasyonun hızlandığı kanıtlanabilmiştir⁶. Eksojen oksijenin epitelizasyon hızını arttırdığı savunularak yarı geçirgen pansuman materyallerinin geçirgen olmayanlara göre daha üstün olduğu yolunda yayınlar⁷ ile birlikte geçirgen olmayan pansumanların anjiogenezisi⁸ ve epitelizasyonu hızlandırdığı ve daha az ağrıya yol açtığı⁹ yolunda da yayınlar vardır.

Bağ dokusunun en önemli yapısal proteini kollajendir. Derinin yapısındaki kollajenin önemli kısmı Tip I kollajendir ve bağ dokusunun iskeletini oluşturmaktadır. Bu çalışmada epitelizasyon hızına etkisi araştırılan heterolog kollajen sünger, sığır aşıl tendonundan elde edilmiştir ve liyofilize edilmiş Tip I kollajenden oluşmaktadır (Gelfix[®]).

Bu kollajen süngerin öngörülen etkileri şöyle sıralanabilir:

1) Antijenik etkisiyle nötrofiller ve makrofajlar

üzerinde kemotaktik etki yaparak debrisin erken uzaklaştırılmasını sağlamaktadır^{10,11},

2) Stereometrik yapısı ile onarım işlemi sırasında iskelet görevi yapmaktadır¹⁰,

3) Yapısındaki aminoasitlerin onarım işlemi sırasında ortamda kullanılmasını sağlamaktadır¹⁰,

4) Bağ dokusundaki diğer bir önemli glikoprotein olan fibronektini ortamda fikse etmektedir¹⁰,

5) Büyüme faktörleri ile etkileşerek onarım işlevini hızlandırmaktadır¹⁰,

6) Oksijene karşı geçirgen olma özelliği ile anaerob enfeksiyonların gelişmesini önlemektedir. Ayrıca bakteriler gibi kitle sahibi cisimciklere karşı geçirgen değildir¹⁰,

7) Ortamdaki fazla eksuda ve transudayı emerek bakteriler için uygun, proteinden zengin bir ortam oluşmasına izin vermez¹⁰.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 2-3 aylık, ağırlıkları 2,5-3 kg. arasında değişen, 20 adet Yeni Zelanda türü beyaz tavşan kullanılmıştır. Tavşanlar standart laboratuvar koşullarında, Helsinki Sözleşmesine uygun olarak barındırılmışlardır. Tüm cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından uygulanmıştır.

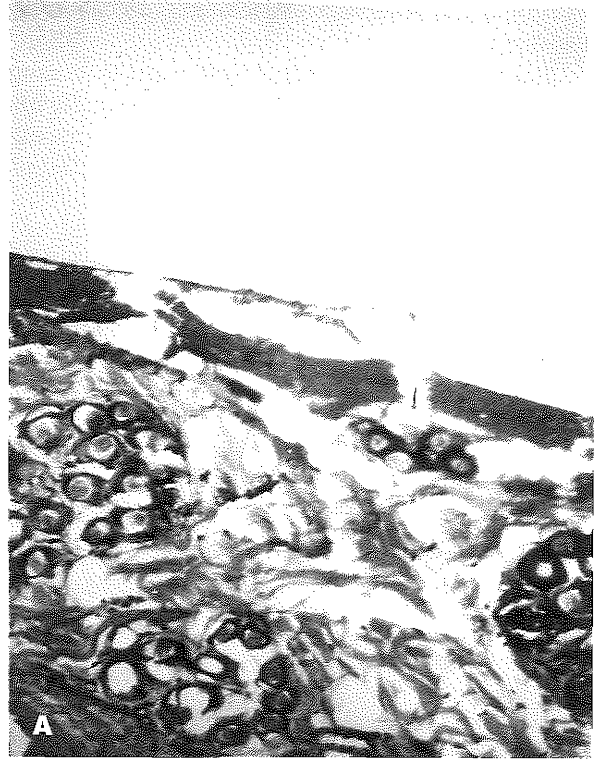
Entübasyonsuz ketamin+rompun anestezisi uygulandıktan sonra, tavşanların sırt derilerinde yaklaşık 20x20 cm.lik bir alan tüylerden arındırılmıştır. Daha sonra betadin solüsyon ile cerrahi temizlik yapılmış ve el dermatomu ile 0,3 mm. kalınlıkta, orta hattın her iki tarafından, yaklaşık 5x5 cm.lik bir alandan parsiyel kalınlıkta deri grefti alınmıştır. Randomize olarak, bir taraftaki donör alana nitrofurazon pomat ile hazırlanan tülgre uygulanırken, diğer tarafa 5x5 cm. boyutlarındaki heterolog kollajen sünger uygulanmıştır. Daha sonra üstleri, serum fizyolojik ile ıslatılmış kare gaz ile kapatıldıktan sonra bunun üzerine bir adet kuru kare gaz konmuş ve kenarlarından skin stapler ile deriye tespit edilmiştir.

Daha önceki çalışmalar göz önüne alınarak, 4., 6. ve 21. günlerde her iki taraftan deri örnekleri alınarak, Hematoksilin-Eozin ve bir kollajen boyası olan Masson-Trikrom ile boyanmış ve mikroskop altında, histolojik olarak incelenmiştir.

SONUÇLAR

4. gün alınan kesitlerde kollajen sünger kullanılan tarafta epitelizasyonun başlamış olduğu, ince bir hat oluşturduğu ve bağ dokusunda hipertrofinin olduğu gözlenmiştir. Epitelizasyon hat oluşturabildiği için kollajen sünger yer yer yüzeyden ayrılmış olarak görülmektedir (Şekil 1a).

Tülgre kullanılan tarafta ise, yer yer bir hat oluşturamamış epitelizasyon odakları gözlenebilmiştir. Yüzeyde, tülgrede bir ayrılma görülmemiştir. Tülgrenin



Şekil 1A: Yer yer hat oluşturan epitelizasyon odakları (okla işaretli) ve bağ dokusunda artış (4. gün) (H&E) (X 512). B: Düzensiz epitelizasyon odakları ve yüzeyde iltihabi hücreler tarafından işgal edilmiş tülgre. Tülgre henüz zeminden ayrılmamış (4. gün) (H&E) (X 512)

iltihabi hücreler tarafından işgal edildiği saptanmıştır (Şekil 1b).

6. gün alınan kesitlerde, kollajen sünger kullanılan tarafta epitelizasyonun tamamlandığı ve birkaç katlı bir hat oluşturduğu gözlenmiştir. Epitel hücrelerinde mitotik aktivite devam etmektedir ve yüzeyde kollajen sünger zeminden ayrılmış olarak görülmektedir (Şekil 2a).

Tülgre kullanılan tarafta ise epitelizasyon hatları henüz oluşmaktadır ve yüzeyde tülgre yer yer ayrılmaya başlamıştır (Şekil 2b).

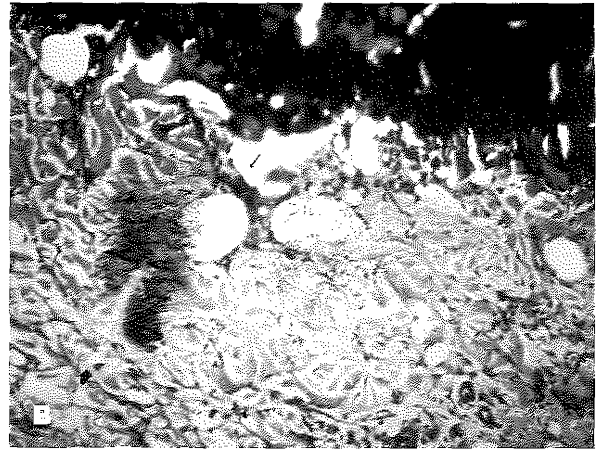
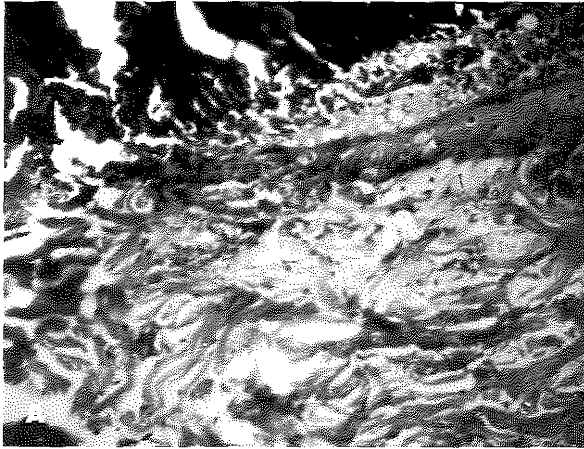
21. gün alınan kesitlerde ise, her iki tarafta da epitelizasyonun tamamlandığı ve arada histolojik olarak bir fark olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3).

Makroskopik olarak da, 6. günde kollajen uygulanan tarafta epitelizasyonun tamamlandığı gözlenebilirken, tülgre uygulanan tarafta tülgrenin henüz zeminden ayrılmadığı saptanmıştır ki, bu bulgu epitelizasyonun tamamlanmadığının göstergesidir (Şekil 4).

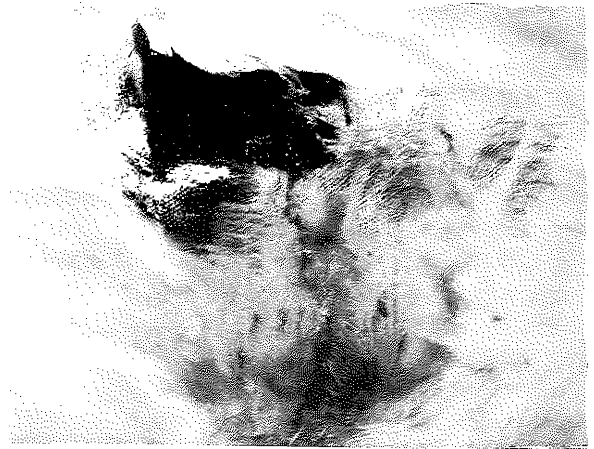
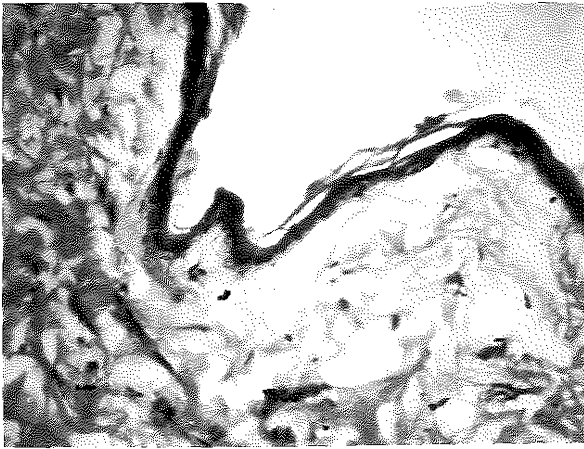
TARTIŞMA

Parsiyel kalınlıktaki deri defektlerinin onarımında, yalnız başına epitelizasyon yeterli olmaktadır. Epitelizasyonun hızlı olmasının sayısız yararları vardır. Derinin sıvı ve ısı kaybını önleme ve böylece homeostazisi sağlama, enfeksiyon ajanları için bir bariyer olma etkilerinin bir an önce yeniden tesis edilebilmesi mümkün olabilirken, diğer yandan da immobilizasyon ve pansuman süreleri kısalarak ekonomik yararlar sağlanabilmektedir.

Epitelizasyonun, defekt etrafındaki ve tabanındaki sağlam epitel hücrelerinin farklılaşması, çoğalması ve migrasyonu ile başarıldığı bilinmektedir. Ortamın nemli olması, yeniden oluşan epitel hücrelerinin ameboid hareketlerle migrasyonunu hızlandırmaktadır⁶. Epitelizasyon hızını arttırdığı savunulan birçok pansuman materyali yayınlanmıştır ve bunlar arasında yarı geçirgen olanların daha etkili olduğu savunulurken geçirgen olmayanların daha etkili olduğunu savunanlar



Şekil 2A: Çok katlı epitel tabakasının oluşmuş hali (okla işaretli) ve üzerinde enflamasyon (6. gün)(H&E) (X 320) **B:** Yeni yeni oluşan epitelizasyon hatları (okla işaretli). Tülgre yüzeyden ayrılmamış (6. gün) (H&E) (X 320)



Şekil 3: Onarımı tamamlanmış çok katlı yassı epitel (21. gün) (H&E) (X 160)

Şekil 4: Makroskopik olarak alt tarafta tamamlanmış epitelizasyon, üst tarafta ise henüz zeminden ayrılmamış olan tülgre görüüyor (6. gün)

da vardır^{7,8,9}.

Bu çalışmada da, tavşanlarda heterolog kollajen süngerin epitelizasyonu, nitrofurazon ile hazırlanmış tülgreyle karşılaştırıldığında, hızlandırdığı gözlenmiştir. Heterolog kollajenin bu etkisi histolojik olarak, epitel hücrelerin daha önce bir hat oluşturması ve daha önce çok katlı hale gelmesi şeklinde gözlenmiştir. Ayrıca kollajen kullanılan tarafta oluşan yeni epitel hücrelerinin mitoz oranlarının tülgre kullanılan tarafa oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Bu hızlandırıcı etkinin muhtemel nedenleri arasında kollajen süngerin yarı geçirgen olması, yapısındaki aminoasitlerin onarım işleminde kullanılabilmesi¹⁰, büyüme faktörleri ve fibronektinle etkileşebilmesi¹⁰, onarım sırasında yeni bağ dokusuna iskelet görevi yapması¹⁰, hücrelerin tutunabileceği bir matriks sağlaması¹² ve antijenik etkisiyle savunma hücreleri üzerinde kemotaktik etki göstererek^{10,11} debrisin erken uzaklaştırılmasını sağlayabilmesi sayılabilir.

Epitelizasyonun hızlanması için ortamda gerekli olan nem miktarının ne kadar olması gerektiği henüz yanıtlanamamış bir sorudur. Aşırı nemli ortam maserasyona yol açarken, az nemli ortam epitelizasyonun hızlı olmasını engelleyebilmektedir¹². Bu çalışmada kullanılan kollajen süngerin yarı geçirgen olması, fazla sıvının buharlaşma yoluyla kaybedilmesine olanak sağlayarak, eksudanın maserasyon etkisini ortadan kaldırmaktadır¹⁰.

Bu çalışmada, pansuman sırasında en alt katta serum fizyolojik ile ıslatılmış kare gaz kullanılmasının amacı, her iki tarafta da nemli bir ortam sağlayarak epitelizasyonun hızlı olmasına katkı sağlamaktır.

Bazı yayınlarda heterolog kollajen süngerin hipertrofik skarları önleyici etkisinin de olduğu ileri sürülmektedir¹⁰. Fakat hipertrofik skar sadece insanlarda görüldüğü için bunu deneysel çalışmada araştırmak çok kolay değildir. Bu konuda klinik çalışma yapılması gerekmektedir.

Dermatom kullanılarak yaratılan kısmi kalınlıktaki cilt defektlerinin homojen olmamasına rağmen, bu çalışmada karşılaştırılan pansuman materyallerinin defektlere randomize olarak yerleştirilmesi nedeniyle, bu heterojenitenin sonuçları etkilemediği düşünülmektedir.

Yara iyileşmesini ve epitelizasyonu güvenli bir şekilde hızlandırabilmek amacıyla değişik kliniklerde, değişik pansuman materyalleri kullanılmaktadır. Bu değişiklik ideal bir materyalin henüz geliştirilememiş olmasından kaynaklanmaktadır. Endüstriyel alanda da sürekli olarak yeni yeni materyaller üretilmektedir. Heterolog kollajen süngerin de bu alternatifler arasında yer alabileceği inancındayız.

Sonuç olarak, bu deneysel çalışmada heterolog kollajen süngerin, tülgre ile karşılaştırıldığında,

tavşanlarda epitelizasyonu hızlandırdığını gözlemledik. Kollajen süngerin epitelizasyonu hızlandırıcı etkisinin mekanizmasını ultrastrüktürel olarak aydınlatılabilmesi için ileri çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.

Dr. Serhat ÖZBEK
Uludağ Üniversitesi
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi AD
Görükle - BURSA

KAYNAKLAR

1. James J.H., Watson, A.C.H. The use of Opsite, a vapour permeable dressing, on skin graft donor sites. Br. J. Plast. Surg. 28:107,1975.
2. Champsaur, A., Amanon R., Nefzi, A. and Marichy, J. Use of DuoDerm on skin graft donor sites: Comparative study with tulle gras. Annales de Chirurgie plastique et Esthetique. 31:273,1986.
3. Attwood, A. I. Calcium alginate dressing accelerates split skin graft donor site healing. Br. J. Plast. Surg. 42:373,1989.
4. Lawrence J.E., Blake, G.B.A. Comparison of calcium alginate and scarlet red dressings in the healing of split thickness skin graft donor sites. Br. J. Plast. Surg. 44:247,1991.
5. Baş, L., Yormuk, E., Uzel, S. Deri grefti alınan donör alanların kapatılmasında kollajen film (cutycol). Türk Plastik Cerrahi Dergisi 1(2):52,1978.
6. Rovec, D.T., Kurowsky, C.A, Labun, J., Downes, A. M. Effect of local wound environment on epidermal healing. In Maibach, A.I. and Rovec, D.T. (Eds.): Epidermal Wound Healing Chicago, Year Book medical Publishers, 1972.
7. Alvarez, O. M., Mertz, P. M., Eaglstein, W. H. The effect of occlusive dressings on collagen synthesis and epithelisation in superficial wounds. J. Surg. Res. 35:142,1983.
8. Pickworth, J. J. , De Sousa, N. Differential wound angiogenesis: Quantitation by immunohistological staining for Factor VIII-related antigen. In Ryan, T.J. (Ed). Beyond occlusion: Wound care proceedings. Royal Society of Medicine International Congress and Symposium Series. No. 136, London, Royal Society of Medicine, p.19,1988.
9. Madden, M.R., Nolan, E., finkelstein J.L., yurt, R.W., Smeland, J., Goodwin, C.W., Hefton, J., Staino-Coico, L. Comparison of an occlusive and a semi-occlusive dressing and the effect of wound exudate upon keratinocyte proliferation. J. Trau. 29:924,1989.
10. Del Guercio, R., Niglio, A., Miranda, R., del guercio, M., Scilliano, G. Terapia topica delle ulcere venose con collagene eterologo. Beghe, F., Mian, M., Palmieri, b., Congresso Collogeno E Cicatrizzazione-Realta e prospettive terapeutiche svotosi a Istanbul 22-25 Marzo 1990.
11. Chang, C., Houch, J.C.: Demonstration of the chemotactic properties of collagen. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 134:22,1970.
12. Chvapil M., Chvapil A., Owen J.A.: Comperative study of four wound dressings on epithelization of partial-thickness wounds in pigs. J. Trau. 27:278,1987.