

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL YANIK MODELİNDE KÜLTÜRE EDİLMEMİŞ HÜCRE
SPREYİ HAZIRLANMASINDA KULLANILAN FARKLI GREFT
BOYUTLARININ TEDAVİ SONUÇLARINA ETKİSİ

Dr. Sermet TERZİ

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2021

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

DENEYSSEL YANIK MODELİNDE KÜLTÜRE EDİLMEMİŞ HÜCRE
SPREYİ HAZIRLANMASINDA KULLANILAN FARKLI GREFT
BOYUTLARININ TEDAVİ SONUÇLARINA ETKİSİ

Dr. Sermet TERZİ

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali KONAN

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini özveriyle aktaran başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ali KONAN'a ve Sayın Hocalarım; Prof. Dr. Volkan KAYNAROĞLU, Prof. Dr. Ataç BAYKAL, Prof. Dr. Mehmet Bülent TIRNAKSIZ Prof. Dr. Kaya YORGANCI, Prof. Dr. Yusuf Alper KILIÇ, Prof. Dr. Derya KARAKOÇ, Doç. Dr. Ahmet Bülent DOĞRUL, Doç. Dr. Nezih AKKAPULU, Öğr. Üye. Dr. Timuçin EROL Öğr. Gör. Dr. Anıl DİNÇER ve Öğr. Gör. Dr. Ömer CENNET'e ve her daim beraber olduğum asistan arkadaşlarıma, tüm hemşire ve personelimize saygı ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mutlu HAYRAN'a, histopatolojik incelemeleri yapan Doç. Dr. Kemal KÖSEMEHMETOĞLU'na, uzun eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen Uzm. Dr. Safa Kürşat NURAL'a, deneyin her aşamasında bana yardımcı olan sevgili Dr. Busenur KIRIMTAY'ya ve ayrıca bugünlere gelmemde yardımını esirgemeyen aileme ve sevgili eşim Leyla'ya sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Sermet TERZİ

ÖZET

TERZİ S. Deneysel yanık modelinde kültüre edilmemiş hücre spreyi hazırlanmasında kullanılan farklı greft boyutlarının tedavi sonuçlarına etkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi olarak hazırlanmıştır. Ankara, 2021.

Derin yanıkların cerrahi tedavisinde günümüzde kısmi kalınlıkta otogreft standart tedavi olarak kullanılmaktadır. Yakın zamanda kültüre edilmemiş otolog hücrelerinin yanık tedavisinde deri grefti uygulaması kadar etkili olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmada kültüre edilmemiş hücre spreyi ile tedavi edilecek derin ikinci derece yanıklarda, ideal donör/yanık alanı oranını belirlemek amaçlandı.

Çalışmada toplam yirmi dört adet Wistar-albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Bunlar her birinde 8 adet sıçan içeren A, B ve C olarak 3 gruba ayrıldı. Her hayvanın dorsal kısmında her birinin boyutu 2 cm² olan iki farklı derin ikinci derece yanık alanı oluşturuldu. Deneyin beşinci gününde yanık alanına planlanan işlemler uygulandı. A grubundaki hayvanların ilk yanık alanına herhangi bir tedavi uygulanmadı (birinci grup), ikinci yanık alanına sadece debridman (tanjansiyel eksizyon) uygulandı (ikinci grup). Sırasıyla 2 cm², 1 cm², 0.5 cm² ve 0.25 cm² alanlardan alınan greften hazırlanan otolog hücre spreyi B grubunun birinci ve ikinci yanık alanına ve C grubunun birinci ve ikinci yanık alanına sırasıyla uygulandı.

Tedaviye yanıt işlemin on dördüncü gününde değerlendirildi; tüm denekler sakrifiye edildi ve yara bölgeleri makroskopik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Makroskopik olarak nekroz yüzdesi hesaplandı. Histopatolojik olarak ülser boyutu (mm) ve inflamasyon (skor 0-3) değerlendirildi.

Nekroz yüzdesi, ülser boyutu ve inflamasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı en iyi sonuçlar yanık alanına göre 1:2 oranında küçültülmüş donör alan kullanılan grupta gözlendi ($p=0.007$, $p=0.041$, $p=0.043$).

Yanıkların kültüre edilmemiş otolog hücre spreji ile tedavisinde donör alanının daha da küçültülmesi ve insanlarda standart yöntem olan otogreftte alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Derin ikinci derece yanık, keratinosit süspansiyonu, otolog hücre, kültüre edilmemiş hücre spreji

Abstract

TERZİ S. The effect of the different sized grafts used in the preparation of autologous non-cultured cell spray on the treatment outcomes in experimental burn model. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in General Surgery, Ankara 2021.


A split-thickness autograft is the standard treatment of choice in the surgical management of deep burns. Recently non-cultured autologous cells have shown to be as effective as split-thickness autografts in the surgical treatment of second degree burns. In this study, it was aimed to determine the optimal ratio of donor/burn area in the treatment of deep second degree burns with non-cultured cell spray method.

Twenty four Wistar-albino male rats were enrolled in the study; the rats were divided into three groups (A, B, and C). Two different areas of second degree burn, each with the size of 2 cm² were created on the dorsal skin of each rat. On the fifth day of the experiment intended approach was implemented. The first burn area in group A (first group) was left untreated, the second burn area in group A (second group) underwent a tangential excision procedure. Autologous cell spray obtained from 2 cm², 1 cm², 0.5 cm², and 0.25 cm² inguinal donor area sites was applied to the first and second burn areas in group B and the first and second burn areas in group B group C, respectively. Response to the treatment was evaluated on the fourteenth day after the procedure; rats were sacrificed, and wound areas were examined both macroscopically and histopathologically. The percentage of necrosis was assessed macroscopically by a direct observational method. Histopathologic examination included the assessment of ulcer size (mm) and inflammatory response (score: 0-3).

Results of necrosis percentage, ulcer size and inflammatory response compared to the untreated group were all statistically significantly better in the group with a donor /burn area ratio of 1:2 ($p=0.007$, $p=0.041$, $p=0.043$).

Further studies are needed to assess the suitability and effectiveness of this method as an alternative to split-thickness otografting in humans and evaluate the possibility of further reduction in the donor site area.

Keywords: second degree burn, keratinocyte suspension, autologous cell, non-cultured cell spray



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiii
RESİMLER	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. Giriş	1
1.2. Amaç	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yanık yaralanmalarının sıklığı ve sağlık hizmeti sistemindeki yeri	3
2.2. Deri Anatomisi	4
2.2.1. Epidermis	5
2.2.2. Dermoepidermal bileşke	6
2.2.3. Dermis	7
2.2.4. Hipodermis (subkütan yağ doku)	7
2.3. Yanık şiddetinin değerlendirilmesi	7
2.4. Yanığın fizyopatolojisi	10
2.4.1. Lokal doku yanıtı	10
2.4.2. Sistemik yanıt	11

2.4.2.1. Dolaşım sistemi değişiklikleri	11
2.4.2.2. Solunum sistemi değişiklikleri	12
2.4.2.3. Metabolik deęişiklikler	12
2.4.2.4. İmmünolojik yanıt değişiklikleri	12
2.5. Yanık hastasına yaklaşım	12
2.5.1. Yanık merkezine sevk kriterleri	13
2.5.2. Yanık hastasında sıvı replasmanı	13
2.5.3. Yanık hastasında yara bakımı	14
2.5.4. Yanık hastasında beslenme	15
2.6. Yanık hastalarında cerrahi	15
2.6.1. Eskaratomi	15
2.6.2. Eksizyon	16
2.6.3. Yanık yarasının kapatılması	17
2.7. Yanık yarasının iyileşmesi	17
2.8. Yanık yarasının kapatılmasında güncel yaklaşımlar	19
2.8.1. Dermal analoglar	19
2.8.2. Epidermis Analogları	20
2.8.2.1. Kültüre edilmiş hücre otogreftleri	20
2.8.2.2. Kültüre edilmemiş hücre otogreftleri	21
2.9. Deri bankası	21
4. GEREÇ VE YÖNTEM	22
5. BULGULAR	32
6. TARTIŞMA	41
7. SONUÇLAR	45

8. KAYNAKLAR



KISALTMALAR

dk	:dakika
cm	:sentimetre
mm	:millimetre
kg	:kilogram
mL	:millilitre
mg	:milligram
SD	:standart sapma
HPF	:yüksek büyütme alanı

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1. Derinin katmanları.	4
2. Epidermisin katmanları.	6
3. Yanığın derecesine göre etkilenen deri katmanları.	9
4. Sıçanların gruplara göre dağılımı.	23
5. Deney hayvanları gruplarında nekroz alanını (%) gösteren box plot analizi.	33
6. Deney gruplarında ülser boyutunu gösteren box plot analizi.	34
7. Deney gruplarında inflamasyon skorunu gösteren box plot analizi.	35
8. Makroskopik nekroz yüzdesi ile ülsere boyutu arasındaki ilişki grafiği.	40

TABLULAR

Tablo	Sayfa
1. Yanık şiddetinin sınıflandırılması.	8
2. Histolojik skora sistemi.	35
3. Deneklerin inflamasyon skorları.	36



RESİMLER

Resim	Sayfa
1. Yanıkta oluşan üç hasar bölgeleri.	11
2. Sıçanların dorsal kısmında alüminyum plaka ile yanık oluşturulduktan sonraki görünümü.	24
3. Yanık yarası oluşturulduktan 5 gün sonra işleme alınmadan önceki yanık bölgelerinin görünümü.	25
4. A grubundan bir denek. Üst taraftaki yanık alanı tedavisiz takip edilmiş, alttaki yanık alanına tanjansiyel eksizyon şeklinde debridman uygulanmış.	26
5. Deri greftinin alındığı sıçanların sağ inguinal bölgesinin görünümü.	27
6. Küçük parçalara bölünen deri grefti 40 dk Dispase II solüsyonunda bekletildi.	28
7. Doğrudan gözlemlerle makroskopik değerlendirilmenin yapıldığı tedavisiz grup.	30
8. Doğrudan gözlemlerle makroskopik değerlendirilmenin yapıldığı ½ oranında küçültülmüş hücre spreysel grubu.	30
9. Deneklerde oluşan yanık homojen değildir.	33
10. İşlem sonrası 14. gün birinci gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.	37
11. İşlem sonrası 14. gün ikinci gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.	37
12. İşlem sonrası 14. gün üçüncü gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.	38
13. İşlem sonrası 14. gün dördüncü gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.	38

- 14.** İşlem sonrası 14. gün beşinci gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü. 39
- 15.** İşlem sonrası 14. gün altıncı gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü. 39



1. GİRİŞ ve AMAÇ

1.1. Giriş

Yanık ısı, soğuk, elektrik, radyasyon veya kostik kimyasallar tarafından oluşan akut tahrip sonucu deri veya diğer organik dokuların travmatik yaralanması olarak tanımlanır. Yanık yaralanmalarında tedavi yaklaşımını belirleyen başlıca faktörlerden biri yanık şiddetidir (1). Günümüzde derin yanık yaralarının tedavisinde kabul gören standart yaklaşım yanık yarasının eksizyonu sonrası tam ya da kısmi kalınlıkta deri otogrefti ile kapatılmasıdır (2,3). Ancak vücut yüzey alanının büyük kısmının etkilendiği majör yanıklarda donör alanının kısıtlı olması ve donör alanlarında gelişen enfeksiyon veya kötü kozmetik sonuçlar hastanede yatış süresini artırmakta, tedavi maliyetini ve hasta memnuniyetini olumsuz etkilemektedir. Bir süredir tedavide kültüre edilmiş epidermal hücreler kullanılmasına rağmen, kültür süresini bekleme ve buna bağlı tedavi süresinin uzaması, invitro hücre kültürü elde edilme sürecinde görülen progenitor hücre ve epidermal kök hücre kaybı ve buna sekonder hücrelerin erken diferansiyasyonu gibi dezavantajlar yeni tedaviler arayışının devam etmesine neden olmuştur (4). Kültüre edilmemiş otolog hücre sprey yönteminin ortaya çıkması ile birlikte kültür bekleme sürecine son verilmiştir. Ayrıca burada invitro hücre kültürü elde edilme işlemi uygulanmadığından, bu yöntem kültüre edilmiş epidermal otogreft yöntemine kıyasla hem zaman kazandırıcı hem de maddi açıdan da daha uygundur (5). Bu avantajlar kültüre edilmemiş epidermal otogreft yönteminin derin yanık tedavisinde kullanımını giderek popülerleştirmektedir. Literatürde otogreft hücrelerinin elde edildiği donör alan ile tedavi edilen alan oranının küçültülmesi yönünde yapılan ve hem fonksiyonel hem de kozmetik açıdan kabuledilebilir sonuçlar gözlemlenen çalışmalar mevcuttur (6,7). Otogreft hücrelerinin elde edileceği donör alanının daha

da küçültülmesi, diğer deyimle daha geniş yanıkların daha küçük donör alandan elde edilen otolog hücre grefti ile onarılabılır olması bu yöntemi daha da avantajlı kılacak, donör alan komplikasyonlarını azaltacak, tedavi maliyeti ve hastanede yatış süresini kısaltmış olup hasta memnuniyetini artıracaktır.

1.2. Amaç

Yakın zamanda bölümümüzde oluşturulan deneysel hayvan modelinde kültüre edilmemiş otolog hücrelerinin yanık tedavisinde kısmi kalınlıkta konvansiyonel otogreft uygulaması kadar etkili olduğu gösterilmiştir (8). Ancak bu çalışmada kültüre edilmemiş hücreler yanık alanına eşit ölçüde sağlıklı donör alanından elde edilmiştir. Bu çalışma baz alınarak, derin ikinci derece yanıkların tedavisinde kültüre edilmemiş hücre spreji kullanımında ideal donör/yanık alanı oranının saptanması amaçlandı.

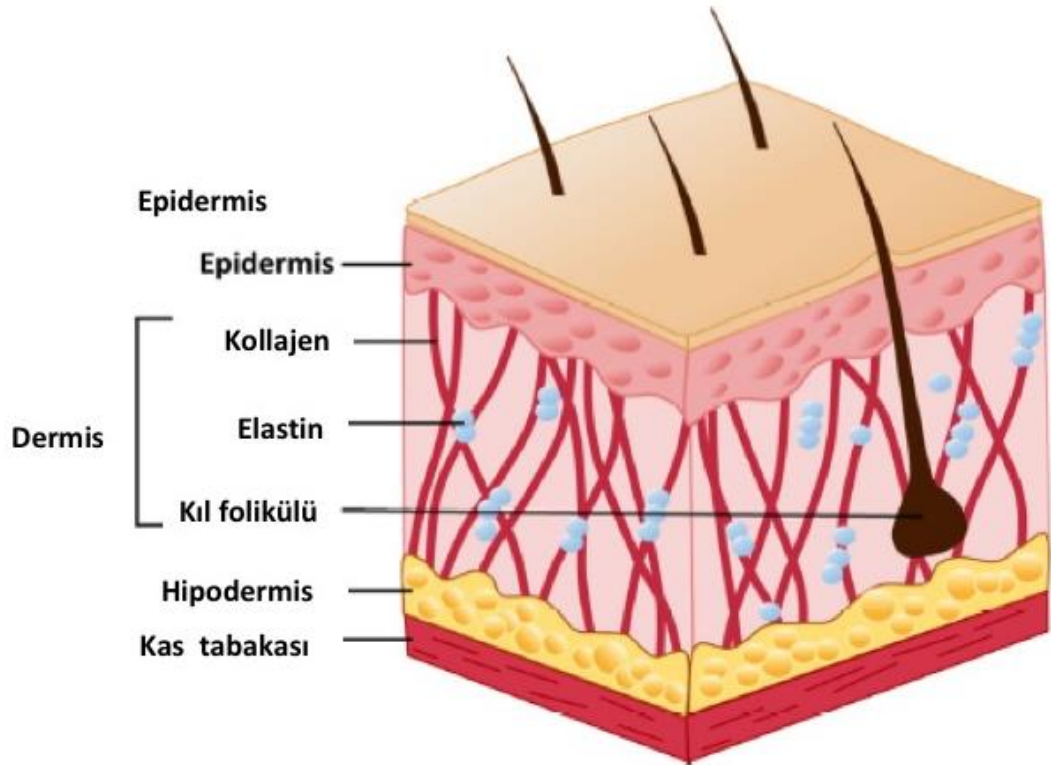
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yanık yaralanmalarının sıklığı ve sağlık hizmeti sisteminde yeri

Dünyada bir yılda yaklaşık 11 milyon kişi yanık nedeniyle sağlık kuruluşlarına başvurmaktadır. Bu verilerle yanık dünyada insan immün yetmezlik virüsü ve tüberküloz hastalığı vakalarının toplamının sıklığını aşmakta, tüm malignite vaka sayılarının ise biraz altında yer almaktadır (9). Dünya sağlık örgütünün 2018 verilerine göre dünyada her yıl yaklaşık 180 bin kişi yanık nedeniyle hayatını kaybetmektedir (10,11). Bu hastalarda mortalite oranları yanık şiddeti ile korele olarak artmaktadır (1). Bunun yanı sıra, yanığın türünün, hastanın ileri yaşta olması ve inhalasyon hasarının var olmasının, ek travmanın eşlik etmesi, enfeksiyon varlığı ve takip sırasında akut böbrek yetmezliğinin gelişmesinin mortaliteyi artıran faktörler olduğu da önceki çalışmalarda gösterilmiştir (12). Tüm dünyadaki veriler incelendiğinde ölümlerin neredeyse %95'inin yanıkların insidansının ve şiddetinin azaltılması için gerekli alt yapıların olmadığı, düşük ya da orta gelirli ülkelerde meydana geldiği gözlemlenmiştir (10,11). Yanık yaralanmaları önlenabilir olması, yüksek mortalite ve morbidite oranları ile sonuçlanması ve tedavi maliyetinin yüksek olması nedeniyle Türkiye ve dünya ülkeleri için önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Yatarak tedavi gören bir yanık hastasının maliyeti ülkelere göre değişiklik göstermekte olup, dünya genelinde yaklaşık 76000 dolar civarındadır (13). Türkiye'de vücut yüzey alanının %15'inin üstünde ikinci ve üçüncü derece yanığı olan bir hastanın tedavisi için ortalama 15200 dolar harcanmaktadır (14).

2.2. Deri Anatomisi:

Deri komplike bir organ olup vücut yüzeyini sararak mukozal membranlar ile devamlılık göstermektedir. Vücut ağırlığının yaklaşık %15'ini oluşturmakta olup, insan vücudunun en büyük organıdır. Deri çok sayıda farklı özelliklere sahip epitel, bağ dokusu, kas ve sinir yapılarından oluşarak, klasik olarak üç histolojik tabakaya (epidermis, dermis ve hipodermis) ayrılmaktadır. Epidermis ektodermden köken alırken, dermis ve hipodermis mezodermden köken almaktadır. Bu üç tabaka kalınlıkları, hücre içerikleri ve birçok özellikleri açısından vücudun farklı bölgelerine göre değişiklik göstermektedir (15).



Şekil 1. Derinin katmanları (16).

2.2.1. Epidermis

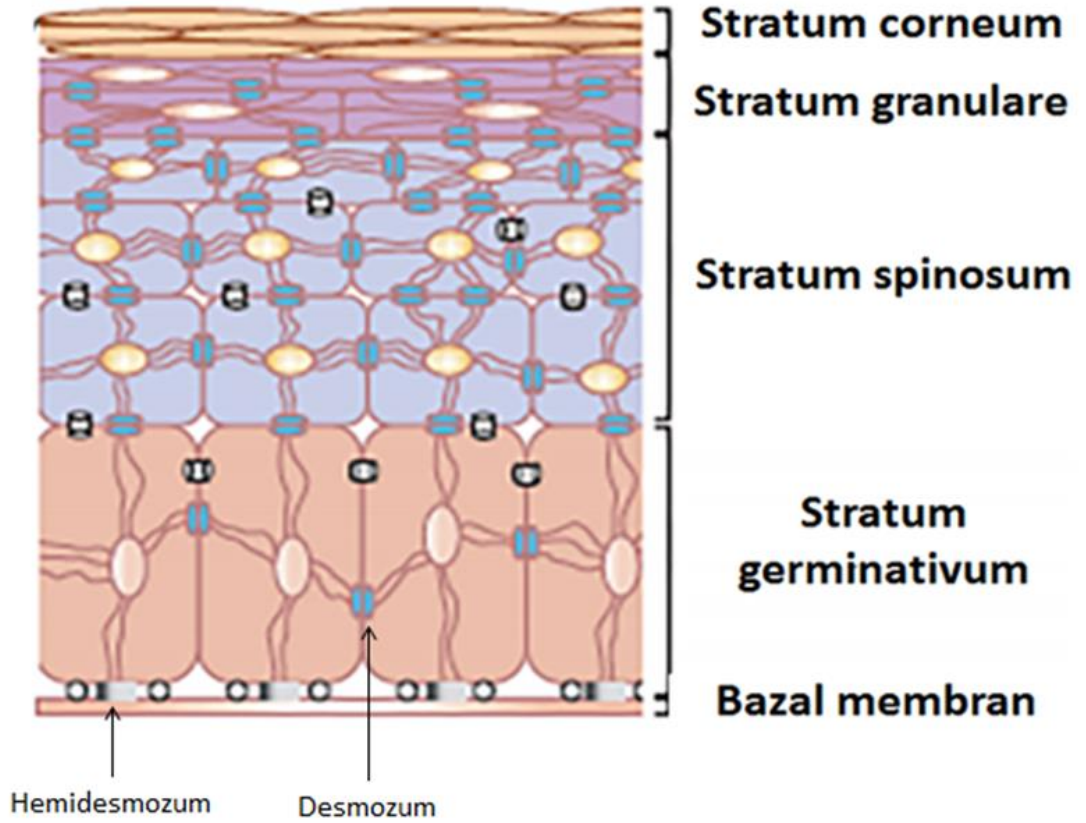
Epidermis sürekli yenilenme süreci içinde olan 4 tabakalı epitelden oluşmaktadır. Epidermis hücrelerinin büyük çoğunluğu, keratinosit ve dendritik hücrelerden oluşmasına rağmen epidermiste aynı zamanda pigmentasyon ve UV ışınlarından korumayı sağlayan melanositler, immünolojik fonksiyonları olan langerhans hücreleri ve dokunma duyusu için reseptör görevi gören Merckel hücreleri gibi hücreler de bulunmaktadır. Epidermisin ana hücreleri olan keratinositlerin olgunlaşma süreci dört evrede olmaktadır; bu dört evreye göre epidermis derinden yüzeye doğru dört tabakaya ayrılmaktadır (Şekil 2):

1-Bazal tabaka (stratum germinativum): Mitotik aktivite ve proliferasyonun gerçekleştiği ve diğer katmanların oluşmasını sağlayan tabakadır. Bu tabakada aynı zamanda melanosit hücreleri ve Merckel hücreleri bulunmaktadır.

2-Dikensi tabaka (stratum spinosum): Epidermisin en geniş katmanını oluşturmakta olup, bu tabakada keratinositler desmozomlar sayesinde birbirlerine tutunur ve deriye mekanik ve fiziksel strese karşı dayanıklılık sağlarlar. Langerhans hücreleri de bu katmanda bulunmaktadır.

3-Granüler tabaka (stratum granulare): Keratinositler bu tabakada nükleus içeriğini kaybeder ve sitoplazmasında keratohyalin granülleri oluşur. Langerhans hücreleri bu katmanda da bulunur.

4-Stratum corneum: Burada keratinositler canlılığını kaybederek bu katmana adını veren korneosit denilen yassı hücreleri oluşturur (17).



Şekil 2. Epidermis katmanları (18).

2.2.2. Dermoepidermal bileşke

Dermis ve epidermis arasında bu iki katman arasında bağlantıyı sağlayan, yarı geçirgen özelliği sayesinde hücre ve sıvı alışverişine izin veren bazal lamina tabakası bulunur. Bu tabakanın da ana hücreleri keratinositlerdir, daha az oranda fibroblastlar da bu tabakada görev alır. Bazal lamina tabakası epidermisteki bazal hücreler tarafından sentezlenir. Bu tabakada tip 4 kollajen başta olmak üzere bağlayıcı fibriller ve dermal mikrofibriller gibi fibröz yapılar bulunur. Bazal hücrelerin plazma membranları bu bazal laminaya hemidesmozomlar vasıtasıyla bağlanır ve deriye yırtılma ve gerilme kuvvetlerine karşı dayanıklılık sağlar (17).

2.2.3. Dermis

Dermis epidermis ile hipodermis arasında yerleşir. Papiller dermis ve retiküler dermis olarak iki tabakadan oluşmaktadır. Dayanıklılığı artırmak amaçlı dermis dermal papillalar ile epidermis içine parmaksı çıkıntılar yapmaktadır. Dermis başlıca kollajen, elastik ve retiküler fibriller olmak üzere bağ dokusundan oluşmaktadır. Vasküler yapılar ve sinirler de bu katmanda bulunur. Deri direncinden sorumlu ana yapı kollajen olup elastik lifler ise derinin elastikiyetini sağlamaktadır (19).

2.2.4. Hipodermis (subkütan yağ doku)

Hipodermis dermisin altında bulunur ve başlıca yağ hücrelerinden oluşur. Soğuğa karşı yalıtım, travmaya karşı yastık etkisi ve aynı zamanda bir endokrin organ olarak görev görmektedir (19).

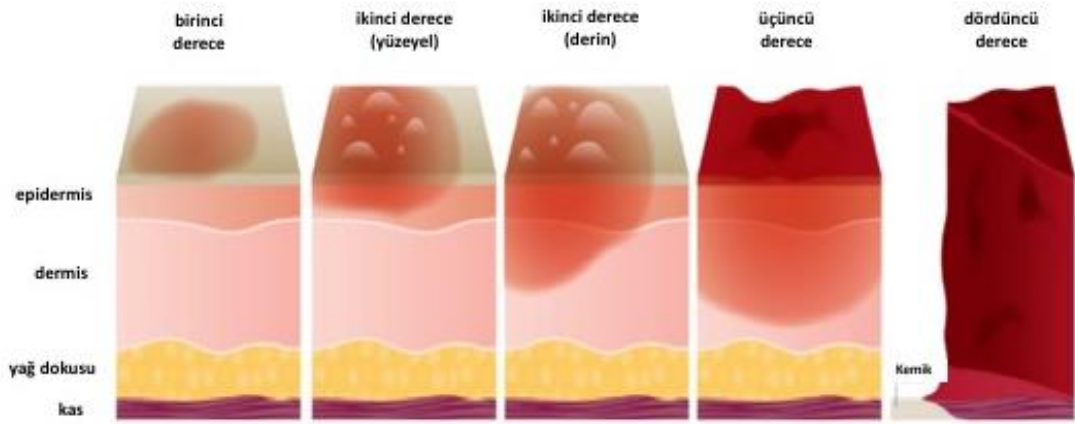
2.3. Yanık şiddetinin değerlendirilmesi

Yanığın şiddeti etkilenen vücut yüzey alanı, yanığın derinliği ve etkilenen vücut bölgelerine göre değişmektedir. Vücut yüzey alanı hesaplanması için klinik pratikte yaygın olarak dokuzlar kuralı kullanılmaktadır. Çocuklarda ise etkilenen vücut yüzey alanının hesaplanması için altın standart olarak Lund ve Brawder diagramı kullanılmaktadır (20).

Yanığın derinliği etkilenen deri katmanlarına göre değişmekte olup, dört sınıfta incelenmektedir (21,22) (Tablo 1).

Tablo 1. Yanık şiddetinin sınıflandırılması.

Birinci derece yanık	Sadece epidermis etkilenmiş olup klinik olarak kızarıklık ile prezente olmaktadır
Yüzeyel ikinci derece yanık	Yüzeyel ikinci derece yanıkta dermis tabakasının etkilenmesi ile birlikte yanık sadece papiler dermise lokalizedir. Klinik olarak kendini bül formasyonu ile gösterebilir ve oldukça ağrılıdır. Cerrahi tedavi gerektirmeden çoğu zaman kendiliğinden iyileşmektedir.
Derin ikinci derece yanık	Dermisin retiküler tabakası da etkilenmiş olup, klinik olarak yine bül formasyonu ve ağrı ile prezente olmaktadır. İyileşmesi için genellikle cerrahi müdahale gerekmektedir.
Üçüncü derece yanık	Derinin tüm katmanları etkilenmiş olup vasküler yapılarda tromboz mevcuttur. Klinik olarak deri sert, kuru, koyu renkte ve ağrısızdır.
Dördüncü derece yanık	Cilt altındaki kas, tendon, yağ ve kemikler de etkilenmiş olup, klinik olarak kömürleşme izlenmektedir.



Şekil 3: Yanığın derecesine göre etkilenen deri katmanları (23).

El, ayak yüz, kulak, göz ve genital bölge etkilenmesi durumunda, hastaların yanık merkezlerinde değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu parametrelere göre yanıklar majör, orta ve minör yanıklar olarak üç grupta sınıflandırılır (21,22):

Minör yanıklar:

- Erişkinlerde %15 veya daha az ikinci derece yanıklar
- Çocukta %10 veya daha az ikinci derece yanıklar
- Erişkin veya çocukta %2 veya daha az üçüncü derece yanıklar

Orta yanıklar:

- Erişkinlerde %15–25 arası ikinci derece yanıklar
- Çocukta %10–20 arası ikinci derece yanıklar
- Erişkin veya çocukta %2–10 arası üçüncü derece yanıklar

Majör yanıklar:

- Erişkinlerde %25'den fazla ikinci derece yanıklar
- Çocukta %20'den fazla ikinci derece yanıklar
- Erişkinde veya çocukta %10'dan fazla üçüncü derece yanıklar

- İnhalasyon ve elektrik yanıkları
- Kafa, abdomen veya toraks yaralanması ve kırık gibi travmaların eşlik ettiği ya da ciddi yandaş hastalıkların eşlik ettiği yanıklar
- Göz, kulak, yüz, el, ayak ve genital bölge yanıkları

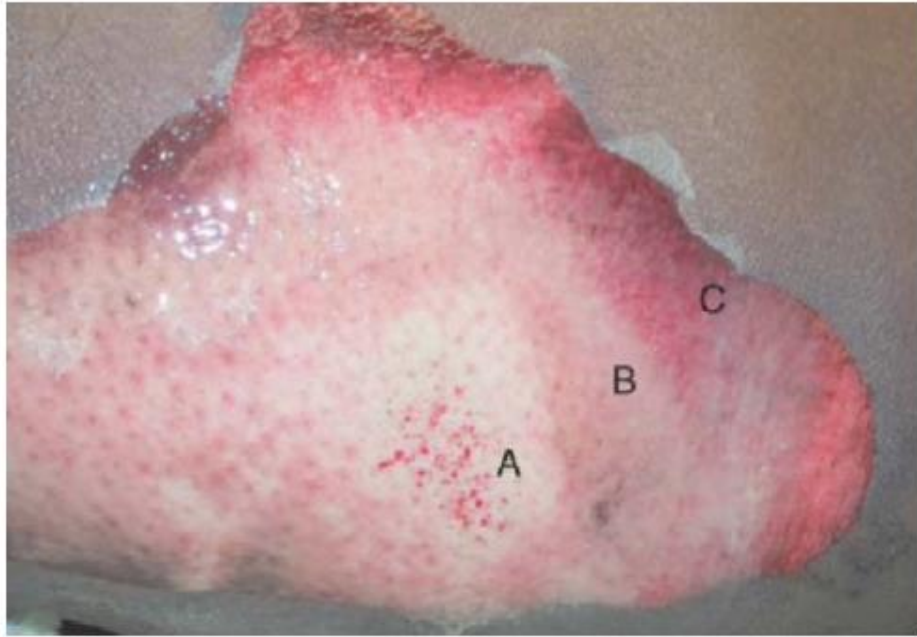
2.4. Yanığın fizyopatolojisi

Yanık lokal ve sistemik yanıtı neden olmaktadır.

2.4.1. Lokal doku yanıtı

Termal hasar dokuda lokal bir doku yanıtına neden olarak üç farklı hasar bölgesi oluşturmaktadır (Resim 1.) (24):

- Koagülasyon (nekroz) bölgesi: Termal hasarın en yoğun olduğu bölgede oluşmaktadır. Yapısal proteinlerin koagülasyonuna bağlı kalıcı doku kaybı söz konusudur.
- Staz bölgesi: Koagülasyon bölgesinin çevresinde yer alır, azalmış doku perfüzyonu mevcut olmasına rağmen hasar geri döndürülebilir niteliktedir. Yanık hastalarının resüsitasyonu sırasında bu bölgedeki dokuların kalıcı kaybını engellemek amaçlanır. Uzamış hipotansiyon, enfeksiyon ve ödem gibi faktörler bu bölgenin perfüzyonunu azaltarak hasarın kalıcı hale gelmesine neden olabilmektedir.
- Hiperemi bölgesi: Staz bölgesinin çevresindeki alandır. Bu alanda vazodilatasyon ve permeabilitenin artmasına sekonder perfüzyon artmıştır. Uzamış hipoperfüzyon ve ciddi sepsis kliniği olmadıkça bu bölge kendiliğinden iyileşir.



A : Koagulasyon bölgesi

B : Staz bölgesi

C : Hiperemi bölgesi

Resim 1: Yanıkta oluşan üç hasar bölgesi (25).

2.4.2. Sistemik yanıt

Yanık alanı vücut yüzey alanının %30'unu geçtiğinde yanık bölgesinden salgılanan sitokin ve inflamatuvar mediyatörler çeşitli sistemik etkilere neden olmaktadır (24).

2.4.2.1. Dolaşım sistemi değişiklikleri

Yanık hastalarında kapiller permeabilite artışı meydana gelerek, damar içindeki sıvı ve proteinlerin intertisyel aralığa kaçışına neden olmaktadır. Ayrıca, bu

hastalarda splanknik ve periferik vazokonstruksiyon gelişmekte ve TNF salınımına bağlı olarak miyokard kontraktilesi azalmaktadır. Bu etkilerin toplamı vücutta hipotansiyon ve organların hipoperfüzyonuna yol açmaktadır.

2.4.2.2. Solunum sistemi değişiklikleri

Salınan mediyatörlerin bronkokonstruksiyona yol açması nedeniyle, ciddi yanık hastalarında Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu gelişebilmektedir.

2.4.2.3. Metabolik deđişiklikler

Yanık hastalarında bazal metabolizma hızı üç katına yükselmektedir. Splanknik hipoperfüzyon da göz önünde bulundurulduğunda bu hastalarda sindirim sisteminin bütünlüğünü korumak için erken enteral beslenme başlanması gerekir.

2.4.2.4. İmmünolojik yanıt değişiklikleri

Yanık hastalarında hem hücre sel hem de hü moral savunma yanıtında azalma meydana gelir.

2.5. Yanık hastasına yaklaşım

Yanık hastası sağlık kuruluşuna başvurduğunda yanığın bir travma yaranlanması olduğu unutulmamalı ve her travma hastası gibi yaklaşımda ilk olarak hastanın hava yolu açıklığı, solunum ve dolaşımından emin olunmalıdır. Kaza ile ilgili anamnez alındıktan sonra genel fizik muayene yapılmalıdır. Ardından yanık şiddetinin tespiti yapılır ve buna göre ayaktan tedavi ya da yanık merkezine sevkine karar verilir. Yanık merkezine sevk edilmesi gereken hastaların belirlenmesinde American Burn

Association tarafından yanık hastası için belirlenen sevk kriterleri yaygın olarak kullanılmaktadır (26).

2.5.1. Yanık merkezine sevk kriterleri

Aşağıdaki durumlarda yanık hastalarının yanık merkezine sevk edilmesi gerekmektedir.

1. Vücut yüzey alanının %10'undan fazlasını etkileyen birinci ve ikinci derece yanıklar
2. Yüz, el, ayak, genityalya veya perineyi etkileyen yanıklar veya herhangi bir majör yanık
3. Herhangi bir yaşta üçüncü veya dördüncü dereceden yanık
4. Elektrik yanıkları
5. Kimyasal yanıklar
6. İnhalasyon yanıkları
7. Medikal ek hastalıkları olan yanık hastaları
8. Yanığa ek olarak kırık gibi ek travmaların eşlik ettiği yanık hastaları
9. Çocuk yanık hastası bakımında uzman personelin olmadığı kuruluşlara başvuran çocuk yanık hastaları
10. Özel sosyal, ruhsal ve rehabilitasyon tedavisi gerektiren yanık hastaları

2.5.2. Yanık hastasında sıvı replasmanı

Yanık hastası yanık merkezine kabul edildikten sonra tetanoz proflakisi yapıldığından emin olunmalıdır. Rutin laboratuvar tetkikleri yapıldıktan sonra sıvı resusitasyonu ve yara bakımı tedavisine başlanmalıdır.

Erişkin hastalarda vücut yüzey alanının %20, çocuklarda ise %10'un üstündeki yanık hastalarında sıvı tedavisi başlanması önerilir. İlk 24 saatlik süre için sıvı tercihinin Ringer laktat olması önerilmektedir. Verilecek sıvı miktarının kararlaştırmasında birçok formül bulunmasına rağmen en yaygın olarak kullanılan:

- Erişkin hastalarda Parkland formülü: $4 \text{ mL/kg/ \% yanan vücut yüzey alanı}$
- Çocuk hastalarda ise Galveston formülü: $2000 \text{ mL/m}^2 \text{ vücut yüzeyi} + 5000 \text{ mL/m}^2 \text{ yanan vücut yüzey alanı}$

Bu hesaplanan sıvı miktarının yarısı ilk 8 saatte diğer yarısı ise sonraki 16 saatte verilir. Elektrik yanıkları inhalasyon yanığı ve alkolik hastalar ve eşlik eden ek travması olan hastaların daha fazla miktrada sıvıya ihtiyaçları olabileceği unutulmamalıdır. Sıvı tedavisinin etkinliğini takip etmek için hastalarda idrar çıkışı izlenmelidir. Erişkinlerde hedef idrar çıkışı miktarı 30-50ml/saat iken çocuklarda ise 1-2ml/kg/saat altında olmamalıdır (1,22).

2.5.3. Yanık hastasında yara bakımı

Sıvı tedavisine başladıktan sonra yara bakımına başlanılabilir. İlk aşamada yara oda sıcaklığındaki steril su ya da izotonik sıvılarla yapışan yabancı cisim ve nekrotik dokuların temizlenmesi amaçlı yıkanır. Bu amaçla chlorhexidine glukonate sabunu da kullanılabilir. Ardından yara pansumanına geçilir. Yara pansumanında üç amaç vardır: eksuda drenajının absorpsiyonu, yaranın çevreden korunup izolasyonu ve ağrının azaltılması. Pansuman sıklığı drenajın miktarına, pansumanın durumuna, ve kullanılan pansuman malzemesine göre değişkenlik göstermekte olup, genellikle günde iki kez ile haftada bir kez arasında değişmektedir (27).

2.5.4. Yanık hastasında beslenme

Yanık hastalarında bazal metabolizma hızı yanığın şiddetine göre değişmekle birlikte %200'e kadar artabilir ve hastalarda çeşitli hayati sonuçlara yol açmaktadır. Bu hastalarda aşırı kilo kaybı, bağışıklığın zayıflaması ve yara iyileşmesinde gecikme meydana gelebilir (28). Bu yüzden yanık hastası stabil olur olmaz hemen beslenmeye başlanmalı, eğer mümkünse enteral yol tercih edilmelidir. Yapılan bir çalışmada enteral beslenen hastaların parenteral beslenen hastalara kıyasla mortalite ve enfeksiyon oranlarında anlamlı bir şekilde düşüklük gösterilmiştir (29).

2.6. Yanık hastalarında cerrahi

Cerrahi, yanık yaralanmalarına olan multidisipliner yaklaşımda kilit rol oynamaktadır. Yanık yarasına yönelik cerrahi tedaviler indikasyonu olan hastalarda eskarotomi yapılması ardından, yanık yarasının eksizyonu ve en son olarak yanık yarasının kapatılmasına yönelik işlemler olarak sıralanabilir. Yanık tedavisinde erken eksizyon ve greftleme yöntemlerinin kullanılmaya başlanması ile birlikte yanık hastalarının morbidite ve mortalite oranlarında ciddi düşüşler görülmeye başlandı (30).

2.6.1. Eskarotomi

Herhangi bir vücut alanı (özellikle parmaklar, ekstremiteler, boyun, abdomen ve göğüs) çevresel olarak yanıktan etkilendiğinde o vücut alanı artmış doku ödeminden kaynaklanan artmış interstisyel basınca maruz kalır. Artmış basınca sekonder olarak önce venöz dönüş azalır. Bunu arteriyel akımın azalması takip eder ki, bu da ilgili vücut bölgesinin iskemisine neden olur. Ekstremitelerde olduğunda saatler içinde kas ve sinir dokularının harabiyetine, hatta amputasyona bile yol açabilir. Abdomende ise

azalmış kan akımına sekonder olarak bağırsak, karaciğer ve böbrek gibi organların yetmezliğine neden olur. Bu olumsuz durumların engellenmesi için çevresel olan ciddi yanık hastalarında eskarotomi yapılarak intertsiyel basınç azaltılır ve dokuların perfüzyonu sağlanmaya çalışılır (31).

2.6.2. Eksizyon

Yanık yarasının derin yanık olduğu saptandıktan sonra hiç gecikmeden yaranın eksizyonu yapılmalıdır. Üçüncü derece, derin ikinci derece ve üç hafta içinde kendi kendine iyileşmesi beklenmeyen derin yanık yaralanmalarında yapılan çalışmalarda, erken eksizyon ve greftlemenin non-operatif takibe göre daha iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Erken eksizyon ve greftleme yapılan vakaların hastanede yatış süresi daha az, tedavi maliyeti ve hipertrofik skar gelişim riski daha düşüktür; ayrıca bu hastalarda daha az iş gücü kaybı yaşanmaktadır (30). Günümüzde yaygın olarak iki çeşit eksizyon tekniği kullanılmaktadır:

a. Tanjansiyel eksizyon: Bu teknikte altta sağlıklı doku görünene kadar yanık yarası ince tabakalar halinde eksize edilir. Günümüzde yanık yarasının eksizyonunda standart yöntem olarak kullanılmaktadır. Fasyal eksizyona göre daha az ağrı görüldüğü, hastanede yatış süresinin daha kısa olduğu ve rekonstrüksiyon için gereken işlemlerin daha az olduğu gösterilmiştir.

b. Fasyal eksizyon: Bu teknikte etkilenen cilt ile birlikte tüm subkutan dokular en-blok eksize edilir. Bu tekniğin en önemli özelliği daha az kan kaybına neden olmasıdır.

2.6.3. Yanık yarasının kapatılması

Yanık yarasına standart yaklaşım eksizyon sonrası otogreft kullanımudur. Otogreftler kalınlıklarına göre sınıflandırılır (32):

a. Tam kalınlıkta deri grefti: Epidermis ile birlikte dermisin tüm katlarını içerir. Genellikle inguinal, flank ya da postaurikular bölgeden alınır, oluşan defekt çoğu zaman primer olarak kapatılır. Tam kalınlıkta deri grefti genellikle el ve yüzdeki yanık alanlarını kapatmak için kullanılır.

b. Kısmi kalınlıkta deri grefti: Epidermis ile birlikte dermisin bir kısmını içerir, daha yaygın olarak kullanılan greftleme şeklidir. Dermisin tamamı alınmadığından donör saha spontan iyileşir. Genelde daha geniş yanık alanlarını greftlemek için kullanılmaktadır.

2.7. Yanık yarasının iyileşmesi

Yanık yarasının iyileşmesi yanığın derinliğine göre değişiklik göstermektedir. Birinci derece ve yüzeysel ikinci derece yanıklarda yara iyileşmesi hızlıdır; kıl folikülleri, ter ve yağ hücreleri gibi deri eklerinin farklılaşmasıyla bazal membran oluşarak epitelizasyon kısa sürede sağlanmaktadır. Daha derin yanıklarda bu deri eklerinin ve dermisin de harabiyeti sonucu hemen epitelizasyon sağlanamaz ve yara iyileşmesi skar formasyonu ve kontraksiyon gibi daha komplike süreçlerle sonuçlanır.

Yanıkta yara iyileşmesi aşağıda bahsedilen üç mekanizma ile olmaktadır:

a. Re-epitelizasyon: birinci ve yüzeysel ikinci derece yanıklarda iyileşme şeklidir. Kalan epitel hücreleri ve deri eklerindeki keratinositlerin göçü ve farklılaşması ile epidermis tabakaları oluşur. Güneş yanığı gibi birinci derece yanıklarda bazal tabaka keratinositleri hasar görmemiştir ve bunların farklılaşmasıyla

yeni epidermis tabakası 3-4 gün gibi kısa bir süre içinde oluşur. Yüzeysel ikinci derece yanıklarda ise, hasar dermise kadar ilerlemiş olup, tüm epidermis katmanlarının yara kenarındaki keratinositlerden ve deri eklerinden (kıl folikülü, yağ ve ter bezleri) yeniden oluşması gerekmektedir.

Keratinositlerin göçü için birkaç uyarıcı mekanizma mevcuttur. Bazal tabakadaki hücre-hücre bağlantısının kaybı keratinosit göçünü uyarır. Ayrıca yanık yarasından salgılanan büyüme faktörleri de keratinosit göçünü sağlar; bu büyüme faktörlerin en önemlileri epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF-alfa) ve keratinosit büyüme faktörüdür (KGF). Bir mekanizma ise keratinositlerin yanık yarasında fazla miktarda bulunan fibrin, fibronektin ve tip 1 kollajen gibi proteinlerle teması ile göç etmesi için uyarılmasıdır. Göç eden keratinositler yara yüzeyini kapladığında yeni bazal membran ve onun da farklılaşmasıyla epidermis katmanları oluşur (33).

b. Skar formasyonu: dermisin de etkilendiği daha derin yanıklarda olan yara iyileşme çeşididir; burada amaç dokuya kuvvetini de kazandıran dermis tabakasını oluşturmaktır. Skar formasyonu inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon olmak üzere üç fazda gerçekleşir. İnflamasyon fazında yaradan salgılanan çeşitli kemotaktik faktörlerin etkisiyle inflamatuvar hücreler yarada yoğunlaşır. İlk gelen hücre nötrofiller olsa da inflamasyon evresinin esas hücreleri makrofajlardır. İnflamasyon evresindeki amaç dokuda mevcut olan mikroorganizma ve yabancı cisimlerin temizlenerek yara iyileşmesine uygun zemin hazırlamaktır. Fibroblast hücrelerinin yaraya gelmesi ile birlikte proliferasyon evresi başlar. Bu evrede fibroblastlar başlıca kollajen olmak üzere bağ dokusu elemanlarını üretir, bununla da yaraya gerim kuvvetini sağlayan ekstrasellüler matriks oluşumu gerçekleşir. Aynı zamanda yeni damar oluşumu da

(anjiogenezis) bu evrede gerçekleşir. Son evre olan maturasyon evresinde ise bir yandan kollajen sentezi devam ederken başlıca lizil oksidaz enzimi olmak üzere proteaz aktivitesi ile yanlış yerde biriken ya da fazla üretilen kollajen yıkımı gerçekleşerek skar dokusunun organizasyonu sağlanır (33).

c. Kontraksiyon: Son iyileşme türü olan kontraksiyonda, yara boyutunda mekanik bir küçülme sağlanır. Bu tür iyileşme şekli kemirgenlerde çok yaygın olarak izlenir. İnsanda özellikle derinin gevşek olduğu vücut bölgelerinde görülmektedir. Buradaki amaç yaranın boyutunda hızlı bir mekanik küçülme sağlanırken yaranın geri kalan kısmının re-epitelizasyon ve skar formasyonu ile iyileşmesini hızlandırmaktır (33).

2.8. Yanık yarasının kapatılmasında güncel yaklaşımlar

2.8.1. Dermal analoglar

Normal deriye esneklik, elastisite ve kuvvet özelliklerini dermis tabkası sağlamaktadır. Derin yanıklarda eksizyon sonrası dermis tabakasının büyük kısmı yok edilmiş oluyor. Bu da iyileşme sonrasında oluşan derinin normal deri özelliklerinden yoksun kalmasına neden oluyor. İntegra (Integra LifeSciences, Plainsboro, New Jersey) gibi dermal analoglar kullanılarak derinin bu istenen özellikleri geri kazanılabilir (30).

İntegra (Integra LifeSciences, Plainsboro, New Jersey) iki tabakadan oluşan bir yapay dermis analogudur. İlk tabakası sığır kollajeni ile çapraz bağlanmış köpek balığı glikozaminoglikanından oluşmaktadır. Yeni oluşan dermis için çatı vazifesi görür. İkinci tabaka ise silikondan oluşmaktadır, bu tabaka sıvı kaybını önler ve zararlı mikroorganizmaların kolonizasyonuna karşı bariyer vazifesi görür (34). Derin yanıklarda yara eksizyonunu takiben İntegra (Integra LifeSciences, Plainsboro, New

Jersey) iki tabaka şeklinde yaraya uygulanır. Üç hafta sonrasında silikon tabaka çıkarılır ve yeni oluşan dermis üzerine ince bir tabaka kısmi kalınlıkta deri grefti uygulanır (35).

2.8.2. Epidermis Analogları

Epidermis analoglarına örnek olarak kültüre edilmiş ve edilmemiş hücre otogreftleri gösterilebilir.

2.8.2.1. Kültüre edilmiş hücre otogreftleri

Güncel cerrahi tekniklerin ilerlemesiyle birlikte yanık hastalarının mortalitesinde ciddi azalmalar görülmesine rağmen vücut yüzey alanının %70'inden fazlasını etkileyen yanıklarda mortalite oranları hala yüksek seyretmektedir. Geniş yanıklarda başlıca sorun sağlıklı donör alanlarının kısıtlılığı nedeniyle yanık alanlarının otogreft ile kapatılması için sürenin uzun olması ve bu süreçte hastada sepsis gelişme riskinin olmasıdır (36).

Geniş alanların etkilendiği majör yanıklarda kültüre edilmiş hücre greftleri iyi bir tedavi seçeneği olabilir (30). Bu greftleri hazırlamak için 2x6 cm yanık olmayan alandan tam kat deri biyopsisi alınır, dispaz ve tripsin enzimleri ile muamele edilerek keratinosit hücreleri izole edilir. Keratinosit hücreleri fare fibroblastları içeren kültür vasatına yatırılır, yaklaşık 3 hafta kültür vasatında bekledikten sonra 2-8 keratinosit hücre tabakaları greftlemek için hazırlanmış olur (30).

1996'da Munster ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kültüre edilmiş hücre otogrefti kullanılan hastalarda mortalitenin azaldığı gösterilmiştir (37). Barret ve arkadaşlarının %90 yanık alanı olan çocuklarda kültüre edilmiş hücre otogrefti ile

normal otogreft uygulamasını karşılaştırmıştır. Kültüre edilmiş hücre otogreft uygulanan grupta daha iyi kozmetik sonuçlar elde edilmesine rağmen, bu hastalarda daha yüksek tedavi maliyeti ve daha uzun hastanede yatış süresi gözlemlenmiştir (38).

2.8.2.2. Kültüre edilmemiş hücre otogreftleri

Geniş yanıklardaki standart kısmi kalınlıkta otogreft uygulanması için donör alanının kısıtlı olması ve kültüre edilmiş hücre otogreft yöntemindeki sürenin uzun olması nedeniyle majör yanık hastalarında ideal tedavi arayışı devam etmiştir. Son zamanlarda kültüre edilmemiş hücre otogreft yöntemi giderek popüler hale gelmektedir. Bu yöntemde yanık olmayan bölgeden alınan deri greftinde önce dispaz II enzimi ile dermis-epidermis bağlantısı koparılıyor, ardından tripsin ile muamele edilerek keratinosit hücreleri elde edilerek sprey haline getirilip tanjansiyel eksizyon yapılan bölgeye püskürtülmektedir (7). Bu yöntem ile ilgili yayınların çoğu olgu sunumları şeklinde olmasına rağmen yapılan çalışmalarda bu yöntemin standart deri otogrefti ve kültüre edilmiş hücre grefti yöntemlerine alternatif olabilecek kadar oldukça etkili bir yöntem olduğu gösterilmiştir (8).

2.9. Deri bankası

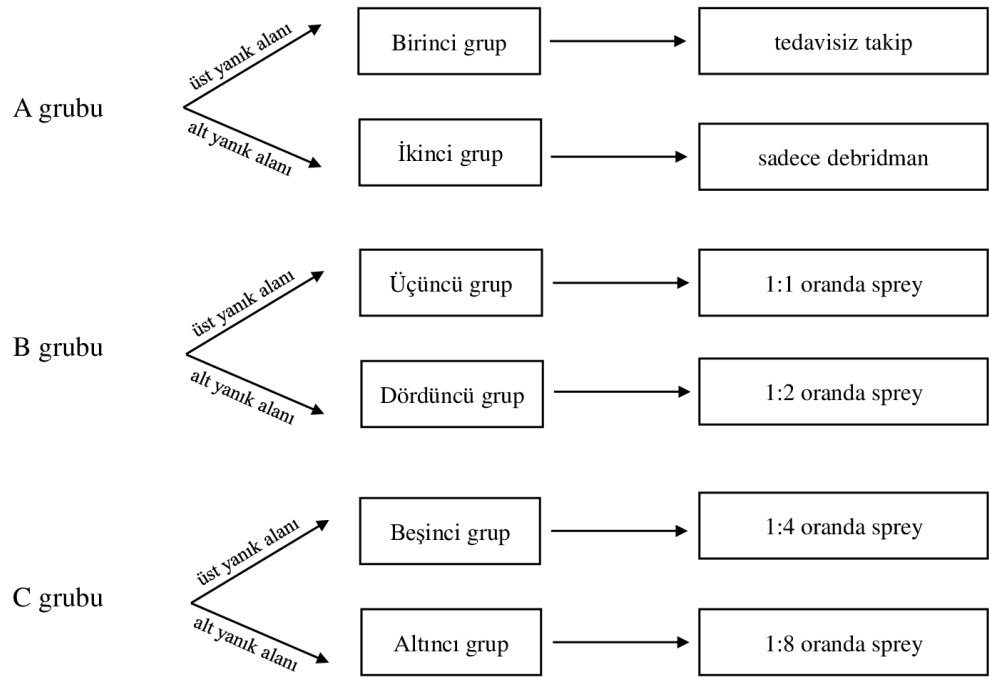
Donör alanının kısıtlı olduğu geniş yanıklarda, otogreft için uygun donör alanı temin edilene kadar yanık alanının geçici olarak kapatılması için allojenik deri kullanılabilir. Geniş yanıklarda görülen immunsupresyon nedeniyle erken dönemde doku rejeksiyonu olmamaktadır. Bu yöntemin kullanılmasıyla yanığa bağlı sıvı elektrolit ve protein kaybı azalmakta, daha az ağrı, daha hızlı re-epitelizasyon ve otogreft uygulanması için daha uygun ortam sağlanmaktadır (30).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 23/02/2021 tarih, 2021/12 kayıt numaralı ve 52338575-23 sayılı kararı ile onaylanmıştır. Çalışmanın deney aşaması Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı.

Bu çalışma için ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen toplam 24 adet Wistar-albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Bunlar, rastgele her birinde 8 adet sıçan içeren A, B ve C olarak 3 gruba ayrıldı. Her deneğin dorsal derisinde iki adet 2 cm² boyutunda yanık alanı oluşturuldu. Sonuç olarak farklı işlemler uygulanacak toplamda 6 yanık alanı grubu oluşturuldu. Yanık alanının deneklerin sırtında oluşturulmasının nedeni, hayvanın yara bölgesine ulaşmasını engellemek ve böylece hayvanın kendisinin yara bölgesini kaşıyarak veya kemirerek daha ileri yaralanmalar oluşturmasını engellemektir. Ayrıca sırt bölgesindeki deride daha az kontraksiyon izlenmektedir (39-41).

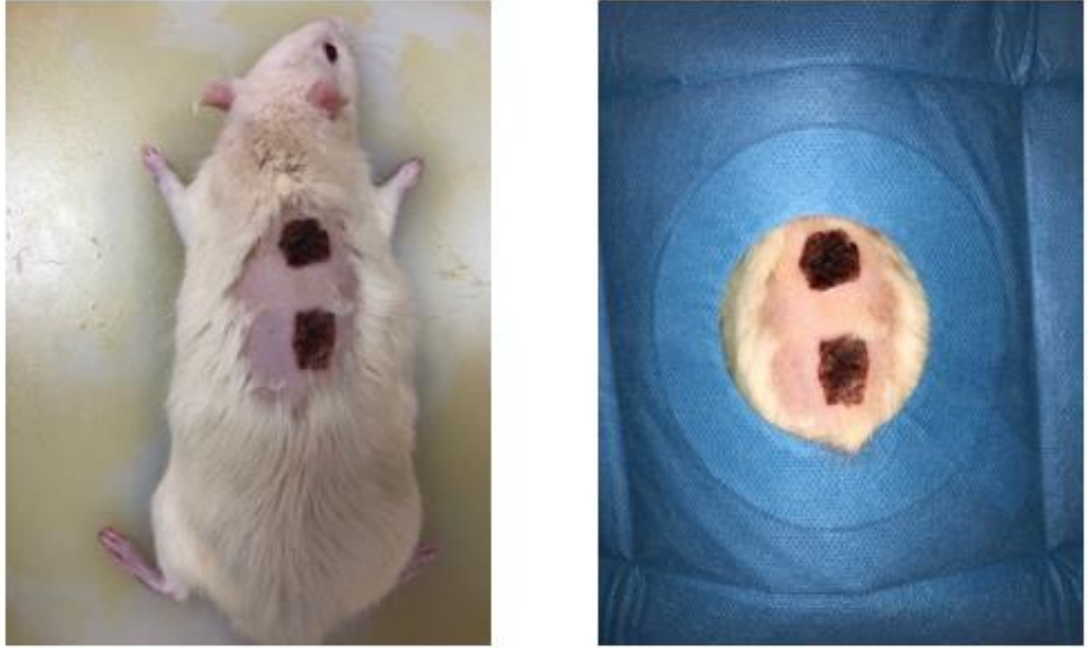
A grubundaki hayvanların ilk yanık alanına (birinci grup) herhangi bir tedavi uygulanmadı, ikinci yanık alanına (ikinci grup) ise sadece debridman uygulandı. B grubundaki hayvanların ilk yanık alanına (üçüncü grup) 2 cm² alandan hazırlanan, ikinci yanık alanına (dördüncü grup) ise 1 cm² alandan elde edilen hücre spreyi uygulandı. C grubundaki hayvanların ilk yanık alanına (beşinci grup) 0.5 cm² alandan hazırlanan, ikinci yanık alanına (altıncı grup) ise 0.25 cm² alandan elde edilen hücre spreyi uygulandı. Böylece, üçüncü grupta donör/tedavi edilen yanık alanı oranı 1:1, dördüncü grupta 1:2, beşinci grupta 1:4, altıncı grupta ise 1:8 oranda oldu. Sıçanların gruplara göre dağılımı Şekil 4'te özetlenmiştir.



Şekil 4. Sıçanların gruplara göre dağılımı.

Hayvanların deneyde kullanılmadan 10 gün önce tek tek kafeslerde su kısıtlaması olmadan, standart yem ile beslenip ortam koşullarına uyum göstermesi sağlandı. Sabit ısıda, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık ortamda barındırıldı.

Deney öncesi sıçanlar 90 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg Xylazine HCl (Alfazyne® %2, 20 mg/ml, 30 ml, Alfasan İnt B V. Hollanda) karışımının intraperitoneal uygulanmasıyla uyutuldu. Termometre kontrollü 100°C'ye ısıtılmış su içerisine 2 cm² yüzey genişliğine sahip 51 gram ağırlığında alüminyum plaka bırakıldı, su ısısı tekrar 100°C olana kadar plaka suda bekletildi. Anestezi almış sıçanların dorsal derisi traş edildikten sonra, sıçanların dorsal kısmında 15 saniye plakanın kendi ağırlığı ile temas sonucu iki adet 2 cm² büyüklüğünde derin ikinci derece yanık oluşturuldu (Resim 2). Hemen sonrasında analjezi için metamizol sodyum (Onpyron®, Onfarma, Samsun) 40 mg/kg dorsal



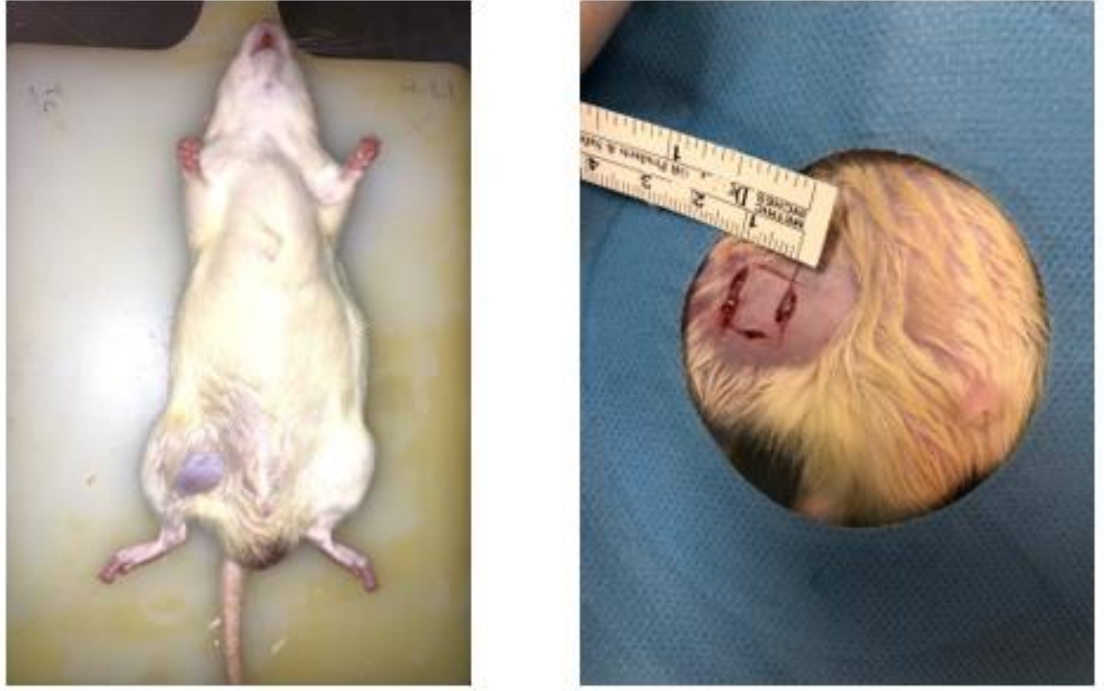
Resim 3. Yanık yarası oluşturulduktan 5 gün sonra işleme alınmadan önceki yanık bölgelerinin görünümü.

İşlemden önce denekler 90 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg Xylazine HCl (Alfazyne® %2, 20 mg/ml, 30 ml, Alfasan İnt B V. Hollanda) karışımının intraperitoneal uygulanmasıyla uyutuldu. A grupdaki deneklerin ilk yanık alanına (birinci grup) herhangi bir tedavi uygulanmadı. İkinci yanık alanına ise (ikinci grup) klorheksidin (Dermanios Scrub®, Anios) ile dezenfekte edildikten sonra el dermatomu ile (Wecprep™ Blades, Pilling Weck Surgical, PA, USA) tanjansiyel eksizyon şeklinde debridman yapıldı (Resim 4).



Resim 4. A grubundan bir denek. Üst taraftaki yanık alanı tedavisiz takip edilmiş, alttaki yanık alanına tanjansiyel eksizyon şeklinde debridman uygulanmış.

Zhai Q ve ark. kısmi kalınlıkta deri grefti için sıçan modellerinde inguinal bölgenin kullanılmasını önermektedir. Buna göre tarafımızca donör deri grefti için deneklerin sağ inguinal bölgesi kullanıldı (42). Uygun anestezi sonrası B ve C grubundaki deney hayvanların donör bölgesi klorheksidin (Dermanios Scrub®, Anios) ile dezenfekte edildi ve bistüri yardımı ile iki adet sağlam deri grefti alındı (Resim 5). B grubundaki deneklerden alınan deri grefti biri 2cm² (üçüncü grup), diğeri ise 1cm² (dördüncü grup) ölçüde olacak şekilde alındı. C grubundaki deneklerden birinden 0.5cm² (beşinci grup), diğersinden ise 0.25cm² (altıncı grup) ölçüde olacak şekilde deri greftleri alındı.



Resim 5. Deri greftinin alındığı sıçanların sağ inguinal bölgesinin görünümü.

B ve C gruplarındaki deneklerden alınan deri greftleri steril kaplara alındı ve küçük parçalara bölündü. Spesmenin dermis-epidermis bağlantısı ayrılana kadar, önceden 37°C'ye ısıtılmış dispase-II (Dispase II Neutral Protease, NC, USA) solüsyonunda 40 dakika (dk) bekletildi (Resim 6).



Resim 6. Küçük parçalara bölünen deri grefti 40 dk Dispase II solüsyonunda bekletildi.

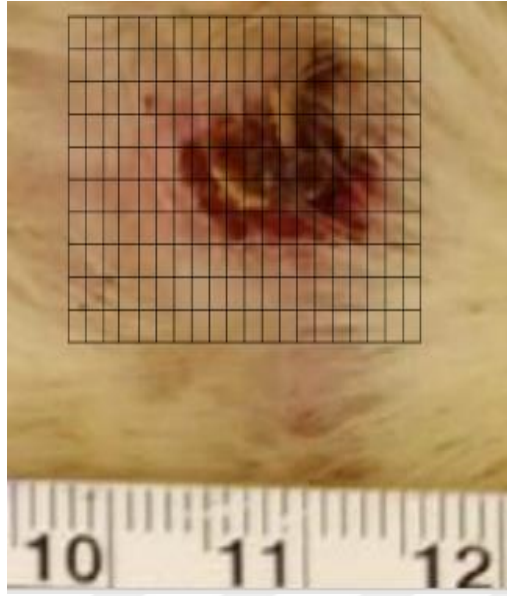
Daha sonra örnekler enzimin uzaklaştırılması amaçlı Ringer laktat solüsyonuna alındı. Ayrı bir kaba alınarak epidermis ve dermis bistüri ve penset yardımıyla mekanik olarak ayrıldı. Epidermis alınarak Tripsin/EDTA (Trypsin EDTA Solution C %0.05/0.02, Biological Industries, USA) solüsyonu içeren tüpte ara ara sallanarak 15 dk bekletildi. Daha sonra yine enzimi uzaklaştırmak amaçlı Ringer laktat solüsyonu ile spesmen yıkandı. Ringer laktat solüsyonu ile yıkanan hücre süspansiyonu 70 mikrometre hücre süzgecinden (70uM Cell Strainer, Orange Scientific, Belgium) geçirildi. Rejeneratif bazal keratinosit içeren bu süspansiyon Ringer laktat eklenerek 200 g hızla 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün üst kısmında kalan Ringer laktat enjektör yardımıyla atıldı. Tüpte çökelti halinde kalan rejeneratif bazal

keratinosit içeren süspansiyona tekrar Ringer laktat solüsyonu eklendi ve böylece kültüre edilmemiş hücre spreyi hazırlanmış oldu.

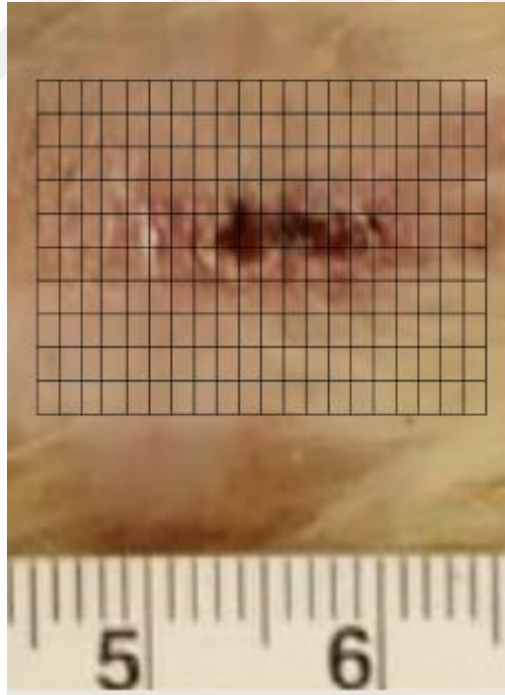
B grubundaki deneklerin yanık alanları klorheksidin (Dermanios Scrub®, Anios) ile dezenfekte edildikten sonra el dermatomu ile (Wecprep™ Blades, Pilling Weck Surgical, PA, USA) ile tanjansiyel eksizyon şeklinde debridman yapıldı. 22 G siyah renkli iğne ucu takılı enjektörle sırasıyla 2cm² (üçüncü grup) ve 1cm² donör alanından (dördüncü grup) elde edilen kültüre edilmemiş hücre solüsyonu tanjansiyel eksizyon yapılan yanık yarasına yaklaşık 5 cm uzaklıktan püskürtüldü.

C grubundaki deneklerin yanık alanları klorheksidin (Dermanios Scrub®, Anios) ile dezenfekte edildikten sonra el dermatomu ile (Wecprep™ Blades, Pilling Weck Surgical, PA, USA) ile tanjansiyel eksizyon şeklinde debridman yapıldı. 22 G siyah renkli iğne ucu takılı enjektörle sırasıyla 0.5cm² (beşinci grup) ve 0.25cm² donör alanından (altıncı grup) elde edilen kültüre edilmemiş hücre solüsyonu tanjansiyel eksizyon yapılan yanık yarasına yaklaşık 5 cm uzaklıktan püskürtüldü.

Tüm denekler işlem sonrası ayrı ayrı kafeslere alındı. İşlem sonrası petrolatum emdirilmiş steril gazlı bezle pansuman şeklinde rutin yara bakımına devam edildi. Her üç gruptaki denekler tedavi uygulanmasının 14. gününde yüksek doz anestezik ajanla sakrifiye edilerek her iki yanık sahasından ve sağlam deriden biyopsi alındı. Sakrifikasyondan sonra tüm denekler doğrudan gözlem yöntemi ile makroskopik olarak değerlendirildi ve fotoğraflar çekildi. Tüm gruplarda yara iyileşmesi, nekrotik alan milimetrik çizimler yapılarak değerlendirildi. Her karenin yarısından fazlasında iyileşme bulgusu saptandıysa 1, nekroz görüldüyse 0 olarak skorlandı. Toplam kare sayısına göre makroskopik iyileşme yüzdesi belirlendi (Resim 7 ve 8).



Resim 7. Doğrudan gözlemlenilen makroskopik değerlendirme için kullanılan tedavi edilmiş grup.



Resim 8. Doğrudan gözlemlenilen makroskopik değerlendirme için kullanılan 1/2 oranında kültürlü hücre spreysel grubu.

Eksizyonel biyopsi örnekleri yanık alanların uzun aksına paralel olarak alındı. Formol ile tespit edilip parafin bloklara gömüldü. Daha sonra 5 mm kalınlığında bölümler alınarak hematoxilen-eosin ile boyandı. Histopatolojik açıdan ışık mikroskobu altında incelendi. Dokular yara iyileşmesi bulguları (epitelize olmayan alan ve inflamasyon) açısından semi-kantitatif olarak değerlendirildi. İnflamasyon açısından 0-3 arasında bir puan verilerek histolojik olarak skorlandı.

İstatistiksel Analiz

Genelleştirilmiş tahmin denklemleri (Generalized Estimating Equations) modellenmesi kullanılarak grup içi ve gruplar arası faktörler tanımlanmış, tedavisiz gruba karşı kesitsel ülser boyutu, inflamasyon skoru ve makroskopik nekroz yüzdesi değişkenlerindeki değişimin anlamlılığı analiz edilmiştir. Bu denklemlerde ülser boyutu ve nekroz yüzdesi değişkenleri sayısal, inflamasyon değişkeni ise ordinal yapıda modellenmiştir. Nekroz yüzdesi ile ülser boyutu arasındaki korelasyon da Spearman bağıntı analizi kullanılarak incelenmiştir. P-değerinin 0.05'in altında olan durumlar istatistiksel olarak anlamlı, 0.05-0.10 arasındaki durumlar istatistiksel anlamlılığa yakın sonuç (diğer klinik parametrelerle olan uyum da göz önüne alınarak vaskülerite için) olarak değerlendirilmiştir.

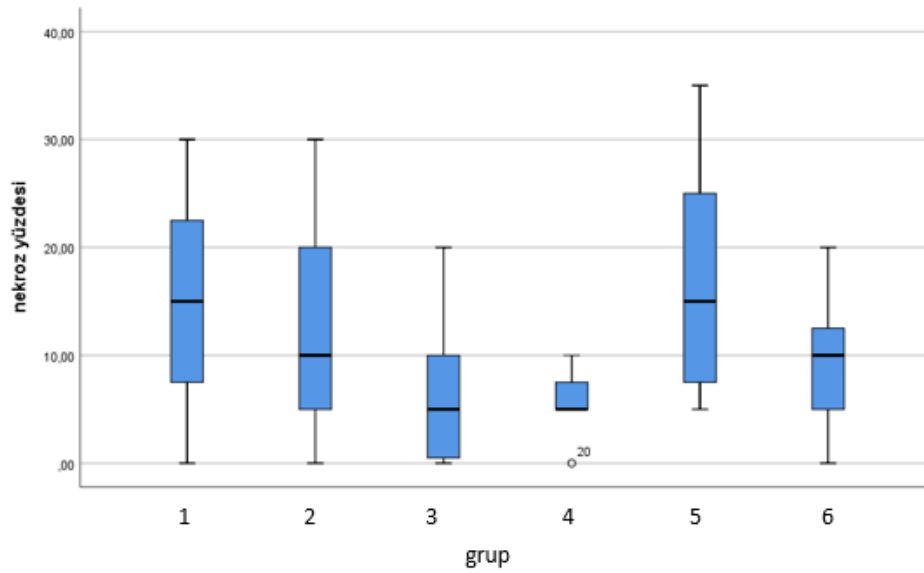
5. BULGULAR

Derin ikinci derece yanıkların tedavisinde kültüre edilmemiş hücre spreyi kullanımında ideal donör/yanık alanı oranının saptanması amacıyla yapılan bu çalışmada 24 adet denek kullanıldı. Denekler işleme alındıktan sonra sakrifikasyona kadar eksitus olmadı.

Makroskopik incelemede tüm deney hayvanlarında oluşan yanık alanının homojen olmadığı gözlemlendi (Resim 9). Tüm deney hayvanları bir arada değerlendirildiğinde sakrifikasyon sonrası çekilen fotoğraflar üzerinden yapılan makroskopik analizde A grubunda yanık alanında nekroze alan yüzdesi ortalama \pm SD olarak %14 \pm 0.11, B grubunda %6 \pm 0.6, C grubunda ise %13 \pm 0.09 saptandı. Tüm deney hayvanları bir arada değerlendirildiğinde sakrifikasyon sonrası çekilen fotoğraflar üzerinden yapılan makroskopik analizde birinci grupta yanık alanında nekroze alan yüzdesi ortalama \pm SD olarak %15 \pm 0.15, ikinci grupta %13 \pm 0.1, üçüncü grupta %6 \pm 0.05, dördüncü grupta %6 \pm 0.05, beşinci grupta %17 \pm 0.15 ve altıncı grupta ise %9 \pm 0.1 olarak saptandı (Şekil 5). İstatistiksel analizlerde işlem uygulanan tüm grupların sonuçları tedavisiz takip edilen birinci grup sonuçları ile karşılaştırılmış olup, p değeri ikinci grupta p=0.43, üçüncü grupta p=0.035, dördüncü grupta p=0.007, beşinci grupta p=0.70, altıncı grupta p=0.15 olarak saptandı. Hücre spreyi uygulanan donör/tedavi edilen yanık alanı oranı 1:1 olan üçüncü ve 1:2 olan dördüncü deney grubunda makroskopik incelemede nekroz alanı diğer gruplara kıyasla istatistiksel anlamlı olarak daha düşük izlendi (p=0.035 ve p=0.007).

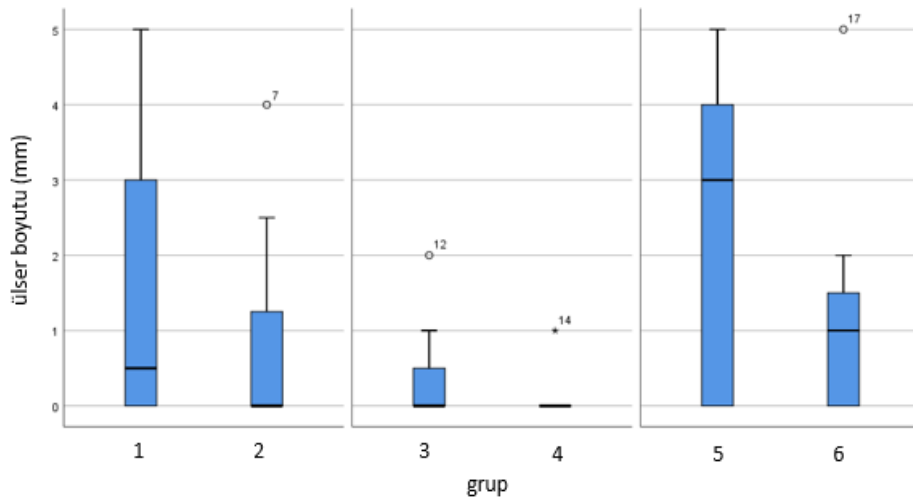


Resim 9. Deneklerde oluşan yanık homojen değildir.



Şekil 5. Deney hayvanları gruplarında nekroz alanını (%) gösteren box plot analizi.

Histopatolojik incelemede ülser boyutu mm olarak birinci grupta 1.5 ± 2.0 mm (ortalama \pm SD), ikinci grupta 0.8 ± 1.6 mm, üçüncü grupta 0.4 ± 0.7 mm, dördüncü grupta 0.1 ± 0.4 mm, beşinci grupta 2.4 ± 2.1 mm, altıncı grupta ise 1.3 ± 1.7 mm olarak izlendi (Şekil 6). İstatistiksel analizlerde işlem uygulanan tüm grupların sonuçları tedavisiz takip edilen birinci grup sonuçları ile karşılaştırılmış olup, ikinci grupta $p=0.009$, üçüncü grupta $p=0.11$, dördüncü grupta $p=0.041$, beşinci grupta $p=0.37$, altıncı grupta $p=0.77$ olarak saptandı. Hücre spreyi uygulanan donör/tedavi edilen yanık alanı oranı 1:2 olan dördüncü grupta istatistiksel anlamlı olarak daha az ülser boyutu izlendi ($p=0.041$).



Şekil 6. Deney gruplarında ülser boyutunu gösteren box plot analizi.

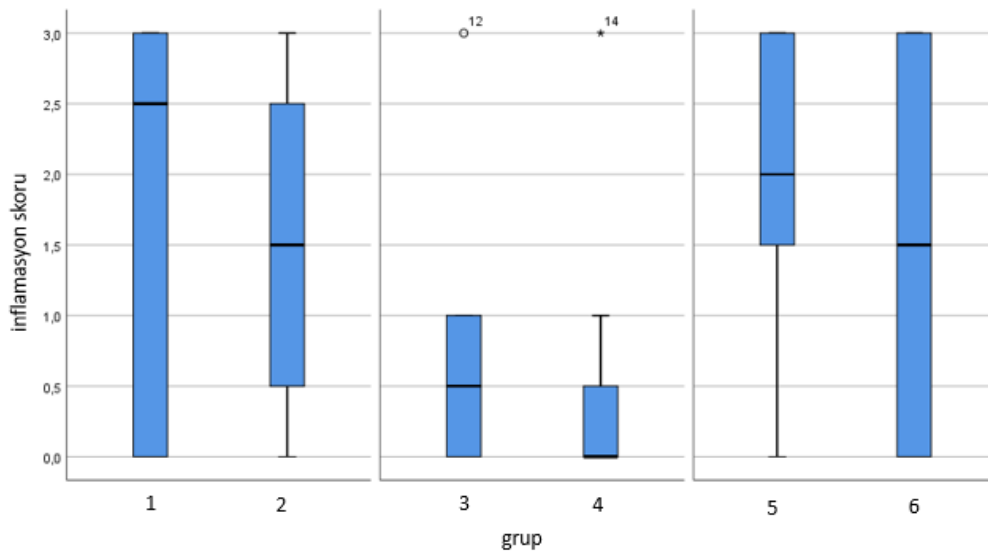
Histolojik skorlama sisteminde deneklerden alınan örnekler inflamasyon derecesine göre 0-3 arası puanlar verildi (Tablo 2).

Tablo 2. Histolojik skorumlama sistemi.

	Skorlar			
	0	1	2	3
Akut inflamasyon	Yok	Az	Orta	Fazla

HPF: High power field (Yüksek büyütme alanı)

Denekler inflamasyon açısından değerlendirildiğinde birinci grupta puan ortalama±SD olarak 1.8 ± 1.5 , ikinci grupta 1.5 ± 1.2 , üçüncü grupta 0.8 ± 1.0 , dördüncü grupta 0.5 ± 1.1 , beşinci grupta 2.0 ± 1.1 , altıncı grupta ise 1.5 ± 1.4 saptandı. İstatistiksel analizlerde kıyaslama birinci gruba göre karşılaştırılmış olup, p değeri ikinci grupta $p=0.97$, üçüncü grupta $p=0.10$, dördüncü grupta $p=0.043$, beşinci grupta $p=0.66$, altıncı grupta ise $p=0.25$ olarak saptandı. Hücre spreyi uygulanan gruplardan donör/tedavi edilen yanık alanı oranı 1:2 olan dördüncü grupta istatistiksel anlamlı olarak daha az inflamasyon izlendi (Şekil 7).

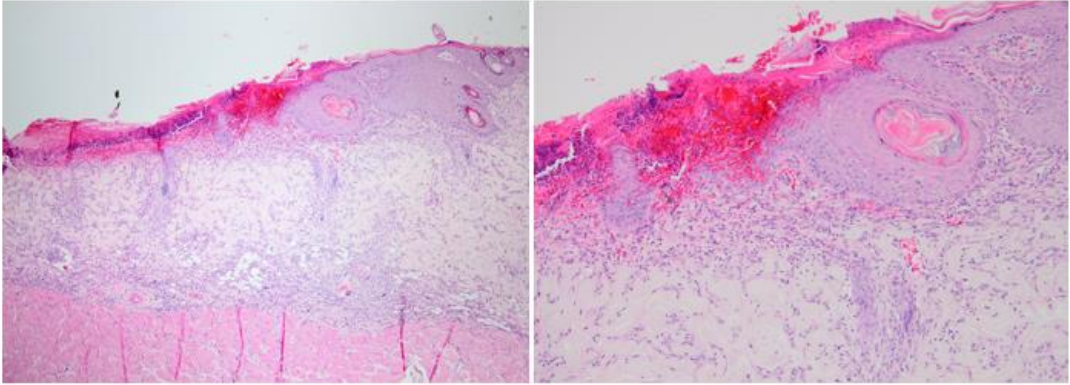
**Şekil 7.** Deney gruplarında inflamasyon skorunu gösteren box plot analizi.

Guruplardaki deneklerin ayrı ayrı aldıkları inflamasyon skoru Tablo 3'te özetlenmiştir.

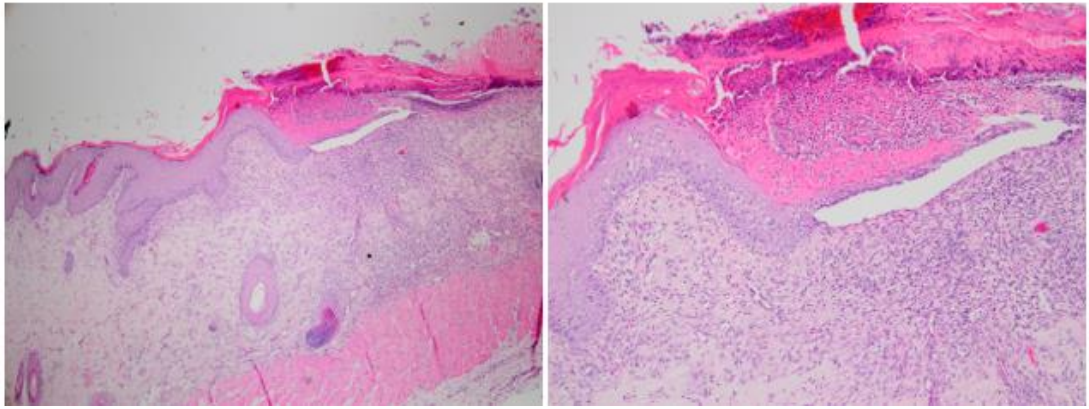
Tablo 3. Deneklerin inflamasyon skorları.

Grup	İnflamasyon skoru				Toplam skor
	0	1	2	3	
1	3	0	1	4	14
2	2	2	2	2	12
3	0	3	0	1	6
4	6	1	0	1	4
5	1	1	3	3	16
6	3	1	1	3	12

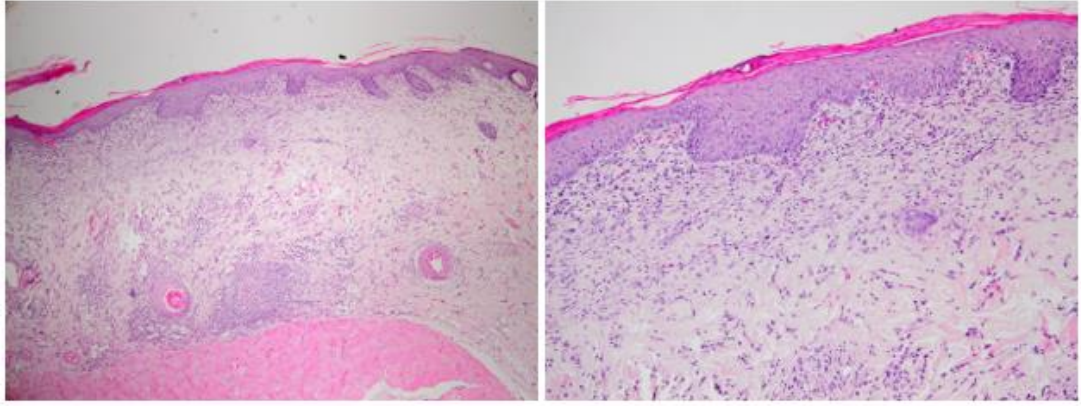
Birinci gruptaki denekden alınan örneğin histopatolojik incelemesinde inflamasyon ve ülser boyutunun yüksek olduğu gözlemlendi (Resim 10). Dördüncü gruptaki denekden alınan örneğin histopatolojik incelemesinde ülserin hiç gözlemlenmediği, inflamasyonun ise minimal olduğu saptandı (Resim 11). Beşinci gruptaki denekden alınan örneğin histopatolojik incelemesinde inflamasyon ve ülser boyutunun yüksek olduğu gözlemlendi (Resim 12).



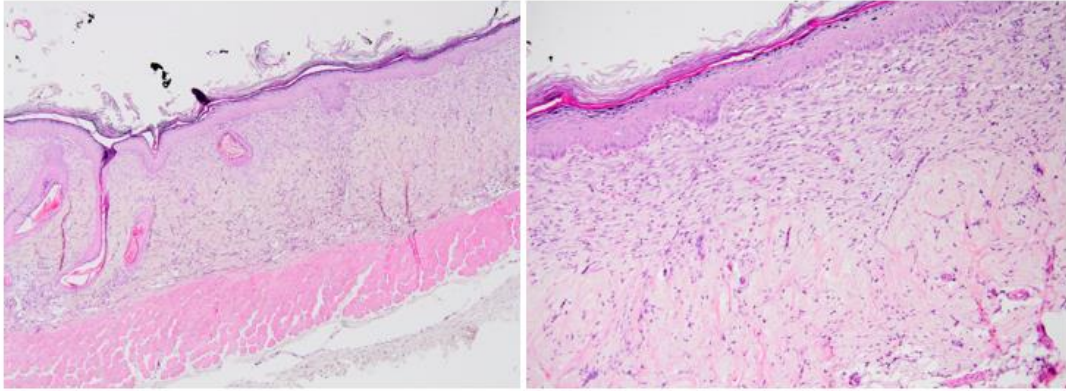
Resim 10. İşlem sonrası 14. gün birinci gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.



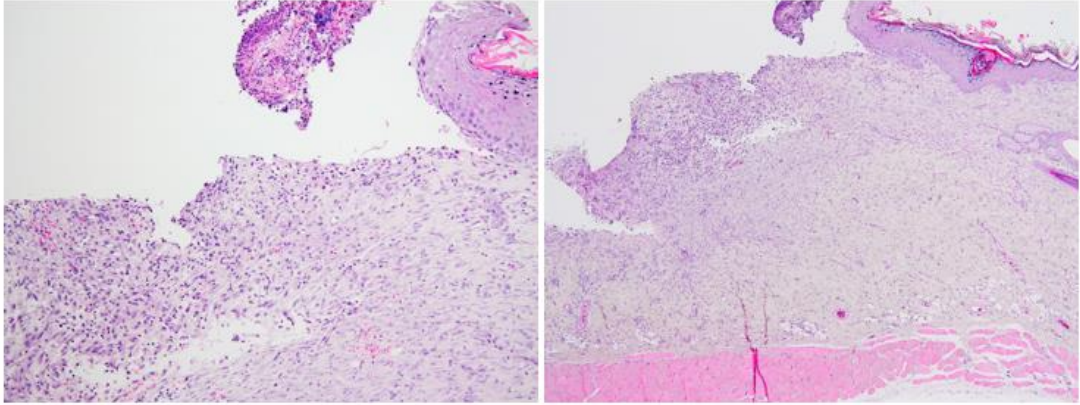
Resim 11. İşlem sonrası 14. gün ikinci gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.



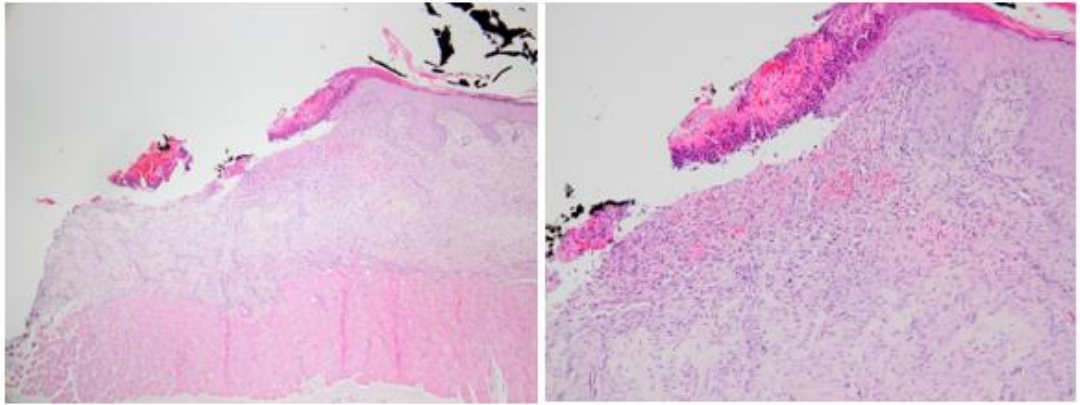
Resim 12. İşlem sonrası 14. gün üçüncü gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.



Resim 13. İşlem sonrası 14. gün dördüncü gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.

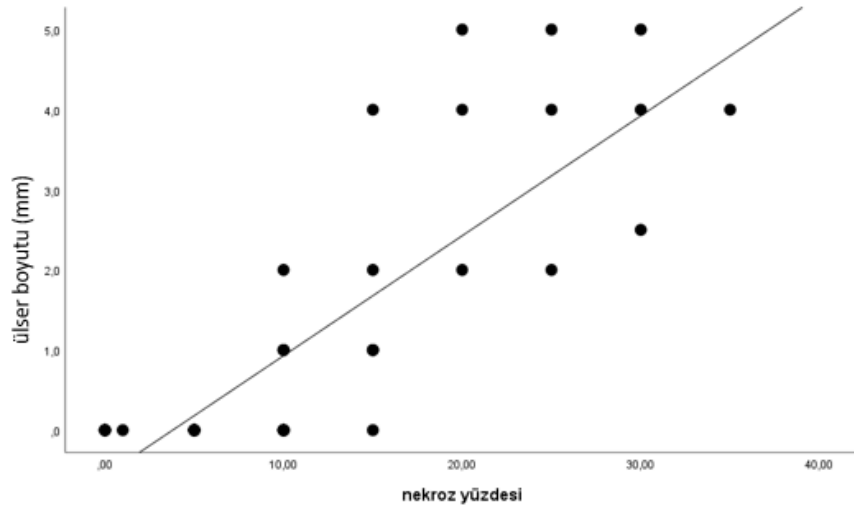


Resim 14. İşlem sonrası 14. gün beşinci gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.



Resim 15. İşlem sonrası 14. gün altıncı gruptan bir deneğin biyopsi örneğinin histopatolojik görünümü.

Deneklerden elde edilen makroskopik analiz-nekroz yüzdesi sonuçları ile histopatolojik incelemede ülser alan boyutu arasındaki ilişki karşılaştırıldı. Nekroz yüzdesi ile epitelize olmayan alan boyutu arasında aynı yönde, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir ilişki görüldü ($r=0.83$, $p<0.001$, Spearman testi) (Şekil 8).



Şekil 8. Makroskopik nekroz yüzdesi ile ülser boyutu arasındaki ilişki grafiği.

6.TARTIŞMA

Günümüzde derin yanık yaralarının tedavisinde kabul gören standart yaklaşım yanık yarasının eksizyon sonrası tam ya da kısmi kalınlıkta deri otogrefti ile kapatılmasıdır. Ancak vücut yüzey alanının büyük kısmının etkilendiği majör yanıklarda donör alanının kısıtlı olması ve donör alanlarında gelişen enfeksiyon veya kötü kozmetik sonuçlar hastanede yatış süresini, tedavi maliyetini ve hasta memnuniyetini olumsuz etkilemektedir (2,3). Bahsedilen bu istenmeyen durumlardan dolayı ideal tedavi arayışı devam etmektedir.

Son dönemlerde hücre otogreftlerinin yanık tedavisinde kullanımı yaygınlaşmıştır. 1980’li yıllardan itibaren O’conner ve arkadaşlarının kültüre edilmiş epidermal hücrelerini yanık tedavisinde kullanmaya başlamasıyla bu yöntem giderek popülerleşti (36). Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar yanık tedavisinde kültüre edilmiş epidermal hücre kullanımının bazı belirgin dezavantajları olduğunu ortaya koymuştur. Bu yöntemde kültür süresinin uzun olması hastada enfeksiyon ve sepsis gelişimi riskini artırmaktadır. Ayrıca in vitro hücre kültürü elde edilme sürecinde görülen progenitör hücre ve epidermal kök hücre kaybı ve buna bağlı keratinositlerin erken diferansiyasyonu gibi faktörler de tedavi başarısını olumsuz etkilemektedir (4,21). Kültüre edilmemiş hücre spreji metodunun ortaya çıkması ile birlikte kültür bekleme sorunu giderilmiş, in vitro hücre manipülasyonu miktarı azalmış ve progenitör hücre ve epidermal kök hücre kaybı ile erken keratinosit diferansiyasyonu önlenerek tedavi başarı şansı artırılmıştır. Bu yöntemde hücreler donör alanından alınan greftin parçalara ayrılması sonrası iki, bazen de üç basamaklı enzimatik işlem ile elde edilmektedir (7). Donör alanının küçük olması doğal olarak bu alanın daha kabul edilir kozmetik sonuçlarla iyileşmesini sağlayacaktır. Literatürde donör/yanık

alanı oranı 1:10-1:100 arası değişen çalışmalar ve vaka serisi bildirimleri mevcut olup, farklı sonuçlar bildirilmiştir (6,7,43).

Gerlach ve arkadaşlarının vaka serisi bildirisinde ikinci derece yanığı olan ve 14 gün non-operatif takip ile re-epitelizasyon izlenmeyen 8 hastaya kültüre edilmemiş hücre spreyi ile tedavisinin sonuçları verilmiştir. Burada donör/yanık alanı oranı 1:20 ile 1:60 arası değişmekte olup, ortalama 1:25 idi. Takipde ortalama 12-20 gün içinde kabul edilebilir kozmetik sonuçlarla tüm vakalarda re-epitelizasyon izlenmiş olduğu bildirilmiştir. Tedaviye tam yanıt 6. ayda makroskopik olarak değerlendirilmiş olup, hiper-hipo pigmentasyon gibi hafif ve hipertrofik skar formasyonu, striktür gelişimi gibi ciddi istenmeyen fonksiyonel ve kozmetik sonuçlar değerlendirilmiştir. Burada donör/yanık alanı oranı ile tedaviye yanıt hızı ve kalitesi karşılaştırılmamıştır (7). Esteban ve arkadaşları tarafından bildirilen 6 farklı sebeplerden kaynaklanan yanığı olan vakalarda donör/yanık alanı oranı daha da yüksek (1:40-1:100) olup, hastalar işlemden sonra 14-20. günlerde makroskopik olarak kontraktür, hipertrofik skar gelişimi, hiper-hipo pigmentasyon gibi sonuçlar açısından değerlendirilmiştir. Tüm hastalarda hızlı re-epitelizasyon sağlanmış olup fonksiyonel ve estetik kabul edilebilir sonuçlar elde edilmiştir (6). Wood ve arkadaşları tarafından yapılan hayvan modeli çalışmasında otolog hücre spreyi uygulanan tam kat cerrahi olarak oluşturulan yaralarda 14. günde makroskopik olarak re-epitelizasyon gözlemlenmiştir (44). Bizim çalışmada tedaviye yanıt 14. günde değerlendirilmiş olup, makroskopik olarak nekroze alan yüzdesi incelenmiştir. Donor/yanık alanı oranları 1:1, 1:2, 1:4 ve 1:8 olan gruplar tedavisiz takip edilen grupla kıyaslandığında, donör/yanık alanı oranı 1:1 ve 1:2 olan gruplarda sonuçların daha iyi olduğu gözlemlendi.

Yanık yarasının iyileşme sürecinde inflamasyon, proliferasyon ve re-modeling aşamaları birbirini takip etmektedir. İnflamasyon aktif immün yanıtın göstergesi olup, yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır. Ancak inflamasyonun fazla olması ve bu sürenin uzaması yara iyileşmesini negatif yönde etkileyerek artmış fibrozis ve skar formasyonu gibi istenmeyen sonuçlara neden olmaktadır. Artmış inflamasyonun kronik iyileşmeyen yara gelişiminde rol oynayan major faktörlerden biri olduğu da unutulmamalıdır (45). Son çalışmalarda yarada bulunan immün hücreleri tipi ve bu hücrelerin bulunma zamanının ve en önemlisi inflamasyon seviyesinin yaranın iyileşme sürecinin zamanında gidip gitmediğini gösteren en önemli faktörlerden biri olduğu saptanmıştır (45). Çalışmamızda inflamasyonun yüksek olduğu gruplarda diğer gruplara kıyasla yara iyileşmesi göstergelerinden olan nekroz oranının da yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Değerlendirmenin tedavinin on dördüncü gününde olduğunu göz önünde bulundurarak, inflamasyon ve nekroz yüksek olan gruplarda diğer gruplara kıyasla yara iyileşmesinin geciktiği söylenebilir. Çalışmamızda donör/yanık alanı oranı 1:2 olan grupta hem inflamasyon, hem de nekroz skorları istatistiksel anlamlı daha düşük bulunmuştur. Buna dayanarak donör/yanık alanı oranı 1:2 olan vakalarda, bu oranın 1:4 ve 1:8 olduğu vakalara kıyasla yara iyileşmesinin daha iyi olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda makroskopik analiz ile değerlendirilen nekroz yüzdesinin histopatolojik incelemede değerlendirilen ülser alan boyutu ile korele olduğu saptandı. Buna dayanarak ileri çalışmalarda tedaviye yanıt değerlendirilmesinde makroskopik inceleme ile nekroz yüzdesi belirlenmesinin, histopatolojik incelemede ülser alanı hesaplanması yerine kullanılması önerilebilir. Bununla da histopatolojik incelemeye ayrılan zaman ve kaynak tasarrufu sağlanabilir.

Çalışmamızda makroskopik incelemede tüm deney hayvanlarında oluşan yanık alanının homojen olmadığı gözlemlendi. Türkiyede en sık yanık etyolojisinin de haşlanma olduğu da göz önünde bulundurularak, gelecekteki yanık ile ilgili deneysel çalışmalarda haşlanma yanığı modelinin tercih edilmesi önerilebilir.

Sadece tanjansiyonel eksizyonun yanık tedavisinde yetersiz kaldığı bilinmektedir. Çalışmamızın sonuçları da bu verileri desteklemekte olup, sadece tanjansiyonel eksizyon uygulanan deneklerde işlem sonrası on dördüncü günde hem makroskopik hem de histopatolojik olarak yetersiz iyileşme gözlemlendi.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, kültüre edilmemiş otolog hücre spreyi yönteminde donör/yanık alanı oranının 1:2 olduğu durumlarda hem makroskopik hem de histopatolojik en iyi sonuçlar görülmektedir.

7. SONUÇLAR

Derin ikinci derece yanıkların tedavisinde kültüre edilmemiş hücre spreyi hazırlanmasında kullanılan farklı greft boyutlarının tedavi sonuçlarına etkisini değerlendirmek amaçlı yapılan bu çalışmada:

1. Derin ikinci derece yanık tedavisinde cerrahi debridmanın tek başına yetersiz olduğu gözlemlendi.
2. Makroskopik olarak en iyi iyileşme, en az nekroz donör/yanık alan oran 1:2 olan deneklerde gözlemlendi.
3. Histopatolojik olarak ülser boyutu ve inflamasyon açısından en iyi sonuç donör/yanık alan oran 1:2 olan deneklerde gözlemlendi.

Tüm sonuçlar irdelendiğinde, otolog hücre spre y yönteminin yanık tedavisinde etkili bir yöntem olduğu görülmektedir. Yanık yarasının iyileşmesinde en iyi sonuçlar 1:2 oranda donör alanı kullanıldığında elde edilmektedir. Yanıkların otolog hücre spre y ile tedavisinde donör alanının daha da küçültülmesi ve bu yöntemin insanlarda ikinci dereceli yanıklarda standart tedavi yöntemi olan otogreftte alternatif bir yöntem olarak kullanılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKLAR

1. Ahuja RB, Puri V, Gibran N, Greenhalgh D, Jeng J, Mackie D, ve ark. ISBI Practice Guidelines for Burn Care. *Burns*. 2016;42(5):953–1021.
2. Ong YS, Samuel M, Song C. Meta-analysis of early excision of burns. *Burns*. 2006;32(2):145–50.
3. Puri V, Khare NA, Chandramouli M, Shende N, Bharadwaj S. Comparative Analysis of Early Excision and Grafting vs Delayed Grafting in Burn Patients in a Developing Country. *J Burn Care Res*. 2016;37(5):278–82.
4. Chester DL, Balderson DS, Papini RPG, Plast F. A Review of Keratinocyte Delivery to the Wound Bed. *J Burn Care Rehabil*. 2004;25(3):266–75.
5. Horst B, Chouhan G, Moiemmen NS, Grover LM. Advances in keratinocyte delivery in burn wound care. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018;123:18–32.
6. Esteban-Vives R, If TD, Td M, Choi IFS, Young MT, Over P, ve ark. Second-degree burns with six etiologies treated with autologous noncultured cell-spray grafting. *Burns*. 2016;42(7):99–106.
7. Gerlach JC, Johnen C, Ottoman C, Bräutigam K, Plettig J, Belfekroun C, ve ark. Method for autologous single skin cell isolation for regenerative cell spray transplantation with non-cultured cells. *Int J Artif Organs*. 2011;34(3):271–9.
8. Nural SK. (2019) Deneysel ikinci derece derin yanik modelinde kültüre edilmemiş hücre spreyi kullanımını. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, (Danışman: Prof.Dr. Ali Konan).
9. World Health Organization. The global burden of disease 2004. https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004upd

ate_full.pdf adresinden ulaşılabilir.

10. Peck M, Pressman MA. The correlation between burn mortality rates from fire and flame and economic status of countries. *Burns*. 2013;39(6):1054–9.
11. World Health Organization. *Burns*. 2018. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns> adresinden ulaşılabilir.
12. Zerbaliyev E, Gultekin Y, Erkent M, Konan A, Yorgancı K. Hacettepe universitesi yanık unitesinde yatarak tedavi edilen hastalarda tedavi etkinliğinin gelişimi - 33 yıllık deneyim. *J Med Surg Intensive Care Med*. 2016;7(3):77–82.
13. Hop MJ, Polinder S, Vlies CH Van Der, Middelkoop E, Baar ME. Costs of burn care : A systematic review. *Wound Repair Regen*. 2014;22(4):436-50.
14. Sahin I, Ozturk S, Alhan D, Açikel C, Isik S. Cost analysis of acute burn patients treated in a burn centre : the Gulhane experience. *Ann Burns Fire Disasters*. 2011;24(1):9–13.
15. Sajid A. Khan, Jonathan Bank, David H. Song, and Eugene A. Choi (2015) *The Skin and Subcutaneous Tissue. İçende: Schwartz’s Principles of Surgery Tenth Edition*. Eds: F. Charles Brunicaardi, Dana K. Andersen, Timothy R. BilliarDavid L. Dunn, John G. Hunter, Jeffrey B. Matthews, Raphael E. Pollock, McGraw-Hill Education, United States, s:473-496.
16. Jo H, Brito S, Kwak BM, Park S, Lee M, Bin B. Applications of Mesenchymal Stem Cells in Skin Regeneration and Rejuvenation. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):2410.
17. Kolarsick P, Kolarsick M, Goodwin C. Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. 2011;3(4):203–213.
18. Nilforoushzadeh MA, Reza H, Ashtiani A, Jaffary F, Jahangiri F, Nikkhah N,

- ve ark. Dermal Fibroblast Cells : Biology and Function in Skin Regeneration. *J of Skin and Stem Cell*. 2017;4(2):e69080.
19. Fenner J, Clark RAF. (2016) *Anatomy, Physiology, Histology and Immunohistochemistry of Human Skin*. İçinde: *Skin Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. Eds: Albanna M, Holmes H, Academic Press, USA, s:1-17.
 20. Murari A, Singh KN. Lund and Browder chart-modified versus original: a comparative study. *Acute and Critical Care*. 2019;34(4):276-281.
 21. Kurt Özkaya N, Alğan S, Akkaya H. Yanıklı Hastanın Değerlendirilmesi ve Tedavi Yaklaşımının Belirlenmesi. *Ankara Med J*. 2014;14(4):170–5.
 22. Yastı AÇ, Şenel E, Saydam M, Özok G, Çoruh A, Yorgancı K. Guideline and treatment algorithm for burn injuries. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2015;21(2):79-89.
 23. Jeschke MG, Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Prim*. 2020;6(1):11.
 24. Martin É, Silvain S. Pathophysiology of burns. *Point Vet*. 2018;49(384):32–5.
 25. Jordan BS, Harrington DT. Management of the burn wound. *Nurs Clin North Am*. 1997;32(2):251–73.
 26. Trauma AC of SC on, American Burn Association. Burn Center Referral Criteria. *Guidel Oper Burn Centers*. 2006;79–86.
 27. Hartford C.E (2012) Care of outpatient burns. İçinde: *Total Burn Care, Fourth Edition*. Eds: David N. Herndon, Elsevier, China, s:81-92.
 28. Holt B, Graves C, Faraklas I, Cochran A. Compliance with nutrition support guidelines in acutely burned patients. *Burns*. 2012;38(5):645–9.

29. Lam NN, Tien NG, Khoa CM. Early enteral feeding for burned patients-An effective method which should be encouraged in developing countries. *Burns*. 2008;34(2):192–6.
30. Mohamed E. Ismail Aly, Moayad Dannoun, Carlos J. Jimenez, Robert L. Sheridan, and Jong O. Lee (2018) *Operative Wound Management*. İçinde: *Total Burn Care, Fifth Edition*. Eds: David N. Herndon, Elsevier, China. s:155-177.
31. P. Gacto-Sanchez. *Series in intensive care medicine : new perspectives in the management of critical surgical treatment and management of the severely burn patient : Review and update*. *J Wound Care*. 2017;41(6):356–64.
32. Raffoul W, Egloff D.V (2010) *Skin Grafting*. İçinde: *Color Atlas of Burn Reconstructive Surgery*. Eds: Hyakusoku H, Dennis P, Téot O, Pribaz J.J, Ogawa R, Springer, Germany, s:132-140.
33. Greenhalg D.G (2007) *Wound healing*. In: *Total Burn Care. Third Edition*. Ed: Herndon D.N, ELSEVIER, China, s:578–95.
34. Chang DK, Louis MR, Gimenez A, Reece EM. *The Basics of Integra Dermal Regeneration Template and its Expanding Clinical Applications*. *Semin Plast Surg*. 2019;33(3):185-189.
35. Téot L, Otman S, Granier P (2010) *Dermal Substitutes*. İçinde: *Color Atlas of Burn Reconstructive Surgery*. Eds: Hyakusoku H, Dennis P, Téot O, Pribaz J.J, Ogawa R, Springer, Germany, s:90-100.
36. O'Connor N, Mulliken J, Banks-Schlegel S, Kehinde O GH. Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. *Lancet*. 1981;75–8.
37. Munster AM. *Cultured skin for massive burns: A prospective, controlled trial*.

- Ann Surg. 1996;224(3):372–7.
38. Barret JP, Wolf SE, Desai MH, Herndon DN. Cost-efficacy of cultured epidermal autografts in massive pediatric burns. *Ann Surg.* 2000;231(6):869–76.
 39. Dorsett-Martin WA, Wysocki AB. Rat models of skin wound healing. *Wound Repair Regen.* 2004;12(6):591–9.
 40. Mitsunaga Jr JK, Gagnani A, Ramos MLC, Ferreira LM. Rat an experimental model for burns. A systematic review\rRato como modelo experimental de queimadura. Revisao sistematica. *Acta Cir Bras.* 2012;27(6):417–23.
 41. A. Abdullahi, S. Amini-Nik and M. J. Animal models in burn research. *Cell Mol Life Sci.* 2009;49(18):1841–50.
 42. Zhai Q, Zhou F, Ibrahim MM, Zhao J, Liu X, Wu J, ve ark. An immune-competent rat split thickness skin graft model: useful tools to develop new therapies to improve skin graft survival. *Am J Transl Res.* 2018;10(6):1600.
 43. Esteban-vives R, Young MT, Zhu T, Beiriger J, Pekar C, Ziembicki J, ve ark. Calculations for reproducible autologous skin cell-spray grafting. *Burns.* 2016;42:1756–65.
 44. Wood FM, Stoner ML, Fowler B V, Fear MW. The use of a non-cultured autologous cell suspension and Integra® dermal regeneration template to repair full-thickness skin wounds in a porcine model: A one-step process. *Burns.* 2007;33(6):693–700.
 45. Rohl J, Zaharia A, Rudolph M, Murray RZ. The role of inflammation in cutaneous repair. *Wound Practice & Research.* 2015;23(1):8-15.