



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ-BOYUN CERRAHİSİ**  
**ANABİLİM DALI**

**SIÇAN FARİNGOKÜTANÖZ FİSTÜL MODELİNDE**  
**BAKTERİYEL SELÜLOZUN FİSTÜL**  
**KAPANMASINDA ETKİNLİĞİNİN PRİMER ONARIM**  
**İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**DR. BERAT DEMİR**  
**UZMANLIK TEZİ**

**Danışman Doç. Dr. MURAT SARI**

**İSTANBUL, 2016**

## ÖNSÖZ

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı'nda ihtisas eğitimim sürecince birlikte çalışma onuruna eriştiğim, eğitimimde büyük katkıları bulunan ihtisas eğitim sürecimin büyük çoğunluğunda anabilim dalı başkanımız olan Prof. Dr. Mehmet Ali Şehitoğlu'na, anabilim dalı başkanımız olan Prof. Dr. Çağlar Batman'a, Prof. Dr. Selçuk İnanlı'ya,

Hiçbir zaman destek ve yardımlarını esirgemeyen, klinik ve cerrahi bilgilerinden derinden faydalandığım Doç. Dr. Murat Sarı'ya ve Doç. Dr. Tekin Bağlam'a,

Gösterdikleri emek, sabır ve katkılarıyla Yrd. Doç. Dr. Ali Cemal Yumuşakhuyly' ya, Uzm. Dr. Adem Binnetoğlu' na, beraber çalışma fırsatı bulduğum ve dört buçuk yılımı beraber geçirdiğim tüm asistan arkadaşlarıma, servis, poliklinik ve ameliyathane ekibine,

Bu tezin oluşmasında büyük katkıları olan Doç. Dr. Ahmet Midi' ye, tezin patolojik incelemelerini yapan Yrd. Doç. Dr Deniz Filinte' ye, tezin selüloz aşamasında yardımları bulunan Doç.Dr. İshak Özel Tekin'e

Ayrıca yaşamım boyunca sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen annem, babama Desteğini her zaman hissettiğim, varlığıyla hayatımı kolaylaştıran, hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan değerli eşim Dr. Ayşe Demir'e en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Berat Demir

İstanbul, 2016

## ÖZET

**Amaç:** Faringokütanöz fistül ( FKF ) total larenjektomi sonrası görülen önemli bir komplikasyondur. FKF tedavisi halen tartışmalıdır. Bakteriyel selüloz mükemmel mekanik ve biyolojik özelliklerinden dolayı iyi bir yara iyileştiricidir. Günümüzde bakteriyel selülozun FKF tedavisiyle ilgili veri bulunmamaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda sıçanlarda FKF iyileşmesinde bakteriyel selülozun etkilerini ortaya koymak amaçlanmıştır.

**Yöntem:** 30 Sprague- Dawley sıçan üç gruba bölündü. Faringoözofagotomi modeli oluşturuldu ve gruplar sırasıyla vikril, bakteriyel selüloz, hem vikril hem bakteriyel selüloz ile onarıldı. Tüm istatistiksel analizler SPSS Windows yazılım programı kullanılarak yapıldı.

**Bulgular:** Histolojik ve makroskopik yara kapanması olarak sonuçlar elde edildi. Fibroblast ve inflamatuvar hücre depolanmasının hem bakteriyel selüloz hem primer sütür ile onarılan grupta primer sütür ile kapatılan gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı.

**Sonuçlar:** Çalışmamızda bakteriyel selülozun fibroblast oluşumu ve makroskopik FKF kapanması üzerine olumlu etkileri gösterildi. Bakteriyel selülozun FKF kapanması üzerine etkilerinin daha iyi değerlendirilebilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

**ANAHTAR SÖZCÜKLER:** Faringokütanöz fistül, bakteriyel selüloz, larenjektomi komplikasyonları

## **ABSTRACT**

**Objective:** Pharyngocutaneous fistula (PCF) is a significant complication after total laryngectomy. The treatment of PCF is still controversial. Bacterial cellulose is a good wound dressing because of its excellent mechanical and biological properties. There is no data available about bacterial cellulose in the treatment of PCF. For this purpose, we aim to research the effects of bacterial cellulose on PCF healing in rats.

**Method:** Thirty Sprague-Dawley rats were divided into three groups. Artificial pharyngoesophagectomy was performed and was then closed with vicryl, bacterial cellulose, and both vicryl and bacterial cellulose, respectively. All statistical analyses were performed by the SPSS software system for Windows.

**Results:** Outcome measurements included gross wound inspection and histological examination. Fibroblast density and inflammatory cell infiltration in the group closed with both bacterial cellulose and primary suture was significantly greater than the group closed with primary suture.

**Conclusions:** In this study, bacterial cellulose was shown to have beneficial effects on the formation of fibroblast and the macroscopically closure of PCF. However, for better evaluation of the effects of bacterial cellulose on the closure of PCF, more research should be performed.

**KEYWORDS:** Pharyngocutaneous fistula, bacterial cellulose, complications of total laryngectomy

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	iii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	6
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Larenks malign neoplazileri.....	8
2.2 Total larenjektomi.....	10
2.3 Total larenjektomi komplikasyonları.....	13
2.4 Bakteriyel selüloz.....	17
2.5 Yara iyileşmesi fiziolojisi.....	20
3. MATERYAL ve METOD.....	25
3.1 Deney hayvanları.....	25
3.2 Hayvanların hazırlanması ve deneysel işlem.....	25
3.3 İstatistiksel analiz.....	35
4. BULGULAR .....	36
5. TARTIŞMA .....	46
6. SONUÇ.....	53
7. KAYNAKLAR.....	54

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Larenks kanserleri baş boyun kanserlerinin yaklaşık % 25'ini, tüm kanserlerin ise %1' ini oluşturmaktadır.<sup>1</sup> Hastaların çoğu yaşamlarının altıncı-yedinci dekadında olan erkek hastalardır. Larenks kanserlerinin % 75'i glottik kanserlerdir, ardından supraglottik kanserler görülür, en az görüleni ise subglottik kanserlerdir. Larenks kanserleri için birçok tedavi seçeneği bulunmaktadır. Klinik bulgular, hastanın genel sağlık durumu ve radyolojik bulgulara göre radyoterapi, kemoterapi, endolarengeal kordektomi, laringofissür kordektomi, parsiyel larenjektomi veya total larenjektomi tedavi seçeneği olabilir.<sup>1</sup> İleri evre larenks kanserlerinde veya daha önce radyoterapi almış veya parsiyel larenjektomi yapılmış nüks kanserlerde kurtarma cerrahisi olarak total larenjektomi yapılmaktadır.<sup>1,2</sup> Faringokutanöz fistül (FKF) , flep nekrozu ve bu komplikasyon sonrasında gelişebilecek karotis rüptürü, faringeal stenoz, stomal rekürrens total larenjektomi sonrası oluşabilecek komplikasyonlardandır.<sup>1,3,4,5</sup>

FKF solunum ve sindirim sistemi cerrahilerinden sonra oluşabilecek ciddi ve sık görülen bir komplikasyondur. Total larenjektomilerden sonra FKF görülme insidansı % 3- 15'tir ve en sık görülen komplikasyondur.<sup>1,5,6,7</sup> FKF sıklıkla 4. ve 10 günler arasında görülmektedir.<sup>8,9</sup> FKF gelişmesinde önemli risk faktörlerinin; tümörün büyüklüğü, diyabet, karaciğer hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, anemi, preoperatif kemoradyoterapi, kötü cerrahi teknik, aşırı hemostaz, postoperatif hipovolemi, kötü yara bakımı ve pozitif cerrahi sınırlar, preoperatif trakeotomi, eşlik eden boyun diseksiyonu varlığı olarak bildirilmiştir.<sup>3,5,10</sup> Daha önce radyoterapi alanlarda total larenjektomi sonrası FKF görülme sıklığı radyoterapi almayanlara göre 2.6 kat daha fazladır.<sup>11</sup> Ayrıca Ganly ve ark. yaptıkları çalışmada radyoterapi ile birlikte kemoterapi alan hastalarda sinerjistik etki sonucu FKF oluşma oranının sadece radyoterapi alan hastalara göre daha fazla olduğu gösterilmiştir.<sup>3</sup>

Postoperatif oluşan fistül hem hastanede kalış süresini uzatmakta hem de oral alımını etkileyerek hastanın çok hızlı kilo kaybetmesine, aynı zamanda psikolojik ve sosyal açıdan kötü etkilenmesine neden olmaktadır.

FKF'ün kapanma süreci 2- 3 aydan uzun sürebilir ve hastayı fiziksel ve psikolojik olarak kötü etkileyebilmektedir. Uzayan iyileşme süreci, hastanın postoperatif radyoterapiye başlama sürecini de geciktirmektedir. En önemlisi, iyileşmeyen FKF sonrası karotis arter kanaması olabilir ve ölümlle sonuçlanabilir.<sup>1</sup> Larenjektomi sonrası oluşan FKF tedavisinde, hastanın oral alımının kesilip nazogastrik veya parenteral beslenmeye başlanması, tükrüğün yara yerine geçişini engellemek için salivary by pass tüp yerleştirilmesi, her gün yapılan yara debridmanı uygulamaları kullanılmaktadır. Uzun dönemde kapanmayan ve geniş defekt olan fistüllerde alternatif olarak deltopektoral flep veya pektoralis majör kaslı-cilt flepleri kullanılarak kapatmak mümkündür.

Bakteriyel selüloz genel olarak suda çözünmeyen, esnek, gerilme direnci yüksek, elastik bir polimerdir.<sup>12</sup> Ağsı bir yapıya sahip olan polimerin kristalize özelliği yüksektir.<sup>13</sup> Selüloz tabakanın, vizkozitesi ve hidrofilik özellikleri nedeniyle bakterileri su miktarında azalma, pH değişimleri, patojenik mikroorganizmalar gibi kötü çevre koşullarına karşı koruduğu da bilinmektedir.<sup>14,15</sup> Bakteriyel selüloz, yanık bölge üzerinde iyileştirici bir özelliğe de sahiptir.<sup>14,16,17</sup>

Bakteriyel selüloz steril edilebilir, dokuya uyumludur, gözenekli, elastik ve elle tutulması kolaydır, suyu absorbladığı için belli oranda nem içerir bu da yaraların daha hızlı iyileşmesini sağlar ayrıca yaralı bölgede ikincil enfeksiyonların oluşmasını engeller, yanık bölgedeki ısıyı absorblayarak acıyı ve ağrıyı azaltır ve dokuda yaranın büyümesini engeller.<sup>17</sup> Çalışmamızda bakteriyel selülozun FKF'ün kapanmasındaki etkinliği, iyileşme dokusundaki histopatolojik değişikliklerin araştırılması amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Larenks malign neoplazileri

Larenks kanserleri tüm kanserlerin % 1.2 'ini oluşturur ve kanserden ölümlerin % 0.73'ünü kapsar. Larenks kanseri deri kanseri dışında ikinci en sık görülen baş boyun kanseridir ve tüm baş boyun kanserlerinin %25' ini oluşturur.<sup>18</sup> Daha çok 7. dekatta pik yapar. Erkek ve kadın arasındaki görülme oranı, ülkelere göre 4 : 1 ile 30 : 1 arasında değişir.<sup>19</sup> Sigara içen ve erkeklerle aynı işlerde çalışan kadınların sayısının artmasıyla aradaki fark azalmakta ve son zamanlarda oranların 5– 6/ 1 şeklinde değiştiği konusunda çalışmalar bulunmaktadır.<sup>20</sup> Larenks kanserlerinde 5 yıllık sağ kalım % 68'dir.

### Etiyoloji

- Sigara
- Alkol
- Radyasyon
- Meslek (boyacı, asbestoz, nikel maruziyeti, metal sanayinde çalışanlar, benzin buharına maruz kalanlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlarla temas halinde olanlar ).<sup>21</sup>
- Gastroözofajial reflü
- İmmünolojik etkenler: İmmün mekanizmaların bozulması kesin olmamakla birlikte kanser gelişmesinde rol oynadığı bazı çalışmalarda ileri sürülmüştür. Kanserli hastalarda kötü prognoz bulgusu olarak metastaz varlığında Ig A düzeyi yükselir.

İmmün yetmezlikli olanlarda ve immünsupresif tedavi alanlarda malignite görülme sıklığı artar.<sup>22</sup>

- **Viral risk faktörleri:** Larengeal skuamöz hücreli karsinomlarda Human Papilloma Virüs ( HPV ) 16 varlığının % 3 ile % 85 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ancak, klinik ve histolojik olarak normal olan larenkslerin % 12- 25' inde HPV DNA saptanmıştır. Bu yüzden, HPV 16'nın larengeal karsinogenezdeki rolü tartışmalıdır.<sup>23,24</sup>

### **2.1.1 Supraglottik larenks karsinomu**

Supraglottiste yer alan anatomik yapılar epiglot, ariepiglottik plikalar, ventrikuler bant, ventrikul ve aritenoidlerdir. Supraglottik kanserler larenks kanserlerinin % 30- 40'ını oluştururlar. Hastaların ön planda boğaz ağrısı, hemoptizi ve aspirasyon öyküsü vardır.

En sık neoplazi infrahyoid epiglottan kaynaklanır. Ardından ventrikül, suprahyoid ve epiglottan kaynaklanır.İnvazyon sıklıkla dil kökü ve preepiglottik boşluğa doğru olur. Embriyolojik olarak supraglottik alan ( 3. ve 4. brankial ark ) ile glottik ve subglottik alan ( 5. ve 6. brankial ark ) farklı embriyolojik yapılardan geliştiği için bu temel anatomik farklılık karsinom invazyonu için arada bir bariyer oluşturur.<sup>25</sup>

### **2.1.2. Glottik kanserler**

Glottik kanserler larenks kanserlerinin % 50- 75' ini oluştururlar. % 57- 80' ini erken evre tümörlerdir. Ön planda şikayetler ses kısıklığı ve yutma güçlüğüdür.

Glottik tümörler çoğunlukla vokal kord serbest kenarından ve orta 1/ 3 kısımdan kaynaklanıp, vokal kord mukozası boyunca öne ve arkaya doğru yüzeyel yayılır.

Ön komüssüre uzanım gösterip tiroid kırdağa ve subglottik alana invazyon yapabilir. Glottiste damarsal ve lenfatik yapılar az olduğu için bölgesel metastaz diğer larenks kanserlerine göre daha az görülür.

Glottik tümörlerde lateral ve derine invazyonda Reinke boşluğu, inferiora konus elastikus bariyer görevi yapıp invazyonu engeller.

### **2.1.3 Subglottik larenks kanserleri**

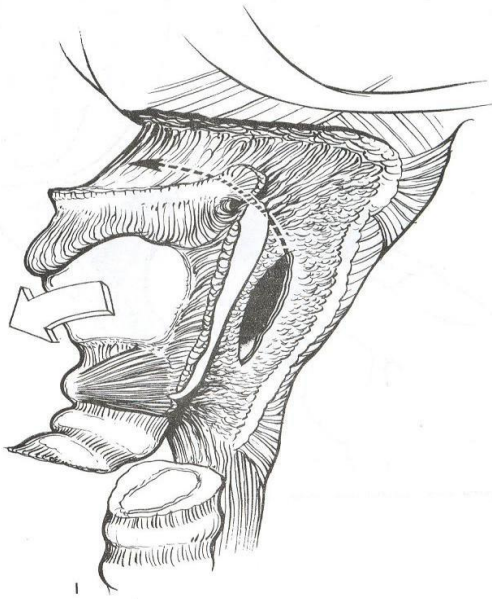
Larenks kanserlerinin % 4' ünü oluşturan subglottik tümörler uzun süre sessiz devam edip dispne ve disfoniyle kendini gösterir. Tanı anında yarısında krikoid kırıldak infiltrate, 3/ 4' ünde ise krikotiroid membran infiltrasyonu görülür. Lenfatik metastaz Delfian ve paratrakeal lenf nodlarına, sekonder yayılım ile alt jugular lenf nodlarına olur. Subglottik tümörlerde tek cerrahi tedavi total larenjektomidir.

## **2.2. Total larenjektomi**

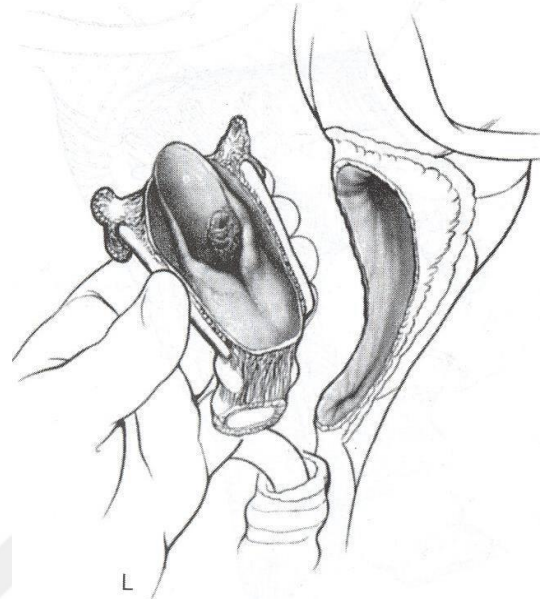
Total larenjektomide; hyoid kemik, anterior yüzeydeki strap kaslar, tüm supraglottik, glottik ve subglottik alanlar, tiroid ve krikoid kartilajlar ve 1 ve 2. trakea halkaları çıkartılır (**Resim 1, 2**). Özofagus dil köküne dikilirken trakea cilde ağızlaştırılıp trakeostoma oluşturulur (**Resim 3, 4**). Total larenjektomi ileri evre larenks kanserlerinde veya parsiyel larenjektomi ve radyoterapi sonrası nüks olan hastalarda yapılmaktadır.

Total larenjektomi endikasyonları şunlardır:

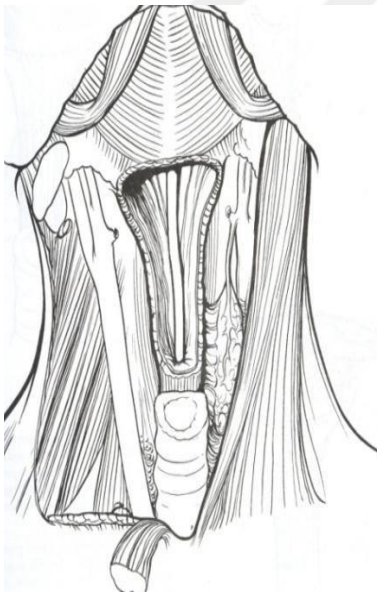
- Bilateral vokal kord fiksasyonu olan tümörler.
- Kartilaj destrüksiyonu yapan ve ekstralarengal yayılımı olan ileri evre tümörler.
- Longitudinal ya da annüler tarzda subglottik yayılım (önde > 10mm, arkada > 5mm )
- Subglottik tümörler.
- Postkrikoid tutulumu olan tümörler.
- İnteraritenoid bölgeyi geçen tümörler.
- Parsiyel larenjektomi ya da radyoterapi sonrası nüks.
- Uygun antibiyotik ve hiperbarik oksijen tedavisine yanıt vermeyen radyonekroz.
- Önlenemeyen aspirasyon.
- Akciğer fonksiyonlarının parsiyel larenjektomi için yetersiz oluşu



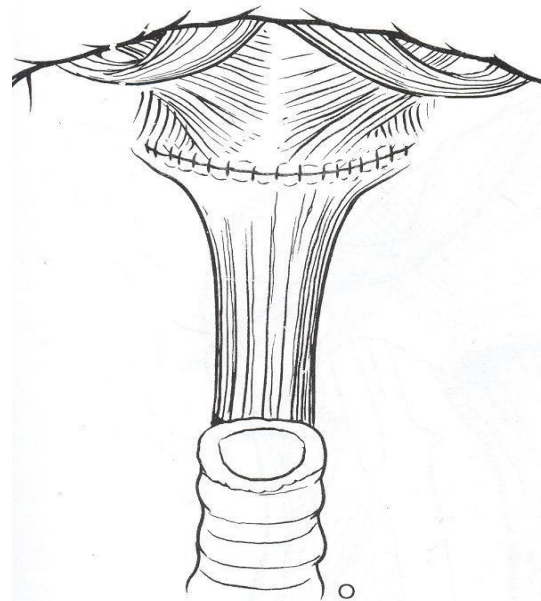
**Resim 1**



**Resim 2**



**Resim 3**



**Resim 4**

### 2.3. Total larenjektomi komplikasyonları

Erken ve geç komplikasyonlar olarak sınıflandırılır.

- Erken dönem komplikasyonlar

1. Hemoraji
2. Trakeada krut oluşumu
3. Trakeit
4. Yara enfeksiyonu
5. Faringokütanöz fistül oluşumu

- Geç dönem komplikasyonlar

1. Farenks stenozu
2. Trakeostoma stenozu
3. Yutma güçlüğü
4. Tiroid yetmezliği
5. Karotis rüptürü
6. Psikolojik bozukluklar

### **2.3.1 Hemoraji**

Sıklıkla deri fleblerindeki venlerden veya tiroid bezi çevresinden kaynaklanır. Cilt flebleri açılıp ligasyon yapılmalıdır.

### **2.3.2 Trakeada krut oluşumu**

İnspire edilen havanın burun ve boğazın nemlendirici etkisinden yoksun olması sonucu sekresyonun aşırı kurumasına bağlıdır. Krutlar temizlenip ortamın nem oranı ayarlanmalıdır.

### **2.3.3 Trakeit**

Trakea mukozasının enfeksiyonu sonucu oluşur. Oluşan pürülan salgılar sonucu ortaya çıkan krutlar bronşlar, kanülü, trakeayı tıkayabilir. Antibiyoterapi, buhar inhalasyonu, sık aspirasyon gereklidir.

### **2.3.4 Yara enfeksiyonu**

Total larenjektomi yapılacak olan hastalara ameliyattan 8- 12 saat önce profilaktik antibiyotik verilmesi önerilmektedir.

### **2.3.5 Hipofarenks stenozu**

Stenoz sonucu disfaji oluşur. Hasta rahat yutamaz. Faringoözofageal segmentte yutma sırasında negatif basınç oluşamaz ve lokma dilin kuvveti ile geriye itilir. Normalde dilin bu itme gücü 18 mmHg iken larenjektomide 32 mmHg kadar yükselir. Farenksten lokmanın özofagusa geçiş süresi uzar. Farenks lümeni stenozu, özofagus plastiği tekniğine bağlıdır veya yeterli genişlikte mukoza bırakılmadığı durumlarda olur. Eğer stenoz meydana gelirse dilatasyon yapılmalı, normal beslenme diyeti verilmelidir. T şeklinde özofagus plasti yapılanlarda darlık daha çok görülür.

### **2.3.6 Trakestoma stenozu**

Postoperatif üç hafta ile bir yıl arasında gözlenir. Stenoz oluşumunda yara enfeksiyonu, radyoterapi, cerrahi teknik hatalar, postoperatif bakım kusurlar rol oynar. Hafif ve orta derecedeki stenozlarda dilatasyon, gittikçe artan boyutta kanül kullanımı, steroid enjeksiyonu önerilir. İleri derecedeki stenozlarda tedavi skar eksizyonu ve lokal deri flepleri kullanılarak cerrahi yapılmasıdır.

### **2.3.7 Tiroid yetmezliği**

Tiroidin rezeke edildiği, enfeksiyona bağlı nekroz gelişen veya radyoterapi sonrası tiroid yetmezliği gelişen olgularda hipotiroidi bulguları ortaya çıkar. Tedavi için hormon replasman tedavisi yapılır.

### **2.3.8 Karotis rüptürü**

Faringokütanöz fistül, cilt nekrozu, preoperatif radyoterapi uygulanması hazırlayıcı faktörlerdir. Beraberinde boyun diseksiyonu da yapılmışsa risk daha da yüksektir.

### 2.3.9 Psikolojik bozukluklar

Hastalarda çeşitli derecelerde depresyon ortaya çıkabilir. Psikiyatri konsültasyonu istenmelidir.

### 2.3.10 Faringokütanöz fistül

FKF solunum ve sindirim sistemi cerrahilerinden sonra oluşabilecek ciddi bir komplikasyondur. Total larenjektomilerden sonra FKF görülme insidansı % 3- 15<sup>4</sup> tir ve total larenjektomi sonrası görülen en sık komplikasyondur.<sup>1,5,6,7</sup> Yara yerinde eritem, ödem, açılma, pürülan materyal ve tükrük gelişi ile başlar. FKF sıklıkla 4. ve 10 günler arasında görülmektedir.<sup>8,9</sup> Dokunun daha önce radyoterapi almış olması, yetersiz beslenme durumu, larenjektomiye boyun diseksiyonunun eklenmesi, preoperatif trakeotomi, farengeal mukozanın kapatma biçimi, enfeksiyonlar, cerrahi sınırdaki tümör kalması, diyabet, anemi gibi faktörler fistül oluşumunda rol oynamaktadır.<sup>3,5,10</sup> En büyük risk faktörü boyun bölgesine daha önce alınan radyoterapi iken, radyoterapi ile birlikte kemoterapi alınması FKF riskini daha çok arttırmaktadır. Daha önce radyoterapi alanlarda total larenjektomi sonrası FKF görülme sıklığı radyoterapi almayanlara göre 2.6 kat daha fazladır.<sup>11</sup> Fistül oluşumunu önlemek için uygun protein, mineral ve nitrojen desteğinin sağlanması, diyabet, anemi gibi altta yatan etmenlere karşı önlem alınması, intraoperatif olarak farenks kapatılırken teknik hatalardan kaçınılması gerekmektedir. FKF oluştuğu zaman başlangıç tedavisi oral alımın kesilmesi, antiseptik gazlarla fistül traktının tamponajı, uygun antibiyotik tedavisi ve granülasyon dokusunun arttırılmaya çalışılmasıdır.

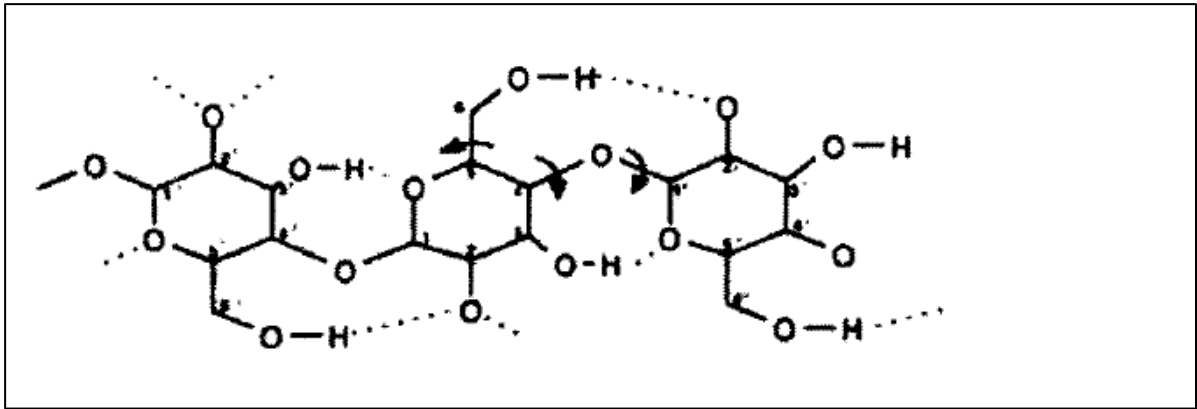
Bütün bu önlemlere rağmen, % 30 hastada FKF primer olarak kapanmamakta ve cerrahi müdahale gerekmektedir.<sup>26,27</sup>

Primer kapatma sağlanamıyorsa, farenksle cilt defekti arasının pediküllü kas flebiyle doldurulması, kanlanmayı artırıp avasküler ölü dokulara antibakteriyel faydayı arttırmaktadır.

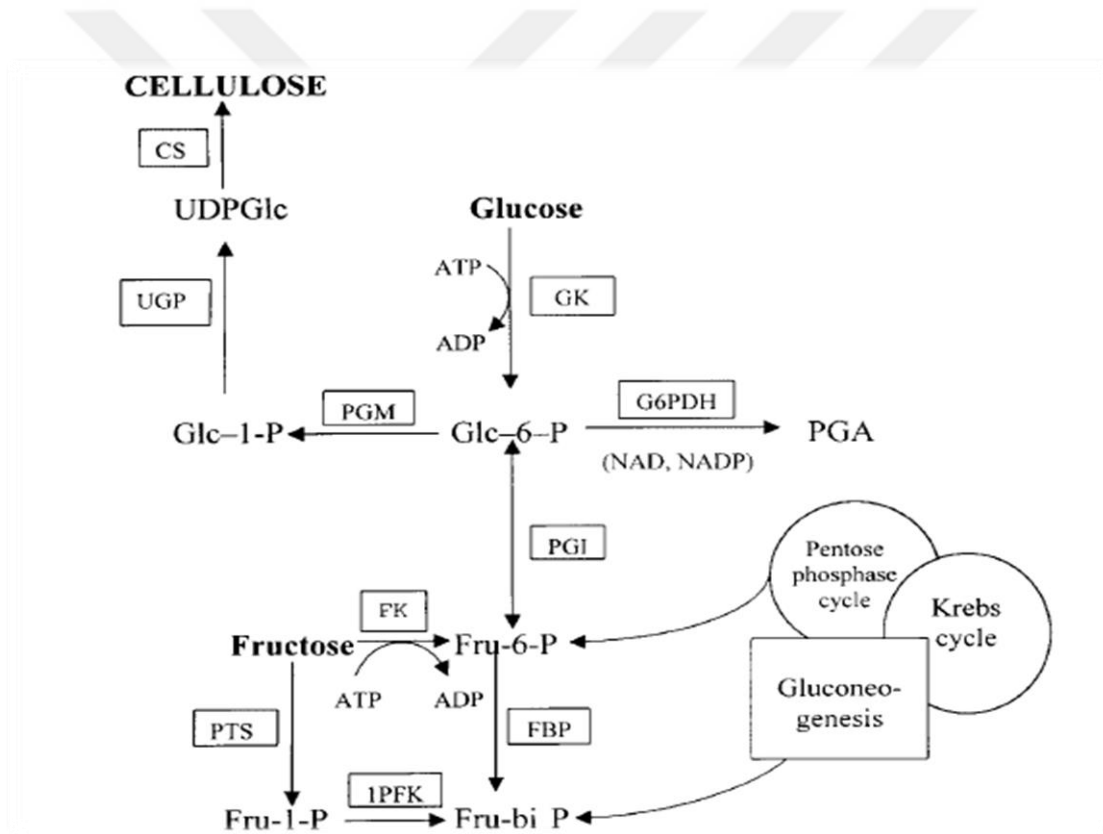
## 2.4 Bakteriyel selüloz

Selüloz hemen hemen tüm bitkilerin, bazı mantar ve alg türlerinin hücre duvarlarının temel yapısal matriksini oluşturur. ( **Resim 5** ) Selülozun Acetobacter tarafından sentezlendiği bir yüzyılı aşkın bilinmektedir.<sup>28</sup> Acetobacterium xylinum ilk kez 1886 da Brown tarafından sirke fermantasyonu sırasında elde edilmiştir.<sup>28</sup> Bakteriyel selüloz acetobakter cinsi bakterinin bazı suşları tarafından sentezlenir ve yapısal özellikleriyle bitkisel selülozdan farklıdır.<sup>29,30</sup> Bakteriyel selüloz, kristalize özelliği, suda çözünmemesi, yüksek seviyede sıvı absorpsiyon kapasitesi ve vizkozitesi, yüksek gerilme direncine sahip oluşu, in situ şekillendirilebilmesi ve ıslak olarak elde edilebilmesi gibi nedenlerden dolayı bitkisel selülozdan ayrılır.<sup>13</sup> Bakteriyel selülozun, fibril ağ çapının 0.1 µm olduğu belirtilmektedir, bu çap bitkisel selülozun yaklaşık % 1'i kalınlığındadır.<sup>31,32</sup> A.Xylinum, selüloz biyosentezi, kristalizasyon ve yapısal özelliklerin araştırılmasında model organizma olarak kullanılmıştır.<sup>32-35</sup> Sentez işlemi glukozun selüloz öncülü olan uridin difosfolukoz ( UDPGlc ) sentezini takiben β- 1, 4 glukoz zincirine polimerizasyonunu içerir.<sup>36-38</sup> ( **Resim 6** ) Acetobacter türü meyve, sebze, sirke, meyve suyu ve alkollü içeceklerde bulunur. A. Xylinum'un özel biyosentez yolağı tüm dünya da bilim adamlarını in vivo bakteriyel selüloz geliştirmek için harekete geçirmiştir.

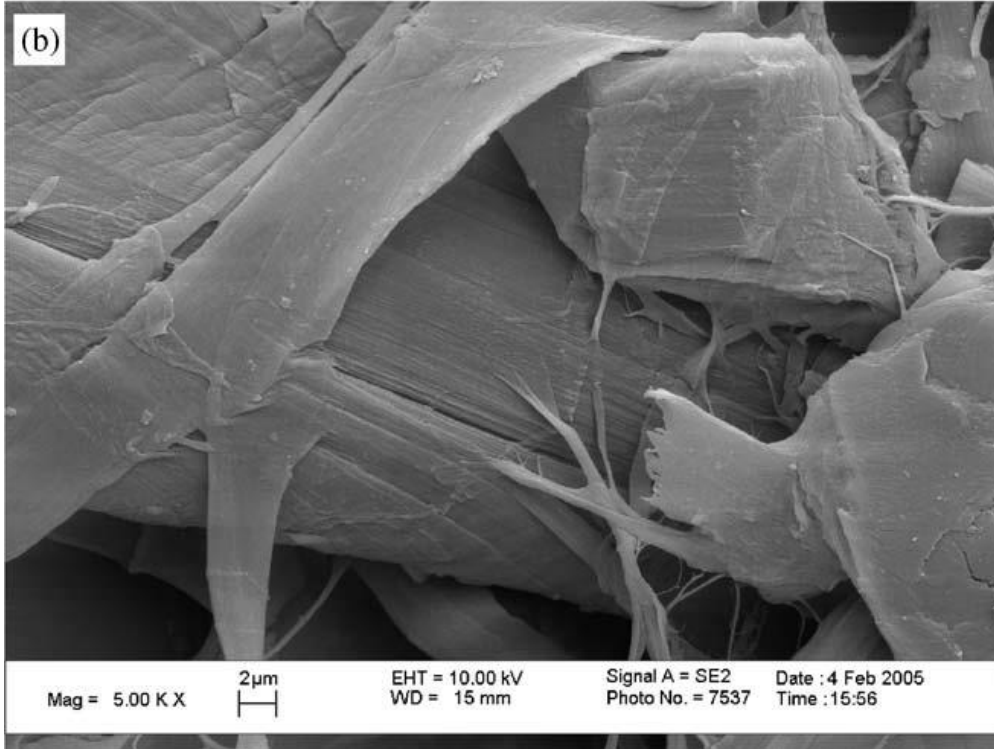
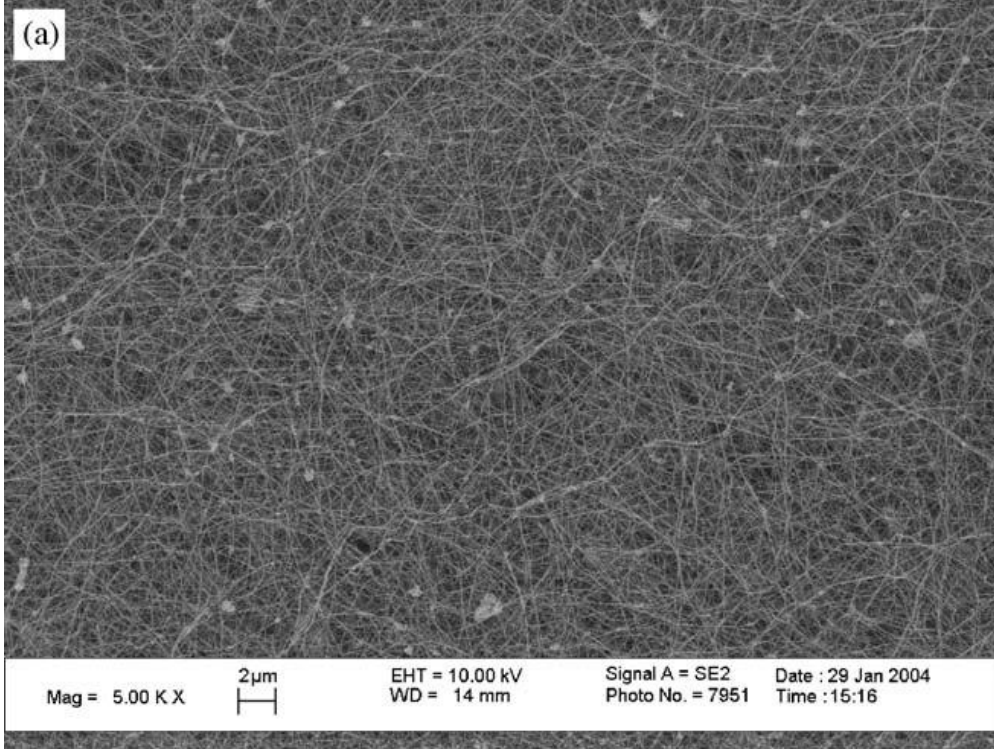
Kim ve ark. dextransukraz ve alteransukraz kullanılarak bakteriyel selüloz modifikasyonunu tarif etmişlerdir.<sup>12</sup>



**Resim 5:** Bakteriyel selülozun kimyasal yapısı



**Resim 6:** Bakteriyel selülozun biyosentezi



**Resim 7:** a) *A. xylinum*' unda mikrofiberler ile b) bitkisel selülozdeki organizasyonunun elektron mikroskopuyla karşılaştırılması

Bakteriyel selüloz insan ve hayvanların çeşitli tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Xylos Corp. firması tarafından üretilen Prima Cel™ ülser tedavisinde yara kapatıcı olarak uygulanmıştır.<sup>39</sup> Biofill® and Gengiflex® tıbbi tedavilerde ve diş implantlarında bakteriyel selülozun ürünleri olarak kullanılırlar.<sup>37</sup> İkinci ve üçüncü derece yanıklarda, ülserde ve bunun gibi bazı özel durumlarda Biofill insan derisinin alternatifi olarak kullanılmaktadır.<sup>40</sup> Bakteriyel selüloz iyi biyoyumluluğu ve düşük konak inflamatuvar reaksiyonu gibi mükemmel mekanik ve biyolojik özellikleriyle yapay kan damarları, vasküler greft, suni deri, doku mühendisliği ve yara pansumanı gibi biyomedikal sahalarda çeşitli uygulamaları vardır.<sup>41</sup> Gengiflex ve Biofill'in daha ileri uygulamaları çeşitli yayınlarda gösterilmiştir.<sup>42</sup> Schmauder ve ark. atlardaki geniş yüzeyli yaralanmalarda bakteriyel selüloz uygulamalarını tanımlamıştır.<sup>16</sup> Tavşanlarla yapılan deneylerde, biyosentetik selüloz beyinde dura mater'in alternatifi olarak başarıyla uygulanmıştır.<sup>41</sup> İstenen şekillerdeki selüloz materyalleri gaz geçiren kalıplar sayesinde üretilebilir. White ve Brown Acetobacter'in in situ ortamda eldiven şeklinde kalıplaşmış dikişsiz ürünler üretebildiğini göstermişlerdir.<sup>43</sup> Bakteriyel selüloz, standart dikişsiz ürünler şeklinde üretilmesiyle farklı şekillerde üretilebilmiştir. Yamanaka ve arkadaşları bundan yola çıkarak, ortası çukur özelliğe sahip olan bakteriyel selüloz fibrillerini suni kan damarları ve üreter şeklinde kullanmışlardır.<sup>44</sup> Hızlı bir şekilde yanan bölgedeki ısıyı adsorblayarak acıyı ve ağrıyı azaltması, yara sahasına yapışması, ameliyat sonrası oluşabilecek rahatsızlıkları azaltması, antiinflamatuvar etkisi, yaraların kolayca muayene edilmesi, hızlı şekilde yaraları iyileştirmesi, eksüda tutması ve tedaviye ayrılan bütçe ve zamanı azaltması, bakteriyel selülozun olumlu özelliklerindedir.<sup>13</sup>

## **2.5. Yara iyileşmesi fizyolojisi**

Yara, fiziksel olarak doku bütünlüğünün bozulmasıdır. Yara iyileşmesi hücresel ve biyokimyasal olaylardan oluşan 3 aşamalı bir süreçten oluşur.<sup>45</sup>

- Hemostaz ve inflamasyon,
- Proliferasyon ( Granülasyon dokusunun formasyonu, anjiogenez ) ,
- Maturasyon ( Skar formasyonu, remodeling ).

### 2.5.1. Hemostaz ve İnflamasyon

Yaralanma anı ile başlayan bu aşamada, 3- 4' üncü güne kadar yara yerinde fibroblastlar görülür. İlk olarak yara bölgesindeki damarlarda vazokonstriksiyon oluşmasıyla koagülasyon başlamış olur. Travma sonucu damarların rüptüre olması ile subendoteliyal kollajen trombositler ile karşılaşır ve trombosit agregasyonu oluşur ve koagülasyon kaskadının aktivasyonu başlamış olur. Bu aktivasyonla beraber trombositlerden bazı sitokinler, serotonin, kallikrein ve büyüme faktörlerinin salınımı gerçekleşir. Salgılanan bu mediyatörlerin etkisi ile bir taraftan yara bölgesindeki kapillerlerde vazodilatasyon ve permeabilite artışı olurken diğer taraftan da yukarıda sayılan faktörlerin kemotaksis etkisi ile nötrofiller, fagositler ve diğer inflamatuvar hücreler yara bölgesine göç ederler ( migrasyon ) . Hücre göçü ile birlikte artmış vasküler permeabilite sonucu yarada proteinden zengin serum birikir. Hasarlı doku ile serum arasındaki ilişki sonucu kompleman sistemi aktive olur ( C3 ) ve bu da kemik iliğinden yeni nötrofil yapımını uyarır. Aynı zamanda çok kısa bir sürede ( 1- 2 dakika ) yara etrafındaki 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. Bundan sonraki aşamada nötrofillerden ziyade makrofajlar ve lenfositler kritik rol oynar. Makrofajlar debritleme, matriks sentezi ve anjiogeneziste ( neovaskülarizasyon ) rol alır. Makrofajlar laktat üretimi de yaparak anjiogenetik faktörlerin yapımı için uygun ortam sağlarlar.

Yaradaki makrofajların aktivasyonu sonucu sitokinlerin salınımı daha da artar ve angiogenesis uyarılır. Makrofajlar nitrik oksit salarak antimikrobiyal etki de gösterirler. Endotel hücreleri, trombositler, fibroblastlar ve monositler de nitrik oksit salgılayarak yarada sürekli nitrik oksit mevcudiyetini sağlarlar. Makrofaj kaynaklı sitokinler (özellikle Transforming Growth Factor-beta ( TGF- beta ) ikinci günden itibaren yaradaki fibroblastlarda fenotipik değişikliğe ve sayıca artmaya yol açarak esas olarak kollajen sentezini ve yara kontraksiyonunu sağlarlar. Lenfositler de makrofajlar gibi değişik hücre tipleri için kemotaktik faktörler üreterek iyileşmede süreklilik sağlarlar.

Makrofaj sayısı 3- 6' ncı günde pik yaparken lenfosit sayısı 8- 14' üncü günlerde daha fazladır. Matüre yaralarda henüz bilinmeyen bir mekanizma sonucunda makrofaj ve lenfositlere pek rastlanmaz. Yara iyileşmesinin bu erken fazında yaradaki oksijen basıncı iyileşmeyi etkileyen en önemli faktördür. Yaradaki oksijen basıncı 30 mmHg' in altına düşerse makrofajlar inaktive olur.<sup>45,46</sup>

### **2.5.2. Epitelizasyon**

Kısmi kalınlıklı yaralarda epitel hücreleri, yara ve kenarlardan karşılıklı hareketle epitelizasyonu sağlarlar. Tam kalınlıklı yaralarda epitel hücreleri kolaylıkla yara kenarlarından karşılıklı göç işlemini gerçekleştirirken alttaki dermal oluşumlarda iyileşme, çok daha uzun süre alabilir. Epitel iyileşmesi sağlıklı kişilerde 24- 48 saatte tamamlanabilir. Daha sonra epidermin bazal tabakası mitotik aktivite göstererek kalınlaşır. Ardından keratin üreterek normal deri rengini alır.

Keratin üreten ve epitelyum hücrelerinin atası olan keratinositler epitelizasyonun yanında koloni stimulan faktör ( CSF ), interlökin- 1, 3, 6 ve büyüme faktörü de salgılayarak yara iyileşmesine ek katkıda bulunurlar. Bu tip iyileşmede epitel altındaki bağ dokusu pek oluşmaz ve yara, minimal skar dokusu ile iyileşir.<sup>45</sup>

### **2.5.3. Proliferasyon Fazı Granülasyon Dokusunun Oluşması**

Bu faz yaralanmadan sonraki dördüncü günden başlar ve yaklaşık 21. günde tamamlanır. Bu fazın esas aktör hücreleri fibroblastlardır. Bu dönemin diğer bir önemli hücresi de endotel hücreleridir. Fibroblastlar çevredeki perivasküler bağ dokusundan yaraya doğru hücum ederler, endotel hücreleri ise yara etrafındaki sağlam venüllerden prolifer olurlar ve yeni kapillerlerin yapımını sağlarlar. Önceden salgılanmış olan büyüme faktörleri ve sitokinler bu hücrelerin aktivasyonundan sorumludurlar. Her ne kadar yara iyileşmesinin 1. gününde yarada az miktarda fibroblast bulunsa da esas olarak 4. günde aktive olurlar ve yüksek miktarda fibronektin ve daha sonra da kollajen, elastin ve glukozaminoglikan üretirler. Kontraksiyon yara iyileşmesinin normal bir safhası olup 8- 10. günlerde gelişmeye başlar ve yaranın kapanmasına yardımcı olur. Yaralanma sonucu yara alanında oluşan rölatif hipoksemi, neovaskülarizasyon için bir uyarandır. Fibroblast proliferasyonu ile birlikte anjiogenezis, granülasyon dokusunun ana bulgularıdır. Yara çevresindeki kapillerlerden başlayan neovaskülarizasyon 6- 7. günlerde tamamlanır.<sup>45</sup>

### **2.5.4. Matürasyon Fazı**

Bu dönemde esas olan kollajen sentezidir. Kollajen sentezinin yeni başladığı proliferasyon fazının son aşamasından, skar formasyonunun tamamlandığı zamana kadar devam eder ( 10. gün – 6. ay) .

Bu fazda sentezlenen kollajenin yanında, oluşan kollajenin yıkımı da söz konusudur. Yara iyileşmesinin en önemli safhasıdır. Çünkü bu fazın hızı, kalitesi ve oluşan matriksin miktarı skar oluşumunu direkt olarak etkilemektedir. Kollajen sentezi 14- 21'inci günlerde maksimaldir.<sup>45</sup>

### **2.5.5. Matriks Formasyonu**

Matriks yara içindeki hücre dışı yapıdır ve çoğunlukla protein yapısında moleküllerden oluşur. Tip 1 ve tip 3 kollajen, intersitisyel kollajen olup cildin major kollajenidir ve gerilme kuvvetinin oluşmasından sorumludur. Yaranın matürasyonu için kollajen sentezinin yanında, yıkım ve bu iki olay arasındaki denge de önemlidir.<sup>45</sup>

### **2.5.6. Skar Gelişmesi**

Yara iyileşmesinin son aşamasıdır.

### **2.5.7. Yara Kontraksiyonu**

Yara uçlarının birbirine yaklaşmasıdır. Sonunda skar dokusunun küçülmesi sağlanır.

Miyofibroblastların yara kontraksiyonundan sorumlu olduğu bilinmektedir.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Deney hayvanları

Çalışma Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 11.04.2015 tarihli ve '83. 2014. mar' numaralı onayı alındıktan sonra Marmara Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarı'ndan temin edilen 250-350 gram ağırlığındaki 30 Sprague Dawley dişi sıçan üzerinde gerçekleştirildi. ( **Resim 8** )

Deney hayvanları Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Laboratuvarında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusuna uyarak, sıcaklığın 23 derecede sabitlendiği bir ortamda, her biri ayrı çelik kafesler içinde barındırılarak, herhangi bir besin kısıtlaması içermeyen kuru yemle beslendi. Ayrıca sıçanlara her gün sabah akşam 5 cc subkutan % 5' lik dekstroz ( poliflex % 5 dekstroz, Polifarma ilaç San, Türkiye ) enjeksiyonu yapıldı. Çalışma FD 500 3. 5 x 420 loupe ile gerçekleştirildi. ( **Resim 9** ) Çalışma sırasında 30 sıçandan 4' ü hem bakteriyel selüloz hem primer suture kullanılarak gruptan çalışma süresini tamamlayamadan öldü ve çalışmadan çıkartıldı.

#### 3.2. Hayvanların hazırlanması ve deneysel işlem

Çalışmada 250 – 350 gr ağırlığında 5- 6 aylık 30 Sprague- Dawley dişi sıçana pre-anestezik 100 mg/kg ketamin hidroklorür ( Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye ) ve anestezik 10 mg/kg xylazine ( Rompun, Bayer, Almanya ) verilerek anestezi sağlandı. 30 dişi sıçan, her grupta 10' ar sıçan olmak üzere, üç gruba ayrıldı.

Çalışmada kullanılacak tüm sıçanların boynu tıraş edildi. Sıçan cerrahi masaya sırt üstü pozisyonda baş ekstansiyonda yatırıldı. Boyun orta hatta üst özofagus hizasına uygun şekilde 3 cm vertikal bir cilt insizyonu 15 numara bistüri ile yapıldı. ( **Resim 10** )

Cilt, cilt altı kaslar geçildi. ( **Resim 11** ) İnsizyondan sonra tiroid görüldü ve ekarte edildi. Tiroid ekarte edildikten sonra diseksiyonla beraber trakea görüldü ( **Resim 12** ) ve trakeanın altında özofagus bulundu. ( **Resim 13** ) Üst özofagus boyunca uzunlamasına 0. 5 cm insizyon yapıp genişletildi. Kanama kontrolü monopolar koter ile sağlandı. 30 denek hayvana faringoözofagotomi yapıldı.

Faringoözofagotomi yapıldıktan sonra içteki faringotomi insizyonu gevşek, cilt sıkıca dikildi. Uçlardaki ipler uzun bırakılarak oluşacak fistül ve sonrasında kapanma oranları makroskopik olarak ölçülmesi planlandı.

Kontrol grubunda içteki 0. 5 cm'lik faringoözafagotomi insizyonu 3. 0 vikril ile 1 dikiş atılarak gevşek şekilde kapatıldı. ( **Resim 14** ) 2. grup faringoözafagotomi insizyonu bakteriyel selüloz ( **Resim 15** ) kullanılarak kapatıldı. ( **Resim 16** ) 3. Grup faringoözafagotomi insizyonu hem bakteriyel selüloz hem 3. 0 vikril ile 1 dikiş kullanılarak kapatıldı. Tüm gruplarda en son cilt 3. 0 ipek ( **Doğsan, Türkiye** ) dikiş ile sıkıca kapatıldı. ( **Resim 17** )



**Resim 8:** Sprague Dawley dişi sıçan



**Resim 9:** FD 500 3.5 x 420 loupe



**Resim 10:** Boyun orta hatta 3 cm vertikal bir cilt insizyon yapılması.



**Resim 11:** Cilt insizyonundan sonra cilt altı kasların ekartasyonu.



**Resim 12:** Tiroid dokusu serbestlenerek medialize edilmesi ve trakeanın bulunması



**Resim 13:** Trakea altından özofagusun bulunması.



**Resim 14:** Üst özafagusa 5 mm insizyon yapılarak oluşturulan faringoözofagotomi sonrası 3. 0 vikril ile onarımı



**Resim 15:** Bakteriyel selüloz



**Resim 16:** Üst özafagusa 5 mm insizyon yapılarak oluşturulan faringoözofagotomi sonrası bakteriyel selüloz ile onarımı



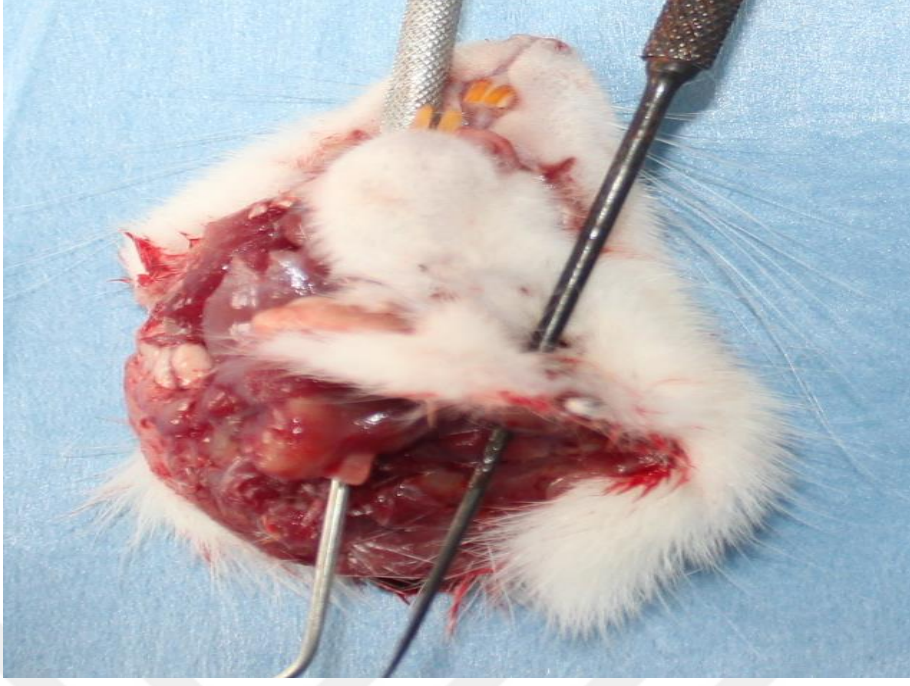
**Resim 17:** 3. 0 ipek ( Doğsan, Türkiye ) ile cilt süturasyonu



**Resim 18 a:** Postoperatif 3.gün sonunda faringokütanöz fistül oluşumu



**Resim 18 b:** Postoperatif 3.gün sonunda faringokütanöz fistül oluşumu



**Resim 19:** Dekapitasyon sonrası makroskopik fistül görünümü



**Resim 20:** Bakteriyel selüloz ile fistül iyileşmesinin makroskopik görünümü

Sıçanların FKF nedeniyle oral alımlarının yeterli olmaması ve kilo kaybı olduğu için deneklere hergün sabah akşam subkutan 5 cc %5'lik dekstrozu verildi. Her gün sıçanların boyunlarındaki değişiklikler, akıntı olup olmadığı, yara açılması olup olmadığı kaydedildi. Sıçanların kiloları sakrifikasyon sırasında tartıldı. Ortalama 3. günde hem 1. grup hem de 2. grup sıçanlarda boyunda akıntı ve yara yerlerinde açılma izlendi ( **Resim 18a, 18 b** ). 1. Grubun altısında, 2. grubun 3'ünde fistül gözlenirken 3. grupta fistül gözlenmedi. Çalışma sırasında hem bakteriyel selüloz hem primer sütür kullanılan grupta dört sıçan bir haftayı tamamlayamadan öldü ve çalışmadan çıkartıldı. Denekler 7 günün sonunda boyunları kesilerek sakrifiye edildi. Bütün gruplarda sıçanların larenksleri farinks ve üst özofagus ile cilt bütünlüğü bozulmadan eksize edildi.

Çıkartılan spesmenler 24 saat formaldehitte fikse edildikten sonra kesitlere bölünerek farinks ve özofagus ile cilt arasında fistül oluşumu makroskopik olarak değerlendirilerek skorlandı. Sıçanlarda fistül olan kısımlar etraflarındaki sağlam dokulardan eksize edildi. Fistülün cilt, cilt altı ve özofagusa uzanımı makroskopik olarak gözlemlendi ( **Resim 19, 20** ) ve ortasından geçen bir kesit alınarak bloklandı. Cilt altı ve özofagusta fistül oluşumu izlenmeyen olgularda, olgular insizyon hattından geçen kesit alınarak bloklandı. Bu işlem patolog ile birlikte yapıldı. Kasetlenen dokularda daha sonra otomatik doku takip cihazında ( Shanden exelsior ES ) 13 saat süre ile takip işlemi yapıldı. Bu işlemde dokulara sırasıyla ( 2 kez 30' ar dakika formaldehit, 6 kez 60' ar dakika alkol, 3 kez 60 dakika xylene, bir kez 60 dakika ve iki kez 80 dakika parafin ) uygulandı. Takip işleminden sonra parafine gömülen dokulardan 2 mikron kalınlıkta kesitler alınarak Hematoksilen&Eosin ile boyandı. Boyalı kesitler ışık mikroskopisi ile incelendi ( Olympus Bx- 50, Olympus Optical ). Her örnek patolojiye numaralandırılarak gönderildiği ve örneğin hangi gruba dahil olduğu bilinmediği için patoloğun kör değerlendirme yapması sağlandı.

Fibroblast yoğunluğu mikroskofta bir büyük büyütmede fibroblast hücre sayısı <5 minimal fibroblast yoğunluğu, 5- 15 arası orta derecede fibroblast yoğunluğu, 15- 50 yoğun , >50 çok yoğun fibroblast oluşumu şeklinde değerlendirilip sınıflandırıldı. Hücre depolanması yoğunluğunu mikroskofta bir büyük büyütmede hücre sayısı <5 az, 5-15 arası orta, 15- 50 arası yoğun ve >50 çok yoğun iltihabi hücre birikimi şeklinde değerlendirilip yapıldı. Anjiogenesisizde bir büyük büyütmede kapiller sayısına bakıldı; 1. grup anjiogenesisiz yok, 2. grupta orta yoğunlukta anjiogenesisiz olup 1- 5 arası kapiller sayısı mevcut, 3. grup 5- 10 arası kapiller sayısı olup yoğun anjiogenesisiz, 4. grup 10 < kapiller sayısı olup çok yoğun anjiogenesisiz oluşumu şeklinde değerlendirildi.

Çalışmada kullanılan parametreler:

- Makroskopik FKF kapanması değerlendirmesi
- Fibroblast yoğunluğu
- Kollajen oluşumu
- Hücre infiltrasyonu
- Anjiogenesisiz

### **3.3. İstatistiksel analiz**

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde oran, frekans değerleri kullanıldı. Değişkenlerin analizinde ki-kare test, ki-kare koşulları sağlanmadığında tek yönlü Anova testi kullanıldı. Analizlerde SPSS 16. 0 ( SPSS Inc. Chicago, IL, USA ) programı kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmada iki grup arasında 5 parametre karşılaştırıldı. 1. Grup hayvanlarda faringoözefagotomi yapıldıktan sonra 3. 0 vikril ( Ethicon) primer suture edilirken, 2. Grup bakteriyel selüloz kullanılarak, 3. grup hem bakteriyel selüloz hem 3. 0 vikril kullanılarak özofagus kapatıldı. 7 gün boyunca her gün makroskopik fistül takibi yapıldı. İstatistiksel analizlerde, makroskopik FKF kapanması, normalde yara iyileşmesi için gerekli olan fibroblast yoğunluğu, iltihabi hücre yoğunluğu, kollejen oluşumu, anjiogenezis bakımından fark olup olmadığına bakıldı.

##### **Makroskopik FKF kapanması değerlendirilmesi:**

Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra spesmenler parafin bloklara koyulmadan önce boyun bölgesinde açıklık olup olmadığı, tükürük veya yemek artığı olup olmadığına göre makroskopik olarak değerlendirme yapıldı.

1. grupta 10 sıçandan 6 tanesinde, 2. grupta 10 sıçandan 3'ünde fistül izlendi. Fistül oluşan sıçanlarda insizyon hattında ülserasyon ve boyunda yemek artığı izlendi. ( **Resim 18 a, 19 b** )  
3. grupta 6 hayvanın hiçbirinde fistül gözlenmedi. İstatistiksel analiz Ki kare test kullanılarak yapıldı. Makroskopik fistül daha çok 1. grupta görülürken, 2. ve 3. grupta anlamlı olarak (  $p = 0.047 < 0.05$  ) daha az görüldüğü izlendi. ( **Tablo 1, grafik 1** )



**Resim 21:** Makroskopik görüntü- boyunda fistül kapanmış.



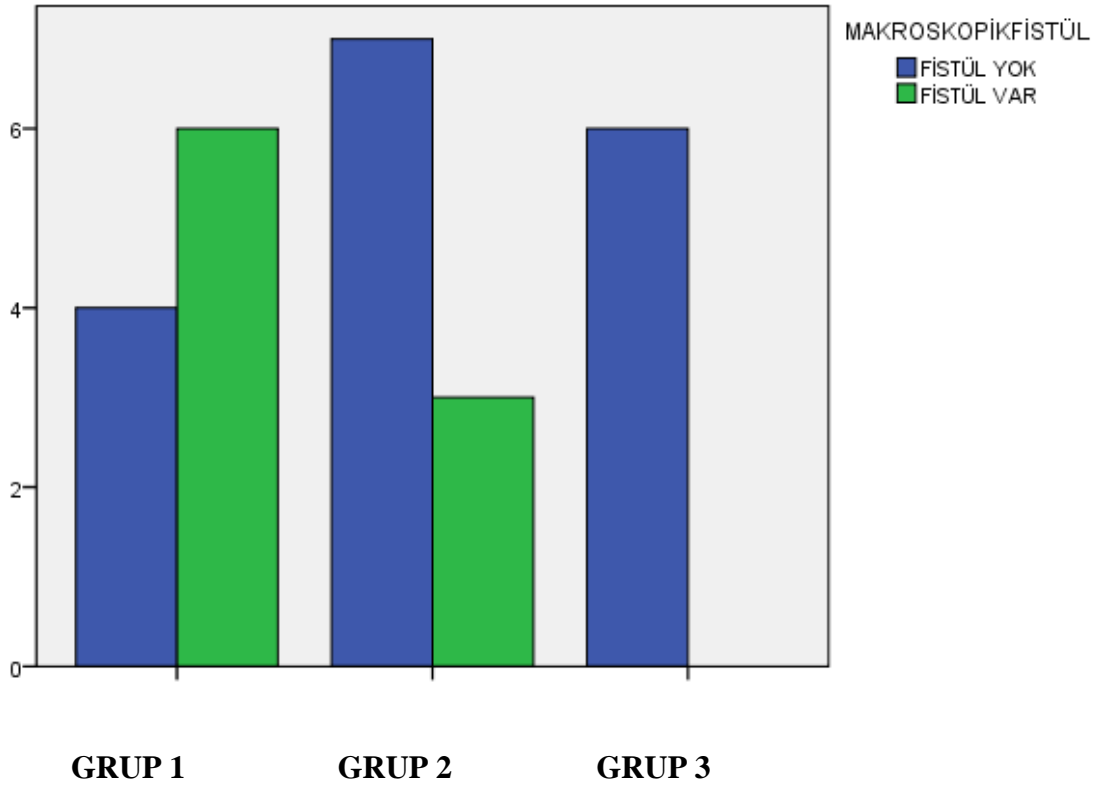
**Resim 22:** Makroskopik görüntü – boyunda apse oluşmuş

**Tablo 1**

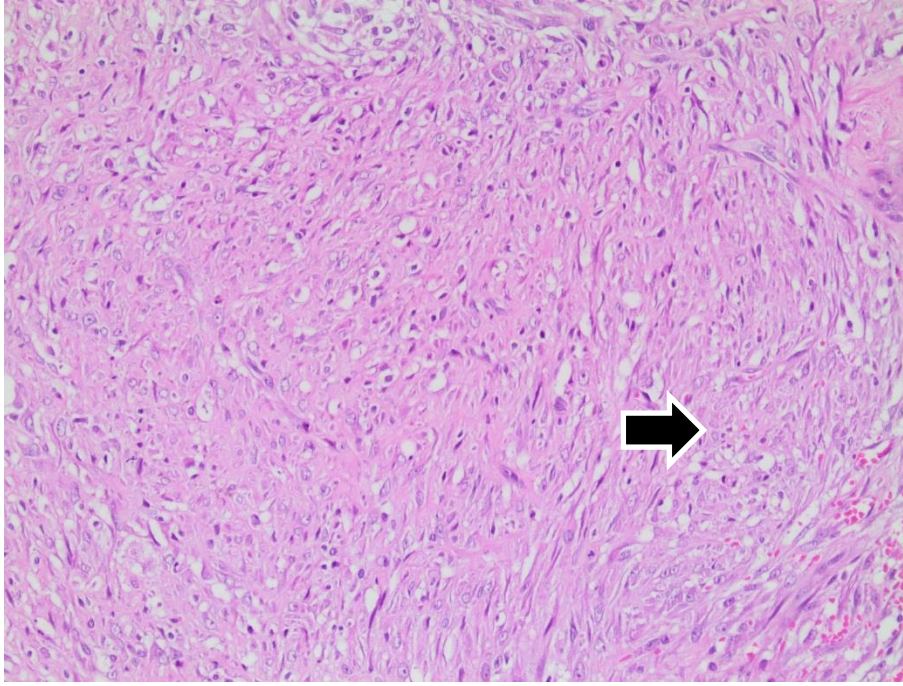
Gruplar	Makroskopik fistül				Total
	Fistül yok	%	Fistül var	%	
N	N		N		N
1	4	15,4	6	23,1	38,5
2	7	41,2	3	33,3	38,5
3	6	35,3	0	0	23,1
Total	17	65,4	9	34,6	100,0

N= sıçan sayısı

**Grafik1**



**Fibroblast yoğunluğu:** Mikroskopik incelemelerde fistül iyileşmesinde her üç çalışma grubu arasında fibroblast yoğunluğu açısından fark olup olmadığına bakıldı. 4 derece üzerinden değerlendirildi. 1. derece çok az fibroblast oluşumu; 2. derece orta düzey fibroblast oluşumu; 3. grup yoğun düzey fibroblast oluşumu; 4. grupta ise çok yoğun fibroblast oluşumu şeklinde değerlendirildi. ( **Resim 23** )



**Resim 23:** x 20 büyütme alanında fibroblast.

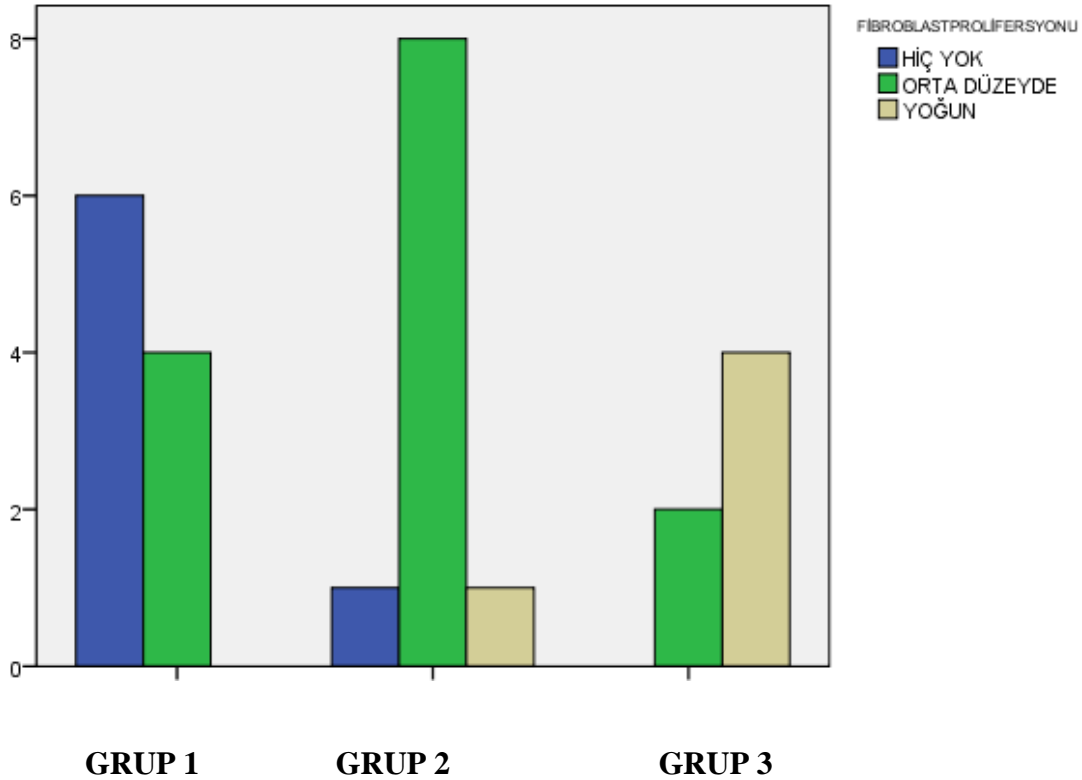
İstatistikler Ki kare testi ile yapıldı. Analizlerde fibroblast proliferasyonunun 3 grupta aynı şekilde dağılmadığını, hatta aralarında ileri derecede anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir (  $p < 0.0001$  ). Özellikle 1. grupta birinci derece (çok az seviyede fibroblast oluşumu) görülürken, 2. ve 3. grupta ikinci derece (orta düzey fibroblast oluşumu) izlenmektedir. Bu durum aşağıdaki “çubuk grafik”te de gösterilmiştir. ( **Tablo 2, grafik 2** ).

**Tablo 2**

		<b>GRUP 1</b>		<b>GRUP 2</b>		<b>GRUP 3</b>		<b>p</b>
		<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
<b>FİBROBLAST YOĞUNLUĞU</b>	<b>HİÇ YOK</b>	<b>6</b>	<b>23,1</b>	<b>1</b>	<b>14,3</b>	<b>0</b>	<b>7,7</b>	<b>&lt;0.0001</b>
	<b>ORTA DÜZEYDE</b>	<b>4</b>	<b>15,4</b>	<b>8</b>	<b>57,1</b>	<b>2</b>	<b>15,4</b>	
	<b>YOĞUN</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>20,0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	
	<b>ÇOK YOĞUN</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	

N= sıçan sayısı

**Grafik 2**



**Kollejen oluşumu:** Histopatolojik incelemelerde fistül iyileşmesinde her üç çalışma grubu arasında kollejen birikimi açısından fark olup olmadığına bakıldı. 4 derece üzerinden değerlendirildi. 1. derece çok az kollejen oluşumu; 2. derece orta düzey kollejen oluşumu; 3. derece yoğun düzey kollejen oluşumu; 4. derece ise çok yoğun kollejen oluşumu şeklinde değerlendirildi.

Her üç grupta da kollejen dağılımının anlamlı olmadığı (  $p=0.141 > 0,05$  ) görüldü. ( **Resim 24** ) (Tablo 3, grafik 3).

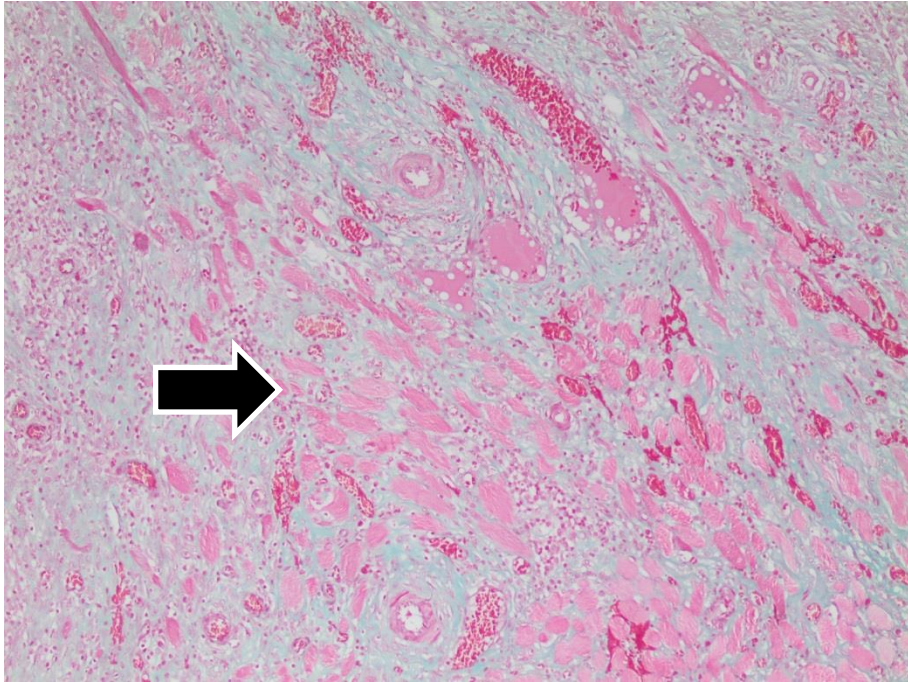
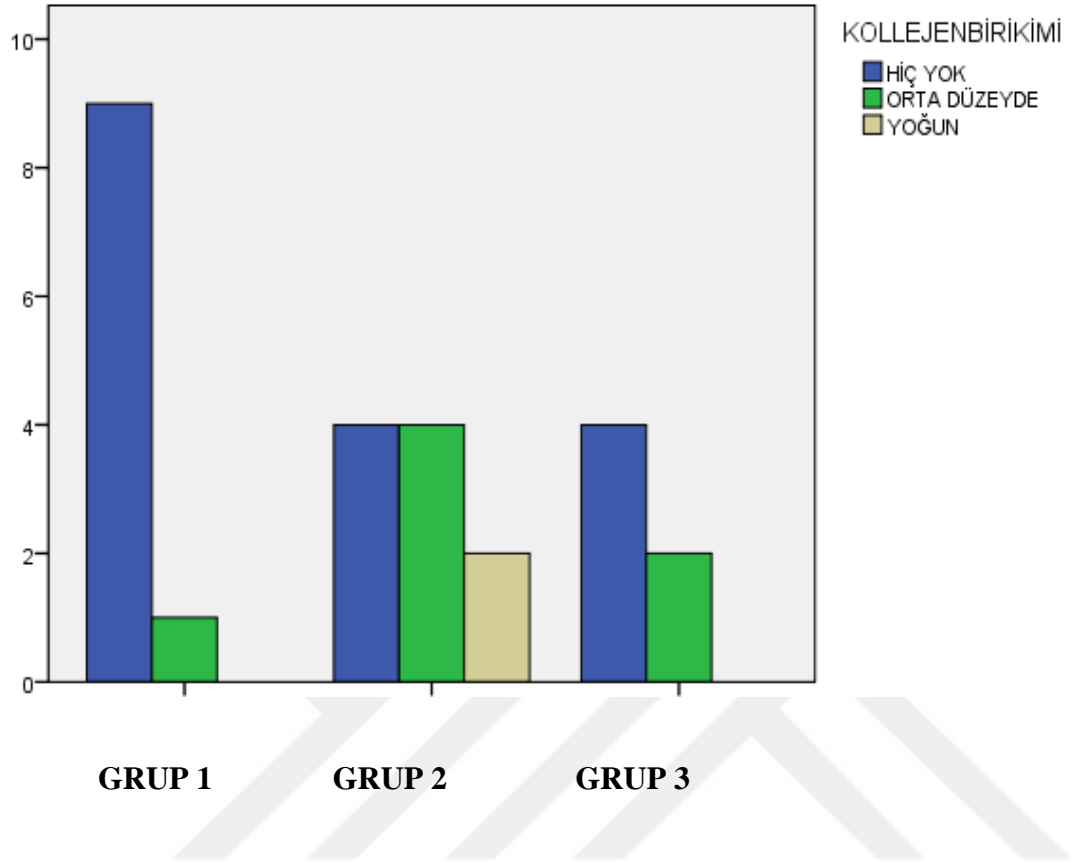
**Tablo 3**

		<u>GRUP 1</u>		<u>GRUP 2</u>		<u>GRUP 3</u>		p
		N	%	N	%	N	%	
<b>KOLLEJEN BİRİKİMİ</b>	<b>HİÇ YOK</b>	<b>9</b>	<b>34,6</b>	<b>4</b>	<b>15,4</b>	<b>4</b>	<b>15,4</b>	<b>0.141</b>
	<b>ORTA DÜZEYDE</b>	<b>1</b>	<b>3,8</b>	<b>4</b>	<b>15,4</b>	<b>2</b>	<b>7,7</b>	
	<b>YOĞUN</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>7,7</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	
	<b>ÇOK YOĞUN</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	

N= sıçan sayısı

**Ki kare testi**

**Grafik3**



**Resim 24:** x 200 büyütme alanında kollejen-masson trikom.

**İltihabi hücre depolanması:** Mikroskopik incelemelerde fistül iyileşmesinde her 3 grup arasında akut iltihabi hücre yoğunluğu açısından fark olup olmadığına bakıldı. 4 derece üzerinden değerlendirildi. 1. derece çok az aktif iltihabi hücre yoğunluğu oluşumu; 2. derece orta düzey aktif iltihabi hücre yoğunluğu oluşumu; 3. Grup yoğun düzey aktif iltihabi hücre yoğunluğu; 4. grupta ise çok yoğun aktif iltihabi hücre yoğunluğu şeklinde değerlendirildi. ( **Resim 25** )

Her üç grupta hücre depolanmasının anlamlı derecede farklı dağılım olduğu gözlenmiştir. (  $p=0.018$  ) Özellikle primer sütur kullanılan 1. grupta çok az aktif iltihabi hücre yoğunluğu görülürken, 2. grupta orta düzeyde aktif iltihabi hücre yoğunluğu ve 3. grupta da yoğun ve çok yoğun aktif iltihabi hücre yoğunluğu görülmektedir. Bu durum aşağıdaki “çubuk grafik”te görülmektedir. ( **Tablo 4, grafik 4** )

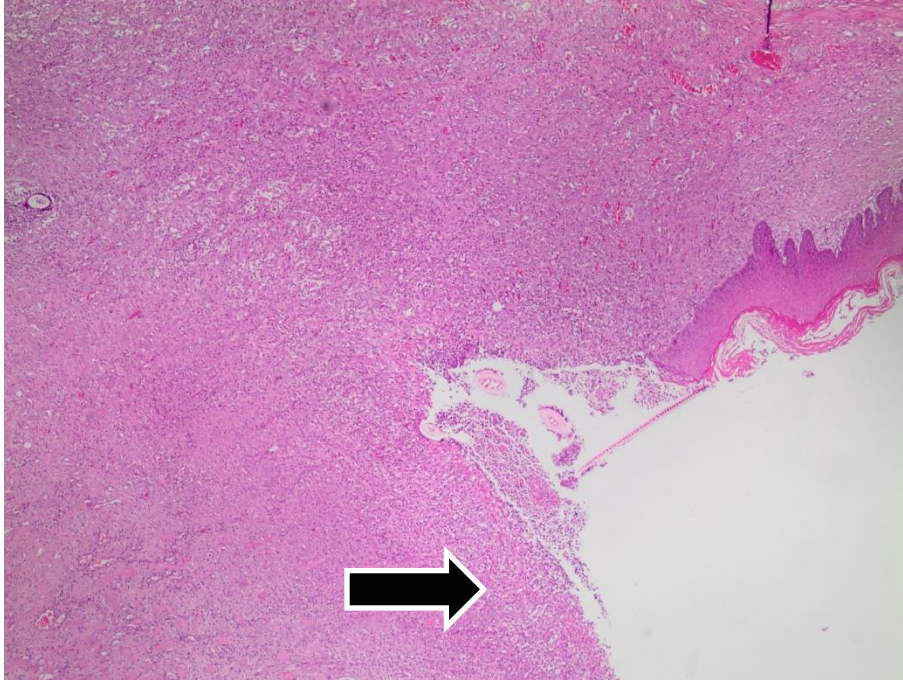
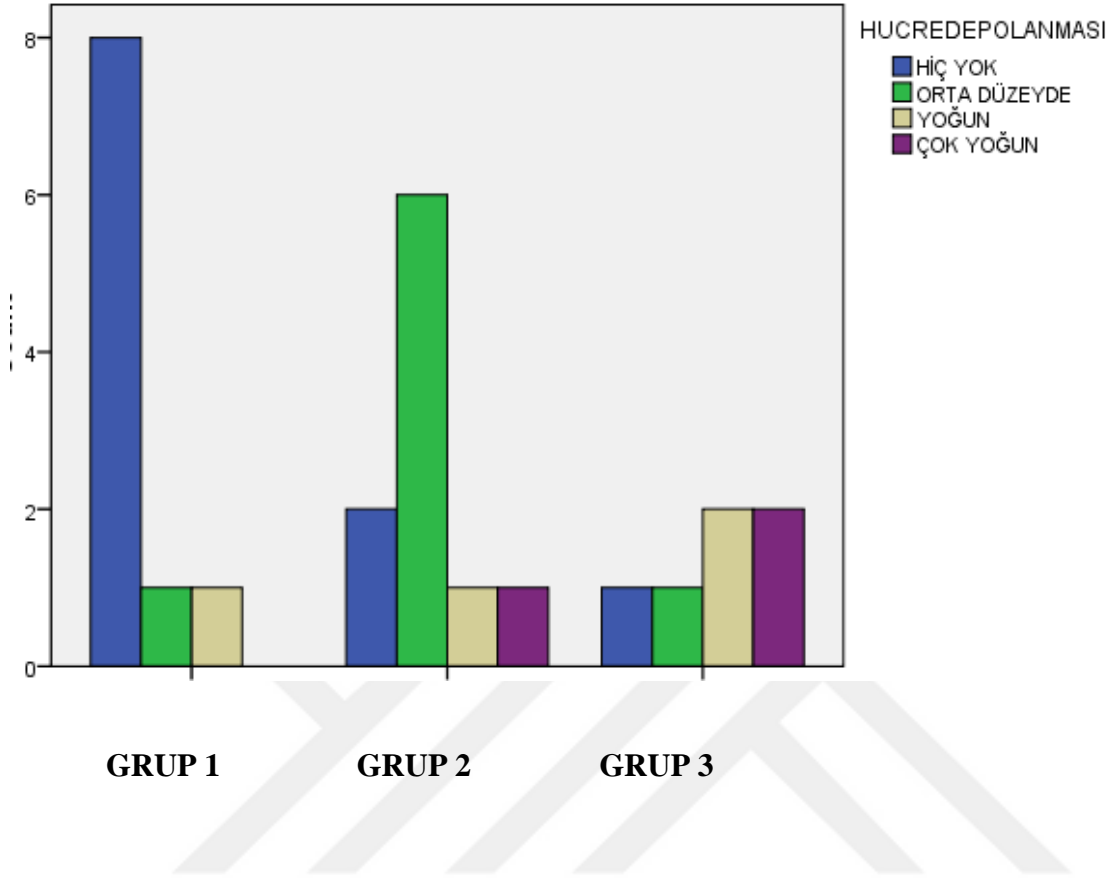
**Tablo 4**

		<b><u>GRUP 1</u></b>		<b><u>GRUP 2</u></b>		<b><u>GRUP 3</u></b>		<b>p</b>
		<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
<b>İLTİHABI HÜCRE DEPOLANMASI</b>	<b>HİÇ YOK</b>	<b>8</b>	<b>30,8</b>	<b>2</b>	<b>7,7</b>	<b>1</b>	<b>3,8</b>	<b>0.018</b>
	<b>ORTA DÜZEYDE</b>	<b>1</b>	<b>3,8</b>	<b>6</b>	<b>23,1</b>	<b>1</b>	<b>3,8</b>	
	<b>YOĞUN</b>	<b>1</b>	<b>3,8</b>	<b>1</b>	<b>3,8</b>	<b>2</b>	<b>7,7</b>	
	<b>ÇOK YOĞUN</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>7,7</b>	

N= sıçan sayısı

**Ki kare testi**

**Grafik4**



**Resim 25:** x 40 büyütme alanında İtihabi hücre depolanması

**Anjiogenez:** Histopatolojik incelemede her üç grup arasında yara iyileşmesinde anjiogenez oluşumuna bakıldı. ( **Resim 26** ) 4 derece üzerinden değerlendirildi. 1. derece çok az anjiogenez oluşumu; 2. derece orta düzey anjiogenez oluşumu; 3. derece yoğun düzey anjiogenez oluşumu; 4. derece ise çok yoğun anjiogenez oluşumu şeklinde değerlendirildi.

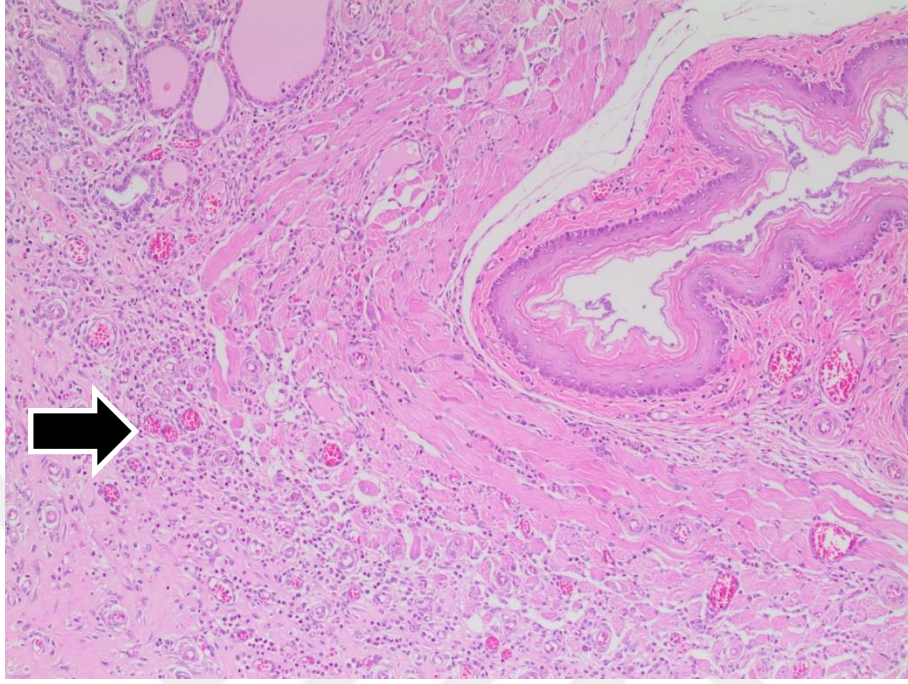
Yeni kan damarı oluşumunun gruplarda normal dağılıp dağılmadığını test etmek için, Kolmogrov- Smirnov testi uygulandı. Herbir grupta p- değeri  $p > 0.05$  çıktı . İstatiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ve tek yönlü Anova testi yapıldı. Nicel bir değişken olan yeni kan damarı oluşumuna ait ortamaların her 3 grupta da dağılımına bakıldı.

Her üç grupta anjiogenesis oranları arasında anlamlı (  $p = 0,880 > 0,05$  ) farklılık gözlenmedi ( **Tablo 5** ).

**Tablo 5**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	P değeri:Sig.
Between Groups	99,282	2	49,641	,129	,880
Within Groups	8851,333	23	384,841		
Total	8950,615	25			

**Anova tek yönlü test**



**Resim 26:-x 10 büyütme alanında neovaskülarizasyon formasyonu**

## 5.TARTIŞMA

FKF total larenjektomi sonrası en sık görülen komplikasyondur.<sup>47</sup> Günümüzde özellikle ileri evre larenks ve hipofarenks kanserinde ise organ koruyucu yaklaşım yaşam kalitesi açısından öncelikli olarak tercih edilmesiyle beraber kemoradyoterapi yaygınlaşmıştır. Larenjektominin kurtarma cerrahisi olarak uygulanmasıyla beraber yara yeri komplikasyonları ve FKF giderek artan bir endişe haline gelmiştir.<sup>48</sup> Yara iyileşmesiyle ilgili komplikasyonların oluşumunda diyabet, hipotiroidi, radyasyon dozu ve kemoterapi gibi birçok neden rol oynamaktadır.<sup>49</sup> Ayrıca yara amilaz düzeylerinde artışın FKF için prediktif bir rol oynadığı literatürde gösterilmiştir.<sup>50</sup>

Total larenjektomi sonrası FKF oluşumunu engellemek için birçok yazar oral beslenmeye 7 ile 10. gün arasında başlamayı tercih etmektedir. Saydam ve arkadaşları, Soylu ve arkadaşları postoperatif ilk günde bile oral beslenmeye başlanmasının fistül oluşturmadığını göstermişlerdir.<sup>51,52</sup>

Sousa ve arkadaşları erken oral beslenmenin FKF insidansını arttırmadığını gösterilmiştir.<sup>53</sup> Stephenson ve arkadaşları perioperatif proton pompa inhibitörü kullanımının total larenjektomi sonrası oluşan FKF insidansını azalttığını kanıtlamışlardır.<sup>54</sup> Faringokütanöz fistülde literatürde yapılan çalışmalar öncelikle risk faktörleri ve önlemleriyle ilgili olmuştur. FKF tedavisiyle ilgili ise ön planda free flep veya pektoralis major ve deltopektoral flep gibi kaslı cilt flepleri ile fistülün kapatılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır.<sup>55-57</sup>

FKF tedavisinde genel kabul gören kesin bir algoritma olmamasına rağmen, konservatif ve cerrahi yöntemler tanımlanmıştır. FKF oluştuğunda parenteral beslenmenin başlanması veya nazogastrik beslenmeden biri seçilir. Glikopironyum bromür ve skopolamin gibi parasempatikler kullanıldığı gibi botolium toksin enjeksiyonu ve Montgomery tüp gibi hipofaringeal tüplerde kullanılmaktadır.<sup>58, 59, 60</sup>

Konservatif yöntemler ile, % 70 hastada FKF iyileşmekteyken geri kalan hastalardaysa persistan fistül nedeniyle cerrahiye gereksinim duyulmaktadır.<sup>26,27</sup> Özellikle konservatif yöntemlerle kapanması beklenmeyen geniş defektlerde cerrahi yöntemlerin endikasyonu vardır.

Jakubowicz ve arkadaşları rekombinan PDGF-BB olan becaplermini iki hastada topikal olarak uygulamışlar ve hızlı iyileşme gözlemlemişlerdir.<sup>61</sup>

Weiss ve ark. fibrin/ trombin kaplı kollejen yama olan TachoSil® kullanarak üç hastada FKF kapanmasını değerlendirmişler ve yara iyileşme sürecinin tüm hastalarda hızlı ve kolay olduğunu göstermişlerdir.<sup>62</sup> FKF'ün kapatılmasına yönelik yapılan sınırlı çalışmalardan bir tanesinde, Wiseman ve ark. FKF'ü olan bir hastada mukozayı primer kapatıp üzerine fibrin glue sıkmış ve hastanın takiplerinde FKF 'ün kapanmış olduğu izlenmiştir.<sup>27</sup> Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalardan farklı olarak, literatürdeki bakteriyel selüloz yayınlarından yola çıkarak FKF kapanmasında flep ile rekonstruksiyon yerine, bakteriyel selüloz kullanılmış ve primer suture göre etkisi karşılaştırılmıştır. Yara iyileşmesi koagülasyon kaskadının aktivasyonu ile başlayan kompleks bir kaskadı içerir ve inflamatuvar hücreleri takiben parankimal ve bağ dokusu hücrelerinin proliferasyonu ve göçü izler. Anjiyogenez, hücre dışı matriks sentezi, kollajen depolanması ve doku yenilenmesi tüm yaralı dokuların iyileşme sürecinde dikkat edilmiştir.<sup>63</sup>

Yara iyileşme araştırmalarında hedef alınan üç temel yol vardır: a) yara iyileşmesini hızlandırmak ve skar oluşumunu azaltmak b) yeni cilt derisinin otograft cilt kadar güzel oluşturmak c) direkt iyileştirmek yerine rejenerasyonun iyileşme sürecini tetikleyen sinyalleri arttırmak. Modern yara iyileşme sistemlerinin mevcut durumu, genel olarak yara örtüsü için kullanılan malzemeler yara enfeksiyonu ve sıvı kaybına karşı bir bariyer sağlayarak epidermal rejenerasyonu için optimal ortam oluşturmak gerektirmektedir. Birçok farklı biyolojik ve sentetik yara pansumanları, cerrahi ve cerrahi olmayan lezyonları tedavi etmek için geliştirilmiştir.<sup>64-66</sup>

Tıp alanında bakteriyel selüloz 1980' de ilk kez Brown tarafından yara bakımında kullanılmıştır.<sup>21</sup> 1990' da Fontana ve arkadaşları Acetobakter tarafından sentezlenen selülozun değişen kalınlıkta geçici cilt şeklinde uygulandığını ilk kez rapor etmişlerdir.<sup>40</sup>

Biofill olarak bazal hücreli karsinom / deri grefti, şiddetli vücut yanıklar, yüz peeling, dikişler, dermal abrazyonlar, deri lezyonları, kronik ülserler ve hem donör hem alıcı yerlerdeki deri greftleri gibi deri yaralanmalarının tedavilerinde kullanılır olmuştur.<sup>40</sup> Kronik yaraların tedavisinde selülozdan yapılmış yara greftleri uygulamaları diğer mevcut yara iyileştirici malzemelere göre üstün özelliklere sahip oldukları son raporlarda bildirilmiştir. Kucharzewski ve ark. kronik venöz ülserleri tedavi etmede bakteriyel selüloz ile Unna hidrokolloidini karşılaştırmışlar ve bakteriyel selülozun daha etkin olduğunu göstermişlerdir.<sup>67</sup> Czaja ve ark. Polonya’ da 2. derece A/ B yanıkları olan hastalarda ıslak bakteriyel selülozun klasik yara pansumanları ile karşılaştırmışlar ve tamamen biyoyumlu olması, dışarıya aşırı bir sıvı kaybını çok iyi engellemesi nedeniyle bakteriyel selülozun yara iyileşmesi sürecini daha çok hızlandığını göstermişlerdir.<sup>68</sup> Mello ve arkadaşları köpeklerde yaptıkları çalışmada menenksler için fiziksel özellikleri ve düşük inflamuar cevaptan dolayı alternatif bir yama olduğunu göstermişlerdir. Yine Mello ve arkadaşları büyük arterlerde oluşan stenoza önlemek için intravaskular stent olarak bakteriyel selülozu köpekler üzerinde göstermişler ve başarılı olmuşlardır.<sup>69</sup>

Bakteriyel selüloz ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda bakteriyel selülozun yara iyileşmesinde olumlu sonuçlar vermiş olduğu görülmüşse de, literatürde larenjektomiler sonrası oluşabilen FKF kapanmasında bakteriyel selülozun kullanıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma FKF tedavisinde, bakteriyel selülozun kullanıldığı ilk çalışmadır.

Bu çalışmaya en yakın yapılan çalışmada, Moon Hwa Kwaka, yanık yaralarının iyileşmesi üzerine Sprague-Dawley sıçanlarda 15 gün boyunca bakteriyel selülozun etkinliğini araştırmışlardır.<sup>70</sup>

15 gün sonunda cildin yenilenmesinin değerlendirilmesi ve anjiyojenez ilişkisi incelendiğinde bakteriyel selüloz karaciğer ve böbrek karşı herhangi bir özel toksisite uyarmaksızın anjiyogenez ve bağ dokusu oluşumunun düzenlenmesi yoluyla sıçanların yanık yaralanması deride yara iyileşme sürecini hızlandırdığını göstermişlerdir.<sup>70</sup> Bu çalışmada, epidermis ve dermis kalınlığı ve kan damarlarının sayısı bakteriyel selüloz ile tedavi edilen grupta daha yüksek iken, deri iyileşme şiddeti skoru, tüm zaman noktalarında gaz ile örtülen gruba göre bakteriyel selüloz ile tedavi edilen grupta daha düşük bulunmuştur. Ayrıca, bakteriyel selüloz ile tedavi edilen grupta infiltre mast hücreleri sayısında önemli bir azalma olduğu ve vasküler endotelial büyüme faktörü ( VEGF ) ve Anjiyopietin- 1 ( Ang- 1 ) üretimi 10- 15. günler arasında gözlenmiştir. Dahası 5. Günde bakıldığı gaz ile kapatılan gruba göre bakteriyel selüloz ile kapatılan grupta kollajen ekspresyonunda önemli bir yükselme saptanmasına rağmen 10-15. günlerde bu grupta düşük seviyelerde olduğu fark edilmiştir. Bununla birlikte, bakteriyel selüloz ile tedavi edilen gruptaki sıçanların serumunda, karaciğer ve böbrek toksisitesini gösteren enzim değerleri gaz ile muamele edilmiş sıçanların serum değerleriyle uyumlu seviyelerde muhafaza edilmiştir. Bizim çalışmamızda da kollejen oluşumu bakteriyel selüloz kullanımıyla artmış, hem primer suture hem bakteriyel selüloz ile tedavi edilen grupta en yüksek seviyede bulunmuş fakat anjiopietin- 1 ( Ang- 1 ) ve VEGF bakılmamıştır.

Helenius ve ark. sıçanlarda subkutan bakteriyel selluloz 1, 4 ve 12 hafta boyunca implante etmişler ve kronik enflamasyon, yabancı cisim reaksiyonu, hücre büyümesi ve anjiyojenez, histoloji, immünohistokimya ve elektron mikroskopi kullanılarak değerlendirilmiştir.<sup>71</sup> Fibroblast akut veya kronik herhangi bir inflamatuvar reaksiyona sebep olmamıştır. Mikroskopik veya makroskopik inflamasyona ait belirti görülmemiştir. Anjiogenez tüm zamanlarda görülmüş ve implante edilen selüloz içine yeni kan damarlarının büyüdüğü izlenmiştir.

Bizim çalışmamızda bakteriyel selüloz ile kapatılan grupta fibroblast düzeyi ve aynı zamanda iltihabi hücre depolanması da anlamlı derecede artmış gözlenmiştir. Bununla birlikte bu çalışmanın aksine anjiogenez seviyesinde her üç grupta da anlamlı fark saptanmamıştır.

Çalışmada FKF kapanmasının makroskopik değerlendirmesinde sıçanlar sakrifiye edildikten sonra boyunda tükrük ve yemek artığı birikimi olup olmadığı, yara yerinde açıklık olup olmadığı değerlendirilerek skorlandı. Primer sütür ile kapatılan birinci grupta 6 sıçanda FKF izlendi. Bakteriyel selüloz ile kapatılan ikinci grupta 3 tane sıçanda FKF izlenirken hem primer sütür hem bakteriyel selüloz ile kapatılan üçüncü grupta 6 sıçanın hiçbirisinde FKF izlenmemiştir. İstatistiksel analiz sonucu, hem primer sütür hem bakteriyel selüloz ile kapatılan üçüncü grupta anlamlı olarak ( $p = 0.047 < 0.05$ ) daha iyi olduğu gösterildi. Yara iyileşmesinde 4. günden sonra hücre proliferasyonu ile beraber granülasyon fazı başlar. Granülasyonun başlamasıyla birlikte ortamda fibroblast yoğunluğunda artış olurken endotel hücrelerde ve anjiogenezde de artma olur.<sup>75</sup> Çalışmamız, yedi gün sürdüğü için akut ve kronik iltihabi hücre ayırımı net yapılamamıştır. Fibroblast yoğunluğunda granülasyon dokusu oluşumuna bağlı olarak artmış izlendi. Fakat, iltihabi hücre depolanması ( $p = 0,018 < 0,05$ ), fibroblast yoğunluğu ( $p < 0,001 < 0,05$ ) açısından hem primer sütür hem bakteriyel selüloz ile kapatılan üçüncü grupta primer suture göre anlamlı bir fark gösterilmiştir.

Kollejen oluşumuyla birlikte fibroblast yoğunluğunda da artış beklenmektedir.<sup>72</sup> Çalışmada hem bakteriyel selüloz hem primer sütür ile kapatılan grupta kollejen oluşumunun primer sütür ile kapatılan gruba göre anlamlı bir fark gözlenmemesine rağmen, fibroblast yoğunluğu açısından fark gözlenmiştir. Bakteriyel selülozun yara iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı diğer çalışmalarda kollejen oluşumuyla birlikte fibroblast yoğunluğunda da artma gösterilmiştir.<sup>73</sup> Bu çalışmada, gruplar arasında yoğun fibroblast oluşumuna rağmen, kollejen oluşumunun anlamlı bir fark olmadığı izlendi. Bu bakteriyel selülozun fibroblast oluşumunu arttırmasına rağmen kollejen oluşumunu arttıramadığını düşündürmektedir.

Bir başka düşünce de, bakteriyel selülozun ortamda bulunan tükrüğün fibroblast üzerine olumsuz etkisini inhibe edemeyip kollejen oluşumunu yeterince arttıramadığını göstermektedir. Bunun açıklayabilmek için tükrüğün fibroblast üzerine etkisinin araştırılması ve kollejen sentezine etkisini inceleyen farklı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, literatürdeki bakteriyel selüloz ile ilgili yapılan çalışmalardan farklı olarak fistül alanında anjiogenezise bakıldı. Her ne kadar literatürde yara iyileşmesi, yanık tedavisinde bakteriyel selülozun kullanıldığı birçok çalışma yapılmış olsa da, FKF' le ilgili yapılan çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmalarda bakteriyel selülozun anjiogenez üzerine olumlu etkisi gösterilmiştir.<sup>70,71,74</sup> Çalışmamızda, FKF kapanmasında her üç grup arasında anjiogenez açısından fark olup olmadığına bakıldı. Yapılan analizler sonucu iki grup arasında anjiogenez açısından diğer çalışmaların aksine anlamlı fark ( $p = 0,880 > 0,05$ ) gösterilemedi.

Normalde granülasyon dokusu oluşumunda kollejen artışı ile birlikte anjiogenezisde artış beklenen bir sonuç olmasına rağmen çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilmedi. Bu durum bakteriyel selüloz ile yapılan diğer çalışmaların anjiogenezde olumlu etkisinin olmadığını gösteren ilk çalışmadır.

FKF' le ilgili yapılan çok fazla hayvan çalışması literatürde olmamasına rağmen bir çalışmada Shih An Liu , faringoözafagotomi yaptığı 1. grup farelerde sütür materyali olarak vikril, 2. grupta prolen, 3. grupta ise vikril ile beraber fibrin yapıştırıcısı enjekte etmiştir. Yedi gün sonunda yapılan incelemede prolen kullanılan grupta, vikril kullanılan gruba oranla daha az fistül oluştuğunu göstermişlerdir.<sup>75</sup> Bu çalışmada Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmış ve fistül oluşturulmuştur.

Bu çalışmada FKF ortalama üçüncü günde oluşmuştur. Bizim çalışmamızda da Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmış ve ortalama üçüncü günde FKF oluşmuştur. Bu çalışma bundan sonraki hayvan FKF çalışmaları için yol gösterici bir model özelliği taşımaktadır.

## 6.SONUÇ

Çalışmamızda sıçan FKF modelinde, makroskopik değerlendirmelerde FKF kapanmasının bakteriyel selüloz verilen grupta primer suture grubuna göre anlamlı olarak daha iyi olduğu gösterildi. Bakteriyel selüloz ile kapatılan grupta fibroblast yoğunluğunun primer suture göre anlamlı olarak daha fazla olmasına karşın kollejen oluşumunda anlamlı olarak dağılmadığı gösterildi. Fibroblast yoğunluğu ile ilgili istatistiksel sonuçlar, literatürde bakteriyel selülözün yara iyileşmesine etkisiyle benzer sonuçlar verip kollejen oluşumunun arttığı izlendi. Diğer yapılan çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada primer suture ve bakteriyel selüloz arasında yara iyileşmesi ve granülasyon dokusu oluşumunda kollejen açısından fark gösterilemedi.

FKF' de o bölgede yara dehisansı ve yara nekrozu nedeniyle yara iyileşmesi diğer bölgelere göre daha zor olmakta ve zaman almaktadır. Son zamanlarda bakteriyel selüloz ile ilgili yara iyileşmesi, yüksek biyouyumluluğu, doku grefti olarak kullanılabilmesi FKF kapanmasında da bakteriyel selülözün yararlı olabileceği hususunda umut vaat etmektedir. Bununla birlikte bakteriyel selüloz FKF kapanmasında yeni bir alternatif olarak görülmekle birlikte klinik uygulamaları değerlendirmek için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Aslam M. J. , Ahmed Z. , Aslam M.A. ; Complications of total laryngectomy; Pakistan Journal of medical science; March 2006, Volume 22; 876-890
2. Gollo A, Moi R, Simonelli M, Vitolo D, Fiorella ML, Marvaso V. Salvage resection after previous laryngeal surgery: Total laryngectomy with en bloc resection of the overlying cervical skin. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2001; 127:786-9.
3. Ganly I, et al; Postoperative Complications of Salvage Total Laryngectomy; 2005 American Cancer Society, May , 2005 , Volume 103 , Number 10; 273-281
4. Wengen DF, Donald PJ. Complications of radical neck dissection. In: Shockley WW, Pillsbury HC eds. The Neck: Diagnosis and Surgery. Missouri: Mosby, 1994:483-509.
5. Cavalot AL, Gervasio CF, Nazionale G, Albera R, Bussi M, Staffieri A, et al. Pharyngocutaneous fistula as a complication of total laryngectomy: Review of the literature and analysis of case records. Otolaryngol Head Neck Surg 2000; 123:587-92.
6. Virtaniemi JA, Kumpulainen EJ, Hirvikoski PP, Johansson RT, Kosma VM. The incidence and etiology of post laryngectomy pharyngocutaneous fistulae. Head and Neck Surg 2001; 23(1): 29-33.
7. Volling P, Singlemann H, Ebeling O. Incidence of salivary fistulae in relation to timing of oral nutrition after laryngectomy. Head & Neck Oncology 2001; 49(4): 276-82.
8. Palomar-Asenjo V, and et al; Pharyngocutaneous Fistula Following Total Laryngectomy. A Case-Control Study of Risk Factors Implicated in its Onset; Acta Otorrinolaringol Esp. 2008;59(10):480-4

9. Aprigliano F, Pires de Mello LF; Surgical Treatment of Laryngeal Cancer. Analysis of 1055 Cases; International Archives of Otolaryngology; 2006, Vol. 10, Num. 1;283-302
10. Chee N, Siow JK. Pharyngocutaneous fistula after laryngectomy: Incidence, predisposing factors and outcome. Singapore Med J 1999; 40(3): 130-2.
11. Grau C, Johansen LV, Hansen HS, Andersen E, Godballe C, Andersen LJ, et al. Salvage laryngectomy and pharyngocutaneous fistulae after primary radiotherapy for head and neck cancer: a national survey from DAHANCA. Head Neck. 2003;25: 711-6.
12. Kim D, Kim YM, Park MR, Park DH. Modifications of *Acetobacter xylinum* bacterial cellulose using dextransucrase and alternansucrase. J Microbiol Biotechnol 9(6):704-8, 1999
13. Klemm D, Kramer F, Moritz S, Lindström T, Ankerfors M, Gray D, Dorris A. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. Angew Chem Int Ed Engl. 2011 Jun 6;50(24):5438-66.
14. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. 2. Basım, s. 391-392, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2013.
15. Baran, C. N. , Tiftikçioğlu, Y. O. , ve Baran, N. K. The use of alloplastic materials in secondary rhinoplasties: 32 years of clinical experience. Plast. Reconstr. Surg. Oct; 116(5):1502-16, 2005.
16. Schmauder H-P, Frankenfeldt K, Lindner B, Hornung M, Ludwig M, Mu"lverstedt A. Bakterienzellulose - ein inter- essantes biomaterial. Bioforum 23(7/8):484-6, 2000

17. Kucharzewski M, Slezak A, Franek A. Topical treatment of nonhealing venous ulcers by cellulose membrane. *Phlebologie* 2003; 32: 147–51.
18. Global cancer statistics, 2002. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. *CA Cancer J Clin.* 2005 Mar-Apr; 55(2):74-108.
19. Gallus S, Bosetti C, Franceschi S et al. Laryngeal cancer in women: tobacco, alcohol, nutritional and hormonal factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003 June; 12(6)514-7)
20. Stevens A, Lowe J. *Pathology.* London: Mosby, 1995;212-7)
21. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. *Pathology And Genetics of Head and Neck Tumors* International Agency for Research on Cancer press Lyon; p: 108-162; 2005
22. Kaya S. Larenks Kanseri; Bölüm:17. In: *Larenks hastalıkları.* Bilimsel tıp yayınevi, Ankara, 2002; 539-558
23. Nunez DA, Astley SM, Lewis FA, Wells M. Human papilloma viruses: A study of their prevalence in the normal larynx. *J Laryngol Otol.* 1994; 108(4); p: 319-320
24. Rihkanen H, Peltomaa J, Syrjanen S. Prevalence of human papillomavirus (HPV) DNA in vocal cords without laryngeal papillomas. *Acta Otolaryngol.* ; 114(3); p: 348-351; 1994
25. Mills SE, Fechner RE. Larynx and pharynx. In: Sternberg SS (Ed) *Histology For Pathologists.* 2th ed. Lippincott-Raven, China, 1997: 391-403.
26. Redaelli de Zinis LO, Ferrari L, Tomenzoli D, et al: Postlaryngectomy pharyngocutaneous fistula: Incidence, predisposing factors, and therapy. *Head Neck* 21: 131-138, 1999
27. Wiseman S. , MD, Hicks W, Jr, DDS, MD, et al; Fibrin Glue–Reinforce Closure of Postlaryngectomy Pharyngocutaneous Fistula; *Am J Otolaryng.* 2002;23: 368-373.
28. Brown, A.J. On an acetic ferment forms cellulose. *J. Chem. Soc.* 1886, 49, 432-439

29. Kabel, M.A. ; van den Borne, H. ; Vincken, J.P. ; Voragen, A.G.; Schols, H.A. Structural differences of xylans affect their interaction with cellulose. *Carbohydr. Polym.* 2007, 69, 94–105.
30. Hsieh, Y.C. ; Yano, H. ; Nogi, M. ; Eichhorn, S.J. An estimation of the Young's modulus of bacterial cellulose filaments. *Cellulose* 2008, 15, 507–513.
31. Yoshinaga, F. , Tonouchi, N. , Watanabe, K. 1997. Research progress in production of bacterial cellulose by aeration and agitation culture and its application as a new industrial material. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 61(2):219-224.
32. Klemm, D. , Schumann, U. , Udhardt, U. and Marsch, S. 2001. Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in Polymer Science*, 26(9):1561-1599.
33. Krystynowicz, A. , Galas, E. and Pawlak, E. 1997. Method of bacterial cellulose production. Polish Patent, P-299907.
34. Okamoto, T. , Yamano, S. , Ikeaga, H. and Nakamura, K. 1994. Cloning of the *Acetobacter xylinum* cellulase gene and its expression in *Escherichia coli* and *Zymomonas mobilis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 42(4): 563-568.
35. Yamanaka, S. and Sugiyama, J. 2000. Structural modification of bacterial cellulose. *Cellulose*, 7(13), 3: 213-225.
36. Vandamme, E.J. , De Baets, S. , Vanbaelen, A. , Joris, K. , De Wulf P. 1998. Improved production of bacterial cellulose and its application potential. *Polymer Degradation and Stability*, 59(7), 1: 93-99.

37. Jonas, R. and Farah, L.F. 1998. Production and application of microbial cellulose. *Polymer Degradation and Stability*, 59: 101-106, 1998
38. Johnson, D.C. and Neogi, A.N. 1989. Sheeted products formed from reticulated microbial cellulose. US Patent, 4863565
39. Çoban E P, Bıyık H. H. Asetik Asit Bakterilerinden Elde Edilen Alternatif Selüloz *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi* 06: 2 Sayfa: 19-26, 2008
40. Fontana JD, De Souza AM, Fontana CK, Torriani IL, Moresch JC, Gallotti BJ. *Acetobacter cellulose pellicle as a temporary skin substitute. Appl Biochem Biotechnol* Spring-Summer 24-25: 253-64, 1990
41. Xu C, Ma X, Chen S, Tao M, Yuan L, Jing Y. Bacterial cellulose membranes used as artificial substitutes for dural deflection in rabbits. *Int J Mol Sci.* 2014 Jun 16;15(6):10855-67
42. Slezak A, Kucharzewski M, Sieron A, Golda W, Cieslar G. Testing the osmotic-diffusion properties for the membranous dressing bioprocess. *Polym Med* 28(3-4):3-10, 1998
43. White DG, Brown Jr RM. Prospects for the commercialization of the biosynthesis of microbial cellulose. Ed: Schuerch C, editor. *Cellulose and wood - chemistry and technology.* p . 573-90 New York: Wiley, 1989.

44. Yamanaka, S. , Watanabe, K. and Suzuki, Y. 1990. Hollow microbial cellulose, process for preparation thereof, and artificial blood vessel formed of said cellulose. European patent 0396344A2.
45. Kaya E. Yara iyileşmesi. Travma. 1. Baskı İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti. , 2005: 488-501.
46. Engin A. Yara iyileşmesi. Temel Cerrahi. 3.baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 2004: 494-508.
47. Makitie AA, Irish J, Gullane PJ. Pharyngocutaneous fistula. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2003; 11: 78-84.
48. Johansen LV, Overgaard J, Elbrond O: Pharyngo-cutaneous fistulae after laryngectomy. Influence of previous radiotherapy and prophylactic metronidazole. Cancer 1988, 61(4):673-678.
49. Delanian S, Lefaix JL: The radiation-induced fibroatrophic process: therapeutic perspective via the antioxidant pathway. Radiother Oncol 2004, 73(2):119-131.
50. Aydoğan LB, Kiroğlu M, Tuncer U, Soylu L. The wound amylase concentration in the prediction of pharyngocutaneous fistula. Otolaryngol Head Neck Surg. 2003 Oct;129(4):414-6.
51. Saydam L, Kalcıoğlu T, Kızılay A Early Oral Feeding Following Total Laryngectomy Am J Otolaryngol 2002; 23: 277-281.

52. Soyly L, Kiroglu M, Aydogan B, Cetik F, Kiroglu F, Akçali C, et al. Pharyngocutaneous fistula following laryngectomy. *Head Neck* 1998; 20: 22-5.
53. Sousa AA, Porcaro-Salles JM, Soares JM, de Moraes GM, Silva GS, Sepulcri RA, Savassi-Rocha PR. Does early oral feeding increase the likelihood of salivary fistula after total laryngectomy? *J Laryngol Otol*. 2014 Apr 15:1-7. .
54. Stephenson KA1, Fagan JJ. Effect of perioperative proton pump inhibitors on the incidence of pharyngocutaneous fistula after total laryngectomy: a prospective randomized controlled trial. *Head Neck*. 2015 Feb; 37(2): 255-9.
55. Maisel RH, Liston SL. Combined pectoralis major myocutaneous flap with medially based deltopectoral flap for closure of large pharyngocutaneous fistulas. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982; 91: 98-100.
56. Kao HK, Abdelrahman M, Chang KP, Wu CM, Hung SY, Shyu VB Choice of flap affects fistula rate after salvage laryngopharyngectomy. *Sci Rep*. 2015 Mar 17; 5: 9180.
57. Bussu F, Gallus R, Navach V, Bruschini R, Tagliabue M, Almadori G, Paludetti G, Calabrese L. Contemporary role of pectoralis major regional flaps in head and neck surgery. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2014 Oct;34(5):327-41.
58. Bomeli SR, Desai SC, Johnson JT, et al. Management of salivary flow in head and neck cancer patients—a systematic review. *Oral Oncol* 2008; 44: 1000–8.
59. Montgomery WW. Salivary bypass tube. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1978; 87: 159–62.
60. Ihler F, Laskawi R, Matthias C, et al. Botulinum toxin a after microvascular alt flap in a patient with squamous cell carcinoma of the tongue. *HNO* 2012; 60: 524–7.

61. Jakubowicz DM, Smith RV. Use of becaplermin in the closure of pharyngocutaneous fistulas. *Head Neck*. 2005 May; 27(5): 433-8.
62. Weiss BG, Ihler F, Matthias C, Canis M. Coated collagen patches for closure of pharyngo-cutaneous fistulas *Am J Otolaryngol*. 2014 Mar-Apr;35(2):246-50.
63. Singer AJ, Clark RA (1999) Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 341:738 746
64. Balasubramani M, Kumar TR, Babu M. Skin substitutes: a review. *Burns* 2001; 27: 534–44.
65. Jones I, Currie L, Martin R. A guide to biological skin substitutes. *Br J Plastic Surg* 2002; 55: 185–93.
66. Walker M, Hobot JA, Newman GR, Bowler PG. Scanning electron microscopic examination of bacterial immobilization in a carboxymethyl cellulose (AQUACELS) and alginate dressings. *Biomaterials* 2003; 24: 883–90
67. Kucharzewski M, Slezak A, Franek A. Topical treatment of nonhealing venous ulcers by cellulose membrane. *Phlebologie* 2003; 32: 147–51.)
68. Czaja W, Kawecki M, Krystynowicz A, Wysota K, Sakiel S, Wroblewski P, et al. Application of bacterial cellulose in treatment of second and third degree burns. In: *The 227th ACS National Meeting, Anaheim, CA, USA, 28 March–1 April 2004*.
69. Mello LR, Machado FCN, Haas LJ, Zacchi V, Luzzi R, Zoschke J, Ramos RS. Efeitos hemostático e estrutural da esponja de cellulose liofilizada. *Arq Neuropsiquiatr* 1998; 56 (3B): 613-20.

70. Kwak MH, Kim JE, Go J, Koh EK, Song SH, Son HJ, Kim HS, Yun YH, Jung YJ, Hwang DY. Bacterial cellulose membrane produced by *Acetobacter* sp. A10 for burn wound dressing applications. *Carbohydr Polym.* 2015 May 20; 122: 387-98.
71. Helenius G, Bäckdahl H, Bodin A, Nannmark U, Gatenholm P, Risberg B. In vivo biocompatibility of bacterial cellulose. *J Biomed Mater Res A.* 2006 Feb;76(2):431-8.
72. Arthur C. Guyton; *Medical Physiology*; 10. Edition; p 849-854
73. Mechanical stimulation of fibroblasts in micro-channeled bacterial cellulose scaffolds enhances production of oriented collagen fibers. *J Biomed Mater Res A.* 2012 Apr;100 (4): 948-57.
74. Pita PC, Pinto FC, Lira MM, Melo Fde A, Ferreira LM, Aguiar JL. Biocompatibility of the bacterial cellulose hydrogel in subcutaneous tissue of rabbits. *Acta Cir Bras.* 2015 Apr; 30 (4): 296-300.
75. Liu SA , Tung KC·, Cheng CC· Chiu YT; The impact of different closure materials on pharyngeal wound healing: an experimental animal study; *Eur Arch Otorhinolaryngol* , 2008; 265: 227–231