

N-Butil 2 Siyanoakrilatın Biyolojik Etkilerinin Araştırılması

Investigation of Biological Effects of N- Butyl 2 Cyanoacrylate

Oğuz Karahan¹, Mahmut Balkan², Erhan Hafız³, Emced Khalil⁴

1 Kalp Damar Cerrahisi, Alâeddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Alanya, Antalya/Türkiye

2 Tıbbi Biyoloji, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Diyarbakır/Türkiye

3 Kalp Damar Cerrahisi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep/Türkiye

4 Kalp Damar Cerrahisi, Sağlık Bakanlığı Ordu Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi/Türkiye

ÖZET

AMAÇ: N-Butil 2 Siyanoakrilat cerrahide kullanılan bir yapıştırıcıdır. Bu çalışmada N-Butil 2 siyanoakrilatın biyoyumluluk analizleri deneysel olarak değerlendirilmiştir

GEREÇ VE YÖNTEM: Wistar Albino cinsi, sağlıklı 16 erkek (250 ± 5 gram) yetişkin rat kontrol ve çalışma gruplarına bölündü. Kontrol grubundan normal histolojik yapının belirlenmesi ve rutin fizyolojik izlem amaçlandı. Çalışma gruplarında 0.3 ml N-Butil 2 siyanoakrilat enjeksiyonu, bel ve sırt tıraş edilen grupta irritasyon ve sensitizasyon değerlendirmesi için subkütan yoldan, sağ femur bölgesi tıraş edilen grubunda sitotoksitate değerlendirmesi için intramüsküler yoldan ve vasküler uygulama grubunda sistemik toksisite değerlendirmesi için kuyruk ven enjeksiyonu yoluyla uygulandı. Yetmiş iki saatlik gözlem süresinden sonra ratlar sakrifiye edilerek, venöz endotel, kas, dermal ve epidermal dokular histopatolojik olarak incelendi.

BULGULAR: Sadece intravenöz uygulamada belirgin endotel harabiyeti izlendi. Sensitizasyon, irritasyon, sitotoksitate gibi testlerde aşırı reaksiyon ve belirgin histopatolojik değişiklik izlenmedi.

SONUÇ: Cerrahi bir yapıştırıcı olarak sadece N-Butil 2 siyanoakrilatın intravasküler olarak uygulanması, lokal ve sistemik etkiler açısından ileri düzeyde doku hasarına yol açtı. Ancak, bu deneysel model klinik kapsamlı çalışmalarla desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: N-Butil 2 siyanoakrilat, biyoyumluluk, histopatoloji

ABSTRACT

OBJECTIVE: N-Butyl 2 cyanoacrylate is a frequently utilizing agent as a surgical adhesive. Biocompatibility analyses of N-Butyl 2 cyanoacrylate were evaluated in this study.

MATERIALS AND METHODS: Wistar Albino genus 16 healthy adult male (250 ± 5 gram) rats were divided into control and study groups. Determination of normal histological structure and routine physiologic observation was aimed in control group. In the study groups, 0.3 ml N-Butyl 2 cyanoacrylate injection were applied, via subcutaneous route for irritation and sensitization evaluation in the waist and back shaved group, via intramuscular route for cytotoxicity evaluation in the right femoral shaved group, and via tail vein injection for systemic toxicity evaluation in vascular administration group. Rats were sacrificed after 72. hours observation period and venous endothelium, muscular, dermal and epidermal tissues were examined histopathologically.

RESULTS: Marked endothelial injury was detected in only intravenous administration. Extreme reaction and marked histopathological changes were not observed in regards of irritation, sensitization and cytotoxicity groups.

CONCLUSION: Only intravascular administration of N-Butyl 2 cyanoacrylate, as a surgical adhesive usage, was lead advanced tissue injury in regards of local and systemic effects. However, this experimental model should be supported with clinical comprehensive studies.

Keywords: N-Butyl 2 cyanoacrylate, biocompatibility, histopathology

GİRİŞ

Gerek yaralanmalar gerekse cerrahi girişimler sonrası doku bütünlüğünün sağlanmasında minimal hasar verilmesini amaçlayan mikro işlemler giderek yaygınlaşmaktadır (1). İlerleyen teknolojilerle daha küçük kesilerden işlemler yapılması hedeflenmiş, daha az yüzey oluşturan veya

gizlenmiş estetik dikiş teknikleri geliştirilmiş ve dokuda hem kısa sürede iyileşme hem de en az iz oluşturularak doğal hale en yakın görünümün kazanılması amaçlanmıştır (1,2). Bu hususta dikiş materyallerinin doku üzerine etkilerini azaltmak, daha kontakt bir yüzey alanı sağlamak ve hatta hızlı müdahaleler ile klinisyenlerin işini kolaylaştırmaya

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Oğuz Karahan, MD, Kalp Damar Cerrahisi, Alaeddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Alanya, Antalya/Türkiye

E-Posta/E-Mail: oguzk2002@gmail.com || Tel: +90 506 392 93 20

Received/Geliş Tarihi: 6 Mar 2020 || **Accepted/Kabul Tarihi:** 24 Mar 2020

Bu Eser Creative Commons Atıf-Gayriticari 4.0 Uluslararası Lisansı İle Lisanslanmıştır. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).



yönelik doku yapıştırıcıları da gelişimin bir parçası olmuştur. Bu alanda konvansiyonel ve sentetik yapıştırıcılar araştırılmıştır (2-4). Siyanoakrilatlar da yapıştırıcı özellikleri anlaşıldıktan sonra tıbbin birçok dalında doku yapıştırıcısı olarak kullanıma girmiştir. Gastrointestinal sistem, dermal müdahaleler, vasküler işlemler ve daha birçok sistemde kullanım alanı bulmuştur (5).

Siyanoakrilat sentetik bir yapıştırıcı olarak 1949 yılında tanımlanmış ancak ilk etapta tıp dışı kullanım alanı bulmuştur (6-9). Yıllar sonra vücut üzerinde kullanımına dair ileri çalışmalar başlamış ve doku uyumu değerlendirilmeye başlamıştır. İlk üretilen prototip siyanoakrilat türevleri kısa zincirli olup, dokuya toksik ve deneysel araştırmalarda kanserojen potansiyeli bulunması sebebiyle organizma üzerinde kullanımı uygun bulunmamıştır (8,9). Bu durum, daha aktif ve rutin vücut dışı kullanımda bile organizmaya zarar vermeyen formlarını üretme çabası doğurmuştur (8-10). Daha uzun zincirli türevleri üretilmiş ve öncelikle rutin kullanım tıp dışı kullanım alanlarında dokuya toksik etki göstermeyen butil ve oktil türevleri kullanıma girmiştir. Bu türevlerin dokuya daha uyumlu, daha yüksek adezyon potansiyeli olmasının anlaşılması ile de tıp alanında kullanım alanları araştırılmaya başlamıştır. Daha ileri çalışmalar anti bakteriyel ve hemostaz sağlama potansiyellerini de ortaya koyması ile yapılanan cerrahi araştırmalarda olumlu sonuçlar rapor edilmiştir (8).

Çalışmamızda daha ileri teknolojilerle üretilmiş N-butil siyanoakrilatın farklı dokular üzerine etkilerini biyoyoumluluk testleri kullanarak araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel hayvan modeli üzerinde test edilen materyalin cilt altı, kas dokusu ve damar içi reaksiyonlarının değerlendirilmesi hedeflenerek cerrahi bir yapıştırıcı olarak kullanılan N- butil 2 siyanoakrilatın (VinierA®, Noegenix, Ankara, Türkiye) cilt altı, kas içi ve damar içi uygulamalarında irritasyon, sensitizasyon ve sitotoksik etkilerinin araştırılması amacıyla deney hayvanı olarak erkek Albino Wistar cinsi ratlar çalışmaya alınmıştır. Çalışma öncesi Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan etik onay (29.03.2018-1/3) alınarak, deneyin tüm aşamaları hayvan hakları yönergesine uyularak tasarlanmış ve gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla çalışmaya 16 adet sağlıklı Wistar Albino cinsi erkek (250 ± 5 gram) yetişkin rat dâhil edilmiştir. Denekler

çalışmaya başlamadan önce 2 hafta boyunca laboratuvar ortamında habitü edilmektedir. Tüm gruplar 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık siklusünde, klima kontrollü odada, 24±1 °C sıcaklıkta ve %60 nemde barındırılmıştır. Hayvanların beslenmesinde standart pellet yemi, şehir içme suyu ve her bir gruba karşılaştırılacak ilgili madde oral olarak diyetine eklenmiştir.

Deri bütünlüğü bozulmuş hayvanlarda deri hassasiyeti oluşabilecek ya da normal renk dışında deri rengine sahip olan örneklerde test sonucu değişebileceği için örneklerde bu özellikler olmamasına dikkat edilmiştir. Test öncesinde hayvanların sırt uygulama bölgeleri tıraş edilmiş ve cilt altı enjeksiyon yapılacak, sağ bacak kas içi ve kuyruk veni damar içi enjeksiyon için dezenfekte edildi.

Gruplandırma:

Ratlar randomize şekilde 4 gruba bölünerek, deney sonuna kadar sekizerlik kafeslerde tutulmuştur. Gruplar aşağıdaki şekilde planlanmıştır:

Kontrol grubu (grup 1, n:4): Bu gruba sadece belirtilen şekilde (Test öncesinde hayvanların sırt uygulama bölgeleri tıraş edilecek ve cilt altı enjeksiyon yapılacak, sağ bacak kas içi ve kuyruk veni damar içi enjeksiyon için dezenfekte edilmiştir.) serum fizyolojik 0.3 ml enjeksiyon yapılmıştır ve üç gün boyunca 24., 48. ve 72. saatlerde irritasyon, sistemik toksisite, sensitizasyon gibi gözlemsel değerlendirmeler yapılarak, 3. günden sonra sakrifiye edilerek enjeksiyon bölgelerinden elde edilen doku örneklerinde histopatolojik olarak doku incelemesi yapılmıştır.

Çalışma grubu (grup 2, n:12): Bu grup çalışma grubu olarak planlanıp belirtilen şekilde (Test öncesinde hayvanların sırt uygulama bölgeleri tıraş edilecek ve cilt altı enjeksiyon yapılacak, sağ bacak kas içi (resim 1a) ve kuyruk veni damar (resim 2a) içi enjeksiyon için dezenfekte edilmiştir.) Grup 3 eşit alt gruba ayrılarak, ilk grup; cilt irritasyon, ikinci grup; sensitizasyon ve üçüncü grup; hücrel sitotoksisite, implantasyon değerlendirilmesi için planlanmıştır (implantasyon için erken sonuç değerlendirmesi hedeflenmiş, ratlar 7 gün bekletilmeyerek 3.gün sonunda doku analizleri yapılmıştır.). N-2-butil syanoakrilat 0.3 ml enjeksiyon yapılmış ve sonrasında üç gün boyunca 24., 48. ve 72. saatlerde irritasyon, sistemik toksisite, sensitizasyon gibi gözlemsel değerlendirmeler yapılarak, 3. günden sonra sakrifiye edilerek enjeksiyon bölgelerinden elde edilen doku

örneklerinde histopatolojik implantasyon kontrolü olarak doku incelemesi yapılmıştır.

Resim 1a (soldaki) ve **1b**(sağdaki)



1a (soldaki), Sağ bacak intramusküler enjeksiyon

1b, Kuyruk veni hazırlığı ve intravenöz enjeksiyon

Alınan tüm gruplardaki dokularda ışık mikroskopunda kontrol grubundaki normal histoloji saptanmıştır. Daha sonra çalışma grubunun dokuları histopatolojik olarak kesitlere ayrıldıktan sonra histopatolojik olarak hematoksilen eozin ile boyanarak, ödem, hücrel bozulma ve inflamatuvar hücre artışı, apoptozis, nekroz ve hücrel şişme, neovaskülarizasyon, fibrozis, yağ dejenerasyonu/ infiltrasyon değerlendirilmiştir. Mevcut durum Uluslar Arası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) standartları çerçevesinde normal doku ile karşılaştırılmıştır. ISO standartları deney basamaklarında açıklanmıştır.

İrritasyon (İntrakutanöz reaktivite) Testi:

İlk çalışma grubunda bulunan deneklerin sırt kısmındaki tüyler çalışmadan 1 gün önce temizlenerek iritasyon değerlendirilmesi için ayrılmıştır. Biyomateryal ekstraktının intrakutanöz enjeksiyonuna dayanan çalışma, Uluslar Arası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) tarafından belirlenen, ISO-10993-10-2010; Medikal malzemelerin biyolojik değerlendirilmesi, kısım 10: İrritasyon ve cilt sensitizasyonu, ISO-10993-12:2012; Örnek hazırlanması ve referans materyalleri uyarınca planlanmıştır (11,12).

N-2-butil siyanoakrilat ekstrakt haline getirilmesi; Sıvı formda medikal kullanıma hazır siyanoakrilat solüsyonları, 2-propranolol çözeltisi içeren kapların içerisine eklendi. Solüsyonlar 70 °C de 24 saat boyunca ekstraksiyon oranı 3 cm²/ml solvent olacak şekilde ISO 10993-12:2012 ye göre hazırlandı. Ekstraktlar deney öncesi LC-ampullere aktarılmadan önce 0.45 µm naylon filtreden süzülerek partikülsüz hale getirildi. Ekstraktın 0.3 ml emdirilmiş spançlar, aşağıda belirtildiği gibi tıraş edilmiş 10 bölgeye uygulanmıştır (şekil 1). Karşı bölgeye ise %0,9'luk serum

fizyolojik veya pamuk yağı 0.3 ml enjeksiyonu uygulanmıştır (şekil 1).

Şekil 1. ISO-10993-12:2012; Örnek hazırlanması ve referans materyalleri uyarınca biyomateryallerin iritasyon testi uygulaması



N-BS: N butil siyanoakrilat, SF: serum fizyolojik, Enj.: enjeksiyonu

Uygulamayı takiben cilt durumları hemen not edilmiş ve cilt üzerindeki eritem ve ödem 24, 48 ve 72. saatte karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Cilt üzerindeki reaksiyonun değerlendirilmesinde her enjeksiyon bölgesi skorlama (tablo 1) sistemine göre puanlanmıştır. Üç gün sonunda 72 saatlik derecelendirmeden sonra, tüm eritem dereceleri artı 24 saatlik, 48 saatlik ve 72 saatlik ödem dereceleri, her bir test numunesi veya her bir hayvan için kontrol için ayrı ayrı toplandı. Her bir hayvan üzerinde bir test numunesinin veya boşluğun skoru, toplamların her birinin 15 [3 puanlama süresi x 5 test veya boş numune (serum fizyolojik) enjeksiyon bölgesi] ile bölünmesi için hesaplandı. Her test numunesi ve her bir karşılık gelen boşluk için genel ortalama skor, dört hayvana ait skorları eklemek için dörde bölündü. Son test örnek skoru, boşluk skorunu test örnek skorundan çıkartarak elde edildi. Bu teste göre son test örnek puanı 1, 0 veya daha az ise, testin

gereksinimleri karşılanır ve iritan olmadığı şeklinde yorumlanır (11,12).

Tablo 1. İrritasyon incelemesinde cilt lezyonları değerlendirme sistemi

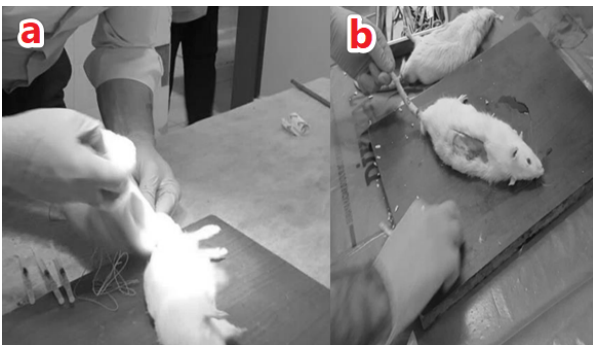
Reaksiyon	Skorlama
<u>Eritem ve Skar değerlendirilmesi</u>	
Eritem yok	0
Çok hafif eritem (kızarıklık)	1
Hafif eritem	2
Orta ileri eritem	3
Ciddi eritem ve skar oluşumu	4
<u>Ödem Formasyonu</u>	
Ödem yok	0
Çok hafif ödem (belli belirsiz şişlik)	1
Hafif ödem (şişlik kenarları belirgin)	2
Orta ileri ödem (yaklaşık 1mm şişlik)	3
Ciddi yaygın ödem (sınırları 1mm'den ileri)	4

Dermal Sensitizasyon Testi:

Bu analizin içeriği "Deri Sensitizasyonunun Saptanması" olarak belirlenip, Çalışma Protokolleri "Biyomateriyal ekstraktının intrakütanöz enjeksiyonuna dayanan çalışma, Uluslar Arası Standardizasyon Organizasyonu (ISO) tarafından belirlenen, 1099-10:2009; Medikal malzemelerin biyolojik değerlendirilmesi, İrritasyon ve gecikmiş tip hipersensitivite, ISO-10993-12:2012; Örnek hazırlanması" standartlarında belirtilen aşamalara göre oluşturulmuştur. Çalışma örnekleri alt grubu 2 de bulunan denekler çalışmaya dâhil edilmiştir (11,12).

Deri bütünlüğü bozulmuş hayvanlarda deri hassasiyeti oluşabilecek ya da normal renk dışında deri rengine sahip olan örneklerde test sonucu değişebileceği için örneklerde bu özellikler olmamasına dikkat edildi. Test öncesinde hayvanların sırt uygulama bölgeleri tıraş edildi (Resim 2a, b).

Resim 2

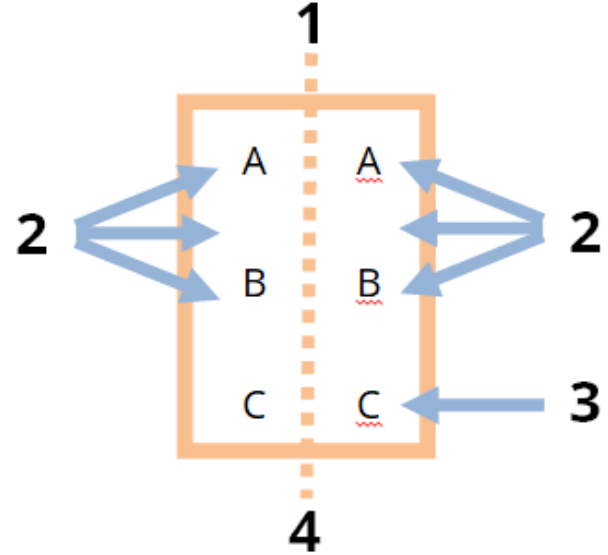


a. Ratların hazırlanması, b. Sırt bölgelerinin tıraş edilerek deneye hazırlanması

Ratların tıraş edilmiş bölgelerine, şekil 2 de gösterildiği üzere enjeksiyon bölgelerine (A,B ve C), her bir hayvana aşağıdakilerden her biri 0,3 ml intradermal (cilt altı) olarak enjekte edildi.

A bölgesi: 50:50 hacim oranı Freundun tam adjuvantı ile fizyolojik tuzlu su.

Şekil 2. (ISO-10993-10) Intradermal enjeksiyon bölgeleri (11)



1: Kranial (kafa tarafı), **2:** 0.1 ml intradermal enjeksiyon alanları, **3:** Tıraş edilmiş sınırlar ortası bölge, **4:** Kaudal (kuyruk tarafı)
A: Ense, **B:** Sırt, **C:** Kuyruk Öncesi

B bölgesi: Test materyali (Seyreltilmemiş ekstresi) tek başına kontrol örneklerine enjekte edilir.

C bölgesi: B bölgesinde kullanılan konsantrasyonda test örneği, 50:50 (hacim oranı) Freundun tam adjuvantı ile fizyolojik tuzlu su (%50) emülsiyonu.

Lokal İndüksiyon Fazı: Intradermal indüksiyon fazının (önceki paragrafta belirtilen intradermal uygulamanın yapılması) tamamlanmasından 7 gün sonra, Her bir hayvana yaklaşık 8 cm²'lik gazlı beze emdirilmiş test örnekleri ile lokal (yerel) uygulama yapıldı. Uygulamadan 48 saat önce deri %10'luk sodyum dodesil sülfat ile iritasyon oluşmaması için ön işleme tabi tutuldu. Lokal uygulamaya 48 saat sonra son verildi.

Yarışma Fazı: Yarışmalı tüm test ve test örneği kontrol hayvanları lokal indüksiyon fazının tamamlanmasından 14 gün sonra C bölgesindeki konsantrasyonda test numunesine batırılmış uygun yamalar kullanılarak,

indüksiyon aşamasında tedavi edilemeyen alanlarına doğrudan yerel olarak kontrol ve test örnekleri uygulandı. 24 saat sonra pansuman ve yamalar çıkarıldı (12).

Örneklerin Gözlenmesi: Pansuman çıkarıldıktan 24-48 saat arasında kontrol hayvanları ile testin yarışmalı deri bölgelerinin kontrolü inspeksiyon ile gözlemlendi. İyi bir aydınlatma ile deri bölgesi değişiklikleri izlenerek deri reaksiyonları değerlendirildi. Her yarışmalı alan ve zaman aralığı için Tablo 2 de verilen Magnusson ve Kligman ölçeğine göre eritem (kızarıklık), ödem (şişlik) cilt reaksiyonları tanımlandı (11).

Tablo 2. Magnusson ve Kligman ölçeği (ISO 10993-10)

Yama Testi Reaksiyonu	Not Skalası
Görünür Değişiklik Yok	0
Ayrık veya Yamalı Eritem	1
Orta Dercede yay Bitişik Eritem	2
Yoğun Eritem ve Şişlik	3

Tüm sonuçlar her üç denek için değerlendirilerek konfirme edilmiş ve ortalama sonuç alınmıştır.

Ayrıca tüm denekler sakrifiye edildikten sonra intrakütanöz enjeksiyon bölgelerinden doku örnekleri alınarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Tüm dokular değerlendirilirken normal doku örnekleri ile karşılaştırıldı.

Hücrel sitotoksitate (intramüsküler enjeksiyon) testi:

Son çalışma grubunda bulunan deneklerde intramüsküler enjeksiyon için sağ femoral bölgeleri tıraş edildi. Femur üzerinden 3 ml intramüsküler enjeksiyon yapıldı. İşlemden sonra tüm örneklerin 72 saatinde enjeksiyon bölgesinden kas doku örnekleri alınarak histopatolojik olarak değerlendirildi. Nekroz, apoptozis ve inflamasyon açısından normal doku örnekleri ile karşılaştırıldı (13).

Sistemik toksisite (intravenöz infüzyon) ve endotel hasarı değerlendirme testi:

Son çalışma grubundaki ratların kuyruk venlerinden 0,3 ml N-2-butil siyanoakrilat ekstraktı enjeksiyonu yapılarak sistemik dolaşım ile etkileşimi amaçlandı. Daha sonra tüm örnekler, 24., 48. ve 72. saatlerde gözlenerek genel durum bozukluğu, vücut ağırlıkları, ani sağlık bozuklukları, ölüm gibi durumlar takip edilerek not edildi.

Çalışma sonunda tüm denekler sakrifiye edilerek vasküler doku örnekleme için vena kava dokuları çıkarıldı. Tüm

dokular normal doku örnekleri ile kıyaslanarak değerlendirme yapıldı (14).

Histopatolojik inceleme:

Tüm dokular histopatolojik olarak kesitlere ayrıldıktan sonra hematoksilin eozin ile boyanarak, ödem, hücrel bozulma ve inflamatuvar hücre artışı, apoptozis, nekroz ve hücrel şişme değerlendirildi. Sonuçlar değerlendirilirken, normal doku incelemeleri baz alındı (15,16).

İmplantasyon Testi:

Sağ femoral bölgede intramüsküler ve sırt bölgesinde intradermal ekim yapılan bölgeler, lokal olarak incelendi. Büyütme olarak x2.5 (Heine Optotechnik GmbH & Co KG®, Germany).büyütme gücünde mercek kullanılarak yapılan makroskobik muayenede, lokal etkiler incelendi.

İmplant çevresi fascia kas ve deri örnekleri alınarak histolojik incelemeler için %10 tamponlu formalinde 24 saat süreyle tespit edildi ve parafine gömülen dokulardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı ve alınan kesitler Hematoksilin & Eozinle boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında değerlendirilmeye alındı.

Daha sonra elde edilen sonuçlar iyileşme süreci ve inflamatuvar cevap skalalarına göre değerlendirildi. Bu değerlendirme de ISO 10993-6 (Annex5). Semikantitatif Histopatolojik Skorlama sistemi kullanıldı (Tablo 3a., b.) (17).

BULGULAR

Öncelikle 72 saat takip edilen denekler ve kontrol grubu genel durum bozukluğu, ani sağlık değişiklikleri (ishal, kusma, terleme, yemek yememe, kilo kaybı, hızlı nefes alma, vücut ısısı artışı) açısından değerlendirildi. Hiçbir denekte ölüm olayı izlenmezken, ani durum bozukluğu da kaydedilmedi. Kontroller 24., 48. ve 72. saatte tekrarlandı. Üç gün sonra sakrifikasyon öncesi son değerlendirme yapılarak, 72 saatli gözlemede uygulama yapılan hiçbir grupta problem izlenmedi.

ISO standartlarına göre yapılan irritasyon değerlendirmesinde tablo 4'teki sonuçlar elde edildi. Bu sonuçlara göre alınan non-polar ekstre içerisinde hazırlanan çözelti ile yapılan uygulamada ortalama değer 3/4=0.75 olarak bulundu (Tablo 4). Non-polar çözütün karşılaştırılmasında ise sonuç 2/4=0.50 olarak saptandı (Tablo 4). Sonuç değerlendirmesinde ekstraktın non-polar

çözücüden çıkarılması ile $0.75-0.50=0.25$ değeri elde edildi (Tablo 4). Değer ($0.25 < 1$) 1 den küçük olarak saptandı.

Sensitizasyon açısından gruplar değerlendirildiğinde, test edilen numuneden elde edilen ekstraksiyon solüsyonu ile deri irritasyon testi (Sonuç 4 ayrı denekle konfirme edilmiştir) uygulanmış olup, 72 saatlik gözlem süreci

sonunda test sonlandırılmıştır. Klinik inspeksiyona dayalı gözlem incelemelerini içeren değerlendirme ve analiz çalışmaları sonucunda N- butil 2 siyanoakrilatın (VinierA®, Noegenix, Ankara, Türkiye) ait numune raporu ISO 10993-10 Tablo 1. Magnusson ve Kligman Ölçeğinde verilen not skalasına göre "0" olarak belirlenmiştir.

Tablo 3a,b. Semikantitatif Histopatolojik Skorum Sistemi (ISO 10993-6)

Hücre Tipi/ Cevap	a. İnflamatuvar Cevap				
	Skor				
Polimorfonükleer Hücreler	0	1	2	3	5
Lenfosit	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
Plazma Hücresi	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
Makrofaj	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
Dev Hücre	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
Nekroz	0	Nadir, 1-5	5-10	ileri, >10	Tam İnfiltrasyon (her alanda)
	b. İyileşme Cevabı				
Neovaskülarizasyon	0	Minimal kapiller proliferasyon (1-3 vasküler tomurcuklanma)	Fibroblastik yapılarla birlikte, 4-7 kapiller oluşum	Dokularla desteklenmiş yaygın kapiller oluşum	Dokularla desteklenen yaygın kapiller oluşum
Fibrozis	0	Dar bant	Hafif kalın bant	Kalın bant	Yaygın bant
Yağ İnfiltrasyonu	0	Fibrozis ile ilgili minimal yağ depoziti	Birçok yağlı çizgilenme ve fibrozis	İmplantasyon bölgesinde yoğun yağ hücre infiltrasyonu	İmplantı tamamen çevreleyen yaygın yağ depoziti

Tablo 4. Deneklerde izlenen irritasyon ve skorum (24., 48., 72. saatler)

Denek Numaraları	Gözlem Süreleri (saat)	N-2-Butil siyanoakrilat ekstraktı		Non-polar Çözücü	
		Eritem/Ödem	Skor	Eritem/Ödem	Skor
1. Rat	24	0		0	
	48	0	0	0	0
	72	0		0	
2. Rat	24	5		4	
	48	5	1	4	1
	72	5		4	
3. Rat	24	4		0	
	48	4	1	0	0
	72	4		0	
4. Rat	24	5		5	
	48	5	1	5	0
	72	5		5	
Ortalama Skor			0.75		0.50

İn vivo sitotoksinite için yapılan intramüsküler, intravenöz ve intradermal enjeksiyon bölgelerinden doku örneklemesi öncesi Heine x2.5 büyütme loupe ile lokal olarak incelendi. Lokal olarak deri altı kapiller dolgunluk ve lenf

düğümünde hafif derecede şişkinlik dışında herhangi bir patolojik oluşuma rastlanmadı. Prefemoral ve inguinal bölge lenf düğümleri hafif derece şişkin, bilateral uniform ve kesit yüzeyleri düzgündü. Alınan dokular ışık

mikroskopisinde hematoksilen eozinle boyanarak, uygulama yapılmamış kontrol gurubundan alınan normal doku örneklemeleri ile histopatolojik olarak karşılaştırıldı.

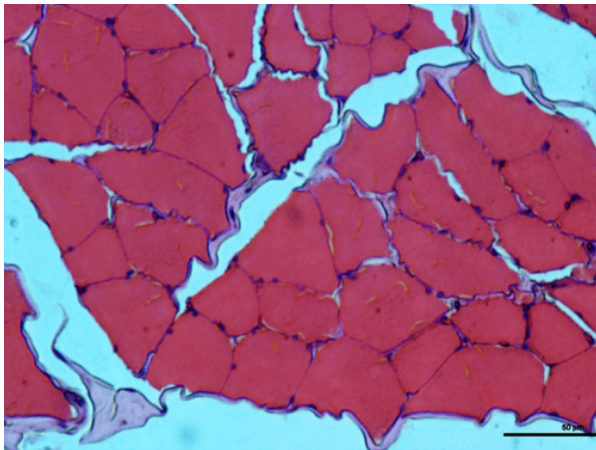
İmplantasyon amaçlı intramüsküler doku karşılaştırmaları resim 3 a ve b'de, dermal doku örneklemeleri ise 4 a ve b'de

gösterilmiştir. Sonuçlar semi kantitatif histopatolojik skorlama sistemi ile değerlendirildi (Tablo 5). İmplantasyon durumunda 4.75 skor ile hafif iritan olarak saptandı.

Tablo 5. Semikantitatif Skorlama Sistemi

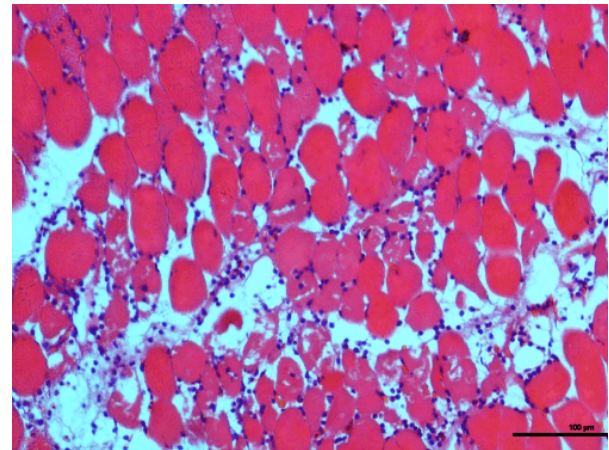
N-2.butil siyanoakrilat	Test Örneği (Çalışma Grubu)				Kontrol (Sağlıklı Örneklem)			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1. İnflamatuvar Cevaplar								
Deney Hay. No. İnflamasyon								
Polimorf	0	1	2	1	0	0	0	0
Lenfosit	1	1	1	2	0	0	0	0
Plazma Hüc.	1	0	1	1	0	0	0	0
Makrofaj	2	1	1	1	0	1	1	1
Dev Hücre	0	0	0	0	0	0	0	0
Nekroz	0	0	0	0	0	0	0	0
Ara Toplam	1	3	5	4	0	1	1	1
2. İyileşme Süreci								
Neovaskülerizasyon	0	0	1	1	0	0	0	0
Fibrozis	0	0	0	0	0	0	0	0
Yağ dejen/infiltrasyon	1	1	1	1	0	0	0	0
Ara toplam	1	1	2	2	0	0	0	0
Toplam	5	4	7	6	0	1	1	1
ORTALAMA		5.50				0.75		
Toplam skor implantasyon grubu ile negatif kontrol arası fark alınarak hesaplanır (TEST) - (KONTROL): 5.50-0.75=4.75 Skor Skor değerleri; Non-irritan 0.0-2.9 Hafif İritan 3.0-8.9 Orta Derce İritan 9.0-15.0 Şiddetli İritan >15.0 Elde edilen 4.75 skor ile implantasyonunda materyal hafif iritan sınıfında belirlendi.								

Resim 3a. Kontrol grubu kas kesiti



Kas demetlerindeki hücrelerin periferdeki dağılımı düzenli, etrafındaki bağ doku kılıflarındaki lifler ve fibroblast hücreleri normal olarak gözlendi. Hematoksilen -Eozin Bar 100µm

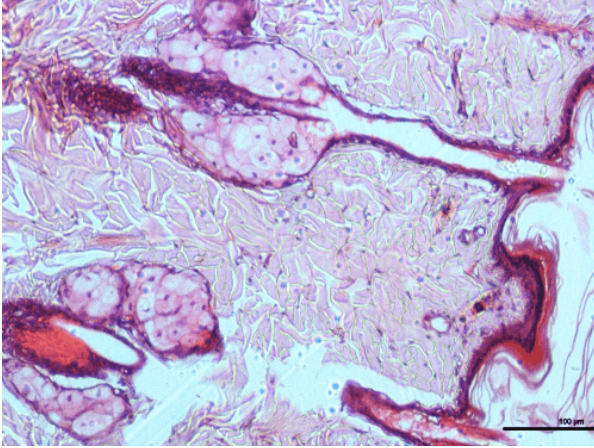
Resim 3b. Uygulama yapılan grubun (72. saat) kas kesiti



Küçük çaplı damarlarda hemoraji (ok), kas demetleri etrafında inflamatuvar hücre infiltrasyonu (sarı ok), kas hücreleri periferde düzenli yerleşim gösterdi. Hematoksilen-Eozin Bar 100µm

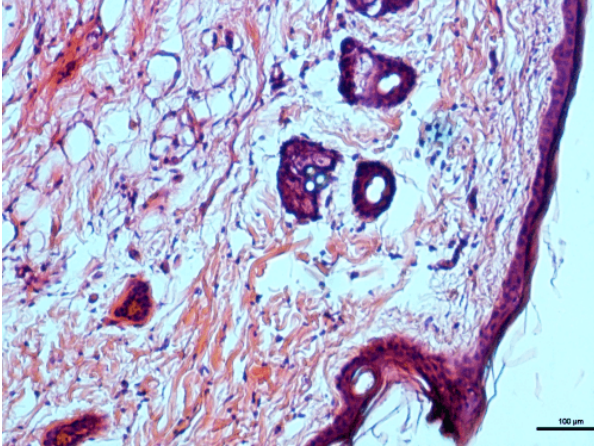
İntravenöz uygulamada vasküler endotel yapı üzerine etkilerinin saptanmasına yönelik kuyruk veninden alınan örnekler ile yapılan histopatolojik incelemeler için Hematoksilen Eozin boyama kullanılarak ışık mikroskopisi ile inceleme yapıldı. Kontrol grubundan yapılan normal doku incelemesi (Resim 5a) sonuçlarına göre, intravenöz N-2-butil siyanoakrilatın histopatolojik sonuçları (Resim 5b) karşılaştırıldı.

Resim 4a Kontrol grubu dermal kesit



Epidermis tabakasında hücreler düzenli, dermis tabakasında lif dağılımı düzensiz ve sıkı bir şekilde dağılmış yağ bezleri ve kıl folikülleri normal görünümde izlendi. Hematoksilen –Eozin Bar 100µm

Resim 4b. Uygulama yapılan grubun (72. saat) deri kesiti

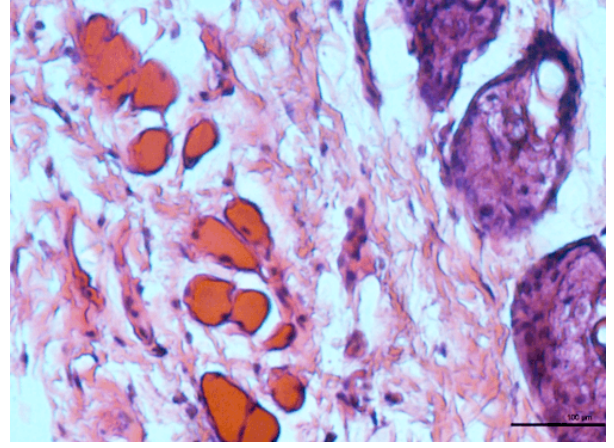


Epidermisteki hücrelerde değişiklik gözlenmez iken dermisteki retiküler tabakada inflamatuvar hücrelerin birikimi (sarı ok) küçük kapiller damarlarda yer yer hemorajiler(ok) dermisteki lifler arasında bağ dokuda artış (kırmızı ok) görüldü. Hematoksilen –Eozin Bar 100µm

İntravasküler N-2-butil siyanoakrilat uygulaması yapılan ratların kuyruk veninden alınan örneklerde, serum fizyolojik uygulanan ratların zıddına, damar duvarında infiltrasyon, endotel hücrelerinde dejenerasyon, damar dilatasyonu ve

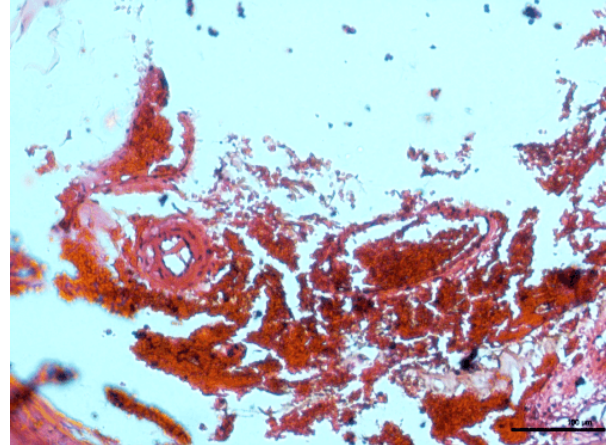
konjesyon, ve lümeninde bozulma izlendi. Bu özelliği ile damar da hem primer infiltratif endotel hasarı ile, hem de sekonder adezyon etkisi ile oklüziv olarak belirlendi.

Resim 5a. Kontrol Grubu



İntravenöz SF yapılan grubun damar kesitleri. Damar endotel hücrelerinde değişiklik gözlenmez iken damar etrafında minimal inflamatuvar hücreler izlendi. Hematoksilen –Eozin Bar 100µm

Resim 5b. Uygulama yapılan grubun (72. saat) damar kesiti



Damar duvarındaki endotel hücrelerinde dejenerasyon (sarı ok), bazal lamina incelmış, damar duvarında dilatasyon ve hemoraji ile birlikte konjesyon (yıldız), arteriol lümen yapısında bozulma ve hiyalinizasyon (kırmızı ok) görüldü. Hematoksilen –Eozin Bar 100µm

TARTIŞMA

Çalışmamızın sonucunda N-2-Butil siyanoakrilatın, genel yaşam faaliyetlerini bozacak akut sistemik toksisite oluşturmadığı, uygulandığı lokal bölgede sensitizasyona neden olmadığı ve cilt üzerinde lokal irritasyon oluşturmadığı, ancak her ne kadar lokal temas irritasyon oluşturmada da enjeksiyonunda minimal irritan etki gösterdiği belirlendi. Histopatolojik olarak yapılan invivo doku testlerinde apoptozis, nekroz gibi ileri hücre hasarı oluşturmadığı, bu nedenle yüksek düzeyde sitotoksik etkisi

olmadığı düşünülür. Ayrıca yapılan intravenöz uygulamada kan ile polimerize olan maddenin damar duvarında oklüzyon ve infiltratif endotel harabiyeti oluşturarak lokal oklüziv etki gösterdiği saptandı.

Daha önce siyanoakrilat bazlı adezivler ile yapılan çalışmalarda çeşitli biyolojik etkileri araştırılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlardan bazılarında bu adeziv materyalin, antibakteriyel etki gösterdiği, hücresel inflamatuvar cevaba neden olduğu gibi veriler elde edilmiş ancak multisistemik etkilerinin karşılaştırıldığı fazla sayıda çalışma sunulmamıştır. Kısa zincirli siyanoakrilatların toksik ve kanserojen etkilerinin önüne geçmek için sentezlenen en gelişmiş türev olan n-2-butil-siyanoakrilat güncel olarak birçok doku, organ düzeyinde kullanılmakta ve anastomoz yapmak ya da mukavemetini arttırmak, hemostaz sağlamak, sütür gereksinimi olmaksızın fiksasyon sağlamak gibi amaçlarla sütür tekniği ve materyallerinin yetersiz kaldığı durumlarda önerilmektedir (7,18,19).

Siyanoakrilat bazlı biyo-yapıştırıcıların dokuda ilk olarak akut inflamatuvar süreci tetiklediği önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bu reaksiyonun temelinde indirgenmiş son molekül ürünlerinden olan formaldehit sorumlu tutulmuştur. Formaldehit poliansatüre yağ asitleri ile etkileşerek lipit hidroperoksit oluşumuna ve tromboksan seviyelerinde artışa neden olur (20). Artmış tromboksan düzeyleri ise trombozise kadar ilerleyen süreci tetikler. Kartal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada izobütil siyanoakrilatın deneysel modeller üzerinde sırt cebi oluşturarak uygulaması ile oluşturdukları modelde, mast hücre infiltrasyonu belirlenmiştir. Ancak ile sitotoksitesite yapmayan molekülün ilerleyen dönemde proliferasyona neden olarak, uzun dönemde degrade olması ile birlikte hücre rejenerasyonunu bozmadığını öne sürmüşlerdir (20).

Doku yapıştırıcılarının araştırıldığı, fibrin yapıştırıcılarla yapılan çalışmalarda dikiş materyaline göre fibrin yapıştırıcının daha iyi etki gösterdiği öne sürülmüştür. Sağlayan ve arkadaşlarının oluşturduğu deneysel modelde rat karaciğeri üzerine sütür ve fibrin yapıştırıcılar denenerek, doku yapıştırıcısının sütür materyaline göre daha iyi adezyon ve doku iyileşmesi sağladığı sonucuna varılmıştır (21).

Reckers ve arkadaşlarının çalışmasında ise siyanoakrilat menisküs yırtıklarının tedavisi açısından araştırılmış, ancak

invivo yapılan bu çalışmada iyileşme sağlanmadığı saptanmıştır. Bu durum siyanoakrilatın inflamatuvar süreci tetikleyerek, doku iyileşmesini bozmasından kaynaklanabileceği söylenebilir, bu çalışmanın en önemli eksiklerinden birisi kullanılan siyanoakrilat türevinin belirtilmemesi olarak öne çıkmaktadır (22). Çünkü kısa zincirli siyanoakrilat türevlerinin ileri reaksiyon yaptığı bilinmektedir. Bu nedenle kullanımından vazgeçilmiştir. Uzun zincirli türevlerin ise daha kontrollü inflamatuvar yanıtı neden olarak iyileşme prosesini etkilemediği saptanmış ve endüstriyel olarak kullanıma sunulmuştur. Aksine Ayan ve arkadaşlarının N-2-siyanoakrilat ile yaptığı çalışmada menisküs yırtıklarına deneysel olarak uygulanan yapıştırıcının, mikroskobik veya makroskobik patolojiye neden olarak yara iyileşmesine engel olmadığı vurgulanmıştır (23). N-2-Butil siyanoakrilatın hem deneysel, hem de insan üzerinde etkilerinin araştırıldığı, tendon iyileşmesinde yapılan çalışmalarda, kas içi enjeksiyonunda incelendiği raporlarda ve eklem içi osteokondral kırıklarda gibi yaygın beslenen rejeneratif dokularda yapılan araştırmalarda yara iyileşmesini bozmadığı belirtilmiştir (24). Benzer şekilde korneal, nöronal ve vasküler dokunun çalışıldığı raporlarda da bu bölgelerin iyileşmesini bozmadığı belirtilmiştir (25). Dahası oral mukoza gibi rejeneratif kapasitenin yüksek olduğu bölge üzerine butil-siyanoakrilatın araştırıldığı çalışmalarda etkin sonuçlar elde edilmiş ve bu adeziv maddenin bu bölgede dikiş materyalinden daha güvenle kullanılabileceği vurgulanmıştır (26). N-2-butil siyanoakrilatın histotoksitesite üzerine deneysel olarak kornea üzerinde yapılmış çalışmada, bu malzemenin ciddi histotoksitesite oluşturmazken, yara iyileşmesi üzerine iyi etkileri olduğu ve kornea perforasyonlarında güvenle kullanılabileceği öngörüsüne varılmıştır (27). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde kas ve deri dokularında belirgin hücresel hasar izlenmezken, damar endotelinde tromboza bağlı kısmi hasar izlenmiş, ancak ileri reaksiyon belirlenmemiştir.

Bu tolere edilebilir ve ciddi olmayan hücresel etkiler, diğer siyanoakrilatların aksine uzun zincirli olmasına bağlanmış ve uzun zincir nedeniyle yavaş reaksiyon oluşturarak, daha az miktarda zararlı son ürün oluşturduğu ve bu kadar az zararlı ürünün organizmada daha kontrollü detoksifiye edildiği ve ileri sitotoksik reaksiyona yol açmadığı şeklinde yorumlanmıştır (7, 18).

Topikal ajanların cilt üzerine etkilerini belirlenmesinde, John Draize tarafından tanımlanmış Draize testi isimlendirilen temel test ve benzerleri kullanılabilir. Bi maddenin cilt üzerine etkileri (alerjik kontakt dermatit), bu maddeyle tema halinde dokuda yabancı cisim olarak algılanması ve buna karşı immünolojik aracılı verilen inflamatuvar bir deri reaksiyonudur. Testlerin potansiyel insan derisi hassaslaştırıcılarını saptamadaki duyarlılığı ve kabiliyeti, halk sağlığıyla ilgili toksisite için bir sınıflandırma sisteminde önemli olarak kabul edilir (27). Ancak biyomateryallerin cilde temas niteliklerini değerlendirmenin yanı sıra uzun süre cilt altı veya cilt çevresi dokularla reaksiyonunu da bilmek gerekir. Bu nedenle biyomateryallerin oluşturduğu gecikmiş tip hipersensitivitenin belirlenmesinde standardizasyon oluşturmak amacıyla "Uluslararası Standardizasyon Örgütü" tarafından standartlar belirlenmiştir. Bu nedenle irritasyon ve gecikmiş tip hipersensitivite içinde bir yöntem bilimi oluşturulmuştur. Bu testi geçen malzemeler ürün güvenliğine uygun sayılır ve çeşitli şartlara göre üretilmesine izin verilir (11). Ancak endüstriyel olarak kullanıma sunulan bu malzemelerin deneysel veya klinik kullanım şartlarında oluşturduğu reaksiyonların incelenmesi de ürün güvenliğinin ve devamlılığının sağlanmasında önemlidir. Bu nedenle siyanoakrilat bazlı doku yapıştırıcıları da üretim öncesi ve sonrası değerlendirilmelere tabi tutularak çeşitli etkileri raporlarla ifade edilmiştir. İlk klinik uygulamaya giren siyanoakrilat türevleri metil-2-siyanoakrilat ve etil-2-siyanoakrilat olmuştur. Bu ürünler cerrahinin birçok alanında denenmiş ancak ilerleyen süreçte mekanik etkileri zayıf olan bu formların yüksek sitotoksik etki gösterdiği de saptanmasıyla birlikte kullanımı terk edilmiştir (6,28,29). Sadece klinik öncesi testlerle değil klinik kullanımında raporlanan kontakt dermatit gibi reaksiyonların saptandığı klinik olgularda bu ajanların kullanılmasından vazgeçilmesinde etken olmuştur (30). Hatta sadece klinik amaçlı değil tıp dışı endüstriyel kullanım sırasında dahi bu kısa zincirli siyanoakrilat türevlerine aşırı duyarlılık rapor edilmiştir (31). Uzun zincirli türevlerin üretilmesiyle çok daha olumlu sonuçlar elde edilmiş ve yaygın üretime girmiştir. Özellikle yaygın olarak kullanılan N-2-Butil siyanoakrilatın güvenli kullanıma dair raporlar mevcuttur (32). Deneysel olarak oluşturulan bir modelde Kukleta ve ark. N-2-butil siyanoakrilat ile tavşanlara mesh fiksasyonu gerçekleştirildi ve akut faz sırasında kas dokusunda bir

reaksiyon gözlemlenmedi. Bu reaksiyon dokuda toksik etki oluşturmadığı şeklinde yorumlanırken, hafif veya orta derecede inflamatuvar hücrelerle karakterize fibroblastik doku reaksiyonu rapor ettiler. 360 gün sonra yapılan değerlendirme, fibrotik dokularda hafif bir artış gösterdi ve mononükleer hücre sayıları, bazı odaklarda daha fazla sayıda çoklu çekirdek dev hücre ile birlikte ortaya çıktı. Doksan gün sonra yapışkanın dokuda kaybolduğunu ortaya çıkardılar (33). Favard ve arkadaşlarının N-2-butil siyanoakrilatı, intravasküler alana uyguladıkları, varikozel çalışmasında, damar içi lokal inflamatuvar yanıtı trombozu tetikleyerek uyardığını ve skleroza neden olduğunu saptamakla beraber ileri reaksiyona neden olmadığını hatta bu hasta grubunda diğer ajanlara göre daha az ağrılı bir şekilde iyileşme sağladığı rapor etmişlerdir (34). Akgül ve arkadaşlarının penil dokuda kavernoöz dokuya deneysel uyguladıkları N-2-Butil siyanoakrilatın oldukça düşük yabancı cisim reaksiyonuna yol açarak doku iyileşmesinde oldukça iyi sonuçlar verdiği raporlanmıştır (35). N-2-butil siyanoakrilatın oklüzyon amacıyla kullanımın araştırıldığı çalışmalarda histotoksik ve inflamatuvar yanıtın oldukça düşük olduğu ve enjeksiyonun da bu nedenle daha az ağrılı olduğu raporlanmıştır (36). Tüm bu veriler ışığında N-2-butil siyanoakrilat sitotoksik açıdan iyi tolere edilen genel olarak dokularda güvenle kullanılacak bir ajan olarak önerilmiştir (32-36). Bizim çalışmamızda da N-2-butil siyanoakrilat kas ve cilt dokusunda önceki literatürle benzer şekilde ciltte irritasyon ve gecikmiş tip hipersensitiviteye neden olmadığı saptandı. Bulgular önceki çalışmalar ile benzer olarak bulundu.

Sonuç olarak N-2-butil siyanoakrilat irritasyon ve gecikmiş tip hipersensitiviteye neden olmamakta, sistemik toksik ve ileri histotoksik etki göstermemekte ve damar içi uygulamada lokal reaksiyon göstermemekte idi. Bu özellikleri ile N-2-butil siyanoakrilat ve türevlerinin klinik kullanımının artacağı ve daha ileri müdahaleler için güvenli reaksiyon oranlarına sahip olduğuna inanıyoruz.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding: none

Etik Kurul: Çalışma hayvan çalışması olup Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 29.03.2018 tarih,1/3 Karar numarası ile etik kurul onayı alınmıştır

doi: <https://doi.org/10.33713/egetbd.699440>

KAYNAKLAR

1. Ochsner JL. Minimally Invasive Surgical Procedures. Ochsner J. 2000; 2(3): 135-136.
2. Ronco V, Dard M. A novel suturing approach for tissue displacement within minimally invasive periodontal plastic surgery. Clin Case Rep. 2016; 4(8): 831-837.
3. Silverstein LH, Kurtzman GM. A review of dental suturing for optimal soft-tissue management. Compend Contin Educ Dent. 2005;26(3):163-6, 169-70
4. Singh PK, Degala S, Shetty S, Rai VS, Das A. To Evaluate the Efficacy and Effectiveness of N-butyl-2-cyanoacrylate glue (TRU SEAL) in Closure of Oral and Maxillofacial Laceration and Surgical Incisions. J Maxillofac Oral Surg. 2019;18(1):131-138. doi: 10.1007/s12663-018-1111-6.
5. Pujari-Palmer M, Guo H, Wenner D, et al., A Novel Class of Injectable Bioceramics that Glue Tissues and Biomaterials. Materials (Basel). 2018 Dec 7;11(12). pii: E2492. doi: 10.3390/ma11122492.
6. Balcıoğlu S., Alifatik Yapıdaki İzosiyanatlarla Şeker Temelli Yapıştırıcı Poliüretan Sentezi ve İn-Vitro Biyouyumluluk Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Malatya. 2015. <http://openaccess.inonu.edu.tr:8080/xmlui/handle/11616/5911>
7. Çelik D., Tavşanlarda Septal Kartilajın Anterior Nazal Spina'ya Tespiti İçin Kullanılan N-Butil-2 Siyanoakrilat (Histoacryl) Etkinliği ve Histopatolojik Değerlendirilmesi.Doktora Tezi. Şişli Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi II.Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği. İstanbul. 2006. http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/kbb/dr_deniz_celik.pdf
8. Bhalla RK, Lesser THC. Simple, painless, cosmetic closure of endaural incisions. The J Laryngol Otol. 2003;117:67-68
9. Matras H. Fibrin seal: The state of the art. Joral Maxillofacial Surg.1985;43:605
10. Toriumi DM, Raslan WF, Friedman M, Tardy E. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesives. Arch Otolaryngol Head Neck Surg.May1990;116:546-550
11. ISO (2010) ISO/TC 194 10993-10 - Biological evaluation of medical devices -- Part 10: Tests for irritation and skin

sensitization. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

12. ISO (2012) ISO/TC 194 10993-12 - Biological evaluation of medical devices -- Part 12: Sample preparation and reference materials. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

13. Galia CR, Macedo CA, Rosito R, Mello TM, Camargo LM, Moreira LF. In vitro and in vivo evaluation of lyophilized bovine bone biocompatibility. Clinics (Sao Paulo). 2008;63(6):801-6.

14. ISO (2009) ISO/TC 194 10993-10 - Biological evaluation of medical devices -- Part 11: Systemic toxicity tests. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland

15. Willert HG, Buchhorn GH, Fayyazi A, et al., Metal-on-metal bearings and hypersensitivity in patients with artificial hip joints. A clinical and histomorphological study. J Bone Joint Surg Am. 2005;87(1):28-36.

16. Tezcan O, Caliskan A, Demirtas S, et al., Effects of Hyperbaric Oxygen Treatment on Renal System. Iran J Kidney Dis. 2017;11(1):18-22.

17. ISO (2007) 10993-6: Biological Evaluation of Medical Devices: Test for local effects after implantation. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

18. Ellis DA, Shaikh A. The ideal tissue adhesive in facial plastic and reconstructive surgery. J Otolaryngol.1990;19:68-72

19. Eng J, Sabanathan S. Successful closure of bronchopleural fistula with adhesive tissue.Scand J Thor Cardiovasc Surg 1990;34:157-159

20. Kartal N, Sav A, Küllü S. İzobutil Siyanoakrilata Karşı Oluşan Mast Hücre cevabının Histopatolojik Olarak Değerlendirilme Türk Patoloji Dergisi 1991;7(2):52-55

21. Sağlıyan A, Günay C, Han MC, Yaman İ. Tavşanlarda Karaciğer Cerrahisinde Fibrin Yapıştırıcı Kullanımı: Deneysel Çalışma, F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg. 2010; 24 (2): 63 – 69

22. Reckers LJ, Fagundes DJ, Cohen M, Raymundo JL, Moreira MB, Paiva VC. Medial meniscus transplantation using cyanoacrylate in rabbits. Acta Cir Bras. 2006 ;21(2):92-6.

23. Ayan İ, Çolak M, Ballı E, Öztuna S, Kuyurtar F. Invivo application of hystoacryl (n-butyl-2-syanoacrylate) adhesive for meniscal tears: experimental study in rabbits. Joint Dis Rel Surg 2008; 19(3):112-118

24. Öztuna V, Yılmaz A, Yılmaz C, et al., The use of N-butyl-2-cyanoacrylate (Histoacryl) in primary tendon repair: a biomechanical study with sheep flexor tendons. Acta Orthop Traumatol Turc 2005;39(3):258-262

25. Reukov V, Maximov V, Vertegel A. Proteins conjugated

to poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles as potential neuroprotective agents. *Biotechnol Bioeng.* 2011;108(2):243-52

26. Yıldırım G, Güngörmüş M, Gürbüz G, Kaya Ö, Nalbantoğlu NG. Oral Mukoza Kesilerinde Sütür Ve Butil-2-Siyanoakrilatın Klinik Ve Histopatolojik Olarak Karşılaştırılması Atatürk Üniv.Diş Hck.Fak.Derg.1991; 9(2): 1-8.1991

27. Pérez M, Fernández I, Márquez D, Bretaña RM. Use of N-butyl-2-cyanoacrylate in oral surgery: biological and clinical evaluation. *Artif Organs.* 2000;24(3):241-3.

28. Singer AJ, Quinn JV, Hollander JE. The cyanoacrylate topical skin adhesives. *American Journal of Emergency Medicine.* 2008;26: 490-496.

29. Bhatia SK. Traumatic injuries. In: Bhatia SK, editor. *Biomaterials for clinical applications.* New York, 2010; 213-258 p.

30. Bouten PJM, Zonjee M, Bender J, et al., The chemistry of tissue adhesive materials. *Progress in Polymer Science.* 2014; 39: 1375-1405.

31. Schwensen JF, Friis UF, Zachariae C, Johansen JD. Sensitization to cyanoacrylates caused by prolonged exposure to a glucose sensor set in a diabetic child. *Contact Dermatitis.* 2016;74(2):124-5.

32. Ayyıldız SN, Ayyıldız A. Cyanoacrylic tissue glues: Biochemical properties and their usage in urology. *Turk J Urol.* 2017;43(1):14-24.

33. Kukleta JF, Freytag C, Weber M. Efficiency and safety of mesh fixation in laparoscopic inguinal hernia repair using n-butyl cyanoacrylate: long-term biocompatibility in over 1,300 mesh fixations. *Hernia.* 2012; 16(2):153-62.

34. Favard N, Moulin M, Fauque P, et al., Comparison of three different embolic materials for varicocele embolization: retrospective study of tolerance, radiation and recurrence rate. *Quant Imaging Med Surg.* 2015;5:806-14

35. Akgül T, Ayyıldız A, Cebeci O, et al., Effect of cyanoacrylic glue on penile fracture: an experimental study. *J Urol.* 2008; 180(2):749-52.

36. Loffroy R, Guiu B, Cercueil JP, Krausé D. Endovascular therapeutic embolisation: an overview of occluding agents and their effects on embolised tissues. *Curr Vasc Pharmacol.* 2009; 7(2):250-63