

EPIDERMAL BUYUME FAKTÖRÜNÜN (EGF) DERİ ALLOGREFTLERİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

İhsan Levent ARAL*, Nadir GÜNGÖR**, Tülin OYGÜR***, Leyla CİNEL****

Ö Z E T

Bu araştırma EGF'nin tam-kalınlık deri allogreftleri üzerine olan etkilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi amacı ile deney hayvanı olarak seçtiğimiz 36 adet fare üzerinde yürütüldü. Bu amaçla deney hayvanlarının sırtlarına tam-kalınlık deri allogreftleri transplante edildi.

Kontrol grubuna dahil edilen deney hayvanlarına hiçbir ilaç verilmezken; EGF grubuna dahil ettiğimiz hayvanlara ise sistemik olarak saf EGF verilmiştir.

Sonuçlar 7, 14, 21. günlerde histopatolojik olarak değerlendirildiğinde: EGF'nin deri allogreftleri üzerinde rejeksiyonu önleyici bir etkisinin olmadığı, ancak literatür bilgileri ile uyumlu olarak, EGF grubunun 7. gün örneklerinde ağırlıklı olarak greftin angiogenesisini uyardığı histopatolojik olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : EGF, Urograstone (URO), Deri Allogreftleri, Rejeksiyon.

GİRİŞ

EGF ilk kez Dr. Stanley COHEN tarafından 1962 yılında erkek fare submandibüler tükrük bezinde izole edilmiştir (1). 1975 yılında Gregory ve arkadaşları insan idrarının köpeklerde mide asit salgısını inhibe ettiğini göstermişler ve izole ettikleri etken maddenin adını «UROGASTRONE» koymuşlardır (2). Urogastronun fare EGF'sine benzer yapıda olması nedeni ile izole edilen bu maddeye insan EGF'si denilmiştir (2,3,4).

SUMMARY

Effects of Epidermal Growth Factor (EGF) On The Skin Allografts

The present histopathological study was conducted on a total of 36 mice in order to determine the effects of EGF on the full-thickness skin allografts. For this purpose full-thickness skin allografts were transplanted on the dorsum of the experimental animals.

While no drug was given to the control group, pure EGF was systematically applied to the EGF group.

When the results were histopathologically evaluated on the 7th, 14th, 21st days, it was noticed that EGF has no effect on the prevention of the skin allografts' rejection. However it was determined that graft obtained on the 7th day EGF group particularly stimulated to the angiogenesis in the specimens.

Key Words : EGF, Urogastrone (URO), Skin allografts, Rejection.

Fare EGF'si fenil, alanin, lizin dışında tüm aminoasitleri içeren ve 53 aminoasitli 6000 Dalton ağırlığında, üç disülfid bağı olan tek zincirli bir polipeptittir (5).

* G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hast. ve Cerrahisi Anabilim Dalı Araş. Gör. Dr.

** G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hast. ve Cerrahisi Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Prof. Dr.

*** G.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Doç. Dr.

**** G.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Araş. Gör. Dr.

EGF'nin biyolojik etkileri birçok hayvan organ ve hücre kültürlerinde gösterilmiştir (6, 7). Bu etkiler ana başlıkları ile şunlardır (6, 7) i In-Vivo olarak hücre kültürlerinde; deri, korneal epitelyum, akciğer ve trakeal epitelyum, insan, koyun ve kedilerde korneal yara tamirini hızlandırma, gastrik ülser tamirini hızlandırma, sıçan ve köpeklerde gastrik asit sekresyonunun inhibisyonu ile hepatik hipertrofi ve hiperplazidir. Organ kültürlerinde ise; Deri, korneal epitelyum ve meme bezleri epitelyumunda proliferasyon ve farklılaşma, tavuk epidermal hücrelerinde protein ve RNA sentezi ile metabolik artış, raflarda damak birleşiminin inhibisyonu, yeni doğan farelerde kemik rezorpsiyonunu artırma şeklindedir (6, 7).

EGF'nin derideki etkileri ile ilgili olarak yapılan araştırmalar incelendiğinde; 1988 yılında ERBAŞ ve arkadaşları farelerde cilt yaralarının iyileşmesinde, erkek fare submandibüler tükürük bez ekstresinden elde ettikleri EGF'nin Intraperitoneal (I.P.) ve topikal uygulanan EGF grubunda kontrol grubuna nazaran daha hızlı bir iyileşme ve fibroblastların artışı ile kollagen içeriğinin artışı gözlemlenmiştir (8). Yine aynı yıl BUCKLY ve arkadaşları tarafından yapılan diğer bir çalışmada EGF'nin rat granülasyon dokusundaki etkileri incelenmiş ve EGF'nin ilgili dokuda fibroblastlarda potent bir «chemoattractant» olduğu ve bu özelliğini yara iyileşme dokusundan alınan bütün kesitlerde gösterdiği bildirilmiştir (9).

1990 yılında NANNEY domuzlarda oluşturduğu yarı-kalınlık cilt yaralarında EGF'nin topikal uygulanmasının epidermal ve dermal olarak epitelizasyonu uyardığı ve yara iyileşmesinin erken safhalarında dermiş oluşumunun üzerine kesin etkisinin olduğunu bildirmiştir (10). Fukusawa ve arkadaşları tavşanlarda EGF'nin peritoneal doku tamir hücrelerinde fibroblastların bu hücrelere göçüne ve proliferasyonu ile fonksiyonlarına modülatör etki yaptığını bildirmişlerdir (11)

Bu gibi etkileri deride belirlenen EGF'nin deri allogreftlerinin rejeksiyonuna olan etkilerinin histopatolojik olarak incelendiği bir çalışmaya literatürde rastlanılamamıştır; Literatürde

sadece bol miktarda EGF içeren submandibüler bez ekstresinin T hücreleri aracılığı ile deri allogreftlerinin rejeksiyonunu geciktirdiğine dair bir bilgi bulunmuştur (12). Literatürde bu etkinin histopatolojik bir çalışma ile değerlendirilmediği dikkate alınarak, EGF'nin bu etkisi saf olarak kullandığımız EGF ile histopatolojik olarak araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızın deneysel safhası A.Ü. Tıp Fakültesi Hayvan Yetiştirme ve Temin laboratuvarında, histopatolojik değerlendirmeler ise G.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

Araştırma her biri 25 gr. ağırlığında toplam 36 adet Balb/c American türündeki beyaz erkek fareler üzerinde yürütüldü. Fareler her bir grupta 18 adet olmak üzere kontrol ve EGF grubuna ayrıldı.

Kontrol grubuna hiçbir ilaç verilmezken EGF grubuna transplantasyon işleminden 24 saat önce başlamak üzere nekropsi materyallerinin alınacağı günlere kadar 1x1 10 mikrogram/kg./gün olmak üzere I.P. olarak EGF flakon (SIGMA Chemical Company P.O. Box 14508, St. Louis, M : 63178, USA verildi (9).

Her bir grup kendi içinde 7, 14, 21. gün histopatolojik çalışma alt gruplarına ayrılarak bu gruplara 6'şar adet fare dahil edildi.

Her bir alt gruptaki 6 adet deney hayvanı üçer, üçer ayrılarak bu gruplardan birer adet deney hayvanı alındı. Alınan bu deney hayvanlarının sırtları traşlanarak, betabine sıvı sabun ile iyice silindi. Eter anestezisi altında 1x1 cm. boyutlarındaki tam-kalınlık deri greftleri, daha önce hazırlanan steril gazlı bez üzerinde çizdiğimiz şablona uygun olarak cerrahi disiplinler altında 15 nolu bisturi ile alındı. Alınan greft materyalleri karşılıklı olarak deney hayvanlarının sırtlarında doğal olarak oluşan alıcı greft yataklarına 6/0 Vicryl ile dikilerek adaptasyonları sağlandı. Histopatolojik değerlendirme için hayvanlara eter koklatılarak öldürüldü. Greftleme böl-

gesini ve altındaki subkutan dokuyu içerecek şekilde genişçe eksize edilen nekropsi materyalleri % 10'luk formalin solüsyonunun da tespit edildi. Histopatolojik değerlendirmeler OLYMPUS BHS ışık mikroskopunda yapılarak resimlendirildi.

BULGULAR

Kontrol grubunun transplantasyonu izleyen 7. gün örneklerinin büyük bir kısmında greftlerin koagülatif nekroz gösterdiği, yalnız bir örnekte greftin canlı olduğu izlendi. Bu örnekte epidermis ve deri ekleri polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonu gösterirken dermal bağ doku normal görünümde idi (Resim 1.) Bu grubun tüm örneklerinde greftlere komşu dokular da mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu ve kapiller damar proliferasyonu ile karakterize iltihabi granülasyon dokusu izlendi.

Kontrol grubunun transplantasyonu izleyen 14. gün örneklerinin tümünde değişen şiddette doku iyileşmesi bulgulanırken, bazı örneklerde greftlerin atılmış ve bölgenin fibroblastik doku ile dolduğu gözlenirken, epitelizasyonunda ta-



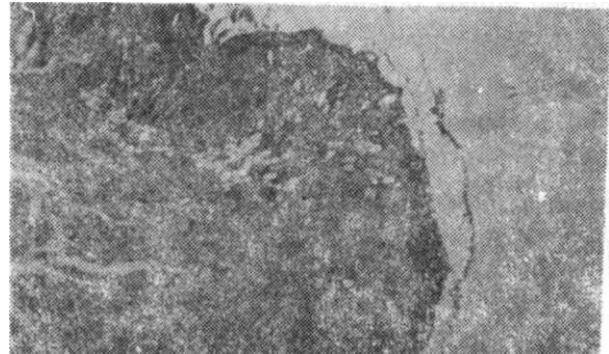
Resim 1. 7 gün kontrol. PMNL infiltrasyonu içermeyen koagülatif nekrozla karakterli greft (G) ve greft yatağında kalın fibrin tabakaları (F). (X 100, HEMOTOKSİLEN ve EOSİN).

marnlanmak üzere oluşu belirlendi (Resim 2). Bazı örneklerde ise yüzeyde kurut ile karakterli nekrotik greftin henüz uzaklaşmadığı ve komşu canlı dokuda iltihabi granülasyon dokusu ile çevrelendiği görüldü.



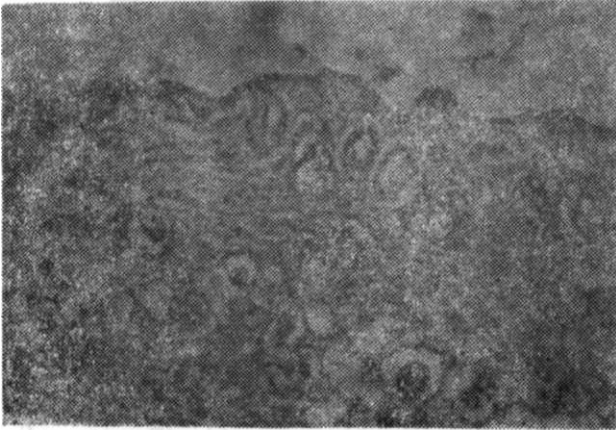
Resim 2. 14 gün kontrol. Greftleme bölgesinde fibroblastlardan zengin bağ doku gelişimi ve epidermiste rejenerasyon (X 100, HEMOTOKSİLEN ve EOSİN).

Kontrol grubunun transplantasyonu izleyen 21. gün örneklerinde greftleme bölgesinin arada mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu içeren hücrelerden zengin bağ dokusu ile dolduğu ve epitelizasyonun tamamlandığı görüldü (Resim 3).



Resim 3. 21 gün kontrol. Greftleme bölgesinde fibröz doku gelişimi ve epidermiste rejenerasyon (X40, HEMOTOKSİLEN ve EOSİN).

EGF grubunun transplantasyonu izleyen 7. gün örneklerinin biri hariç diğer tüm örneklerinde greftler canlı görünümdeydi. Bu greftlerin epidermis ve deri ekleri ağır dejeneratif değişiklikler göstermekle birlikte nekroz içermiyordu. Bu canlı greftler genişlemiş ve içi kanla dolu kapiller damarlar gösteriyordu (Resim 4). Graft yatağı ve komşu dokular minimal iltihabi hücre infiltrasyonu göstermekte idi.



Resim 4. 7 gün EGF. Canlı greftde epidermal bazal kerationsitler (ince oklar) ve kanla dolu genişlemiş kapiller damarlar (ok uçları) (X 200, HEMOTOKSİLEN ve EOSİN).



Resim 5. 14 gün EGF. Yara bölgesinde epitel ve bağdoğu proliferasyonu (X 100, HEMOTOKSİLEN ve EOSİN).



Resim 6. 21 gün EGF. Greitleme bölgesinde fibroblastlardan zengin bağdoku gelişimi ve epitel rejenerasyonu (X 100, HEMOTOKSİLEN ve EOSİN).

EGF grubunun transplantasyonu içeren 14. gün örneklerinden bazılarında nekrotik greft ve hemen altında organize fibrinin yer aldığı izlendi. Diğer örneklerde ise greft izlenmiyor ve yara bölgesi doku iyileşmesi bulgularını gösteriyordu. Bu alanlar yer yer mononükleer iltihap hücreleri içeren fibroblastik proliferasyon ile karakterli idi. Yüzeideki kurutun altında epitel proliferasyonu sürmekte idi (Resim 5).

EGF grubunun transplantasyonu izleyen 21. gün örneklerinin tümünde bölgenin fibroblastlardan zengin bağdoku ile dolduğu ve epitelizasyonunun tamamlandığı görüldü. Yeni gelişen bu doku deri ekleri içermiyordu (Resim 6).

TARTIŞMA

Deri greftleri granülasyon dokusu yapabilecek kadar yeterli kan akımına sahip herhangi bir yarayı kapatmak amacı ile kullanılabilir (13). Bizimde çalışmamızda oluşturduğumuz yara, bu açıdan bakıldığında uyguladığımız deri allogrefti açısından uygun bir saha oluşturmakta idi.

Deri allogreftleri ise genellikle yeterli miktarda otojen deri grefti verici sahasının mevcut olmadığı ve özellikle geniş yanık sahalarının mevcut olduğu ağır yanık vakalarında uygulanmasına başvuru ve çoğu zaman geçici bir ka-

pama sağlamak amacı ile uygulanan greft tip-leridir (13-14).

Literatürde Ağız ve Çene Cerrahisinde deri allogreftlerine ilişkin yapılan çalışmalardan biri 1974 yılında Vemino tarafından dondurulmuş, kurutulmuş deri allogreftlerinin ağız içi kullanımının olabileceğini gösteren ve maymunlarda yapılmış bir deneysel araştırmadır (15). Bu konuda yapılan diğer bir çalışma ise 1983 yılında Gregory ve arkadaşlarının yine deneysel olarak köpeklerde yaptıkları ve otojen deri greftleri ile dondurulmuş, kurutulmuş deri allogreftlerinin vestibüloplastide uygulamaları arasında kabul edilebilirlik açısından aralarında farklılık bulunmadığını gösteren bir çalışmadır (16).

Araştırmamıza bu açıdan bakıldığında; her ne kadar deri allogreftlerini kullanmamız tartışmaya açık bir konu olarak görülsede, çalışmamızın esas çıkış noktasını teşkil eden EGF'nin özellikle deri allogreftleri üzerine olan etkisi ve EGF'nin bu yönde literatürde belirtilen immüno-süpresif etkisinin histopatolojik olarak araştırıldığı bir çalışmanın bulunmayışı araştırmamızı literatürdeki bu eksikliği giderme açısından önemli bir hale sokmuştur.

Literatür bilgisi bol miktarda EGF içeren submandibüler bez ekstresinin T hücreleri aracılığı ile deri allogreftlerinin rejeksiyonunu geciktirdiğini bildirmektedir (12).

Çalışmamızda hem EGF'nin literatürde iddia edilen immüno-süpresif etkisi ve hemde deri allogreftleri ile ilgili araştırmaların azlığı konumuzu geniş kapsamlı olarak tartışmamıza izin vermemektedir.

Çalışmamızda kontrol ve EGF grubundaki deney hayvanlarının sırtlarına uyguladığımız deri allogreftlerinin tümü atılmıştır. Greft rejeksiyonu ile ilgili çarpıcı bulgular 7. gün örneklerinde izlenirken 14. ve 21. günlere ait örneklerde transplantasyon bölgesinde devam eden ve yara iyileşmesini tanımlayan bulgulara rastlanmıştır. Transplantasyonun 7. gününde alınan örneklerde deri allogreftlerinde şu farklı histopatolojik görünümeler saptanmıştır; Greftin PMNL içermeksizin total iskemik nekrozu, Gref-

tin PMNL infiltrasyonu gösteren total iskemik nekrozu ve son olarak Epidermis ve deri ekle-riindeki nekrotik değişiklikler dışında canlı greft.

Transplante edilen bir deri greftinin canlılığını sürdürebilmesi, kanlanmasının gerçekleşmesi ile mümkündür (13).

Transplantasyonun ilk birkaç gününde greft, greft yatağından gelen plazmatik sirkülasyon ile besin ve oksijenini alır. Transplantasyonun 3. veya 4. günlerinde damar bağlantısının başlaması ve 6. veya 7. günlerde damarlanmanın sona ermesi beklenir. Dolayısı ile operasyonun ilk günlerinde greftin geçici iskemiye girmesi beklenilebilir. Bu durum damarlanmanın sağlanması şartı ile reversible bir olaydır. Erken ve geçici iskemi grefte epidermis ve deri eklerinde dejeneratif ve hatta nekrotik bir duruma yol açabilir. Dermal kollagen ve kas lifleri iskemiye daha dirençlidir (17).

Bizim çalışmamızda incelenen 7. gün örneklerinde epidermal ve dermal elemanların dejenere kas lifleri dışında tümüyle koagülatif nekroza uğraması greft ve greft yatağı damarları arasında bağlantının gerçekleşmediğini göstermektedir. Ancak ilginç olarak EGF grubunun 7. gün örneklerinin biri dışında diğer örneklerinde canlı greftlerin bulgulanması konuyu tartışmamıza izin vermektedir.

EGF grubunun 7. gün örneklerinin büyük bir kısmında greftlerde saptadığımız genişlemiş ve içi kanla dolu kapiller damarlar, canlı bağ doku lifleri ve epidermis ile deri eklerindeki rejenerasyon bulguları bu greftlerde damarlanmanın gerçekleştiğini göstermektedir. Aynı bulgu kontrol grubunun bir örneğinde de izlenmiştir.

Greft damarlanmasının ağırlıklı olarak 7. gün EGF grubunda saptanması EGF'nin literatürde belirtilen endotel migrasyonunu artırıcı etkisine bağlanılabilir (9, 18, 19).

Neovaskülarizasyon veya angiogenesis olarak adlandırılan yeni kapiller damar oluşumu, iltihabi granülasyon dokusunda iyi tanımlanmıştır. Neovaskülarizasyon 4 basamakta gerçekleşir (20).

1. Kapiller dallanmaya izin vermek üzere mevcut damarların bazal membranında enzimatik degradasyon.
2. Anjiojenik stimulus ile endotel hücrelerinin migrasyonu.
3. Endotel hücre proliferasyonu.
4. Endotel hücre matürasyonu ve kapiller tüplerin organizasyonu.

Buna bağlı olarak bizimde araştırmamızda cerrahi travma sonrasında greft yatağını oluşturan dokularda ortaya çıkan veya serbest bırakılan iltihabi medatörlere ek olarak EGF'nin de angiogenesi hızlandırmış olabileceği 7. gün EGF grubundaki histopatolojik bulgulardaki damarlanmayı açıklar niteliktedir.

Bir allogreftin alıcının immün sistemi aracılığı ile reddedilmesi spesifik bir rejeksiyondur. Spesifik allogreft rejeksiyonu, alıcının kan hücrelerinin greftin içinde dolaşmaya başlaması ile yani grefte damarlanmanın gerçekleşmesi ile başlar. Damarlanmanın tamamlanmasını izleyen günlerde greft içinde lenfositik infiltrasyon ortaya çıkar. Lenfosit alt grupları greftin doku uyumluluğu (Majör Histocompatibilite) antijenlerinin yabancı olduğunu görerek greft hücrelerinin lizisine neden olurlar. Aynı zamanda grefte giderek biriken makrofajların salgıladığı mediyatörlerle mikrovasküler zedelenme ve doku iskemesi meydana gelir. Bu olaylar dizisi yaklaşık olarak 6. ve 8. günlerde başlar ve 10-12. günlerde tamamlanır (20).

Biz çalışmamızda 7. günde damarlanmayı bulguladığımız örneklerde lenfositik infiltrasyon saptamadık; incelenen her iki grubun 14. gün örneklerinde ise greftler nekrotikti, olasılıkla spesifik rejeksiyon ile ilgili histopatolojik bulgular 7. ve 14. günler arasında gerçekleşmiştir.

Kontrol ve EGF gruplarının 14. ve 21. gün örneklerinde greftlenme bölgesinin iyileşmesi arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Her iki grupta da fibroblastik ve epitel proliferasyon gözlenmiştir. Bu durum EGF'nin sistemik olarak verilmesinden ileri gelebilir.

Literatür bilgilerini incelediğimizde; Erbaş ve arkadaşları submandibüler bez ekstresinin farelerde topikal uygulamanın yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilerini bildirirken (8), Nanney domuzlarda yaptığı deneysel çalışmasında Erbaş'ında çalışmasına paralel olarak EGF'nin cilt yaralarına olan olumlu etkilerinin topikal kullanımda ortaya çıktığını ve bu şekilde uygulanmasının epitelizasyonu uyarak, yara iyileşmesinin erken safhalarında dermis oluşumu üzerine kesin etkisinin olduğunu belirtmiştir (10). Brown ve arkadaşları ise insanlarda kronik deri yaralarının iyileşmesinde EGF'nin topikal uygulanmasının olumlu etkilerini rapor etmişlerdir (21).

Bu literatür bilgilerine paralel olarak bizim çalışmamızda da sistemik olarak uyguladığımız EGF'nin 14. ve 21. gün greftleme bölgesindeki yara iyileşmesinin kontrol grubunun yine aynı gün örnekleri ile aynı olması normal görülmüştür.

Araştırmamızda bulguladığımız sistemik olarak verilen EGF'nin deri allogreftlerinin transplantasyonunu takiben 7. günde oluşturduğu angiogenetik etkisi, immünsüpresif ilaç veya ilaç kombinasyonlarından beklenen spesifik rejeksiyonu geciktirici etki ile birleştiğinde deri allogreftlerinin reddini önleme yada geciktirmede daha yüz güldürücü bir sonuç ortaya çıkarabilir.

K A Y N A K L A R

1. COHEN S. : Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. The Journal of Biological Chemistry, 237 (5) 1555-1563 1962.
2. GREGORY H. : Isolation an structure of urogastrone and its relationship to epidermal growth factor. Nature, 257, 325-327 1975.
3. COSTRINI N.V., BECK R. : Epidermal growth factor urogastrone receptors in normal human liver and primary hepatoma. Canser, 51, 2191-2196 1983.
4. ROTHE M., FALANCGA V.: Growth factors. Arch. dermatol. 125, 1390-1398 1989.
5. TAUBER J.P., TAUBER M .T. : Growth factors. Nucl. med. biol., 14 (4) 407-419 1937.

6. CARPENTER G., COHEN S. : Epidermal growth factor. *Ann. rev. biochem.* 68, 194-216 1979.
 7. YATES R. NANEY L.B., GATES R.E., KING L.E. : Epidermal growth factor and related growth factors. *Int. journal of dermatology*, 30 (10) 687-693 1991.
 8. ERBAŞ., OYGÜR T., ANIL A. : Submandibüler bez ekstreminin yara iyileşmesine olan etkisi. *Gazi Üniv. Dişhek. Fak. Der.* 5 (2) 139-147 1988.
 9. BUCKLY A., DAVIDSON M.J., KAMERATH C.D., WOLT T.B., WOODWARD C.S. : Sustained release of epidermal growth factor accelerates wound repair. *Proc. natl. acad. sci. USA* 82, 7340-7344 1985.
 10. NANEY L.B. : Epidermal and dermal effects of epidermal growth factor during wound repair. *The journal of investigative dermatology*, 94 (5) 624-629 1990.
 11. FUKUSAWA M., YANAGIHARA D.L., RODGERS K.E., DIZERAGA G.S. : The mitogenic activity of peritoneal repair cells : Control by growth factors. *Journal of surgical research* 47, 45-51 1989.
 12. KONGSHAVN PAL, BLISS J.O. : Effects of mouse submandibüler gland extract on survival of H-2 incompatible skin allografts. *Immunology* 19 363-367 1970.
 13. ÇAĞDAŞ A., AKIN Y., SONGÜR E. : Deri aşıları ve flepler, Plastik ve rekonstrüktif cerrahi (ÇAĞDAŞ A. Editör), Ege Ün. Tıp Fak. yayınları No : 130 29-43 İZMİR 1988.
 14. KROB M.J., JORDAN M.H. : Serial debridment and allografting of facial burns : A method of controlling spontaneous healing. *The journal of trauma* 27 (2) 190-194 1987.
 15. CARROLL P.B., TOW H.D., VERNINO A.R. : The use of allogeneic-dried skin grafts in the oral environment. *Oral Surgery oral med. oral pathol.* 37 (2) 163-174 1974.
 16. GREGORY W.E., TRIPLETT R.G., CONNOLE P.W. : Comparison of fresh autogenous and freeze-dried allogenic skin for mandibular vestibuloplasty. *Journal olarak maxillofac. surg.* 41 75-79 1983.
 17. HENRY L, MARSHALL D.C., Friedman E.A., DAMMIN G.J., MERRILL J.P. : The rejection of skin homografts in the normal human subject, part II. histological findings. *Journal of clinical investigation.* 41 (3) 420-446 1962.
 18. GOSPODAROW'ICZ D., BROWN K.D., BIRDWELL C.D., ZETTER B.R. : Control of proliferation of human vascular endothelial cells. *J. cell biology* 77 774-778 1978.
 19. GOSPODAROWICZ D., GREENBURG G. : The effects of epidermal and fibroblast growth factors on the repair of corneal endothelial wound in bovine corneas maintained in organ culture. *Exp. eye res.* 28 147-157 1978.
 20. CONTRAN R.S., KUMAR W., ROBBINS S.L. : Robbins pathologic basis of disease 4 th. ed. WB. Saunders Comp. Philadelphia p: 73, p: 184 1989.
 21. BROWN L.G., CURTSINGER L, JURKIEWICZ M.J., MAHAL F., SCHULTZ G. : Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor. *Plastic and reconstructive surgery* 88 (2) 189-194 1991.
- TEŞEKKÜR : Yazarlar, değerli katkılarından dolayı G.Ü. Tıp Fak. Fizyoloji. Bilim Dalı Öğr. Üyesi Prof. Dr. Deniz Erbaş'a teşekkür ederler.