

# Otolog Fibrin Yapıştırıcısının Açık Yara Tedavisinde İyileşme Üzerine Etkisi: Deneysel Çalışma

Musa GENÇCELEP<sup>1</sup> Lokman ASLAN<sup>1</sup> Hayati YÜKSEL<sup>2</sup> Abdullah KARASU<sup>1</sup> Bahtiyar BAKIR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı VAN.

<sup>2</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı VAN.

## ÖZET

*Bu çalışmada; köpeklerde deneysel oluşturulan açık yaralarda otolog fibrin yapıştırıcısının iyileşme üzerine etkisi klinik ve histopatolojik olarak araştırıldı. Çalışmada, 14 adet sağlıklı melez köpek kullanıldı. Köpekler 7'şer hayvandan oluşan kontrol (K) ve otolog fibrin (D) gruplarına ayrıldı. Xylazin HCl ve Ketamin HCl ile gerçekleştirilen anesteziden sonra sağ veya sol göğüs çeperinde 4,5 cm çapında aseptik yaralar oluşturuldu. K grubuna serum fizyolojik, D grubuna aprotinin içermeyen otolog fibrin yapıştırıcı uygulandı. Klinik olarak her iki grup 21. güne kadar kabuk oluşumu, granülasyon doku gelişimi, epitelizasyon ilerlemesi ve enfeksiyon varlığı açısından incelendi. Morfolojik yönden, her iki gruptan sağlam ve yaralı dokuyu kapsayan örnekler alınarak, inflamasyon, fibroblast proliferasyonu, kollajen sentezi, granülasyon doku oluşumu ve epitelizasyon durumu incelenerek değerlendirildi. Sonuç olarak, otolog fibrin yapıştırıcı kullanımının kontrol grubuna göre yara iyileşme sürecini hızlandırdığı kanısına varıldı.*

**Anahtar Kelimeler:** Otolog fibrin yapıştırıcı, Yara iyileşmesi, Köpek

## The Effect of Autologous Fibrin Glue on Wound Healing

### SUMMARY

*In this study; the effect of autologous fibrin glue on clinical wound healing were investigated clinically and histopathologically. In the study, 14 healthy cross breed dogs were used. The dogs were divided into control (K) and otolog (D) groups (each 7 animal). After inducing general anaesthesia with Xylazin HCL and Ketamin HCl, clinical wounds about 4.5 cm in diameter were opened on the both side of thorax. Control group was received sodium chloride (0.9 %) and the experimental group was received autologous fibrin glue without aprotinin. Clinically, the scab development, tissue granulation, reepithelisation, infection wound healing were investigated in both groups at 21. days after wound formation. Morphologically, samples covering both healthy and wounded areas were taken from all groups of animals to determine inflammation, proliferation of the fibroblast, synthesis of collagen, development of granulation tissue and reepithelization in wound. As a result; local applications of autologous fibrin glues accelerate wound healing process.*

**Key Words:** Autologous, Fibrin glue, Wound healing, Dog.

### GİRİŞ

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasıdır (6). Bütünlüğü bozulan bir dokunun en düşük maddi kayba yol açacak şekilde birleştirilip devamlılığı ve fonksiyonelliğinin geri kazandırılması cerrahinin en önde gelen temel amaçlarından biri olmuştur. Bu amaca yönelik olarak çeşitli kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanlar gerek topikal gerekse parenteral olarak kullanılmaktadır. Yara tedavisinde sıkça kullanılan topikal antimikrobiyel ajanların çoğunluğu, antibakteriyel etkilere sahip olmalarına karşın sitotoksik etkileri sayesinde yara iyileşme sürecini geciktirmektedirler (6, 11, 13, 17).

Çağımızda moleküler biyoloji alanındaki hızlı gelişmeler bazı moleküllerin özelliklerinden yararlanmayı sağlamıştır. Bu biyolojik maddelerden biride fibrinojen ve ondan elde edilen fibrin yapıştırıcıdır (5, 6, 10, 12).

Heterolog fibrin yapıştırıcıların immün yetmezlik ve viral enfeksiyonları taşıma riskinden dolayı bir çok araştırmacı hastanın kendi kanından elde edilen fibrin yapıştırıcıları kullanmaya başlamışlardır (11, 12).

### MATERYAL VE METOT

Çalışmada; yaşları 2-4 ve canlı ağırlığı 15-23 kg arasında değişen, 9 erkek, 5 dişi olmak üzere toplam 14 adet

sağlıklı melez köpek kullanıldı. Hayvanlar kendi kanlarından elde edilen otolog fibrin yapıştırıcı uygulanan grup (D) ve kontrol (K) grubu olmak üzere 2'ye ayrıldı. D grubundaki her bir hayvandan otolog fibrin hazırlamak için 20 ml venöz kan alındı. Otolog fibrin yapıştırıcısının hazırlanmasında Durham ve arkadaşlarının bildirdiği metot kullanıldı (4).

Hayvanlara premedikasyon amacıyla 2 mg/kg dozunda im Xylazin HCl (Rompun®-Bayer) enjeksiyonu yapıldıktan sonra sağ veya sol göğüs çeperi simetrik olarak tıraş ve dezenfekte edildi. Genel anestezi amacıyla 15 mg/kg dozunda im Ketamin HCl (Ketalar®-Parkedavis) uygulandı. Genel anesteziyi takiben sağ veya sol göğüs çeperinde epidermis ve dermisi içine alacak şekilde, 4,5 cm (15,90 cm<sup>2</sup>) çapındaki bir levhanın kenarı rehberliğinde daire şeklinde aseptik yaralar oluşturuldu. Otolog fibrin yapıştırıcı (n=7), yara oluşturulduktan sonra ve 7. gün tüm yara üzerine ince bir tabaka şeklinde uygulandı ve steril vazelin emdirilmiş gazlı bezle kapatıldı. Gazlı bezler her gün 1 kez değiştirildi ve işleme 10 gün devam edildi. Tüm hayvanların boyunlarına yakalık geçirildi ve gazlı bezleri tesbit etmek için yaralara bandaletli sargı uygulandı.

Yara oluşumunu takiben 21. güne kadar kabuk oluşumu, granülasyon doku gelişimi, epitelizasyon ilerlemesi ve enfeksiyonun varlığı makroskobik olarak değerlendirildi. Yara kontraksiyonu ve epitelizasyon ilerlemesi, yara

iyileşmesi kriteri olarak kabul edildi. 3, 7, 15 ve 21. günlerde yara çapları ölçüldü (Tablo 1).

Denemenin 3, 7, 15 ve 21. günlerinde histopatolojik muayene için her gruptan iki olgudan yaralı ve sağlam dokuyu içine alacak şekilde doku örnekleri alınarak % 10'luk formalinde tespit edildi. Alınan örnekler bilinen klasik işlemlerden geçirildikten sonra hazırlanan parafin bloklar 5µ kalınlığında kesilerek hematoksilin-eozin ile boyandı. Dokular histopatolojik olarak; inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fibroblast proliferasyonu, kollajen ve granülasyon gelişimi ile epitelizasyon düzeyi göz önüne alınarak incelendi.

## BULGULAR

Yaralar oluşturulduktan sonra; D grubundaki yaralara uygulanan otolog fibrin yapıştırıcının 3 - 4 dakikada pıhtılaşarak yara yüzeyinde ince bir film tabaka oluşturduğu ve hemostazın şekillendiği gözlemlendi.

Üçüncü günde; D grubunda 1 olguda, K grubunda ise 2 olguda kabuk oluşumu mevcuttu. Her iki grupta pansuman değişimi sırasında kabuk ayrıldı ve hepsinde irinli eksudat gözlemlendi. D grubundaki yarada, K grubuna göre belirgin bir kırmızı tomurcuklanma mevcuttu. Kabuk oluşan yaralarda granülasyon ve epitelizasyon gelişimi mevcut değildi. Histopatolojik muayenede iki grupta da nekrotik kitleler, eritrositler ve polimorf nükleer lökositlerden oluşan akut inflamasyon ürünleri görüldü (Şekil 1, 2).

Yedinci günde; D grubunda 2, K grubunda 5 olguda kabuklaşma şekillendi. D grubundaki yaralar kuru ve temiz, K grubunda yara kabuklarında kanamadan kaynaklanan kirlilik mevcuttu. Pansuman değişimi sırasında D grubunda 1, K grubunda 3 yarada kabuk ayrıldı. İltihabi reaksiyon D ve K grubunda hafif derecede gözlemlendi. Granülasyon doku oluşumu D grubunda, K grubundan daha belirgin idi. Epitelizasyon her iki grupta yara kenarlarında fark ediliyordu fakat çok çabuk yıkımlanıyordu. Histopatolojik muayenede inflamasyonun her iki grupta devam ettiği, fibroblastik aktivasyon, kollajen sentezi ve neovaskülarizasyon K grubunda orta derecede iken D grubunda ise daha ileri derecede olduğu, ancak epitelizasyon açısından iki grup arasında fark olmadığı saptandı (Şekil 3, 4).

Onbeşinci günde; D grubunda 1, K grubunda 4 olguda kabuklaşma devam ediyordu. D grubunda ki yaralar temiz, epitelizasyon beyazımsı ve yara kenarlarında belirgin ve granülasyon dokusu yara kavitesini doldurmak üzere idi. K grubundaki yaralar kuru, granülasyon doku gelişimi D grubuna göre zayıf ve 1 olguda enfeksiyon şekillendiği belirlendi. Epitelizasyon ilerlemesinde her iki grup arasında belirgin bir fark yoktu. Histopatolojik muayenede yangısal hücre infiltrasyonunun azaldığı, fibroblast proliferasyonu, kollajen sentezi, anjiogenezis, granülasyon doku oluşumu ve epitelizasyon ilerlemesinin D grubunda K grubuna göre daha fazla şekillendiği gözlemlendi (Şekil 5, 6).

Yirmibirinci günde; K grubunda 3 olguda kabuk oluşumu devam ediyordu. D grubunda 2 olguda epitelizasyon tamamlanırken kalan 5 olguda da ileri düzeyde olduğu gözlemlendi. K grubunda yara kontraksiyonu ve epitelizasyon D grubuna göre daha düşüktü. Histopatolojik muayenede, epitelizasyonun D grubunda K grubuna göre daha yüksek

düzeyde olduğu görüldü. Her iki grupta diğer morfolojik parametreler açısından belirgin bir fark gözlenmedi (Şekil 7, 8).

Otolog fibrin uygulanan grupta 3. günde yaralar % 26,4 oranında iyileşirken K grubunda % 21,8 oranında iyileşme gözlemlendi. 7. günde D grubunda % 37,6, K grubunda % 30,7 oranında iyileşme şekillendi. 15. gün D grubunda % 78,7, K grubunda % 70,6 iyileşme gözlemlendi. 21. gün D grubunda % 97,3, K grubunda % 90,7 iyileşme saptandı. Bu sonuçlar Tablo 1'de toplu olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Her iki grupta 3, 7, 15 ve 21. günlerdeki ölçümlerde belirlenen yara çapları ve iyileşme oranları.

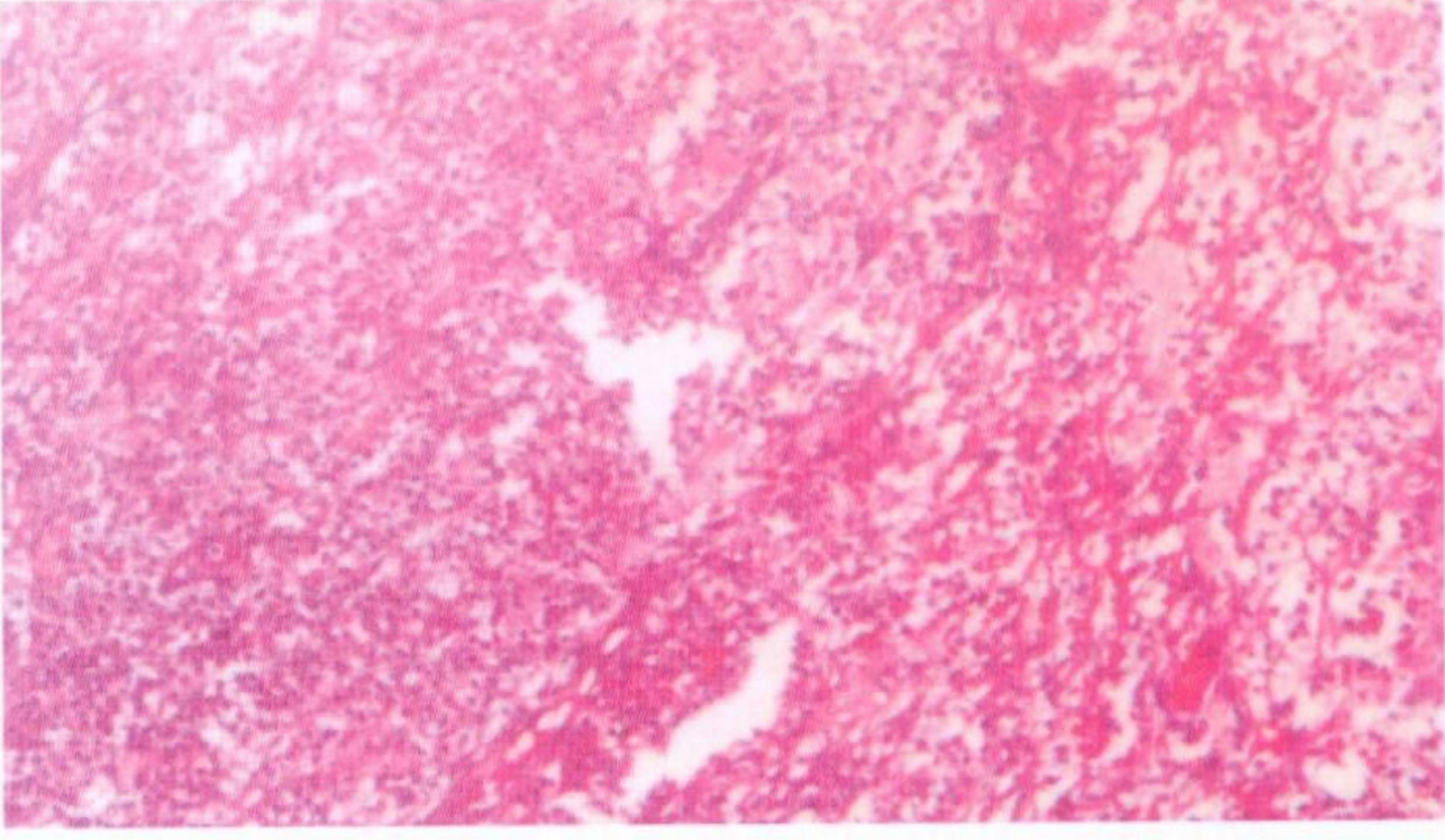
	3. Gün	7. Gün	15. Gün	21. Gün
Otolog Fibrin (D) grubu	3.31 cm (% 26,4)	2.80 cm (% 37,6)	0.95 cm (% 78,7)	0.12 cm (% 97,3)
Kontrol (K) Grubu	3.51 cm (% 21,8)	3.11 cm (% 30,7)	1.32 cm (% 70,6)	0.41 cm (% 90,7)

## TARTIŞMA VE SONUÇ

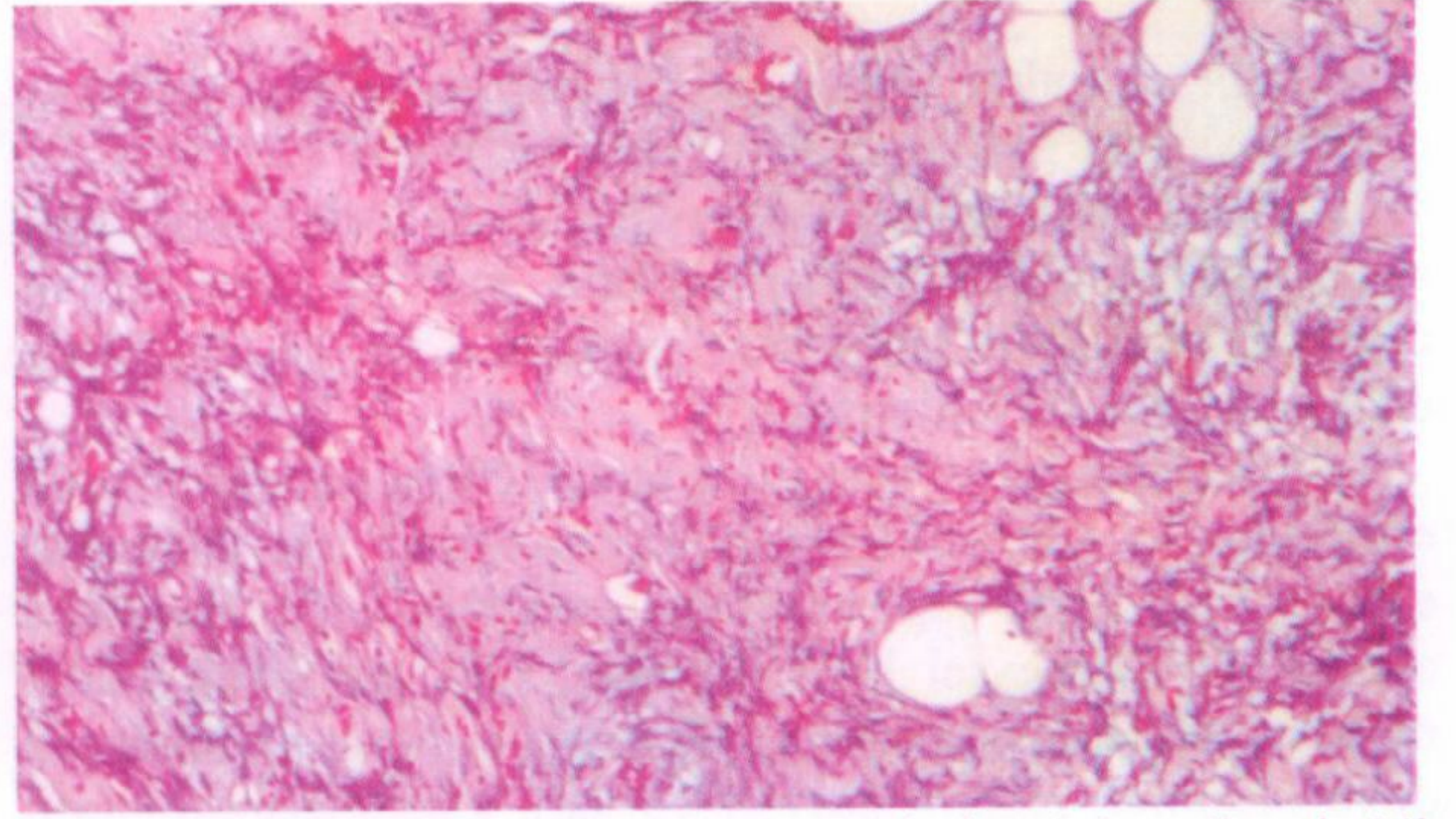
Açık yaraların kapanma sürecini hızlandıran ve yara kenarlarının sentripedal hareketi olarak bilinen kontraksiyon, miyofibroblast ve bunun çevresindeki ekstraselüler matriks ile yaptığı bağlantılar tarafından yönetilir. Yara kontraksiyonu açık yaraların kapanmasında % 80 oranında etkilidir (18). Bishara ve ark. (2), köpeklerin damaklarında oluşturdukları yaralara ticari fibrin yapıştırıcı uygulayarak yara kontraksiyonunu inceledikleri bir çalışmada; fibrin yapıştırıcı uygulanan olgularda ilk 2 haftalık sürede kontrol grubuna göre yara kontraksiyonunun fazla olduğu, buna karşın çalışmanın sonunda kontrol grubu ile deney grubu arasında fark gözlenmediği bildirilmiştir. Mevcut çalışmada, otolog fibrin yapıştırıcı uygulanan grupta 15. güne kadar yara kontraksiyonunun arttığı 3. haftada ise kontrol grubu ile belirgin fark olmadığı gözlemlenmiştir. D grubundaki bulgular Bishara ve ark.'nın bulgularıyla benzerlik arz etmektedir.

Doku bütünlüğünün bozulmasını takiben, organizmanın spontan bir cevabı olan yara iyileşmesi; kanamanın durdurulması, enfeksiyonun önlenmesi, doku ve fonksiyonel onarım evrelerini kapsayan, fizyolojik bir süreçtir (15). Heterolog fibrin yapıştırıcının doku kayıplı deri lezyonlarında, nekrotik ve enfekte bölgelerde debrisin sağlanması ve enfeksiyonun elimine edilmesinden sonra güvenle kullanılabileceği bildirilmektedir (8). Yapılan çalışmada, D grubunda klinik olarak kontrol grubundan daha az kabuk oluşması, 1. ve 2. haftalarda fibroblastik aktivasyonun, anjiogenezisin, kollajen sentezinin ve granülasyon doku oluşumunun kontrol grubuna göre daha ileri seviyede olması nedeniyle otolog fibrin yapıştırıcı, maddi kayıplı açık yaralarda iyileşmeyi hızlandıracağı için tercih edilmelidir.

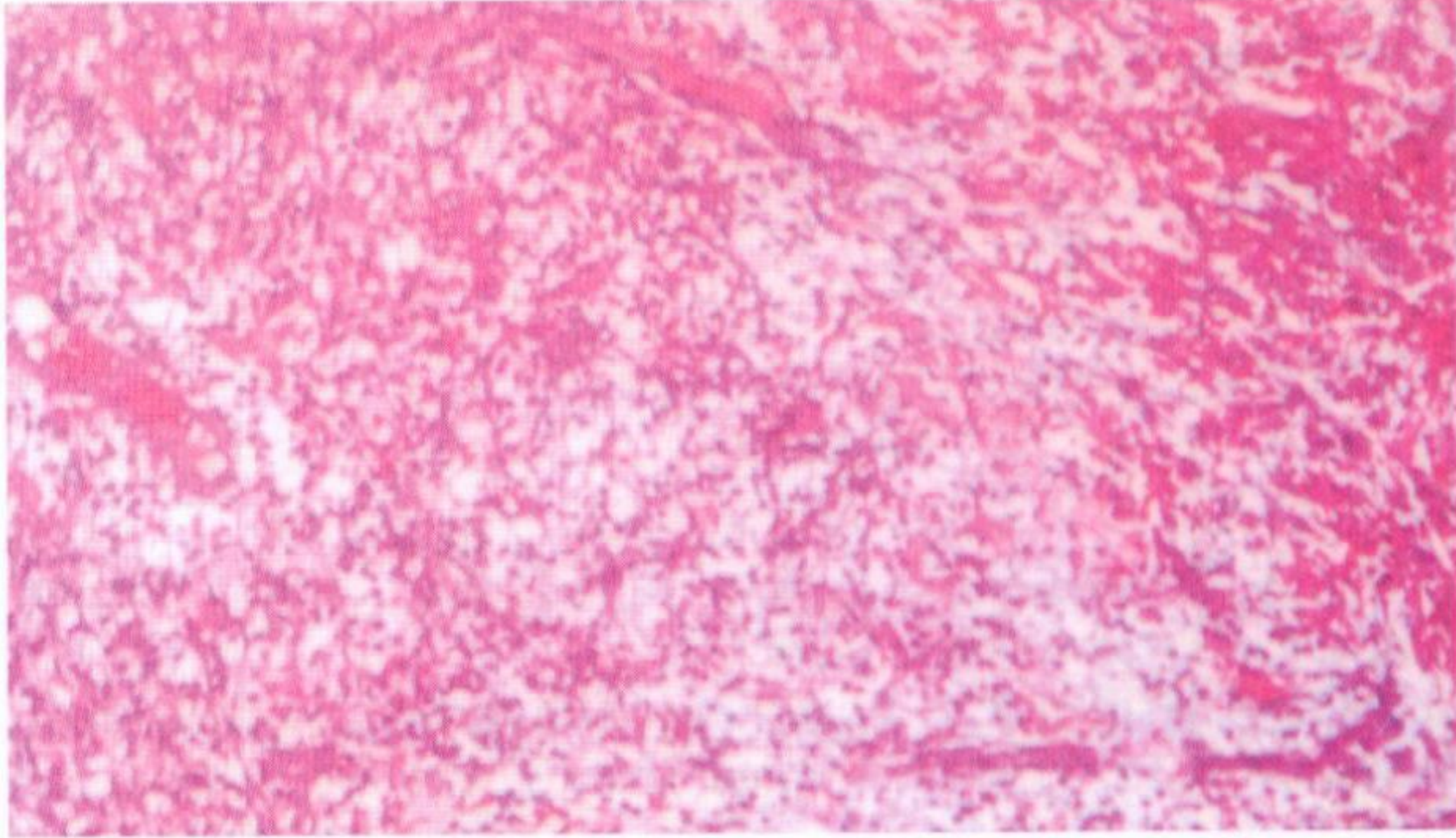
Dignes ve ark. (3), granülasyon doku oluşumu ve normal yara iyileşmesi için fibrinin gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Avki (1), köpeklerin omuz eklemesinde oluşturduğu osteokondral defektlerin iyileşmesinde, aprotininli ve aprotininsiz otolog fibrin kullanarak fibrin yumaklarının iyileşmeyi hızlandırdığını ancak aprotinin uygulamasının bu olayı olumsuz yönde etkilediğini ifade



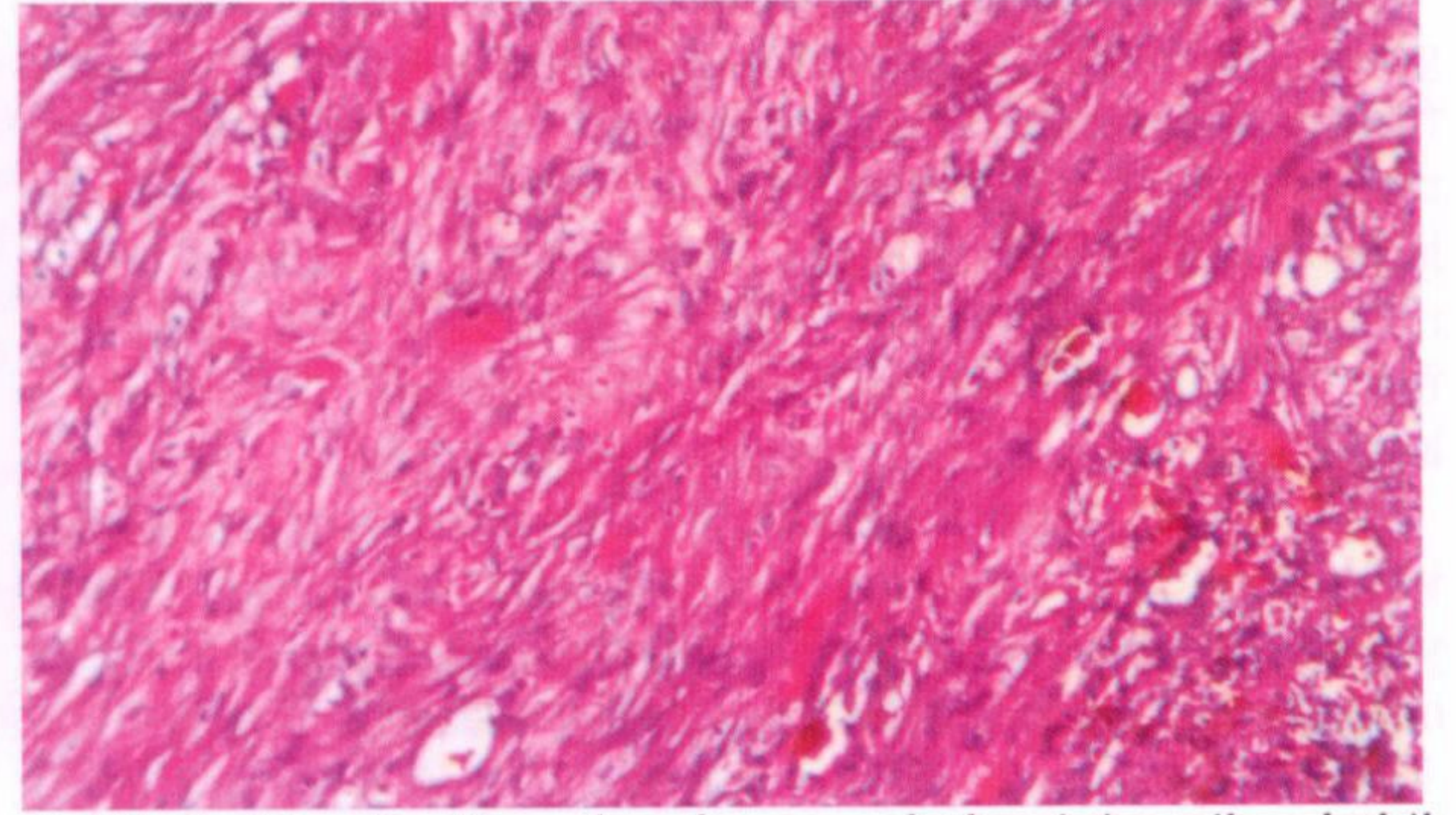
Şekil 1- 3. gün D grubunda yara bölgesinin mikroskopik görünümü.HEx200



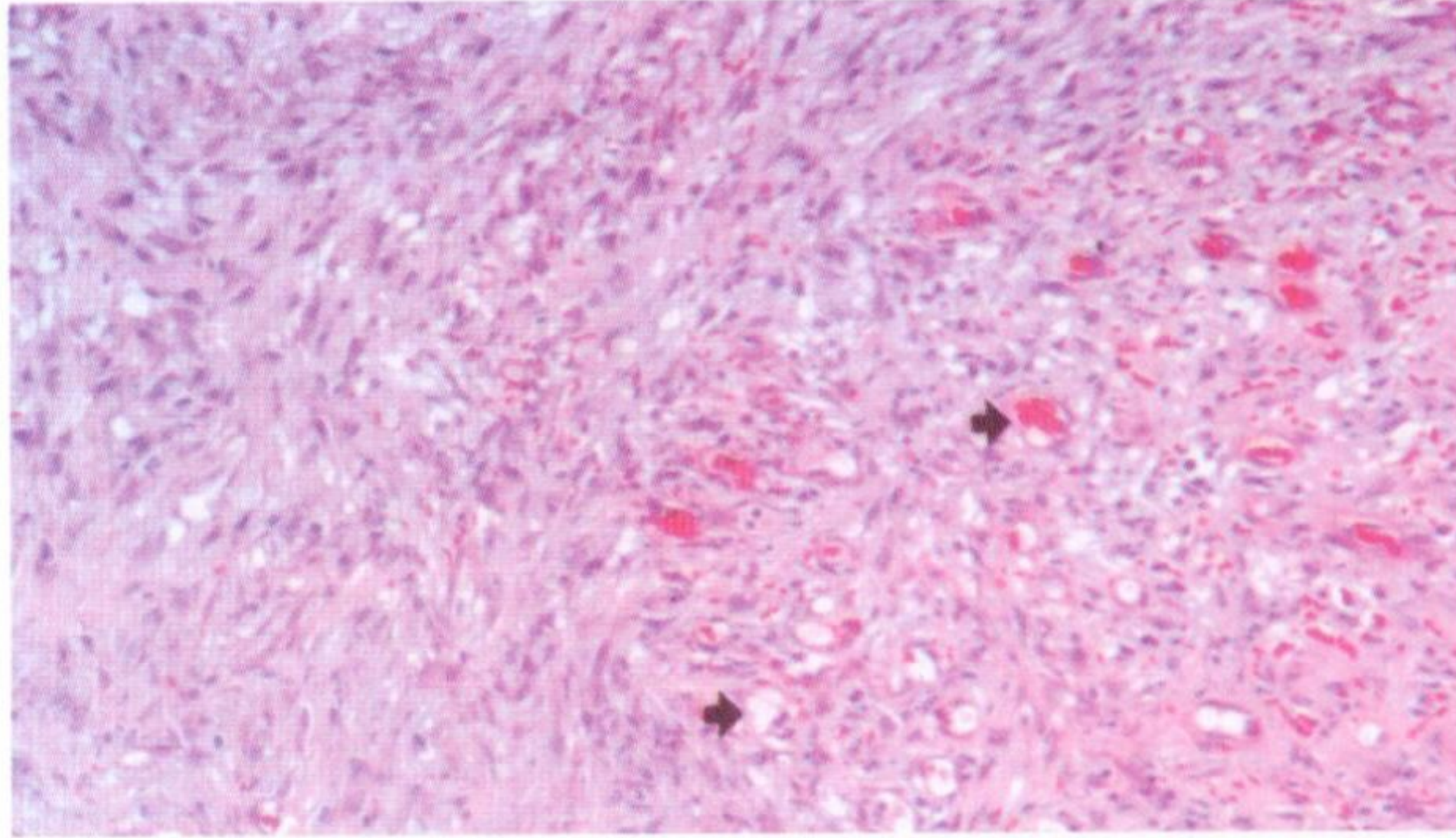
Şekil 5- 15. gün D grubunda yara bölgesinin mikroskopik görünümü.HEx200



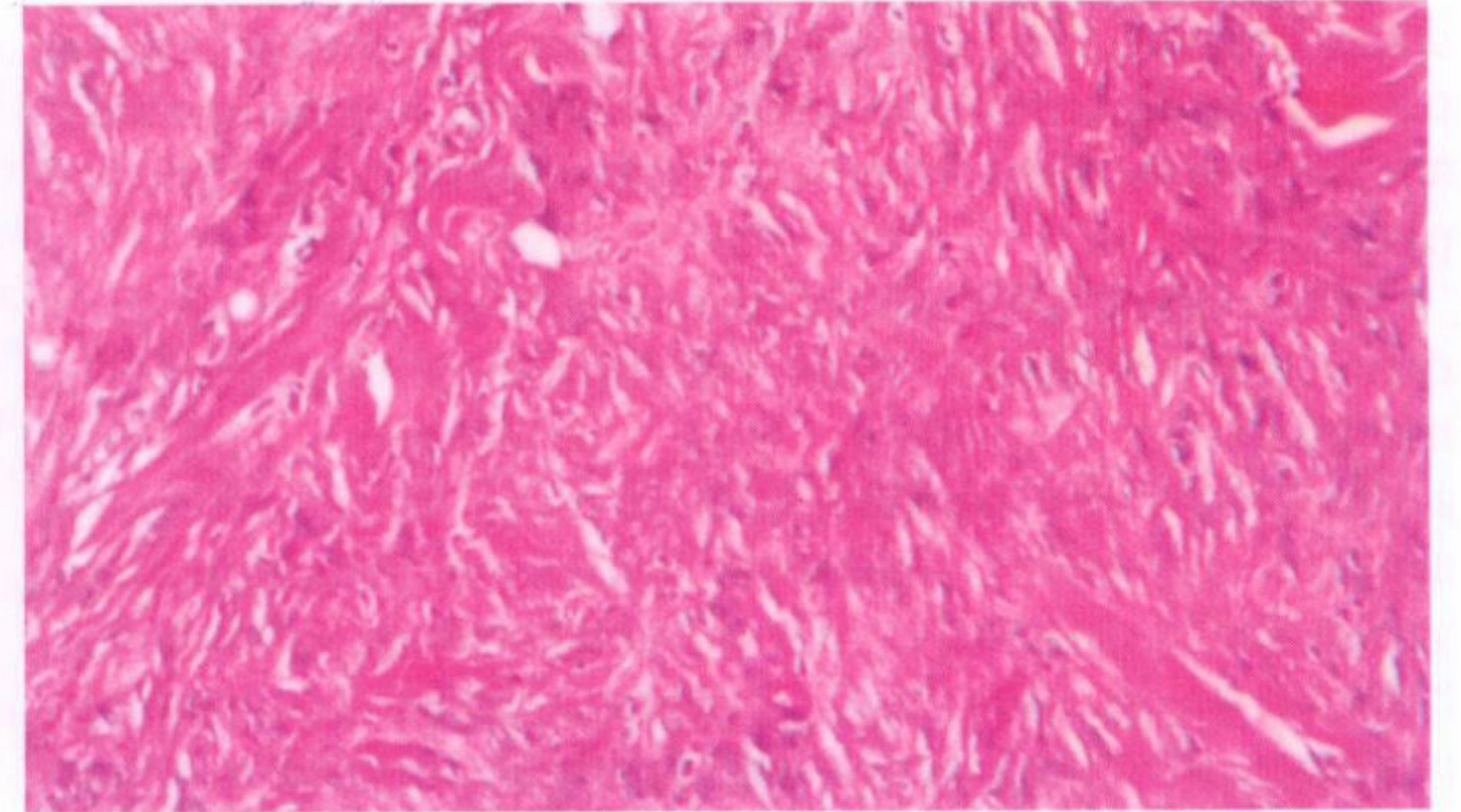
Şekil 2- 3. gün K grubunda yara bölgesinin mikroskopik görünümü.HEx200



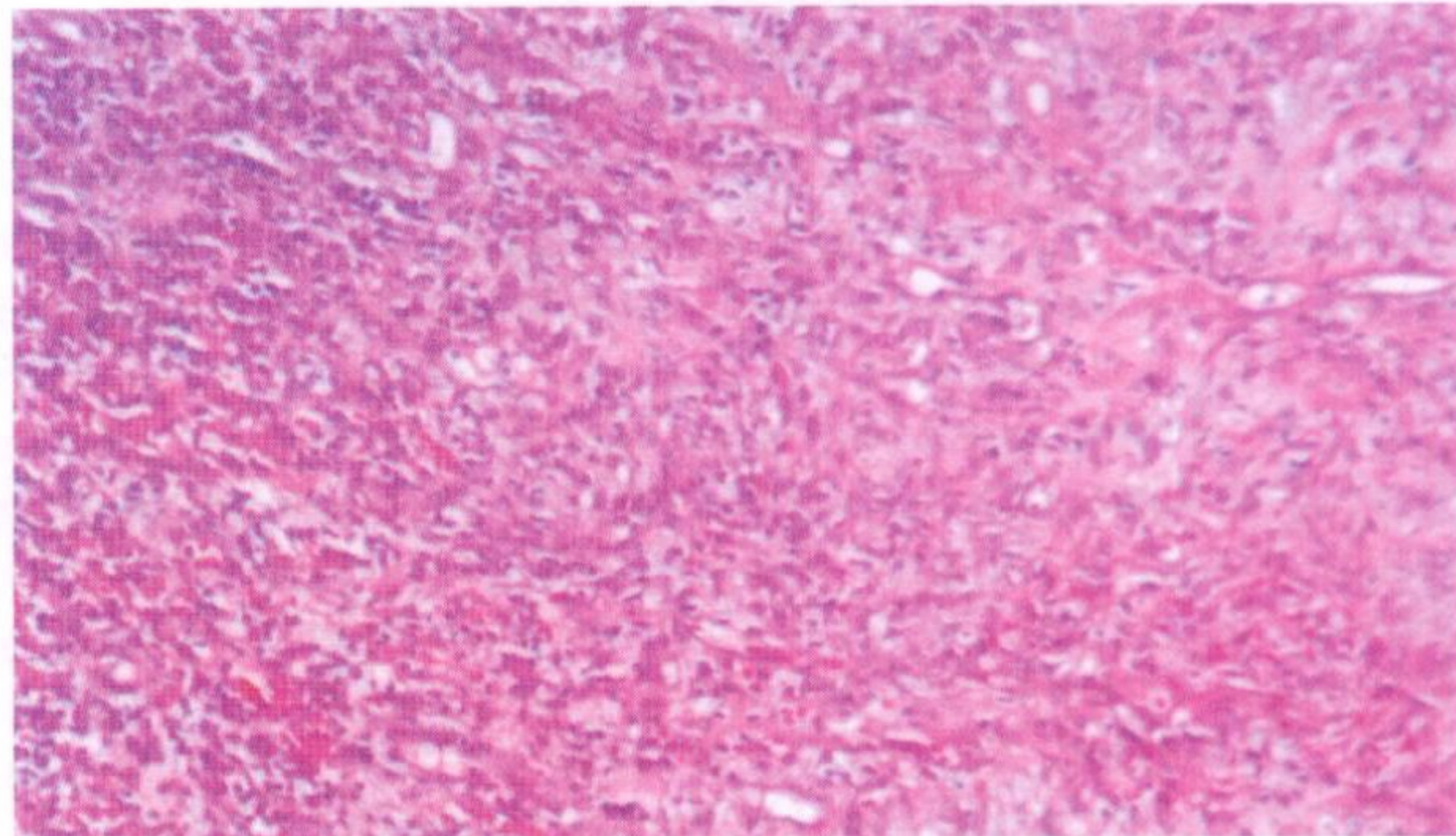
Şekil 6- 15. gün K grubunda yara bölgesinin mikroskopik görünümü.HEx200



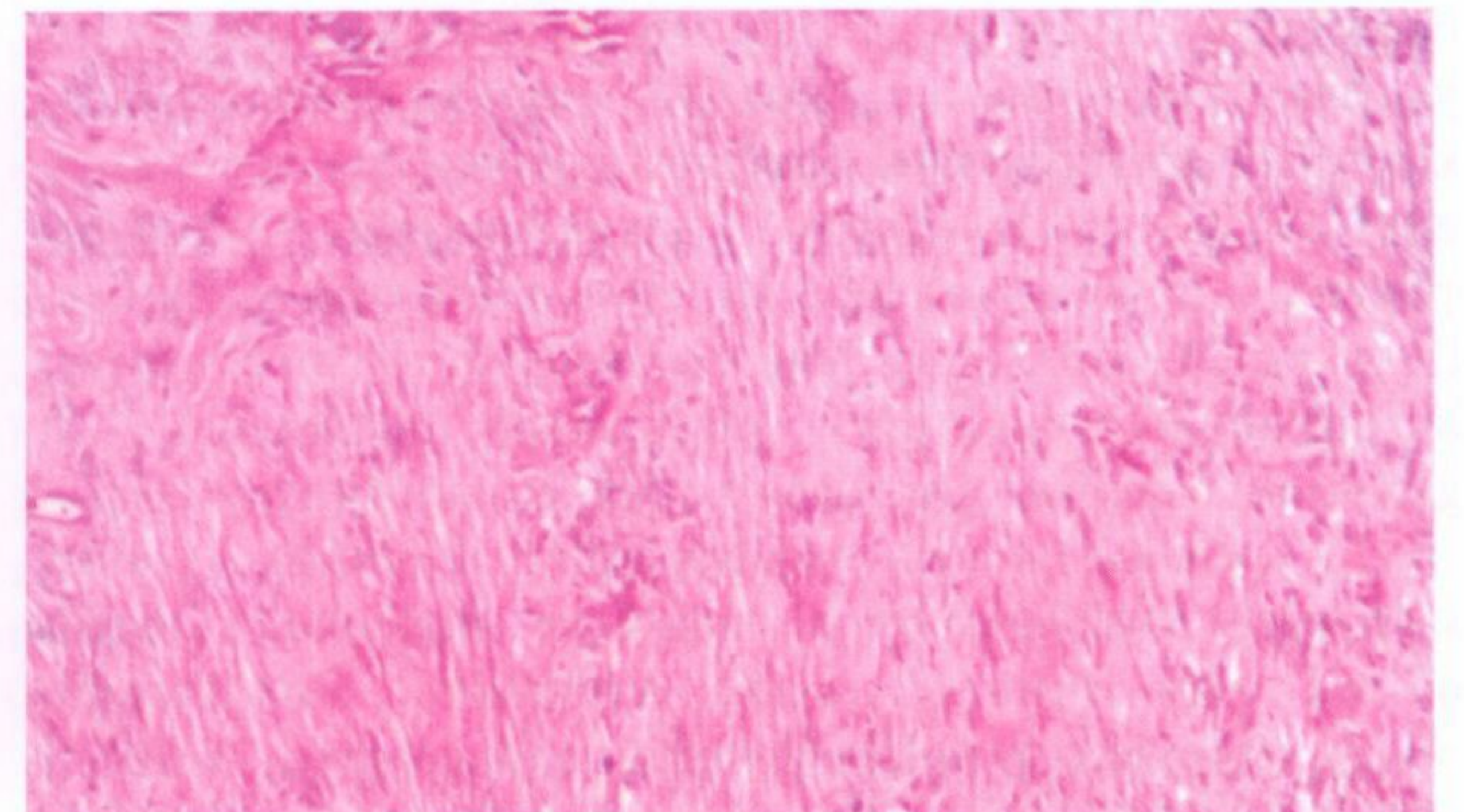
Şekil 3 - 7. gün D grubunda yara bölgesinde kapiller damar proliferasyonu (oklar) HEx200.



Şekil 7- 21. gün D grubunda yara bölgesinin mikroskopik görünümü.HEx200



Şekil 4- 7. gün K grubunda yara bölgesinin mikroskopik görünümü.HEx200



Şekil 8- 21. gün K grubunda yara bölgesinin mikroskopik görünümü.HEx200

etmektedir. Yapılan çalışmada fibrin yapıştırıcı uygulanan grupta kontrol grubuna göre, yara iyileşme sürecinin ilk haftalarında morfolojik olarak fibroblast proliferasyonunu stimüle ettiği, mikrovaskülarizasyonu, kollajen sentezini ve granülasyon dokusu gelişimini artırarak yara iyileşmesinde etkin olduğu tesbit edilmiştir.

Hufnagel ve Grimm (9), güvercinlerde oluşturdukları açık yaralarda, kollajen ve tavuk plazmasından elde ettikleri fibrin yapıştırıcının yara iyileşmesine etkilerini araştırdıkları deneysel bir çalışmada, tüm gruplarda kabuk oluşumu gözlediklerini, yara iyileşme sürecinde granülasyon doku oluşumu, reepitelizasyon ve yara kapanmasının fibrin yapıştırıcı uygulanan olgularda kollajen ve kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu bildirmektedirler. Mevcut çalışmada otolog fibrin yapıştırıcı uygulanan olgularda yaranın kontrol grubundan daha kısa sürede kapandığı, ancak K grubunda fazla olmak üzere her iki grupta da kabuk oluşumuna rastlanmıştır. Morfolojik olarak deneme grubunda ilk haftalarda granülasyon doku oluşumunun iyi olduğu ancak reepitelizasyon yönünden kontrol grubuyla fark olmadığı, fakat 3. haftada D grubunda epitelizasyon ilerlemesinin kontrol grubundan daha iyi olduğu gözlenmiştir.

Bazı araştırmacılar (14,16), deri altına implante edilen ve ensizyon yaralarına uygulanan heterolog fibrin yapıştırıcının kontrol grubuna göre damarlaşmada ve kollajen oluşumunda artışa neden olduğunu, özellikle granülasyon doku oluşumunun 2. haftada arttığını 3. ve 4. haftada kontrol grubuyla aralarında fark olmadığını ve 14 ila 21. günler arasında anjiogenezisin daha iyi olduğunu bildirmektedirler. Yapılan çalışmada, deneme grubunda 1. ve 2. haftalarda damarlaşmanın ve granülasyon doku gelişiminin yüksek olması, ancak 3. haftada morfolojik olarak kontrol grubuyla arada farkın bulunmaması araştırmacıların görüşleriyle paraleldir.

Giardino ve ark. (7) tavşanlarda oluşturdukları (6x 4 cm) açık yaralarda ticari fibrin yapıştırıcı ile lokal antimikrobiyel ajanların yara iyileşmesine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, kontrol grubu ve antimikrobiyel ajanların uygulandığı olgularda enfeksiyon gelişirken fibrin yapıştırıcı uygulanan olgularda enfeksiyonun görülmediği bildirilmektedir. Ayrıca 21. günde yapılan histopatolojik incelemelerde fibrin yapıştırıcı uygulanan olgularda kontrol grubuna göre yara dudak kenarlarındaki epitelizasyon gelişmesinde belirgin bir fark olmadığı ve yara iyileşmesinin fibrin yapıştırıcı uygulanan grupta daha iyi olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada fibrin yapıştırıcı uygulanan yaraların kapanması ortalama 28 gün de gerçekleşirken, kontrol ve antimikrobiyel ajanların uygulandığı olgularda erken 30. günde olduğu vurgulanmaktadır. Yapılan çalışmada, kontrol grubunda 1 olguda enfeksiyon gelişirken, D grubunda enfeksiyon görülmemiştir. 21. günde yapılan histopatolojik incelemede, epitelizasyon gelişiminin D grubunda K grubuna göre daha iyi olduğu saptanmıştır.

Otolog fibrin yapıştırıcıların hemostazı erken sağlaması, uygulamalarının kolay ve maliyetinin düşük olması, yara kontraksiyonunu artırmaları, histopatolojik olarak fibroblast proliferasyonunu, anjiogenezisi, kollajen sentezini, granülasyon dokusu gelişimini artırarak yara iyileşmesini hızlandırdıkları belirlenmiştir. Bu bulgulara göre otolog fibrin yapıştırıcının maddi kayıplı yaralarda iyileşme sürecine olumlu katkı sağladığı için açık yara tedavisinde

tercih edilebilecek biyolojik bir ajan olduğu kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Avki, S (1997): Köpeklerin Omuz Eklemine Otolog Eksojen fibrin Yumağının Osteokondral Defekt İyileşmesi Üzerine Etkisinin Deneysel olarak Araştırılması Doktora Tezi.
2. Bishara, E.S., Zeitler, D.L., Kremenak, C.R (1986): Effect of a Fibrin-Sealant Wound Dressing on the Healing of Full Thickness Wound of the Hard Plate: Preliminary Report. *Cleft Plate Journal*. 23,2:144-152.
3. Dinges, H.P., Redl, H., Thurner, M., Schiesser, A., Schlag G (1986): Morphometric Studies on Wound Healing after systemic Administration and lokal Application of Fibrin Sealant. *Path. Res. pract.*, 181, 746-754.
4. Durham, L.H.; Willat, D.J, Yung, M.W., Jones, I., Stevenson, P.A., Ramadan, M.F (1987): A Method for Preparation of Fibrin Glue. *The Journal of Laryngology and Otolaryngology*; 101. 1182-1186.
5. Eckersley, J.R.T., Dudley, H.A.F (1988): Wound and Wound Healing. *British Medical Bulletin*; 44,2:423-436.
- 6- Engin, A (1998): Yara İyileşmesi. *Temel Cerrahi*. (Ed.) SAYEK, İ. '2. Baskı' Güneş Kitabevi, Ankara,
- 7- Flanga, V., Eaglstein, W.H (1988): Wound Healing. *Progress in Dermatology*., 22,3:1-9.
8. Giardino, R., Fini, M., Giavarasi, G., Biagini, G., Belmonte, M.M, (1994): Wound healing and Fibrin Glue: An Experimental Comparative Study. Schlag, G., Redl, H. (Ed.) *Wound Healing*. Vol:1pp:60-66. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Printed in Germany.
9. Hufnagel, H., Grimm, F, (1989): Einsatz von Kollagenfaszien und Fibrinkleber zur Unterstützung der Wundheilung bei Grossflächigen Hautdefecten. *Tierärztl. Prax.*, 17, 163-165.
10. Kerstein, MD, (1995): Moist Wound Healing: The Clinical Perspective. *Ostomy/Wound Management*.. 41, 7, 37-45.
11. Kjaergard, HK., Weisfogh, U.S., Sorensen, H., Thus, J., Rygg, I (1992): Autologous Fibrin Glue Preparation and Clinical Use in Thoracic Surgery *Eur J. Cardio-Thorac Surg.*; 6, 52-54.
12. Kjaergard, HK., Weisfogh, U.S (1994) : Important Factors Influencing The Strength of Autologous Fibrin Glue: The Fibrin Concentration and Reaction Time- Comparison of Strength with Commercial Fibrin Glue. *Eur Surg Res.*; 26, 273-276.
13. Matras, H. (1985): Fibrin Seal: The State of The Art. *J. Oral Maxillofac Surg*; 43, 605-611.
14. Michel, D., Hardmand, M.F (1990): Fibrin Seal in Wound Healing. *J. Dermatol. sci.*; 1,5:325-333.
15. Regan, M.C., Barbul, A (1994): The Cellular Biology of Wound Healing. Schlag, G., Redl, H. (Ed.) *Wound Healing*. Vol:1pp:3-17 Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Printed in Germany.
16. Romanos, G. E., Hotz, S.T.K., Strub, J.R (1994): Immunohistochemical Distribution of Collagen Types IV, V, and During Wound Healing of Rat Skin After The Application of Tissucol. Schlag, G., Redl, H. (Ed.) *Wound Healing*. Vol:1pp:75-85 Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Printed in Germany.
17. Schlag, G., Redl, H (1986): Fibrin Sealant in Orthopedic Surgery. *Clinical Orthopedics and related Research*.; 227, 269-285.
18. Steven, F.S., Ralph, A.H (1990): Small Animal Wound Management *Lea Febige*. Printed In the USA.