


Yanık Yarası Tedavisinde Biyolojik Pansuman Olarak Kullanılmak Üzere Hazırlanan Amniyotik Membranın Gliserol ile Prezervasyonu

Preservation of Amniotic Membrane Prepared to be Used as Biological Dressing in Burn Wound treatment with Glycerol

 Ahmet Hikmet Şahin¹

¹Dr. Öğr. Üyesi, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

Sorumlu Yazar: Ahmet Hikmet Şahin, Dr. Öğr. Üyesi, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Balıkesir, Türkiye
E-mail:hikmet.sahin@balikesir.edu.tr
Telefon: 05326158261.

Başvuru Tarihi: 15.04.2021
Kabul Tarihi: 15.06.2021
Yayınlanma Tarihi: 25.06.2021

Atf için: Ahmet Hikmet Şahin, Yanık Yarası Tedavisinde Biyolojik Pansuman Olarak Kullanılmak Üzere Hazırlanan Amniyotik Membranın Gliserol ile Prezervasyonu, 2021;5(2):84-90

Not: Çalışma 25. Çocuk Cerrahisi Kongresinde (Antalya 1998) poster olarak sunulmuştur.

Öz

Amaç: Yanık hastalarında, hasara uğrayan deri bölümünün tedavi edilmesi için, 2.derece yüzeysel ve bazı derin yanıklarda sadece pansuman yapılması, daha derin yanık alanlarının ise greftlenmesi gereklidir. Derin alanların greftlenmesi için hastanın operasyona alınmasına dek yara yüzeyini koruyabilmek için de pansuman yapılması gereklidir. İdeal yanık malzemesine en yakın materyal olan amniotik membranın saklanması yeni bir yöntem geliştirmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Dünyada kullanımda olan pansuman yöntemleri; amniotik membran, allo ve xenogreft gibi biyolojik pansumanlar ve sentetik pansumanlardır. Allo ve xenogreft kullanımı deri bankası kurulması gerektiği için, sentetik pansumanlar ise fonksiyonlarının yetersiz olması ve maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle geniş kullanım alanı bulamamışlardır. Yapılan çalışmada, amniotik membran raf ömrünün uzatılabilmesi için, Hollanda Deri Bankası tarafından deri greftlerini korumak amacıyla geliştirilmiş olan, %99 gliserol içinde prezervasyon yöntemi, antibiyotik (Penisilin) ilaveli serum fizyolojikte koruma yöntemi ile karşılaştırılmıştır

Bulgular: Amniotik membranın %99 Gliserol içinde hem mikrobiyolojik hem de bakteriyolojik açıdan, uzun süre saklanabildiği saptanmıştır. Klasik yöntem ile gliserol içinde saklama arasındaki bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç: Yanık yarısı bakımında ucuz ve ideale en yakın materyal olan amniotik membran %99 Gliserol içinde uzun süre güvenle saklanabilir.

Anahtar Kelimeler: yanık; çocuk; amniotik membran

ABSTRACT

Aim: In burn patients, only dressing is required for 2nd degree superficial and some deep burns, and grafting of deeper burn areas is required to treat the damaged skin. For the grafting of deep areas, dressing is required to protect the wound surface until the patient is taken into operation. It is aimed to develop a new method for the preservation of the amniotic membrane, which is the closest material to the ideal burn material.

Material and Method: Dressing methods used in the world; biological dressings such as amniotic membrane, allo and xenograft, and synthetic dressings. Allo and xenograft use has not found a wide area of use because of the need to establish a skin bank, and synthetic dressings due to their insufficient functions and high costs. In the study, the preservation method in 99% glycerol, developed by the Dutch Skin Bank to protect skin grafts, was compared with the preservation method in saline with the addition of antibiotics (Penicillin) in order to extend the shelf life of the amniotic membrane.

Result: It has been determined that the amniotic membrane can be stored in 99% Glycerol for a long time, both microbiologically and bacteriologically. Findings between the classical method and storage in glycerol were statistically significant.

Conclusion: Amniotic membrane, which is the cheapest and most ideal material in burn wound care, can be safely stored in 99% Glycerol for a long time.

Keywords: burn; child; amniotic membrane

GİRİŞ

Yanık; fizik ve kimyasal etkenlerle oluşabilen, ilk bakışta deri ve derialtı dokulara yönelik gibi görünse de, aslında organizmanın bütün sistemlerini etkileyebilen, her yaş ve cinste görülebilen özel bir travma şeklidir. (1,2) ABD’de yılda milyonda 270-300 bin kişi yanığa maruz kalmakta ve 60-80 bin kişi yanık ve komplikasyonları nedeniyle hospitalize edilmektedir. Her gün 12 çocuk ya da yaşlı kişi yanık nedeniyle ölmektedir. (3,4)

Bilindiği üzere yanık oluşumunu önlemek, yanığı tedavi etmekten çok daha kolay ve ucuzdur. Ancak diğer travma türlerinde de olduğu gibi genelde kaza ile oluştuğu için yanığı önlemek çok da olası değildir. Gelişmekte olan ülkelerde çocuk yanıkları halen çok yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir. Korunma olanaklarının kısıtlılığı ve tedavi maliyetlerinin yüksekliğine bağlı olarak, yanık halen yüksek oranda sekel bırakan bir yaralanma şeklidir. Toplumun genç nüfusunun çalışma gücünü çok yakından etkilemesi, çocuk yanıklarının tedavisinin önemini arttırmaktadır.

Özellikle sosyo-ekonomik düzeyi düşük olan ülkelerde, anne ve babanın birlikte çalışmasına bağlı olarak, çocukların bakımını başkalarına devretmek ihtiyacı doğmuştur. Ancak nitelikli bakıcı ve kreş azlığı veya bulunmaması, ekonomik yetersizlikler nedeniyle çocuklara ya büyük kardeşler ya da aile büyükleri bakmaktadır. Sonuçta bir çocuğun bakımı için gerekli enerji ve bilgiye sahip olmayan bu kişilerin ellerinde çocuklar yeterince korunamamakta, böylelikle travmalara ve özellikle yanığa daha sık maruz kalmaktadırlar.

Çalışmamızın amacı; yanık tedavisinde önemli bir pansuman malzemesi olan amniotik membranın saklanma süresini uzatmaya yönelik yeni bir yöntem araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışma Ocak 1997 ile Kasım 1997 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Plasentaların tümü Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı polikliniğince izlenen ve hamilelikleri sırasında hiçbir hastalığı olmayan annelerden, sezaryan ile tam steril koşullarda alındı ve hazırlanacağı yere steril kaplar içinde nakledildi.

Amniotik membranların hazırlama ve saklanması:

Plasentalar yıkanmadan önce, sezaryan sırasında annelerden alınan serumlarda HIV, HBV, HCV, Sifilis serolojik olarak bakılarak, tümü negatif olan annelerin plasentaları çalışmaya alındı. Alınan plasentalar steril kaplar içinde kliniğimize nakledilerek öncelikle haricen incelendi. Fetal membranlarda anomali, yapışıklık, anormal renk yada kokuya sahip olan plasentalar çalışmaya alınmadı. Fetal membranlar steril koşullarda birbirinden ayrıldı. Amniotik membran steril kaplarda önce 4 kez steril salin ile yıkandı. Bu yıkama sırasında amniotik membranın üzerindeki koagulumlar steril tamponlarla temizlendi. Daha sonra %0.25 Na-Hypochloride solüsyonunda 3 dakika yıkanan amniotik membran, tekrar 4 kez steril salin ile yıkandı. Bu aşamadan sonra 11 membran serum fizyolojik içinde (ASF), 18 membran ise %99 Gliserol (AGL) içinde saklanmaya başlandı.

Mikrobiyolojik inceleme

Örnekler her gün çıplak gözle değerlendirildi. Solüsyonların renginde değişme olduğunda, kötü koku duyulduğunda, membran çalışmadan çıkarıldı. Her iki gruptaki amniotik membranlardan başlangıçta ve haftada bir mikrobiyolojik değerlendirme için örnekler alındı. Aerob ve anaerob bakteriler ile mantarlar için ayrı ayrı ekim yapıldı. Amniotik membranlardan alınan mikrobiyolojik örneklerde üreme olduğu zaman, aynı amniotik membranlardan bir hafta sonra tekrar mikrobiyolojik örnek gönderildi ve aynı mikroorganizma ürerse bir önceki haftada üreyen mikroorganizma anlamlı kabul edilerek, mikrobiyolojik çalışma sözü edilen amnion için sona erdirildi. Bir sonraki haftada hiçbir üreme olmazsa, önceki üremenin bulaş olduğu kabul edilerek çalışmaya devam edildi. Bir sonraki haftada farklı bir mikroorganizma ürettiği takdirde ise, aynı takip bir sonraki hafta tekrarlandı.

Histopatolojik inceleme:

Mikrobiyolojik örneklerle birlikte aynı anda, her iki gruptaki membranlardan histopatolojik inceleme için de örnekler alındı. Üreme nedeniyle mikrobiyolojik olarak çalışmadan çıkarılsalar bile, membranlar tükeninceye dek patoloji laboratuvarına örnekler gönderilmeye devam edildi. Steril koşullarda alınarak %10 formaldehid içinde Patoloji Anabilim Dalına gönderilen örneklerin tümü gönderildiği gün parafin bloklara alındı. Çalışma sonlandırıldıktan sonra tüm örneklerin kesitleri aynı anda yapılarak, Hematoksilin-Eozin ile boyandı ve gruplar hakkında bilgi sahibi olmayan tek bir patolog tarafından değerlendirildi. Örnekler önce karışık, sonra alındıkları gün sırasına göre, ışık mikroskobu ile incelendi. 1. gruptaki (ASF) 11 membrana ait 83 adet, 2. gruptaki (AGL) 18 membrana ait 410 adet patolojik örnek değerlendirildi. Patolojik olarak, amniotik membran stroması üzerindeki tek katlı küboid epitel hücrelerindeki hidropik dejenerasyon ve piknoz, epitel hücrelerinin nekroz durumu, stromada veya epitel hücreleri arasında bakteri veya mantar bulunup bulunmadığı değerlendirildi. Bu iki parametre hücre zedelenmesinin öncül bulguları olarak kabul edildi. Aynı örnekte, amniotik membran kesitleri mikroskopik olarak incelendiğinde, amniotik membran yüzeyindeki normal amnion epiteli ile hasara uğramış amnion epiteli arasındaki oran tespit edilerek nekroz için sayısal bir değer elde edildi.

Aynı zamanda kesit yüzeyindeki hücreler içinde, hidropik dejenerasyon ve piknoz, hücrelerin %10’undan azında tespit edilmişse; (+), %10-50 arası hücrede mevcutsa; (++), %50’nin üzerindeki hücrelerde saptanmışsa; (+++) şeklinde skorlama yapıldı.

İstatistiksel değerlendirme:

Membranların mikrobiyolojik verilerinin analizi Fisher Exact Test ile, patolojik veri analizleri ise Mann Whitney U testi ile yapıldı.

Etik kurul onayına ihtiyaç olmadığına ilişkin akademik komite kararı alınmıştır (1997/4 nolu akk. S:218). Hasta uygulaması yapılmamıştır.

BULGULAR

Mikrobiyolojik değerlendirme:

ASF grubunun tümünde mikrobiyolojik olarak üreme olurken, AGL grubundaki hiçbir membranda üreme olmamıştır. ASF ve AGL gruplarının mikrobiyolojik bulguları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p=0.000000$)

ASF grubundaki tüm membranlarda ($n=11$) üreme gözlenmiştir. Üreme en erken 3. en geç ise 10. haftada olmuştur (ortalama: 6.73 ± 2.10 hafta). 3 membranda Bacillus, 6 membranda koagülaz negatif Stafilokok (KNS), 2 tanesinde ise her ikisi birden üremiştir.

AGL grubundaki hiçbir membranda mikrobiyolojik olarak üreme saptanmamıştır. 18 membrandan 2 tanesinde birer kez KNS varlığı görülmüş, ancak sonraki haftalarda üremelerin tekrarlamaması üzerine bulaş olarak kabul edilmişlerdir.

Patolojik değerlendirme:

Hidropik dejenerasyon ve piknoz açısından her iki grup karşılaştırıldığında ASF grubunda bu iki parametrenin, AGL grubuna göre daha hızlı oluştuğu ve nekroza uğrayan hücre sayısının arttığı görülmektedir. ASF grubu ile AGL grubunda nekroz gelişimine bakıldığında, ASF grubunda 7. günden itibaren nekroz gelişmeye başladığı ve nekrozun AGL grubundaki membranlara oranla çok daha hızlı ilerleyerek, yaklaşık 90 günde hücrelerin %100'e ulaştığı görülmektedir. AGL grubundaki membranlar için ise nekroz 40-45 günde başlamakta, 160 veya 170 günlerde %70 civarına ulaşmakta ve hiçbir zaman %100'e ulaşmamaktadır. Hücresel zedelenmenin öncülü olan hidropik dejenerasyon ve piknoz, ASF grubunda nekrozun %100'e ulaşmasıyla kaybolmaktadır. AGL grubunda ise hiçbir zaman nekroz %100 olmadığından bu iki patolojik bulgu tüm preparatlarda görülmektedir.

Her iki grubu histopatolojik açıdan istatistiksel olarak değerlendirmek amacıyla, ASF grubu için nekrozun %100 olduğu zaman, membranın maksimum nekroza ulaşma zamanı olarak kabul edilmiştir. AGL grubundaki membranlar için ise, hiçbir zaman nekroz %100 olmadığı için, membranlarının çalışma sona erdiği ana dek olan en yüksek nekroz değerine ulaştığı an, maksimum nekroza ulaşma zamanı kabul edilmiştir. Buna göre; ASF grubunda ortalama maksimum nekroza ulaşma zamanı: 70.86 ± 23.33 gün iken, AGL grubunda ise bu süre 167.63 ± 42.49 gün olarak belirlenmiştir.

İki grubun ortalamaları Mann Whitney U Testiyle karşılaştırıldığında, sonuçta iki grubun maksimum nekroza ulaşma zamanı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($t=0, p=0.0012$)

TARTIŞMA

Yanık yarasının iyileşmesinin esası hasara uğrayan derinin bütünlüğünün tekrar sağlanmasıdır. Karaciğer, akciğer, böbrek ve barsakların %50' nin kaybı tolere edilebilir iken, derinin %50 kaybı ölümcüldür.(5)

Yanığa maruz kalan derinin hasarının derecesine bağlı olarak, greft gerektirmeyen yanık yaralarında tedavi amacıyla pansuman yapılması ile, greftlenmesi gereken yaraların otogreftlerle kaplanması hasta iyileştirilebilir. Ancak greftlenmesi gereken yaraların varlığında, donör saha yetersizliği, bakteriyel kontaminasyon varlığı, hastanın durumunun greftlemeye elverişli olmaması gibi sebeplerden dolayı, geçici olarak yara yerinin korunması ve greftlenmeye hazırlanması amacıyla pansuman uygulamaları gerekebilir.

1682'de Canaday, deri defektlerinin tedavisinde ilk olarak su kertenkelesinden aldığı xenogrefti kullanmıştır. Bu çalışmayı; kurbacı, tavşan, kedi, köpek (Greyhound, FoxTerrier ve Meksika Kılız cinsleri), kuzu, tavuk ve domuzlardan alınan xenogreftler izlemiştir.(6)

Yüzyıllar ilerledikçe bu alanda kullanılan materyallerin sayısı artmıştır. İlk kez homogreft kullanımı ise 1870'de Pollock tarafından bildirilmiştir. 1890'da İvanova 'yaşama enerjisinin daha fazla olması' nedeniyle homogreft olarak fetal dokuların kullanılmasının daha avantajlı olacağını ifade etmiştir. 20 yıl sonra İvanova'nın öğrencilerinden Davies, amniotik kese parçasının yanık yarasına kaplanabileceğinden söz etmiştir. 16 Haziran 1912'de Sabella, ilk olarak bir yanık hastasının amniotik membran ile iyileştirildiğini bildirmiştir.(3,7)

Birinci Dünya Savaşı ile yanık hastalarının artması sayesinde bu alandaki gelişmeler daha da hızlanmıştır. Hastaların fazlalığı nedeniyle yeni biyolojik kaplama pansumanlara ihtiyaç doğmuştur. Bu amaçla picric asit ve parafin karışımı olan AMBİNE geliştirilmiştir. Ancak toksik etkileri gözlenince, kullanımdan kaldırılmıştır. İkinci Dünya Savaşı ile yanık alanındaki ilerlemeler doruğa ulaşmıştır. 1944 yılında İngiliz Kraliyet Hava Kuvvetleri'nce yanıklarda kullanılmak üzere biyolojik türevli pansuman geliştirilmiştir. Bunun içinde titanyum dioksit, lanolin, vaselin, balmumu, gliserin, manuseol, klorokresol ve sulfanamid vardır. Takibeden yıllarda özellikle ABD'de homogreft kullanımı popülarite kazanmıştır, bununla birlikte bir hasta için 20-30 kişiden greft almak gerektiği görülünce xenogreftlere doğru bir eğilim başlamıştır. Ancak deney için hayvan kullanımının kanunlarla yasaklanması nedeniyle bu alanda bir süre duraksama yaşanmıştır. Bu sorun daha sonraları sosis endüstrisinin gelişmesi ve domuz derilerinin alınmasına izin verilmesi ile son bulmuştur. Zamanla xenogreft kullanımının yararları araştırılınca, bu konuda bilinçli hizmet veren greft bankaları kurulmuştur. Daha sonraları homogreft deri bankaları da yaygınlaşmıştır.(4,7,8) Deri bankalarının kurulması ile homogreft ve xenogreftlerin kullanımında özellikle gelişmiş ülkelerde hızlı bir ilerleme kaydedilmiştir. (33) Yanık yarasının pansumanı amacına hizmet eden materyallerin artışı ile maliyetlerinde azalma olmasına karşın bu azalma gelişmekte olan ülkeler için yeterli değildir. Yıllardan beri yanık yarası pansumanı amacıyla kullanılan amniotik membranın önemi bu gibi ülkelerde halen önemini korumaktadır. Özellikle Dino tarafından amniotik membranın yıkanması ve saklanması hakkında yapılan araştırmalar ve oluşturduğu protokol sonrasında, amniotik membranın kullanımında artış olmuştur.(9)

Yanık yarasının derinliğine göre yaranın kendiliğinden iyileşmesini sağlayacak ya da greft gerekiyorsa, greftlemeye kadar yara zeminin koruyacak olan ideal pansuman şu özellikleri taşımaktadır;

Kolay bulunmalı, kolay hazırlanmalı ve uzun süre saklanabilmeli

Ucuz olmalı

Ağrıyı azaltmalı

Yara yüzeyinden ısı, sıvı ve protein kaybını önlemeli

Enfeksiyon girişini önleyebilmeli, hatta var olan enfeksiyonu yok edebilmeli

Transparan olmalı ve yara yüzeyi rahat değerlendirilebilmeli

Hastanın hareketlerini kısıtlamamalıdır.(10)

Termal yanıklardan sonra oluşan buharlaşmayla olan sıvı kaybı artmakta ve bunun sonucunda, elektrolit bozuklukları, negatif nitrojen dengesi ve hipotermi gelişmektedir. Buharlaşmayla kaybedilen sıvı miktarının biyolojik pansuman yöntemleriyle ne oranda azaltılabildiği birçok kez araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda kadavra allogrefti, domuz xenogrefti, amniotik membran karşılaştırılmış ve sonuçta sıvı kaybını en iyi azaltan tekniğin allogreft olduğu ardından, xenogreft ve amniyonun geldiği saptanmıştır.(11) Ancak allo ve xenogreftler, geçici olarak organizmanın yapısı olarak algılandığı için bu sonuç doğaldır. Allo ve xenogreftler yara yüzeyine uygulandıkları andan itibaren rejeksiyona uğradıkları zamana kadar normal deriye benzer şekilde davranarak yara yüzeyini enfeksiyon ajanlarından çok iyi bir şekilde korurlar. Bu pansuman şekilleri genellikle gliserol içinde, irradi edilmiş halde yada liyofilize edilerek saklanırlar. İrradiasyon ve liyofilizasyon işlemleri çok karmaşık aşamalar içeren pahalı yöntemlerdir ve her merkez tarafından uygulanamazlar. Ayrıca allo ve xenogreft kullanımı planlanıyorsa deri bankası kurulması gereklidir. Bu da maliyet açısından ağır yük getirmektedir.

Sentetik pansuman malzemelerinden bazıları (omiderm, biobrane vb.) yara yüzeyinden sıvı, ısı ve protein kaybını belli bir dereceye kadar önleyebilirler. Bazıları (lyosheet vb.) ise direkt olarak yaradan sızan sıvıyı absorbe ederler. Enfeksiyon etkenlerine karşı oluşturdukları bariyer fonksiyonları da değişkendir. Ancak hiçbirisi biyolojik pansumanlar kadar enfeksiyonu önleyemezler. Bu nedenle mutlak temiz yara yüzeylerine uygulanmalıdırlar. Tümü transparan olmadığından uygulama sonrasında yara yüzeyini gözleme imkanı vermeyebilirler. Raf ömürleri uzundur. Ancak maliyetleri yüksektir.

Yanık ile başvuran olguya en kısa zamanda, en yararlı ve en ucuz pansuman tekniğinin kullanılması amaç olduğu düşünülürse, bu amaca en uygun pansuman amniotik membrandır. Türkiye gibi gelişmekte olan ülkeler için deri bankalarının kurulması halen sosyal ve ekonomik açıdan yakın bir gelecek için olası görünmemektedir. Bu nedenle amniotik membran kullanımının kolaylaştırılması ve yaygınlaştırılması için, bu pansuman şeklinin iyi bilinmesi gereklidir.

Allo ve xenogreft gibi biyolojik ve sentetik pansuman materyallerinin kolay bulunamaması ve fiyatlarının yüksek olması nedeniyle kolay elde edilebilen ve maliyeti düşük olan amniotik membran'ın avantajları şunlardır;

Kolay bulunabilir

Sterilizasyonu, saklanması ve uygulaması kolaydır

Yara yüzeyinden sıvı-ısı ve protein kaybını sınırlar

Ağrıyı azaltır

Enfeksiyonlara karşı iyi bir bariyerdir

Membranın üzerine ek pansuman gerekmez

Hasta tarafından iyi tolere edilir

Pansuman değişimi gerektirmediğinden, bunun yarattığı stresi ortadan kaldırır

Transparan olduğu için yara yüzeyi sürekli gözlenebilir

Hastanın hareketlerine engel olmadığından fizyoterapiye erken başlanmasına olanak sağlar

Hospitalizasyon süresini azaltır

Tedavi maliyetini azaltır.(11,12)

Amniotik membranın bunca avantajı yanında bazı dezavantajları da vardır. Bunlardan en önemlisi membran ile bazı hastalıkların bulaşma ihtimalidir. 1970'li yıllarda temiz vaginal doğumlardan alınan plasentalar pansuman amacıyla kullanılmakta ve erken membran rüptürü, mekonyum bulaşması, annede Sifilis araştırılması yeterli görülmekteydi. Ancak gelişen zamanla birlikte hastalık sayısında ve saptanmasında da artış olduğu için, bu konuda daha dikkatli olunması gerekmektedir. Özellikle Hepatit B ve C gibi kan ve kan ürünleri ile bulaşan hastalıkların negatif olduğunun gösterilmesi gereklidir. Günümüzde kan ve kan ürünlerinin kullanımı ve transplantasyonlar sonrasında en çok korkulan bulaş kuşkusuz AIDS nedeni olan HIV'dir. Donör adayının ELISA testiyle HIV-1, HIV-2 ve HIV p24 antijen seviyelerinin kontrol edilmesi ve HIV(-) olduğu görülmelidir. Ancak 'Pencere' periyodunda olan olguların atlanabilme ihtimali nedeniyle daha güvenilir yöntemler geliştirilmiştir. Polymerase Chain Reaction (PCR) adı verilen yöntem ile daha hızlı ve güvenilir sonuçlar elde edilebilir. Bu yöntemler maliyetleri yüksek olduğu için, özellikle organ transplantları için geliştirilmiş protokollerde kullanılır.

Deri bankalarında kadavralardan alınan kan örneklerinde ELİSA yöntemiyle HIV taranması kesin sonuç vermeyebileceğinden, PCR tekniğinin kullanılması önerilmektedir. Amniotik membrane ile HIV bulaşması alanında yeterli çalışma ve yayın yoktur. Ancak potansiyel olarak HIV geçişi olabileceği düşünülerek, plasenta alınan donörün HIV (-) olmasına dikkat edilmelidir. (11,12) Amniotik membran, doğum yapılabilen her yerde kolayca bulunabilecek bir materyaldir. Özellikle yanığın fazla görüldüğü gelişmekte olan ülkelerde hazırlanışı, saklanması, kullanılması kolay ve sonuçları memnuniyet verici bir biyolojik pansuman yöntemidir. Yanık yara yüzeyine tam olarak yapışan amniotik membran, yara yerine fibroblast göçünü ve kollajen gelişimini sağlayarak, yara iyileşmesini hızlandırır(13) Amniotik membran yara yerinde özel maddelerin salınımı sağlayarak fibröz doku oluşumunu ve epitelyal yenilenmeyi arttırdığı da ileri sürülmektedir.(14) Amnion kaplı olan yaralarda enfeksiyon gelişmemesinin nedeninin amniotik sıvı içinde bulunan progesteron ve lizozomlar olduğu kanıtlanmıştır. Progesteron özellikle Gr(+) bakterilere karşı bakteriyostatik etkilidir.(15) Amniotik membranın yara yüzeyine tam olarak yapıştığı ve membran ile yara yüzeyi arasında akümülyasyon olacak kadar dahi boşluk kalmadığı ve bakteriyel kontaminasyonu önlediği gösterilmiştir. (16) Mehta ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, amniotik membran kaplanan yanık alanlarının %80'inde ise enfeksiyon gelişmediği saptanmıştır.(17) Amniotik membranın yara yüzeyinden sıvı, ısı ve protein kayıplarını anlamlı derecede azalttığı da kanıtlanmıştır.(18) Yanık sonrasında sinir uçlarının açığa çıkması ve havayla temas etmesi sonucu oluşan ağrının, amnion sayesinde hava ile temasının önlenildiği ve ağrının azaldığı gösterilmiştir.(19) Mehta ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada amnion kaplanan yanık yaralarının %52'inde ağrının tamamen kaybolduğu gösterilmiştir.(17) Amniotik membran kullanımı için en önemli sorun saklanması konusudur. +4°C'de buzdolabında saklanan membranlarda enfeksiyon gelişme riski yüksektir ve membran hızla nekroza uğramaktadır. Antibakteriyel etkinliğinin kaynağı olarak ileri sürülen, membranın progesteron ve lizozom içeriğidir. Bu etkinliğin saklama solüsyonuna konan antibakteriyel veya antiseptik madde ile yok olabileceğini düşünen araştırmacılar, hazırlanan amniotik membranların saklama solüsyonlarına hiçbir koruyucu madde koymadan saklamaktadırlar.(17,18) Genel olarak ise solüsyon içine antiseptik veya antibakteriyel madde konarak saklanmaktadır. Ancak bu yöntemle saklanan amniotik membranlarında 6 haftadan daha uzun süre korunamayacakları kanıtlanmıştır. Saklama solüsyonu içindeki antibiotik 24 saat sonra etkinliğini kaybetmektedir. Membran 2.haftadan itibaren enfeksiyonlara açık hale gelmekte ve hücresel nekroz oluşmaktadır.(17) Ancak söz konusu sorun sadece amniotik membran için değil, diğer pansuman yöntemleri için de geçerlidir. Özellikle homograft deri bankalarındaki greftlerin enfekte olması ve nekroz gelişimi üzerine bu alanda araştırmalar hızlandırılmıştır. Pakistan ve Hindistan' dan bildirilen saklama yöntemleri arasında gama ışınları ile irradi edilmesi önemli yer tutmaktadır. Ancak bu yöntem amniotik membran kullanımını planlayan her merkez tarafından uygulanamayacak kadar pahalı ve yüksek teknolojik imkanlar gerektirmektedir. Ayrıca membranların liofilize halde saklanması da uygulanan yöntemlerdendir. Ancak bu yöntem de karmaşık aşamalar içerdiğinden kullanımı yaygın değildir. Amniotik membranın Dino tarafından açıklanan, klasik yöntemle saklanması ile membran sadece 4 ya da 6 hafta kullanılabilmekte ve daha sonraki dönemlerde zarın atılması gerekmektedir. Hasta döngüsü hızlı olan yanık merkezi ve ünitelerinde sürekli olarak hazır bulunması gereken amniotik membranın, kullanılamaması ile hastanın klinik olarak iyileşmesinde önemli yavaşlamalar olur. Sadece saklama tekniğine dayalı nedenlere bağlı olarak membranın kullanılamaması sonucunda hem hasta ağırlı pansumanlardan zarar görecektir, hemde sağlık çalışanlarının vakitleri harcanacaktır. Amniotik membranın saklanması konusundaki sorunları, yeni ve basit bir yöntem ile aşmak amacıyla, deri bankalarının deri greftleri için kullandıkları yöntemin uygulanması planlanmıştır. Hollanda Deri Bankası tarafından deri greftleri gliserol içinde saklanmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda gliserol içinde saklanan deri greftleri ile liofilize edilen greftler karşılaştırılmış ve yara yüzeyine olan etki, yara yerinde sekonder enfeksiyon gelişme riski, greftlerin kontamine olma riski, hazırlanma ve saklanma koşulları, nekroz gelişimi ve maliyet açılarından incelendiğinde gliserol ile korunan parçaların daha olumlu sonuçlar verdiği ortaya çıkmıştır. +4°C'de, buzdolabında gliserol içinde saklanan membranların 2 yıl korunabildiği görülmüştür. Gliserol, yüksek ozmolariteye (1261 mosm/l) sahip bir glikoz bileşenidir. Bulunması kolay ve ucuzdur. Genellikle üretim anında steril hazırlanırlar. Ozmolaritesinin yüksek olması nedeniyle olduğu ileri sürülen antimikrobiyal ve antifungal etkisi vardır. Bu konuda yapılan çalışmalarda Heamofillus influenza'a karşı antibakteriyel etkinliği görülmüştür. Ayrıca mekanizması bilinmemekle birlikte antiviral etkinliğinin varlığı da bilinmektedir. Özellikle Poliovirus'ü inaktive ettiği gösterilmiştir.(19)

Yaptığımız çalışma sonucunda antibiyotik içeren solüsyonlarda saklanan amniotik membranların (ASF grubu) tümünde mikrobiyolojik üreme olmuştur. ASF grubundaki 11 membrandan, en erken 3.haftada (1 numaralı membranda), en geç 10. haftada (6 numaralı membranda) üreme tespit edilmiştir. 3 membranda Bacillus, 6 membranda koagülaz negatif stafilokok, 2 tanesinde ise her ikisi birden üremiştir. Özellikle koagülaz negatif stafilokok'ların üremesi, bulaşın örneklerin alımı sırasında koruma kavanozlarının açılması sırasında ellerden kaynaklandığını düşündürmektedir. Protokol gereği, herhangi bir mikroorganizma ürettiği zaman bir sonraki haftada da aynı etken ürettiğinde anlamlı kabul edilmiştir. ASF grubunda, gönderilen hiçbir örnekte bulaş ile veya ilk üreyenden başka bir mikroorganizma ile karşılaşılmamıştır. Tüm örneklerdeki ilk üremeler, aynı membranın bir hafta sonraki örneklerde de üremiştir.Solüsyona eklenen antibiyotik etkinliğinin membranı uzun süre kontaminasyonlardan koruyabildiğini söylemek olanaksızdır. Solüsyondaki antibiyotik etkinliği, ilk 24 saatten sonra, antibiyotik inaktive olması ile son bulmakta ve membran koruyucusuz kalmaktadır. Mikrobiyolojik olarak henüz üreme olmayan membranlarda, histopatolojik incelemeler sırasında, epitel içinde ve altında bakterilerin ve mantarların görülmesi, antibiyotik ile saklamanın yetersizliğinin bir diğer kanıtıdır. Gliserol ile saklanan 18 amniotik membranda (AGL grubu) mikrobiyolojik olarak gönderilen örneklerden ikisinde, sadece birer kez koagülaz negatif stafilokok üremiştir. Ancak protokol gereği alınan bir sonraki hafta örneklerinde üreme olmaması sonucunda, anlamlı kabul edilmemişler, bulaş olarak değerlendirilmişlerdir. Bu iki üremenin, örneğin alımı sırasında yapılan teknik hatalardan kaynaklandığına karar verilmiştir. AGL grubundaki membranlardan en uzun süre izlenen, 3 ve 4 nolu membranlarda, toplam 41 hafta boyunca hiçbir üreme olmaması gliserolün antibakteriyel ve antifungal etkinliğinin göstergesi olarak görülebilir. AGL grubundaki membranların mikrobiyolojik izlem süresini; hasta uygulamaları sonucu yada gönderilen örneklerin çokluğu nedeniyle membranların tükenmesi belirlemiştir. Gönderilen örneklerin tümü 410 adet ve hiçbirinde anlamlı üreme olmamıştır. ASF ve AGL, gruplarının mikrobiyolojik değerlendirmelerinin istatistiksel analizi Mann Whitney U testi ile yapılmış ve iki grup arasındaki farkın anlamlı derecede farklı olduğu bulunmuştur. (p= 0.000000)

Grupların histopatolojik değerlendirmelerinde kriter olarak alınan hidropik dejeneresans; hücre içine sıvı girişine bağlı olarak hücrenin şişmesi, piknoz ise; hidropikdejeneresans ardından oluşan, hücrenin stoplazma ve nukleus sıvısını kaybederek büzüşmesi ve nukleusun koyu boyanmasıdır. Bu iki histopatolojik görüntü, hücrenel nekrozun öncül bulgularıdır. Antibiyotik içeren solüsyonlarda saklanan membranlarda (ASF) hidropik dejenerasyon ilk hafta içinde gelişmekte, piknoz oluşumu ise yaklaşık olarak 10 gün sonra başlamaktadır. Hücrenel nekroz da buna paralel olarak hızlanmakta ve nekroz oluşumuyla birlikte hidropik dejeneresans ve piknoz görüntüleri kaybolmaktadır. Gliserol içinde saklanan membranların (AGL) histopatolojik incelemelerinde, hidropik dejenerasyon daha geç dönemde, 30-45 gün içinde başlamaktadır ve daha uzun süre devam etmektedir. Buna bağlı olarak piknoz oluşumu da yavaşlamaktadır. AGL grubunda nekroz düzeyi çalışma süresince hiçbir zaman %100'e ulaşmadığı için bu iki histopatolojik görüntü tüm preparatlarda izlenmektedir. AGL grubunda hidropik dejeneresans ve piknoz; ASF grubundaki mebranlara oranla çok daha geç dönemlerde ortaya çıktığı ve sürekli gözlenebilmeleri, iki grup arasındaki tek farktan, yani saklama yönteminden kaynaklanmaktadır. AGL ve ASF grupları, gelişen nekrozun survi analizi ile değerlendirilmesi sonucunda; hücrenel nekrozun sadece zamana bağlı olarak oluşması ASF grubu için %93 iken, AGL grubunda sadece zamana bağlı olarak hücrenel nekroz gelişme ihtimali %70 olarak bulunmuştur. Bu iki değer arasındaki %23'lük farkı yaratan, zaman dışında başka bir değişken varlığı ile açıklanabilir. Bu değişken de saklama solüsyonudur.

AGL grubundaki membranlar ile ASF grubu membranların histopatolojik değerlendirmelerinin istatistiksel analizi amacıyla kullanılan maksimum nekroz düzeyi AGL grubunda, membranlar hiçbir zaman %100 nekroza uğramadıklarından, membranların ulaştığı en yüksek değerlerin ortalaması alınarak bulunmuştur. AGL grubunda membranlar maksimum nekroz düzeyine; 167.63 ± 42.49 günde ulaşmaktadırlar. ASF grubunda ise izlenen membranlar maksimum nekroz düzeylerine yani ortalama % 100 nekroza 70.86 ± 23.33 günde ulaşmaktadırlar. Maksimum nekroz düzeyleri arasındaki farkın t testi ile yapılan istatistiksel analizi sonucunda, iki grubun farklarının anlamlı olduğu saptanmıştır. ($t = -5.35$, $p = 0.000$)

Gliserolün yüksek ozmolaritesi nedeniyle, hücre içine girecek olan sıvıyı, hücre dışında tutarak, hücrenin fazla su çekmesini önlediğı ve hidropik dejenerasyon gelişiminin geciktirdiği ileri sürülebilir. Hidropik dejeneresansın ve piknozun gelişim hızının yavaşlaması ile hücrenel nekrozun klasik yöntemle hazırlanan membranlara oranla çok daha uzun zamanda oluşmasına bağlı olarak membran daha uzun süre saklanabilmekte, nekroza uğramayan hücrelerin lizozomal içerikleri korunduğu için enfeksiyon gelişimi önlenebilmekte ve uygulama anında nekroz olmadığından manüplasyonunda da rahatlık gözlenmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak, %99'luk gliserol'ün, amniotik membranı penisilin içeren % 0.9 NaCl solüsyonuna göre daha uzun süre enfeksiyondan koruyabildiğı, zaman içinde amniotik membranda gelişen hücre dejenerasyonu ve nekrozunu geciktirip, hücre nekrozunun daha az oranlarda kalmasını sağladığı, gliserolde saklanan amniotik membranın klinik uygulamasında herhangi bir zorluk ya da olumsuzlukla karşılaşılmadığı gözlenmiş olup, %99'luk gliserolün amniotik membranın uzun süreli koruma ve saklanması için uygun bir solüsyon olduğu kanısına varılmıştır.

BİLDİRİMLER

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: Herhangi bir kurumdan maddi destek alınmamıştır.

Etik Kurul İzni: Etik kurul onayına ihtiyaç olmadığına ilişkin akademik komite kararı alınmıştır (1997/4 nolu akk. S:218). Hasta uygulaması yapılmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Artz CP, Moncrief JA: The treatment of burns. 2nded. Saunders,1969
2. Crews ER: A practical manual for the treatment of burns. Springfield, Illinois, Charles C Thomas,1964
3. Herndon DN, Thompson PB, Desai MH, üsten T N: Treatment of burns in children. *Ped Clin North Am* 32(5): 1311, 1985
4. Vitam and Health Statistics, Ser. 10, No:8. National Center for Health Statistics Public health service. US Dept of Health, Education and Welfare, April 1964
5. Arturson G: Burns: Their causes, mortality and preventability. *Acta Chir Scandinav.* 124:483, 1962
6. Holter J, Friedman S: Etiology and management of severely burned children. *Am J Dis Child* 118: 680, 1969
7. Monafa WW: The treatment of burns, principles and practice. Stlouis WH Green ine1971
8. Zawacki BE: The natural history of reversibl burn injury. *Surg Gynecol Obstet.* 139: 867,1974
9. Bur PS: The healing burn wounds. *Clin Plast Surg* 4: 389,1977
10. Demling RH: Effect of heparin on edema after second and third degree burns. *J Surg Res* 26: 27,1979
11. Gerow FJ: Immersion treatment for burns: An experimental study. *S Forum* 14: 32, 1963
12. Gump FE: Energy balance and weight loss in burned patients. *ArchSurg*103: 442,1971
13. Sparkers BG: Immunological responses to thermal injury. *Burns Vol 23, No:2, 106-11,1997*
14. Allgöwer M, Schoenenberger GA, Sparkers BG: Burning the largest immunorgan. *Burns Vol 21 Suppl 1 pp. s7-s47, 1995*
15. Rose JK, Herndon DN: Advances in the treatment of burn patients. *Burns Vol 23, suppl no 1, pp s19-s26,1997*
16. Batcup G, Kohler HG: Pathology of the fetal membranes. Haines and Taylor obstetrical and gynaecological pathology, 4th ed. Vol 2, pp 1581-95,1995
17. Herndon DN: Total Burn Care. WB Saunders Company 1996 pp5-7
18. Dino BR, Eufemio GG, DeVilla MS. Human amnion: the establishment of an amnion bank and its practical applications in surgery. *J Philipp Med As* 42:357,1966
19. M Haberal, Z Öner, U Bayraktar, N Bilgin. The use of silvernitate-incorporated amniotic membrane as a temporary dressing. *Burns* 13, (2), 159-163,1987