

Liyofilize kollajenin deneysel karaciğer travmalarında hemostaz ve yara iyileşmesine etkileri

Rıza RIZALAR, Mithat GÜNAYDIN, Şükrü O. ÖZDAMAR, Levent YILDIZ, Ahmet SARAÇ, Naci GÜRSES

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi ve Patoloji Anabilim Dalları, Samsun

Özet

Hemostatik ve yara iyileşmesinde etkileri nedeniyle tip I liyofilize sığır kollajen'in kullanımı hızla artmıştır. Kollajen; cilt yanıklarında, ürolojik, jinekolojik ve rekonstrüktif cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır. Kobaylarda, deneysel olarak oluşturulan karaciğer travmaları üzerinde, kollajenin etkileri ve oluşturduğu doku reaksiyonları incelendi.

Travmatik doku çevresinde nekroz, fibrojenesis, neovaskularizasyon, safra kanalikül proliferasyonu, retikülün oluşumu ve immünohistokimyasal yöntemlerle fibronektin ekspresyonu ve lizozim reaktif makrofaj popülasyonları araştırıldı. Kontrol grubuna göre deney grubunda inflamasyon yoğunluğu, fibrojenesis ve fibronektin reaksiyon değerleri daha yüksek bulundu. Karaciğer dokusunda da reparatif ve hemostatik etkileri gözlenen liyofilize kollajenin bu organa yönelik cerrahi girişimlerde bir adjuvan materyal olarak kullanılabileceğini düşünürüz.

Anahtar kelimeler: Kollajen, karaciğer yaralanması, yara iyileşmesi, hemostaz

Summary

Effects of Lyophilized Collagen on haemostasis and wound healing in experimentally traumatized livers.

The use of Type-I Lyophilized Bovine Collagen became rapidly widespread due to its haemostatic and wound healing effects. It is used widely in the treatment of skin burns and in fields of urology, gynecology and reconstructive surgery. The effects and tissue reactions of Type-I Lyophilized Bovine Collagen were investigated in experimentally traumatized guinea pig livers.

Factors studies include necrosis, fibrojenesis, neovascularisation, biliary channel proliferation and reticulin formation as well as immunohistochemical fibronectin expression and lyozyme reactive macrophage populations around the traumatized tissues. Compared with the control group the inflammation rate, fibrojenesis and fibronectin reactive values were found to be higher in the experimental group. Since lyophilized collagen shows reparative and haemostatic effects also on the liver tissue, we think that it can be used as an adjuvant material in the liver surgery.

Key words: Collagen, liver injury, wound healing, haemostasis

Giriş

Künt karın travması sonrası dalaktan sonra en sık yaralanan intraperitoneal solid organ karaciğerdir (11). Çocuklarda karaciğer travması erişkinlere oranla daha yüksek sıklıkta görülmektedir (27). Karaciğer travmalarında %50 oranında görülen hemoraji, ölüme neden olan en önemli komplikasyondur (27,29). Bu nedenle cerrahi girişimde ilk iş hemostazın sağlanmasıdır (27).

Yara iyileşmesindeki biyolojik rolü, doku uyumluluğu ve zayıf immün reaksiyon oluşturması nedenleri ile heterolog kollajen kullanımı yaygınlaşmaktadır (2,4). Kollajen kronik bacak ülserleri ve bası yaralarının tedavisi, yanıklar, ürolojik ve jinekolojik cerrahi, diş hekimliği, ağız cerrahisi, rekonstrüktif cerrahi, abdominal ve vasküler cerrahide kullanılmaktadır (20).

Deneysel ve klinik çalışmalar, liyofilize kollajen'in iyi bilinen hemostatik etkisi yanında; trombosit, monosit ve fibroblastlar üzerinde kemotaktik bir faktör olarak etki ettiğini göstermiştir (1,5,7,12,18,25). Ayrıca düzenli fibroblast proliferasyonu için mekanik bir

çatı oluşturmakta ve granülasyon dokusunun oluşumunu hızlandırmaktadır (21). Uygulandığı bölgeye fibronektin'i çektiği de gösterilmiştir (26). Bu çalışma, liyofilize kollajen'in travmatize karaciğer dokusunda hemostatik ve reparatif etkilerini in vivo araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Liyofilize kollajen (Condress-Euroresearch Milano-İtalya), kobay karaciğeri üzerinde deneysel olarak oluşturulan 1x1x0.5 cm boyutlarında cerrahi travma sonrası karaciğer dokusuna uygulandı. Bu işlem için 12'şer kobaydan oluşan iki grup oluşturuldu. Her iki grubda da deneklerin yarısı erkek, yarısı dişi kobaylardan seçildi. I. grubdaki kobaylar 630-850 gr. (ortalama 740 gr.) arasında ağırlığa sahipken, II. grubdaki kobayların ağırlıkları 652-860 gr (ortalama 757 gr) arasında idi.

Kobaylar eter inhalasyon anestezisi ile uyutularak karınları açıldı. Her iki grupta kobayların karaciğerlerinde sağ lob anteriorunda klemp darbesiyle eşit büyüklükte parankimal zedelenme oluşturuldu. I. grup kontrol grubu olup ayrıca bir işleme tabi tutulmadı. II. gruptaki kobaylara ise, 10 mg/cm² saf, doğal sığır "achille" tendon liyofilize tip I kollajeni içeren petlerden 1 cm² büyüklüğünde parça, defekti dolduracak şekilde uygulandı. Her iki grubun karın tabakaları ve cilt insizyonları 3/0 ipek sütürle kapatıldı. İki gün süreyle 100 mg/kg/gün dozunda sefaperazon/sulbaktam uygulandı. Ameliyat sonrası her iki grupta dört kobay 3. günde, dördü 5. günde, diğer dördü de 7. günde intrakardiyak 10 cc hava enjekte edilerek sakrifiye edildi ve travmatize karaciğer dokuları çıkarıldı.

Kontrol ve deney grubu kobay karaciğer doku örnekleri % 10 formalin solüsyonunda tesbit edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Daha sonra elde edilen seri kesitlerin bir bölümü Hematoxyline-Eosin (H&E), Trichrom "Gomori" ve Reticulin "Gomori" boyaları ile boyandı. Dokularda uygulanan kollajen pet ile karaciğer dokusu demarkasyon hatlarında; inflamasyon yoğunluğu, neovaskülarizasyon, safra kanalikül proliferasyonu, Kupffer hücre hiperplazisi, makrofaj popülasyonu, fibrogenesis ve nekroz varlığı ile nekroz içi ve çevresinde retikülün kollapsı ve retiküler lif dağılımındaki değişiklik pa-

rametreleri değerlendirildi. Işık mikroskopunda 40x büyütmede karaciğer dokularında gözlenen nekroz, tüm karaciğer dokusunda hepatosit kaybının 1/3-3/3'ü arasında oluşuna göre ve diğer tüm parametreler ile birlikte zayıf, orta derecede ve yüksek yoğunlukta olmak üzere (-) ile (++++) arasında derecelendirildi (28).

Diğer bölüm seri kesitlerde Biotin Streptavidin Peroxidase tekniği kullanılarak travma uygulanmış doku alanı çevrelerinde fibronektin ve lizozim ekspresyonu araştırıldı. Teknik için Str Avi Gen Super Sensitivite Multilink Immuno Detection System ve monoclonal mouse anti human fibronektin (clone: 2755-8) ve polyclonal rabbit anti human lizozim (Biotogenex-San Ramon, CA, USA) kit ve primer antikorları, pozitif ve negatif kontrol kesitleri, chromogen olarak da DAB (diaminobenzidine) kullanıldı. İmmün reaksiyon konvansiyonel (-) ile (+++++) kriterleri kullanılarak ışık mikroskopunda değerlendirildi (Tablo I).

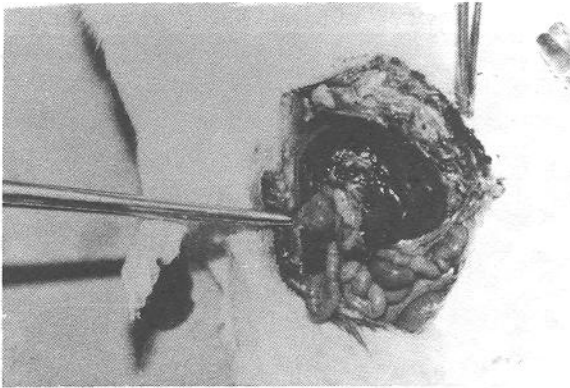
Bulgular

Deney grubu (3 ve 5. gün) kobayların karaciğerlerinde travma bölgesinde gri beyaz renkte hafif derecede fibrozis gelişimi gözlemlendi, çevre dokulara adezyon izlenmedi. Kollajen pet uygulanan bölge çevresi doku alanlarında karaciğer normal rengini muhafaza eder görünümündeydi. Yedinci gün denek karaciğerlerinde fibrozis belirgin bir hal almıştı (Resim 1).

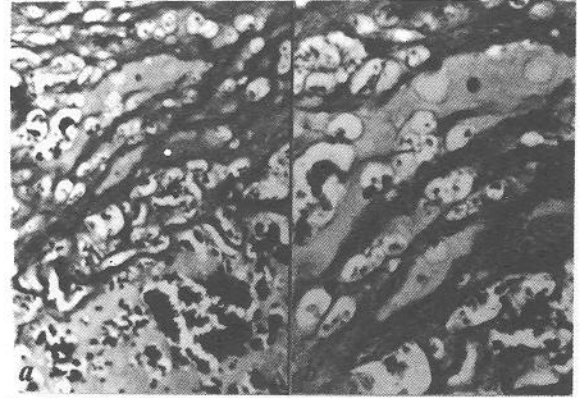
Kontrol grubu tüm parametreler için (-) ile (++++) arası bir derecelenme göstermiştir. Deney grubunda üçüncü günde sakrifiye edilen denek kümesinde liyofilize kollajenin uygulandığı bölgede ve 5. günde sakrifiye edilen deneklerde daha belirgin olmak üzere liyofilize kollajen lifleri içerisinde proliferasyon vasküler yapılar çevresinde polimorfonükleer lökositlerin yoğunlaştığı dikkati çekmiştir. Bunun yanısıra özellikle 7. günde sakrifiye edilen kobaylarda demarkasyon hattı ve çevresinde yoğun histiosit infiltrasyonu gözlemlendi. Deney grubunda 5. ve 7. gün sakrifiye edilen deneklerde daha belirgin gözlenen yeni damar oluşumu, özellikle liyofilize kollajen liflerine komşu alanlarda, fibroblastik proliferasyona eşlik eden bir karakter olarak izlenmiştir.

Tablo I. Histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirme parametrelerinin kontrol ve deney gruplarında dağılımları

	KONTROL GRUBU			DENEY GRUBU		
	3. gün	5. gün	7. gün	3. gün	5. gün	7. gün
İnflamasyon karakteri	-,+	++	+++	-,+	-,+	+++
Neovaskülarizasyon	-	-	++	++	++	+++
Safra kanalikül proliferasyonu	+	++	+++	+	++	+++
Kupffer hücre hiperplazisi	+	++	+++	++	++	+++
Nekrozis	++	++	++	++	++	++
Fibrogenezis	-,+	+++	+++	+	+	+++
Retikülin patterni	-,+	+	+++	+	+	++
Fibronektin ekspresyonu	-,+	+	+	+	+	+++
Makrofaj yoğunluğu ve lizozim ekspresyonu	-,+	-,+	+	-,+	+	++++



Resim 1. Deney grubundaki bir kobay karaciğer dokusunda 7. gün makroskopik olarak belirgin fibrozis gelişimi dikkati çekmektedir.



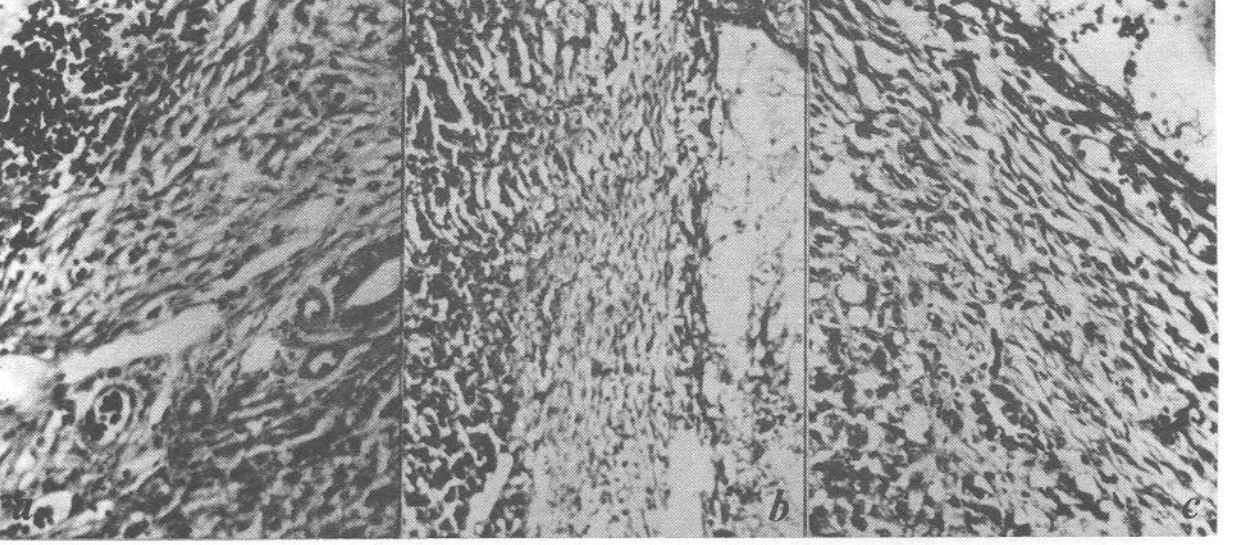
Resim 2. Lezyon bölgesinde liyofilize kollajen konakçı karakteri: Alveoler bir matriks içinde eritrositler, trombositler ile birlikte polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu izlenmektedir (deney grubu, 7. gün), (a:x100, b:x200-HE).

Bütün gruplarda, tüm karaciğer alanlarında özellikle nekroz alanı çevrelerinde belirgin Kupffer hücre proliferasyonları ile birlikte, değişen oranlarda safra kanalikül proliferasyonları saptanmıştır. Bütün kobaylarda, travma uygulanmış karaciğer dokularında koagülasyon nekrozu izlenmiştir. Retiküler lif dağılımı, deney ve kontrol grupları için benzerlik gösteriyordu ve nekroz içerisinde beklenildiği üzere bir retikülin kollapsı söz konusu iken, demarkasyon hatında retiküler liflerde değişen derecelerde bir artış gözlenmiştir. Yedinci günde sakrifiye edilen kobaylarda daha belirgin olmak üzere liyofilize kollajenin uygulandığı bölge ve komşuluğundaki alanlarda yoğun (+++) ekstrasellüler fibronektin immün

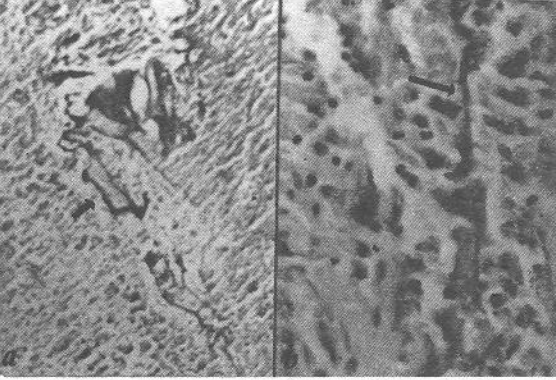
reaksiyonu gözlendi. Aynı grup deney hayvanlarında benzer lokalizasyonlarda izlenen makrofajlarda (++++) lizozim ekspresyonu saptandı (Resim 2-5).

Tartışma

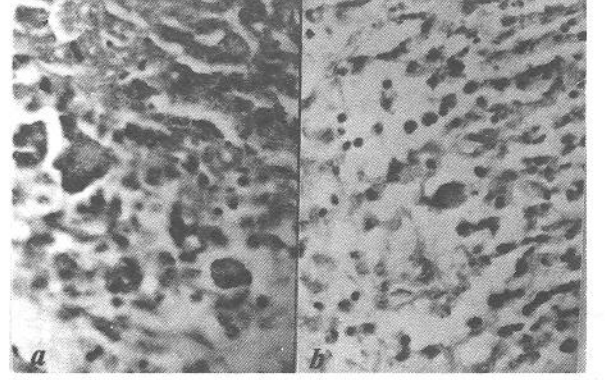
Şiddetli karaciğer yaralanmalarında ölüme neden olan kanamalar büyük çoğunlukla parankimal kaynaklıdır (10). Oldham ve ark. yayınladıkları serilerinde karaciğer travması geçirmiş 188 çocuk olgunun % 92'sinde, kanamanın operasyona gerek kalmadan durduğunu gözlemişlerse de literatürde çeşitli kaynakların bildirdiği künt karaciğer travmalarındaki yüksek mortalite oranı (% 10-30) ne-



Resim 3. Lezyon çevresi bulguları: a) Ameliyat sonrası 5. günde safra kanallikül proliferasyonu ile birlikte neovaskularizasyon (X200-HE), b) Ameliyat sonrası 5. günde fibrojenesis ile birlikte (++) inflamasyon (X100-Trichome Gomori), c) Ameliyat sonrası 7. günde fibrojenesis ve granülasyon dokusu gelişimi (X100-Trichome Gomori).



Resim 4. Ameliyat sonrası 7. günde lezyon çevresi bulguları; fibronektin (+++) ekspresyonu oklar ile gösterilmiştir (a:X100, b:X200-Biotin streptavidin peroksidaz).



Resim 5. Lezyon çevresinde lizozim (++++), immün reaksiyonu gösteren histiositler (X200-Biotin streptavidin peroksidaz).

deniyle bu doku üzerinde ideal beklentilere yönelik, hemostatik ve reparasyonu hızlandırıcı madde ve yöntemlerin in situ uygulanması çalışmaları büyük önem taşımaktadır (8,14,22).

Tüm vücut proteinlerinin 1/4'ünü oluşturan kollajen, bağ dokusunun ana yapısal fibröz protein komponentidir (20). Kollajenin klinik uygulamaları giderek artan sayıda araştırma konusu olmaktadır. Lorenz ve ark.'ları "collagenic fleece"i (Tachacomb) pankreatektomi bölgesine hemostaz oluşturmak amacıyla uyguladılar ve hastada koagülasyon defekti bulunmasına rağmen ek bir cerrahi işlem yapmadan kanamanın kontrol altına alınabileceğini gösterdiler

(15). Peper ve ark. "Porcine derived dermal collagen" i (PDC) arterial, karaciğer, dalak yaralanmalarında topikal hemostatik ajan olarak kullandılar (24).

Mancuso ve ark.'ları damar yatağının yüksek kanama eğilimi gösterdiği uterus myoma enükleasyon operasyonlarında liyofilize kollajen kullandılar ve liyofilize kollajenin yer doldurucu materyel olarak kolaylıkla uygulanabildiğini, güçlü hemostaz sağladığını, ayrıca hiçbir yan etkisinin olmadığını bildirdiler (16). Vazokonstriksiyon, hemostaz ve trombosit agregasyonu, yaralanan alanın çevresinde gözlenen ilk değişikliklerdir.

Kollajen, faktör XII ve XI yoluyla intrensek pıhtılaşma mekanizmasını aktive eder. Trombositlerin adezyonu ve agregasyonu üzerinde de etkilidir ve bu agregasyondaki rolü de muhtemelen trombosit membranındaki fibronektin varlığından kaynaklanmaktadır (17-20). Deneysel ve klinik çalışmalar kollajenin hemostatik etkisi yanında trombosit, monosit ve fibroblast gibi hücreler için kemotaktik bir faktör olarak etki ettiğini, düzenli fibroblast proliferasyonu için mekanik bir çatı oluşturduğunu, granülasyon dokusunu geliştirdiğini ve fibronektini bölgeye çektiğini göstermiştir (1,5,7,12,18,21,25,26).

Liyofilize kollajen uygulandığı doku alanına fibroblast göçünü uyarır, granülasyon dokusunun ve büyük miktarda bağlı fibronektinin metabolik aktivitesini hızlandırır (20). Yine kollajen lifler arasında lökosit, makrofaj ve fibroblastların canlı olarak kalabildiği bildirilmiştir (23). Yara iyileşmesi sürecinde fibroblast proliferasyonu, angiogenezis ve rejenerasyon en önemli olaylardır (6). Reparasyon bölgesine polimorfonükleer lökositlerden sonra göç eden makrofajlar yara bölgesinde oluşmuş olan düşük oksijen basıncına dayanıklı hücrelerdir ve iyileşme alanında yoğun olarak gözlenirler (20).

"Platelet derived growth factor" (PDGF), "fibroblast growth factor" (FGF) gibi büyüme faktörleri ile "transforming growth factor-beta" (TGF- β) gibi büyüme inhibitörlerini salgırlar (6,30). PDGF, ayrıca trombositlerde alfa granüllerde depolanır ve trombositlerin aktive olmaları ile endotel, düz kas hücresi ve çeşitli tümör hücrelerinden de salgılanır. Bu faktör fibroblast, düz kas hücresi ve monosit proliferasyonuna ayrıca monosit migrasyonuna neden olur (6,20). FGF, özellikle bazal membran degradasyonu, endotel hücreleri üzerinde mitojenik etki oluşturarak endotel proliferasyonu ile migragasyonunu uyarır ve kapiller tüp oluşumunu sağlar.

Bu sayede yeni damar oluşumunda aktif rol oynar (6). Fibroblastlar üzerinde de mitojenik ve kemotaktik etkisi gösterilmiştir (20). TGF-B ise yine trombosit ve endotel hücreleri ile T lenfositlerden de salgılanır. Çeşitli hücre kültürlerinde büyüme inhibitörü etkisi gösterilmiştir, fibroblast migragasyonu, hücre büyümesi ve diferansiyasyonu üzerinde de etkilidir. Fibroblastlarda kollajen ile fibronektin sentezini hızlandırır, kollajen degradasyonunu inhibe

eder, dolayısıyla fibrogenezisi uyarır. Yeni damar oluşumunu artırdığı da belirlenmiştir (6,20).

Fibronektinler sıklıkla fibroblast, monosit ve endotel hücreleri tarafından üretilir ve hücre yüzeyleri, bazal membran ile hücre çevresi matriksde bulunur. Hücre yüzey reseptörleri, kollajen ve sülfatlı proteoglikanlar için özel yüksek afiniteli bağlanım alanlarına sahiptir. Bu sayede fibronektin birçok hücreyi matriks komponentlerine bağlar. Ayrıca yara iyileşmesinde bölgeye göç eden hücreler için adeta taşıyıcı bir rol oynar ve yeni kollajen oluşumu için bir iskelet görevi görür (3,6,9,13). Yaralanmadan sonraki ilk iki günde plazma kaynaklı fibronektin hücre dışı matrikste bol miktarda toplanır (6). Fibronektin ve fragmanları makrofaj ve fibroblastlar için kemotaktik ve opsonik özelliklere sahiptirler (6,20). Bir bölgeye göç eden ve yerleşen bir hücrenin substratına adezyonu da fibronektin tarafından sağlanır (3,9). Ayrıca faktör XIII etkisi ile fibrine bağlanabilir ve bu nedenle pıhtı oluşumunda da rol oynar (20). Kapiller endotelial organizasyonu regüle eder ve bu yolla da doku onarımına katkıda bulunur (6). Sonuç olarak yara bölgesine uygulanan kollajen pet bölgeye fibronektin toplanmasını hızlandırır ve bu da yara iyileşmesini motive eder (19).

Çalışmamızda kontrol grubu karaciğer dokularında travmayı takiben gelişen süreçte izlenen inflamasyon karakteri, deney grubunda izlenen süreç ile karşılaştırıldığında, gerçekten de kollajen pet liflerinin iltihap hücreleri için bir konakçı olarak rol oynadığını ortaya koymuştur. Karaciğer örneklerinde izlediğimiz Kupffer hücre proliferasyonu ve nekrozun gruplar arasında belirgin bir farklılık göstermediğine karar verilmiştir. Buna karşın safra kanalikül proliferasyonu reparasyon sürecinde fibrogenezis gelişimine paralel bir gidiş göstermektedir.

Ancak deney grubunda diğer gruba oranla bu yönden anlamlı bir fark izlenmemiştir. Bu nedenle safra kanalikül proliferasyonunun liyofilize kollojen-reparasyon sürecinin dışında kaldığı, sadece travmaya sekonder geliştiği ileri sürülebilir. Demarkasyon hattı ve çevresinde gözlenen fibroblastik proliferasyon ile birlikte gelişimini izlediğimiz yeni damar oluşumunun, kontrol grubuna oranla retiküler çatı düzeyinde organizasyon üstünlüğünü sap-

tamamız, liyofilize kollajenin gerek monosit-makrofaj sistemi hücrelerini ve fibroblast göçünü ve gerekse de bu hücrelerden fibronektin yapımı ve/veya bölgede toplanması üzerine uyarıcı bir etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Lezyon alanlarında ve komşu karaciğer dokusunda yoğun fibronektin ekspresyonu gözlenmiştir. Bu aktivite, deney grubu hayvanlarda kontrol grubuna oranla travma zemininde izlediğimiz daha yoğun bir fibrinoid materyel birikimi ile birlikte saptadığımız hızlı ve optimal reperasyon sürecinin nedeni olabilir. Çalışmamız, ayrıca deney grubu hayvanlarda kollajen petin karaciğer zedelenme bölgesinde dokuya uyum sağlayarak mekanik bir destek oluşturduğunu, doku defektini doldurduğunu ve gözle görünür hemostatik sağladığını da göstermiştir.

Sonuç olarak sığır liyofilize tip I kollajen petin, parankimal kaynaklı karaciğer zedelenmelerinde hemostatik etkisinin bulunduğunu, ayrıca yara iyileşme sürecinde fibroblastlar, makrofajlar üzerine kemotaktik bir faktör olarak etki ettiğini, angiogenezis ve fibrogenezisi uyardığını, ayrıca fibronektini bölgeye çekerek doku onarımına ve pıhtı oluşumuna katkıda bulunduğunu, bu nedenle de karaciğer travmalarına yönelik konvansiyonel cerrahi girişimlerde ve endoskopik cerrahide zedelenmiş karaciğer parankimi bölgesinde liyofilize tip I sığır kollajen petin hemostatik ve yara iyileşmesini hızlandırıcı allerjen olmayan bir adjuvan olarak kullanılabileceği kanısındayız.

Kaynaklar

- Abbott WM, Austen GA: Microrystalline collagen as a topical hemostatic agent for vascular surgery. *Surgery* 75:925, 1974
- Beghe F, Menicagli C, Neggiani P, et al: Lyophilized non-denatured type I collagen (condress) extracted from bovine achilles tendon and suitable for clinical use. *Int J Tissue React* 14 Suppl; 11-19, 1992
- Burgeson RE: Basement membranes. Fitzpatrick TB (Ed) "Dermatology in General Medicine", New York, Mc Graw Hill Co., 1987, p.295
- Chapavil M: Collagen sponge: Theory and practice of medical application. *J Biomed Mat Res* 11:721, 1977
- Coquin JY, Sebahoun G, Fontaine M, et al: Use of collagen for the control of local bleeding of juguler vein catheterization in thrombopenic patients. *Curr Ther Res* 42:1066, 1987
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL: Robbins Pathologic Basis of Disease. 4th Ed, Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, p.71

- Danon D, Kowatch MA, Roth GS: Promotion of wound repair in old mice by local injection of macrophages. *Proc Natl Acad Sci* 86:2018, 1989
- Defore WW, Mattox KL, Jordan GL, et al: Management of 1590 consecutive cases of liver trauma. *Arch Surg* 111:493, 1976
- Duband et al: Fibronectins. *J Cell Biol* 107:1385, 1988
- Elerding SC, Aragon GE, Moone EE: Fatal hepatic hemorrhage following trauma. *Am J Surg* 138:883, 1979
- Frey CF, Trollope M, Harpster W, et al: A fifteen years experience with automotive hepatic trauma. *J Trauma* 13:1039, 1973
- Jasmin J, Fontaine M: Effectiveness of a hemostatic collagen dressing compared with regenerated oxidized cellulose in oral surgery. *Curr Ther Res* 42:172, 1987
- Junge J, Horn T, Christoffersen P: The occurrence and significance of fibronectin in liver from chronic alcoholics. An immunohistochemical study of early alcoholic liver injury. *APMIS* 96:56, 1988
- Levin A, Grover P, Nance F: Surgical restraint in the management of hepatic injury. *J Trauma* 18:399, 1978
- Lorenz D, Scheele J: The use of collagen fleece (Tachocomb) in pancreatic surgery. *Klinik für Chirurgie* 23:93, 1990
- Mancuso S: The use of lyophilized collagen in gynecology. *Int J Tissue React* 14 Suppl, 35, 1992
- Mason RG, Read MS: Some effects of microcrystalline collagen preparation on blood. *Haemostasis* 3:31, 1974
- Meyer FA, Weisman Z: Adhesion of platelets to collagen. The nature of the binding site from competitive inhibitions studies. *Thromb Res* 12:431, 1978
- Mian E, Mian M, Beghe F: Lyophilized type I collagen and chronic leg ulcers. *Int J Tissue React* 13 Suppl, 57, 1991
- Mian E, Mian M, Beghe F: Collagen as a pharmacological approach in wound healing. *Int J Tissue React* 14 Suppl, 1, 1992
- Motta G, et al: Can heterologous collagen enhance the granulation tissue growth? An experimental study. *Ital J Surg Sci* 13:101, 1983
- Oldham KT, Guice KS, Ryckman F, et al: Blunt liver injury in childhood. Evolution of therapy and current perspective. *Surg* 100:542, 1986
- Palmieri B: Collagen use in delayed wound healing: A clinical study. *Int J Tissue React* 14 Suppl, 21, 1992
- Peper WA, Allor DR, Peterson EL, et al: Pigs skin as a topical hemostat in arterial, liver and splenic injuries. *Surg* 99:557, 1986
- Postlethwaite AE, Kang AH: Collagen and collagen peptide-induced chemotaxis of human blood monocytes. *J Exp Med* 143:1299, 1976
- Scaramuzzi M, De Donatis V, Palmieri B, et al: Studio della fibronectina nella cicatrizzazione delle ferite e delle ulcere cutanee. XII. Congresso Nazionale della Società Italiana di Ricerche in Chirurgia. Modena 20-. 22:1349, 1986
- Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC: *Principals of Surgery*, 5th Ed, New York, Mc Graw Hill Co, 1989, p.1332
- Scotto J, Opolon P, Eteve J, et al: Liver biopsy and prognosis in acute liver failure. *Gut* 4:927, 1973
- Smith GW: Trauma to the liver. Schalkelford RT, Zudema GD (Eds) "Surgery of Alimentary Tract", Philadelphia, WB Saunders Co, 198, p.421
- Sprugel KH, Mc Pherson JM, Clowes AW, et al: Effects of growth factors in vivo I. Cell ingrowth in to porous subcutaneous chambers. *Am J Pathology* 129:601, 1987