

## Yeni *In Vitro* Deri Doku Modelleri ve Deri İkameleri

### New *In Vitro* Skin Tissue Models and Skin Substitutes

<sup>1</sup>Sena ERKAN<sup>a</sup>, <sup>2</sup>Selinay Başak ERDEMLİ KÖSE<sup>b,c</sup>, <sup>3</sup>Suna SABUNCUOĞLU<sup>c</sup>, <sup>4</sup>Pınar ERKEKOĞLU<sup>c</sup>

<sup>a</sup>TOBB Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara, TÜRKİYE

<sup>b</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Burdur, TÜRKİYE

<sup>c</sup>Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Ankara, TÜRKİYE

**ÖZET** Deri; tüm mekanik hasarlara, fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlara karşı vücudun koruyucu kalkanı olup, insan vücudunda termoregülasyon ve sıvı elektrolit dengesinin korunması da dâhil birçok hayati işlevin sürdürülmesinde önemli rol oynamaktadır. İnsan derisinin koruyucu özelliği oldukça yüksektir. Yanıklar, diyabetik ayak ülserleri, travmalara bağlı yaralanmalar ya da doğuştan gelen deride hasar ve nekrozlara sebep olan anomaliler, sonradan oluşan patolojiler deri bütünlüğünün bozulmasına yol açarak bu önemli fonksiyonların ve vücudun ilk savunma hattının sekteye uğramasına neden olabilirler. Sağlıklı deri, bazal membranda bulunan rejenerasyon yeteneğine sahiptir ve proliferatif kök hücreler aracılığıyla epidermis hasarını yenileme yeteneğine sahiptir. Ancak daha derin yaralanmalarda bu yenilenme gerçekleşemez. Derinin, doğal işlevini ve yapısını sürdürülebilirliği için derinin bütünlüğünün sağlanması gereklidir ve bu amaçla günümüzde çok çeşitli deri ikameleri geliştirilmektedir. Doku mühendisliğindeki gelişmelerle, birçok doku modellenmesi yapılmakta, çeşitli ilaç ve xenobiyotiklerin dermal toksisitesinin belirlenmesinde bu modeller kullanılmaktadır. Bu sayede *in vivo* testlerde kullanılacak deney hayvanları sayısının azalması da mümkün olmaktadır. Ayrıca bu doku modelleri sayesinde deride etnik özelliklerin değerlendirilmesi, deri hassasiyeti, alerjik reaksiyonlar, deri kanserleri, yaşlanma, deri mikrobiyotasının incelenmesi gibi pek çok konuda araştırmalar yapılabilmektedir. Bu derlemede, eski ve yeni doku modelleri, bu doku modellerinin avantajları, dezavantajları, deri ikameleri, kullanım alanları ve olası istenmeyen etkileri hakkında bilgi vermek amaçlanmıştır.

**ABSTRACT** The skin is the body's protective shield against mechanical injuries, physical chemical, and biological agents; plays an important role in maintenance many vital functions in the human body, including thermoregulation and fluid-electrolyte balance. Protective characteristics of human skin are very high. Different factors such as burns, diabetic foot ulcers, traumatic injuries or congenital anomalies causing skin damage/necrosis or secondary pathologies may cause disruption of skin integrity and interruption of these important functions and the body's first line of defense. Healthy skin has ability to regenerate epidermis damage through proliferative stem cells and it has regeneration ability located in basal membrane. However, this regeneration cannot occur in deeper injuries. For maintaining its natural function and structure, it is necessary to provide integrity of the skin. For this purpose, wide variety of skin substitutes are currently being developed. With advances in tissue engineering, many tissue-modeling studies are performed and these models are used to determine dermal toxicities of various drugs/xenobiotics. In this way, it is possible to reduce number of experimental animals for *in vivo* tests. In addition, thanks to these tissue models, several research can be carried out on many subjects such as evaluation of ethnic characteristics of skin, skin sensitivity, allergic reactions, skin cancers, aging, and examination of skin microbiota. In this review, we aim to give information about old and new tissue models, advantages and disadvantages of tissue models, skin substitutes, their utilization, and possible unwanted effects.

**Anahtar Kelimeler:** Deri doku modelleri; deri ikameleri; deri greftleri

**Keywords:** Skin tissue models; skin substitutes; skin grafts

Son yıllarda, doku mühendisliği alanındaki gelişmeler sayesinde yeni birçok doku modeli geliştirilmiştir. Bunların birçoğu ilaç, kozmetik ve çevresel kimyasalların dermal ve oküler toksisitesinin belirlenmesi amacıyla kullanıma girmiştir. Bu modellerin geliştirilmesi ile birçok araştırmada daha az sayıda deney hayvanı kullanılması mümkün olmuştur. Dermal doku modelleri, deri biyolojisini daha iyi anlamak için de büyük yararlar sağlamıştır. 2013'de

Avrupa Birliği Kozmetik Yönetmeliği EC No. 1223/2009 ile kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinin zararlı etkilerinin belirlenmesi için hayvanlarda yapılan toksikolojik testlerin yasaklanması ile *in vivo* durumu iyi bir şekilde taklit eden ve 3 boyutlu (3D) organizasyona sahip yeniden yapılandırılmış insan epidermis modelleri'nin [reconstructed human epidermal (RhE)] kullanımı büyük hız ve önem kazanmıştır.<sup>1</sup> Bu modeller genellikle *Stratum spinosum*,

**Correspondence:** Pınar ERKEKOĞLU

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Ankara, TÜRKİYE/TURKEY

**E-mail:** erkekp@yahoo.com



Peer review under responsibility of Journal of Literature Pharmacy Sciences.

**Received:** 28 Aug 2020

**Received in revised form:** 19 Nov 2020

**Accepted:** 23 Dec 2020

**Available online:** 03 Feb 2021

2630-5569 / Copyright © 2021 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

*Stratum granulosum* ve *Stratum corneum* 'dan oluşan epidermal çok katmanlı yapılardır ve *in vivo* benzeri bir sistemde ham bileşenleri ve nihai ürünleri test etmek için benzersiz bir yol sağlamaktadır.<sup>2,3</sup> RhE modeller, ilk olarak Massachusetts Teknoloji Enstitüsünde James Rheinwald ve Howard Green'in fibroblastların besleyici tabakasının üstüne keratino-sitleri ekleyerek, 2-3 kat kalınlıkta bir dermal model üretmeyi başardıklarında kullanıma girmiştir. Araştırmacılar, insan derisi biyopsilerinden alınan insan keratino-sitleri kullanmış, *in vivo* durumu taklit eden RhE elde etmek için hava-sıvı ara yüzünde yaklaşık 2 hafta boyunca hücre içermeyen dermal bir ikame maddesinin üstünde tutmuşlardır. Sonrasında *in vitro* deri doku modelleri, daha işlevsel hâle getirilmiş ve geliştirilmiştir.<sup>4</sup> Deri modelleri günümüzde; epidermal, dermal ve epidermal+dermal kaynaklı olarak üç farklı şekilde üretilir. Modellerin oluşturulmasında, hangi toksik etkilerin bu modellerde çalışacağı en önemli konudur. Takiben daha önce literatürde var olan toksisite verileri değerlendirilir. Çalışılacak etkiye yönelik hücre tipleri seçilir. Bu hücre tiplerinin çoğalma ve farklılaşmaları değerlendirilir. Uygun, üreme koşullarının ve bu koşulların ikamesinin sağlanması için tüm test bileşenleri ve malzemeler belirlenir. Sonrasında, doku morfolojisi değerlendirilir; model üzerinde proteomik ve genomik analizler yapılır. Deneylerin, tekrarlanabilirliğini belirlemek üzere analizler yapılır. Model üretim aşamasına geldiğinde ise, son kullanıcı olan araştırmacılara ulaştırılmasında, yaşanabilecek güçlükleri önlemek için yapılması gereken işlemler belirlenir.<sup>5,6</sup>

*In vitro* deri modellerinin zamanla geliştirilmesi ile derinin yapısı, toksik maddelere verdiği tepkiler ve işleyişi daha iyi anlaşılmıştır. Son 5 yılda bu modeller ultraviyole (UV) hassasiyetinin belirlenmesi, özel etnik özelliklerin değerlendirilmesi, deri hassasiyeti ve alerjisinin araştırılması, kronolojik yaşlanmanın önüne geçilmesi ve deri mikrobiyotasının incelenmesi gibi birçok alanda önemli bir yere gelmiştir.<sup>5,6</sup> Deri ikameleri (deri greftleri ve yapay deriler) başta yanıklar olmak üzere, birçok deri hastalığının ve patolojik durumunun tedavisi için uygun seçenekler olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak henüz ideal bir greft veya yapay deri yoktur. Araştırmalar bu konuda da hızla devam etmektedir.<sup>7,8</sup>

Bu makalenin ilk amacı, kozmetikler/kişisel bakım ürünleri ve ilaçların toksisitelerinin belirlenmesi için kullanılan yeni doku modelleri hakkında bilgi aktarmak, eski doku modelleri ile yeni doku modellerinin karşılaştırmasını yapmaktır. Bu kapsamda, doku mühendisliğinde modellemeden ve kullanımda olan doku modellerinden kısaca söz edilecek, yeni deri doku modellerinin özelliklerinden ve bu modellerin avantaj ve dezavantajlarından bahsedilecektir. Makalenin diğer bir amacı ise, insan deri grefti ve yapay deri olarak kullanılan deri ikameleri, kullanım alanları ve olası istenmeyen etkileri hakkında bilgi aktarmaktır. Deri ikamelerinin avantajları, dezavantajları ve yeni üretilen modellerden de makale içinde söz edilecektir.

## DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE MODELLEME

Doku mühendisliği, farklı bilim alanlarının prensiplerini kullanarak, fonksiyonlarını yerine getiremeyen doku ve organlara destek olmak veya tamamen yerine geçebilecek biyolojik sistemler tasarlayan, geliştiren disiplinler arası bir araştırma alanıdır. Bu disiplinde, doku veya organ modellerini ortaya koyarak yenileyici tıp alanına katkı sunulmaya çalışılmaktadır.<sup>9</sup> Doku mühendisliğinde modellemenin önemli aşamaları vardır. Bunlar:<sup>9</sup>

- Hücrelere erişim (izolasyon, amplifikasyon, depolama, kullanım)
- Hücre çoğalması ve farklılaşması arasındaki dengeyi kontrol etmek için uygun kültür ortamının kullanılması
- *İn vivo* ekstrasellüler matriks'i [extracellular matrix (ECM)] taklit eden bir iskeletin kullanılması, model geliştirilmesi, modelin test edilmesi ve uygulanması
- Tüm üretim seviyelerinde uygun endüstriyel düzenin tasarlanması
- Kalite kontrol, validasyon
- Doku mühendisliği ile gerçekleştirilen deri modelleri, araştırma, geliştirme ve düzenleyici kuruluşların kimyasal maddelerin iş yerlerinde üretimi, taşınması ve kullanımını belirlemesi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca doku mühendisliği, deri ikamelerinin üretiminde de çok geçerli bir bilim dalı hâline gelmiştir.<sup>7-9</sup>

## GÜNÜMÜZDE EN ÇOK KULLANILAN İN VİTRO DOKU MODELLERİ

Günümüzde kullanılan standart RhE modelleri, keratinosit içeren bir epidermis tabakası veya epidermis ve fibroblast içeren bir dermis tabakalarından oluşmaktadır. Bu modellerin geneli, deri irritasyon/korozyon testlerinde ve bazıları da yaşlanma ile ilgili biyolojik belirtileri gözlemek için kullanılır. Deri aynı zamanda, kontrollü sıcaklık sağlayan ve farklı mikroorganizmaları kişilere özel miktarlarda barındıran bir organdır. Mikrobiyota ve konakçı arasındaki dengenin bozulması, akne, atopik dermatit, kepek ve psöriyazis gibi çeşitli bozukluklar veya hastalıklarla ilişkilidir. Son yıllarda, RhE modeller deri mikrobiyota çalışmalarında kullanılmaktadır. Ayrıca oluşabilecek antibiyotik direncine karşı da yeni hedeflerin belirlenebilmesinde yararlı olmaktadır.<sup>5,9</sup>

Şu ana dek birçok RhE model (EpiDerm™, SkinEthic™ ve EpiSkin™) ticarileştirilmiştir. Bu modellerin yapıları aşağıda detaylı bir şekilde verilmiştir. Günümüzde, geliştirilmiş farklı birçok 3D deri doku modelleri üzerine çalışılmaktadır. Bunların bir kısmı henüz geliştirme aşamasındadır. Cellink, Phenion, EpiCS, LabCyte Epi-Model, MimEX (R&D Systems, Bioteche, Minneapolis, MN), Corning (Corning, Tewksbury, MA) gibi geliştirilmekte olan yeni modeller üzerinde de çalışmalar devam etmektedir.<sup>9,10</sup> Bu modellerin validasyonu Avrupa Birliğinde “Alternatif Metotların Validasyonu için Avrupa Merkezi (ECVAM)” tarafından, Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) ise “Alternatif Yöntemlerin Validasyonu hakkında Kurumlar Arası Koordinasyon Komitesi (ICCVAM)” tarafından gerçekleştirilmektedir.<sup>5,11</sup>

### *SkinEthic™ RhE (Skinethic Laboratories, EpiSkin SA, L'oreal, Lyon, Fransa)*

SkinEthic™ epidermal modeli, inert polikarbonat filtreler üzerinde kimyasal ortamda 17 gün boyunca normal insan keratinositlerinin hava ile kaldırılmış kültürüyle yeniden oluşturulan epidermis olarak tanımlanmaktadır. SkinEthic modelinde, seramidlerin ve öncüllerinin ana alt sınıfları olan glukozilseramid mevcuttur. İnsan derisine benzer olarak, *Stratum granulosum*'da lorikrin bulunur. Lorikrin, küçük proline

zengin protein [proline-rich protein (sPRP)]ve entukrin, keratinizasyonun son aşamalarında bir transglutaminazile çapraz bağlanan kornifiye zarfın protein öncülleridir. Bu proteinlerin uygun ekspresyonu, yetkin bir bariyer oluşumu için gereklidir. SkinEthic modeli, fototoksisite testi ve deri irritasyon testlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.<sup>11-13</sup>

### *EpiSkin™ Standart Model (Skinethic Laboratories, EpiSkin SA, L'oreal, Lyon, Fransa)*

EpiSkin™ modeli kısaca “operasyonel bir *Stratum corneum* ile epidermin terminal farklılaşmasına ve rekonstrüksiyonuna izin veren bir kollajen baz üzerinde kültürlenmiş insan keratinositleri” olarak tanımlanabilir.<sup>11</sup> Model, 2'nci pasaj insan keratinositlerinden türetilen tabakalı farklılaşmış epidermi olan, Tip IV insan kollajen filmi ile kaplanan bir “Tip I sığır kollajen matris”inden oluşur. EpiSkin modelinde bulunan seramid miktarları doğal epidermiste bulunanlardan farklıdır. EpiSkin modelinde, keratin 1 ve 10 *Stratum spinosum* ve *Stratum granulosum*da, keratin 6 ise tüm katmanlarda bulunmaktadır. Modelde lorikrin yokken, tüm suprabazal tabakalarda entukrin ve transglutaminaz bulunur. Ancak deri irritasyon testleri için özel üretilen EpiSkin modellerinde lorikrin bulunmaktadır. Bu model deri irritasyon, deri korozyon ve fototoksisite testleri gibi birçok uygulama alanında kullanılmaktadır.<sup>11,14,15</sup>

### *EpiDerm™ (MatTek Corporation, Ashland, MA)*

Yaygın kullanılan bir diğer model olan Epiderm ise “insan epiderminin çok katmanlı, çok farklılaşmış bir modelini oluşturmak üzere kültürlenmiş normal yenidoğanlardan elde edilen epidermal keratinositleri [normal human epidermal keratinocytes (NHEK)] içermektedir.<sup>2,6</sup> Epiderm modeli yüksek miktarda glukozilseramid bulundurur. Ancak insan epidermine göre farklılıkları da vardır. Seramid 2 miktarı, insan epiderminde olduğundan daha yüksek iken, seramid 5 miktarı daha düşük orandadır. Diğer modellerde olduğu gibi deri irritasyonu/korozyonu testleri için sıkça tercih edilen bir modeldir.<sup>2,6</sup> EpidermFT™ ise modelin daha geliştirilmiş bir tipidir. Bu modelde, farklılaşmış insan derisi ve epidermi modeli oluşturmak için yenidoğan insandan türetilmiş dermal fibroblastlar, NHEK birlikte kültürlenerek çok katmanlı bir yapı elde edilmektedir.<sup>16</sup>

*In vitro* RhE modellerinin, toksikolojik/farmakolojik araştırmalarda, ilaç etkinliği ve ilaç taşıma çalışmalarında yararlı olduğu kanıtlanmıştır.<sup>16,17</sup> Ancak hiçbiri insan derisinin tam kopyası değildir. Kullanımda olan deri modellerinin bariyer fonksiyonları dolayısıyla dermal penetrasyon çalışmalarında uygulanabilirlikleri sınırlıdır. RhE modellerde lipidler, *Stratum corneum*'da altıgen bir desende toplanırken, doğal deride lipid organizasyonu ortotropiktir. Bu fark bu modellerde 5-50 kat daha yüksek penetrasyon oranına yol açar. Ayrıca günümüzde kullanıma girmiş, RhE modellerin çoğu sadece epidermal keratinositlerden ve/veya dermal fibroblastlardan oluşmaktadır. Bu nedenle son yıllarda, yeni ve insan derisine yapısı daha yakın olan deri modelleri geliştirilmesine çalışılmaktadır.<sup>16,17</sup>

#### *EpiCS Deri Modeli (Phenion, Henkel, Aachen, Almanya)*

EpiCS deri modeli, 3D insan primer epidermal keratinositlerinden yeniden yapılandırılmıştır. EpiCS'nin hücresel yapısı, bazal membran özelliği gösteren, keratinositleri ve sağlam bir bariyer fonksiyonuna sahip bir *Stratum corneum*'u içeren doğal insan epidermine çok benzemektedir. EpiCS için temel uygulamalar deri irritasyonu, deri korozyonu, deri duyarlılık testleri ile fototoksisite ve genotoksisite çalışmalarıdır. EpiCS kullanılarak "Ekonomik işbirliği ve Kalkınma rgt [Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD)] test kılavuzu [test guidelines (TG)] 431: *In Vitro* Deri Korozyonu: İnsan Deri Modeli Testi" yapılabilir. Belli koşullar altında hücre kültürü flasklarında (0,6 cm<sup>2</sup>) keratinositlerin kltrlenmesinden sonra dokular, farklılaşmayı, epitel tabakalaşmasını ve kornifikasyonu başlatmak için hava-sıvı interfazına kaldırılır. Son yıllarda EpiCS deri modelinin kozmetik ve ilaç endstisinde, düzenleyici kuruluşların yaptığı çalışmalarda ve akademik araştırmalarda kullanımı hızla artmaktadır.<sup>17,18</sup>

#### *Phenion® Tam Kalınlık (FT) Deri Modeli (Phenion, Henkel, Aachen, Almanya)*

Tam kalınlık deri modelleri, hem keratinosit hem de fibroblast içermekte; insan derisinin özelliklerine çok yakın morfoloji ve doku işlevselliği sunmaktadır.<sup>19</sup> Phenion® *in vitro* deri testlerinin ulaşılabilirliğini arttırmak amacıyla, açık kaynaklı yeniden yapılandırıl-

mış bir epidermis [The Open Source Reconstructed Epidermis, OSREp] geliştirmiştir. OSREp hava-sıvı interfaz durumu altında, insan primer epidermal keratinositlerinin kültürlenmesi ile elde edilmiştir. Çok tabakalı *Stratum corneum* dâhil tüm epidermal tabakalar insan derisinin yapısına çok benzemektedir. Yüksek metabolik kapasitesi, Phenion® FT modeline ve insan derisine yakındır.<sup>20</sup> OSREp kullanılarak, OECD TG 439 "*In Vitro* Deri İrritasyonu: Yeniden Yapılandırılmış İnsan Epidermis Test Metodu"na göre kozmetikler, kişisel bakım ürünleri, ilaçlar ve çevresel kimyasalların deri irritasyon potansiyelleri belirlenebilir. OSREp yakın zamanda kit olarak da piyasaya sunulmuştur.<sup>19,21,22</sup> Phenion® Tam Kalınlık Deri Modeli (Phenion® FT) hem tamamen farklılaşmış bir epidermis hem de doğal, kollajen bazlı bir bağ dokusu içeren altta yatan dermisten oluşur. Phenion FT, kullanımda olan RhE modellerine göre benzoik asit ve kafeine karşı daha zayıf bir bariyere sahiptir. Ancak nikotin ve özellikle testosteron gibi lipofilik bileşiklere karşı geçirgenliği daha düşüktür.<sup>12,17,19,23</sup>

Epiderm FT modeli ve Phenion FT modeli diğer standart modellere göre daha farklı lipid düzenine sahiptir. Aynı zamanda veri tekrarlanabilirliği iyi olduğu için perkütan adsorpsiyon çalışmaları için tercih edilmektedirler.<sup>12,17,19,23</sup> FT modelleri, deri penetrasyon, deri absorpsiyon, fibrzis, otoimmün hastalık, yara iyileşmesi ve deri enfeksiyonu çalışmalarında da kullanılmaya başlanmıştır. Epiderm FT ve Phenion FT modelleri de mevcut deri modelleri gibi işlevsel bir damar sistemi içermezler.<sup>7</sup> Groeber ve ark. vaskülarize olmuş bir domuz jejunum parçası kullanarak, oluşturdukları iskeleyi yeni bir FT model geliştirmek için kullanmışlardır. Bu matriks parçasına fizyolojik pozisyonlarında NHEK, dermal fibroblastlar ve dermal mikrovasküler endotel hücreleri ekilerek vaskülarize olmuş FT deri modeli elde etmişlerdir.<sup>24</sup> Son yıllarda, özellikle işlevsel vaskülarize olmuş FT deri modellerinin geliştirilmesi üzerine çalışmalar hızla devam etmektedir.

#### *Cellink Deri Modeli (Cellink, Phoenix, AZ)*

Geliştirilmekte olan yeni deri modellerinden biri de Cellink deri modelidir. Bu model epidermis, papiller dermis ve retiküler dermis olmak üzere 3 farklı katmandan oluşmaktadır. Papiller dermiste diğer kat-



manlara göre fibroblast konsantrasyonu daha yüksektir. Deri modeli oluşturulurken, insan NHEK ve 2 farklı konsantrasyonda insan dermal fibroblastları kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, Cellink doku modelindeki hücrelerde yüksek ve stabil kollajen Tip I ekspresyonu da belirlenmiştir.<sup>25,26</sup>

#### *Labskin (Labskin, Sand Hutton, York, İngiltere)*

Parakrin sinyal ileten, metabolik olarak aktif birincil insan fibroblastlarından ve keratinositlerden üretilen Labskin tam kalınlıkta insan derisine eş değer yapıdadır. Uygulamalı deri testlerinde, kozmetik, ilaç ve kimyasal ürünlerin deri toksisitelerinin belirlenmesinde kullanılır. Labskin ile yapılan testlerde tekrarlanabilirlik oldukça yüksek bulunmuştur. Labskin deri mikroflorası ile kolonize edilebilir. Bu model, tek katmanlı kültürler veya *ex vivo* deri modellerine oranla *in vivo* ortamı daha iyi taklit etmektedir.<sup>27,28</sup>

#### *LabCyte EPI-MODEL (J-TEC, Aichi, Japonya)*

LabCyte EPI-MODEL, normal insan epidermal hücrelerinin çok katmanlı hâle gelmesi için kültürlenerek üretilen 3D RhE modelidir. LabCyte EPI-MODEL'in yapısı, bazal katman, dikenli katman, granüler katman ve kornifiye katmandan oluşan insan epidermisinin morfolojik olarak benzeridir. Bu model ile deri irritasyon ve deri korozyon testleri yapılabilir. Ayrıca deri metabolik aktivitesi belirlenebilir, ilaç ve kozmetik ürünleri için absorpsiyon testleri gerçekleştirilebilir.<sup>29,30</sup>

#### *Straticell (Straticell, Les Isnes, Belçika)*

Straticell yeni kullanıma giren RhE modellerden biridir. Bu model melanositler, altta yatan bir dermis, duyu nöronları, makrofajlar, normal dermal mikrobiyota veya fırsatçı mikroorganizmalar dâhil olmak üzere diğer ilgili hücre tiplerinin ve bileşenlerinin entegrasyonunu sağlar. Üretici firma, epidermisin hiperproliferasyonunu ve hiperpigmentasyonunu indüklemek için spesifik büyüme faktörlerini de kullanarak, bir Straticell 3D epidermis yaşlılık lekeli modeli geliştirmiştir. Ayrıca forbol-12-miristat-13-asetat, lipopolisakkarid, UV ve kirleticiler ile indüklenen deri inflamasyonu, atopik dermatit ve psöriyazisi de içine alan patolojik dermal durumları içeren *in vitro* 3D deri modellerinden oluşan bir panel geliştirilmiştir. Bu *in vitro* modeller, hassas derinin

bozulmuş bir epidermal bariyere bağlı morfolojik ve işlevsel özelliklerini tamamen taklit edebilmektedir.<sup>24,31-33</sup>

#### *USP-RhE (University of São Paulo, São Paulo, Brezilya)*

OECD yeni deri doku modellerinin geliştirilmesini teşvik etmektedir. Kuruluş, daha önce OECD TG439 için belirlemiş olduğu performans standartları çerçevesinde yeni RhE modellerinin geliştirilmesi, bu modellerin farklı alanlarda kullanılabilmesi, elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliğinin değerlendirilmesi ve kalite kontrollerinin yapılabilmesi için kapsamlı kılavuzlar hazırlamaktadır. 2017 yılında *in vitro* deri irritasyonunu belirlemek üzere yeni bir RhE modeli olarak Amerikan Farmakopesi yeniden yapılandırılmış epidermis modeli [United States Pharmacopeia-reconstructed human epidermal (USP-RhE)] geliştirilmiştir. Geliştirilen USP-RhE modelinin, Triton X-100 ve sodyum dodesil sülfata karşı tolerans gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durum, modelin kimyasal ürünlerin hızlı penetrasyonuna karşı koymak için yeterince sağlam bir *Stratum corneum*'a sahip olduğunu düşündürmektedir.<sup>34</sup>

#### *MelanoDerm™ (MatTek Corporation, Ashland, MA)*

*MelanoDerm* doku modeli keratinositlerin ve melanositlerin 3D ko-kültürlenmesiyle elde edilir. Modelde, araştırmacıların tercihi üzerine farklı etnik kökenli (beyaz, siyah, Asyalı) melanositler kullanılabilir. Bu model, özellikle deri beyazlatıcı ajanların/formülasyonların etkinliklerinin ve etki sürelerinin belirlenmesi için tercih edilir. Deri pigmentasyon çalışmalarında da kullanıma uygundur.<sup>35-37</sup>

#### *EpiCS®-M (Phenion, Henkel, Aachen, Almanya)*

Bu model *MelanoDerm* gibi epidermal keratinositlerin ve melanositlerin hava-sıvı ara yüzünde kültürlenmesiyle oluşturulmuştur. OECD TG431 ve OECD TG439'e uygun olarak bu modelle testler yapılabilmektedir. Model tam olarak farklılaşmış bir epidermisin altında melanositlerin yerleşmesiyle karakterizedir. Yüksek derecede farklılaşmış epidermis dokusu, üst tabakalarında stratifikasyon ve kornifikasyon içerir ve intakt bariyer fonksiyonuna sahiptir. Bazal kompartmanda ise melanositler ve proliferen olan keratinositler bulunur. Kültürlenme süresi boyunca melanogenez, deri farklılaşması, pig-

mentasyonu veya depigmentasyonu izlenebilir. Bu modelde de farklı etnik kökenli donörlerden alınan melanositler kullanılabilir. Epidermis tam bariyer fonksiyonunu yerine getirdiği için sıvı, krem veya katı maddeler dokunun üzerine topikal uygulanabilir. Bu model bronz ten elde etmek için kullanılan kremler veya deri rengini açmak için kullanılan ürünlerin etkinliklerini ölçmekte ve melanogenezi değerlendirmekte oldukça iyi sonuçlar verir. Örneğin bronzlaştırıcı bir ajanın etkinliğini belirlemek için melanin üretimi, UV ışık, 3-izobütül-1-metil-ksantin veya melanin stimüle edici hormon ile stimüle edilebilir. Ayrıca modelin olgun ve bronzlaşmış ciltte kojik asit gibi deri beyazlatıcıların etkinliğini belirlemek için de kullanımı mümkündür. Doku kültüründen melaninin, çözücü ekstraksiyonu ile uzaklaştırılması ve 492 nm’de absorbans ölçümü ile nitel analizler de yapılabilir.<sup>38-40</sup>

#### *StrataTest (Stratatech, Madison, WI)*

Patojen içermeyen normal ölümsüz keratinosit progenitör hücrelerinin kullanılmasıyla elde edilen bir doku modelidir. Tam kalınlıkta, epidermal ve dermal bileşenlerden oluşur ve bariyer fonksiyonuna sahiptir. Kimyasallar, ozon, sigara dumanı ve UV etkilerinin belirlenmesi, UV ile oluşan sitokin salınımının ölçülmesi ve UVA/UVB’ye karşı kullanılan güneş koruyucuların etkinliklerinin değerlendirilmesi gibi birçok alanda kullanımı uygundur.<sup>41,42</sup>

### ■ *İN VİTRO* DERİ MODELLERİNİN AVANTAJLARI

*In vitro* RhE modellerin avantajları şöyle sıralanabilir:<sup>3,11,43,44</sup>

1. Doku kültürleri kitler olarak kolay elde edilebilirler; idameleri oldukça kolaydır.
2. Doku kültürleri ilaçlar dahil tüm kimyasalların deri iritasyon/korozyonu yapma olasılıklarını tekrarlanabilir sonuçlarla tahmin edilmesini sağlarlar. Böylece ileri testlerde daha az sayıda deney hayvanı kullanımını desteklerler.
3. Modellerin işlevselliği yüksektir ve araştırmalarda kolaylık sağlarlar.
4. Dermal metabolizma çalışmaları ve tipik “doku yanıtı” bakımından hayvan derisine eş değer sonuçlar verebilirler.

5. Deney hayvanları ile yapılan deri iritasyon ve korozyon çalışmalarında elde edilen sonuçlar subjektiftir. Ancak deri doku kültürleriyle daha objektif ve nitel sonuçlar elde edilebilir.

6. Hücre kültürlerinde, özellikle pasaj sayısı arttığında fenotipik ve genetik değişiklikler artabilir. Ayrıca, geliştirdikleri yalancı karakteristik özellikleri araştırmacıların elde ettikleri sonuçları yanlış yorumlamalarına yol açar. Doku kültürleri tek kullanımlıdır; kullanıldıkları kısa süre içinde bu tarz değişiklikler göstermezler.

7. Doku kültürleri ile fototoksik ve nonfototoksik bileşiklerin belirlenmesi testleri daha doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar verir.

### ■ *İN VİTRO* DERİ MODELLERİNİN DEZAVANTAJLARI

*In vitro* modellerin insan derisinin tam bir *in vivo* kopyası olmaması toksikoloji, farmakoloji ve absorpsiyon çalışmalarındaki uygulamalarını sınırlamaktadır. *In vitro* deri modellerinin dezavantajları şöyle sıralanabilir:<sup>45-47</sup>

1. Deri doku kültürleri oldukça pahalıdır.
2. Hücre kültürleri belli bir pasaj sayısına kadar daha ucuz ve kolay bir şekilde idame ettirilebilirken, dermal doku kültürleri yalnızca bir kez kullanılabilir.
3. Kullanımdaki deri modelleri dermal penetrasyon çalışmalarında uygulanabilirliklerini sınırlandıran “zayıf bariyer işlevi”ne sahiptirler. Bu nedenle, birçok kimyasala artmış duyarlılık gösterirler ve artmış duyarlılığı olan bireylerdeki toksik etkileri bile gösterebilecekleri düşünülmektedir. Ancak bazı bilim insanları bu durumu avantaj olarak tanımlamaktadır.
4. Bu modeller özellikle Merkel hücreleri, Langerhans hücreleri ve dermal immün hücreler gibi azınlık hücre tiplerini içermezler; fizyolojik bariyer işlevinden yoksundurlar. Bu nedenle araştırma ve geliştirmede sınırlı uygulanabilirlikleri vardır.
5. Deri doku kültürlerinde vaskülarizasyon yoksa, elde edilen sonuçların insan çalışmaları ile bire bir örtüşmesi beklenemez.
6. Yapılan araştırmalar sonucunda, RhE modellerinde glukokortikoide bağlı deri atrofisinin, kollajen I’de belirgin bir azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. Bu

olay, Phenion FT deri modelinde epidermal tabakaların azalmasının da nedeni olarak gösterilmiştir.

7. Doku kültürlerinde kullanılan maddelerin çözünürlükleri, hücre kültürlerine göre daha azdır. Özellikle prohapten özelliği gösteren maddelerin çözünürlüklerinde azalma düşük immün reaksiyon oluşmasına yol açar. Bu nedenle, bu tip maddelerin etkilerini tam olarak gösterememe olasılıkları bulunmaktadır.

## DERİ DOKU MODELLERİYLE İLGİLİ SON GELİŞMELER

Günümüzde var olan RhE modellerinin birbirlerine üstünlükleri vardır. Ancak henüz tam olarak ideal bir modele ulaşılamamıştır. İnsan derisine bire bir uyumlu model oluşturmak oldukça zordur. Daha iyi modeller oluşturabilmek için bazı noktalar önemlidir:<sup>3,16,23,48-50</sup>

- İyi tanımlanmış bir fizyolojik matris ve mikroçevrenin oluşturulması

- İlave özel hücre tiplerinin dâhil edilmesi

- Yeni imalat teknikleri ile üretim kolaylığı

İyi tanımlanmış fizyolojik matris bileşenleri üretimi için kollajenleri ticari olarak temin etmek yerine “düzenli aralıklarla bölünmüş palindromik tekrar kümeleri” teknolojisine benzer şekilde, biyokimyasal bir matrisin, biyoprin baskı teknolojileri ile de uyumlu olan translasyon sonrası uygun modifikasyonlarla üretilmesi için bir biyokimyasal mekanizma kullanılması daha uygun olabilir. Şu an kullanımda olan mevcut deri modellerinin, hiçbiri tam bir insan epidermisi ve tam kalınlıktaki deri özelliklerini sağlamamaktadır. Bu nedenle, insan deri dokusunun yapısını taklit eden, sağlam ve tekrarlanabilir modeller üretmek için yeni stratejiler geliştirilmektedir. Bu modellerin, derinin tam yapısını sağlamasının yanı sıra, sinyal yollarının da insan derisiyle aynı olması için çalışmalar devam etmektedir. Ayrıca, bu modellerin ilaç araştırmalarında kullanılabilmesi için uygun bir şekilde üretilmeleri gerekmektedir.<sup>16,35,48-52</sup>

## YENİ EX VİVO DERİ MODELLERİ (DERİ İKAMELERİ)

Bilindiği üzere deri insan vücudundaki en büyük organdır. Son derece dinamiktir ve hücreler, sinirler ve

kan damarları arasında büyük bir etkileşim ile yaşamını devam ettirir. Deri toksinler/toksikanlar, bakteriler, virüsler, mantarlar, fiziksel etmenler (sıcak, soğuk, ışınlar) ve tüm diğer ajanlara karşı iç organların ve diğer dokuların korunmasını sağlar. Ayrıca sıvı dengesinin ve vücut sıcaklığının korunmasında önemli role sahiptir. Herhangi bir travma sonucu deri kaybı diğer organ ve dokuların da etkilenmesine yol açar. Bu nedenle günümüzde deri kayıplarında farklı deri ikameleri kullanılır:<sup>7,8</sup>

- Deri greftleri-sellüler allojenik deri ikameleri

- Yapay deriler-asellüler deri ikameleri

- Hücresel otolog deri ikameleri

Deri ikameleri [Tablo 1](#)'de özetlenmiştir.

## DERİ GREFTLERİ-SELLÜLER ALLOJENİK DERİ İKAMELERİ

### *Epicel*<sup>®</sup>

Her yıl ABD’de medikal tedavi gerektiren 1.25 milyon yanık vakası ile karşılaşmaktadır. Bu yanıkların %80-90’ı sıcak su, kimyasallar, elektrik veya radyasyon oluşturmaktadır. Her yıl 10.000 kişi yanıklarla ilişkili enfeksiyonlar nedeniyle hayatını yitirmektedir. Yirmi yıl önce vücudun yarısını etkileyen yanıklar ölümcül olarak kabul edilirken, günümüzde vücudun %90’ının etkileyen yanığı olan hastalara bile yaşama umudu sunulmaktadır. Yanıklar, öncelikle bakteri ve sonrasında diğer mikroorganizmaların vücuda girişini kolaylaştırır. 1980’lerin ortasında Dr. Howard Green insan vücudu dışında da keratinosit üretilebileceğini bulmuş ve “Epicel” adını verdiği bir deri replasman tedavisi sağlayan greft uygulaması ile ciddi yanıkları tedavi edebilmiştir. Ancak Epicel yapay bir deri değildir, hastanın kendisinden alınan hücrelerin laboratuvar ortamında büyütülmesi ile elde edilir ve sadece derinin epidermal tabakasını replase edebilir.<sup>53-56</sup>

### *NativeSkin*

Yeni nesil *ex vivo* deri modeli olan NativeSkin, tam kalınlıkta yuvarlak bir insan derisi biyopsisinden oluşan patentli, kullanıma hazır *ex vivo* deri modelidir. Bu modeldeki hücreler onay alınarak donörlerden elde edilir. On sekiz-yetmiş yaş arası çoğu kadın (%90) olan bireylerin, abdomeninden alınan biyop-

TABLO 1: Deri ikameleri.<sup>53-75</sup>

Deri Greftleri- Sellüler Allojenik Deri İkameleri	Özellik
Epicel®	Proliferasyonu durdurulan fare fibroblastları varlığında <i>ex vivo</i> büyüyen otolog keratinositler.
NativeSkin	Tam kalınlıkta yuvarlak bir insan derisi biyopsisinden oluşan patentli, kullanıma hazır <i>ex vivo</i> deri modeli.
Apligraf®	Epidermal bir tabaka oluşturmak için keratinositlerin tohumlandığı dermal matriks içinde birleştirilen fibroblastlar ve kollajen.
Dermagraft®	Biyoabsorbe edilebilen bir iskele üzerinde bulunan, proliferere olabilen, büyüme faktörleri, kollajen ve ECM proteinlerini üretebilen ve bu şekilde granülasyon dokusu oluşturabilen ve yara iyileşmesini sağlayabilen canlı ve sağlıklı fibroblastlardan oluşan insan fibroblast-derive deri ikameleri
OrCel®	İnsan epidermal keratinositleri ve dermal fibroblastlar ayrı katmanlarda Tip I siğir kollajen süngerine kültürlenir.
Yapay Deriler-Asellüler Deri İkameleri	
Integra®	İnek kollajen ve glikozaminoglikan gözenekli matriksini kaplayan ince silikon film.
Biobrane®	Domuz kollajeninde gömülmüş dermis gibi davranan bir naylon mesh ve epidermis gibi davranan bir silikon membran.
Alloderm®	Kadavra dersinden derive edilen bir asellüler matriks.
Hücre Otolog Deri ikameleri	
Kültürlenmiş epidermal otogreftler	Otolog keratinositlerin epidermal büyüme faktörleri dâhil tüm esansiyel bileşenleri içeren bir medyunda kültürlenmesi ve dermis, subkütan ve epiderminin uzaklaştırılması ve sonrasında süspand edilmiş keratinositlerin letal radyasyona maruz bırakılmış fare 3T3 hücreleriyle kültürlenmesiyle elde edilir.
Kültürlenmiş deri ikameleri	Yapılarında birçok farklı dermal biyosentetik iskele kullanılabilen hem epidermal hem de dermal bileşenleri içeren deri ikameleri

ECM: Ekstrasellüler matriks.

siler kullanılır. Yedi gün kültürden sonra NativeSkin, doku bütünlüğü, canlılığı ve bariyer özellikleri kaybı olmadan doğal bir deri doku bileşimine ve histolojisine sahip olarak kalabilir. Bu modelin organizasyonu, deri bariyer özellikleri ve metabolik özellikleri normal insan derisiyle aynıdır ve *in vivo* insan derisine en yakın alternatif olarak lanse edilmektedir. Bu model, deri eklemlerinin yapılması için uygundur. NativeSkin deri modellerinin gelecekte psöriyazis, dermatit ve deri kanseri gibi patolojik durumları taklit edebilecek şekilde üretilebilecekleri belirtilmektedir. Ayrıca bu modelin yakın zamanda araştırma ve geliştirme çalışmalarında da kullanımının hızlanması beklenmektedir. NativeSkin ile yapılan yaşlandırma karşıtı, antioksidan ve deri rengi açmaya yönelik araştırma geliştirme faaliyetlerinde bu modelin kollajen XVII, laminin ve nidogen miktarlarının, bu tip uygulamalar ile olumlu yönde değiştiği saptanmıştır.<sup>7,8,10,32,57</sup>

#### Apligraf®

Apligraf 2 tabakadan oluşan bir deri ikamesidir. Epidermal tabakası, keratinositleri ve iyileşme sinyallerinin oluşturulmasını sağlayan büyüme faktörlerini ve sitokinleri üreten kök hücreleri içerir. Dermal ta-

bakası ile proliferere olabilen, insan kollajeni, diğer ECM proteinleri, büyüme faktörleri ve sitokinleri üretebilen canlı fibroblastları içerir. Açık yaraların tedavisinde, özellikle de diyabetik ayak tedavisinde tercih edilir.<sup>8,58-60</sup>

#### Dermagraft®

Dermagraft biyoabsorbe edilebilen bir iskele üzerinde bulunan, proliferere olabilen, büyüme faktörleri, kollajen ve ECM proteinlerini üretebilen ve bu şekilde granülasyon dokusu oluşturabilen ve yara iyileşmesini sağlayabilen canlı ve sağlıklı fibroblastlardan oluşan insan fibroblast-derive deri ikamesidir. Fibroblastların sentezlediği, büyüme faktörleri ve sitokinler granülasyon dokusunun oluşturulmasına, matriks birikimine ve anjiyogenezin sağlanmasına yardımcı olur.<sup>7,8,61-63</sup>

#### OrCel®

OrCel® Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından da onaylanan, normal insan allojenik deri hücrelerinden (epidermal keratinosit ve dermal fibrosit) oluşan 2 tabakalı sellüler matriks içeren yapıdır. Bu doku ikamesinde, hücreler 2 farklı tabaka hâlinde



Tip I sığır kollajen süngerine içine kültürlenmişlerdir. Donörlerden elde edilen dermal fibroblastlar, süngerin poröz kısmında bulunan kollajen matriksinin üstüne ve içine kültürlenirken, aynı donörden alınan keratinositler kollajen matriksinin nonporöz kısmına kültürlenir.<sup>64</sup> OrCel® biyouyumlu adsorbe edilebilen bir matriks gibi davranır. Fibroblast büyüme faktörü (FGF-1), sinir büyüme faktörü, granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör, interlökin (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, hepatosit büyüme faktörü, keratinosit büyüme faktörü-FGF7, makrofaj koloni uyarıcı faktör, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, dönüştürücü büyüme faktörleri (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2), vasküler endotelial büyüme faktörü gibi büyüme faktörlerini ve sitokinleri içerir ve böylece konakçının hücrelerinin migrasyonu için uyumlu bir ortam sağlar. İnsan derisinin replasmanı için kullanılmaz. Çünkü Langerhans hücreleri, melanositler, makrofajlar, lenfositler, kan damarları ve kıl foliküllerini içermez. Aynı donörün 2 farklı bölgesine OrCel® uygulamasından sonra yapılan DNA analizinde, 2-3 hafta sonra allojenik hücre DNA'sı belirlenmemiştir. OrCel®'in enfekte yaralara uygulanması kontraendikedir. Ayrıca sığır kollajenine alerjik olan bireylere uygulanamaz. Lokal yan etkileri arasında ağrı, prurit, enfeksiyon, deride kızarıklıklar, dokunma sonrası hassasiyet, blister oluşumu, büllöza erüpsiyon, tam kalınlıkla yaraya dönüşüm, eksizyon ve ilgili bölgenin tam greftlenmesi zorunluluğu sayılabilir. Nadiren sistemik yan etkilere (konstipasyon, anemi, uykusuzluk, ateş, kusma, enfeksiyon gibi) yol açar.<sup>63-66</sup>

#### TheraSkin®

TheraSkin®, biyolojik olarak aktif ve seropreserve edilmiş insan derisi allogreftidir. Hem epidermis hem de dermis tabakalarını içerir. Sellüler ve ekstrasellüler bileşimi (büyüme faktörleri, sitokinler ve kollajen, deri hücreleri) yara iyileşmesini kolaylaştırır. Diyabetik ayak ülserleri ve venöz bacak ülserleri gibi kronik yaralar için uygundur. Özellikle kas, kemik, tendon, eklem kapsülündeki kronik yaraların iyileşmesine yardımcı olur. Ayrıca arteriyel ülserler, iyileşmeyen cerrahi yaralar, basınç ülseri ve yaraları gibi diğer otogreft gerektiren yaralara da uygulanabilir.<sup>48,56,67,68</sup>

## YAPAY DERİLER-ASELLÜLER DERİ İKAMELERİ

### İntegra

Günümüzde ise otolog greftler yerine “yapay deri” kullanımı tercih edilmektedir. Bunun nedeni, birçok yanık hastasında zaten kullanılabilir derinin bulunmamasıdır. Yapay deri üretiminde ilk başlarda hastanın yakınlarından deri alınmış, laboratuvar ortamında büyütülmüş ve immün baskılayıcı ajanlar uygulanarak hastalara nakledilmiştir.<sup>7,8</sup> Ancak immün baskılamının da ciddi yan etkileri olabilir ve her zaman immün sistemi yeteri kadar baskılamak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, sonrasında “İntegra” adı verilen yapay deri üretimine geçilmiştir. İntegra hiçbir canlı hücre içermemektedir, tamamen sentetiktir ve uygulamanın amacı yanık deri üzerinde koruyucu bir tabaka oluşturarak, alt deri tabakalarının enfeksiyon kapmasını önlemek ve rejenere olmasını sağlamaktır.<sup>8,16,32</sup> İntegra insan derisi gibi 2 ana tabakadan oluşur: Sığır kollajeni içeren bir matriks ve glikozaminoglikan yapısında bir şeker tabakası. İntegra yarı saydam bir plastik sargıyı andırmaktadır. Yanık hastalarındaki ilk deri dokusunu uzaklaştırırken, İntegra yaranın üzerine yapıştırılır ve 2-4 hafta boyunca kalır. Bu sürede, hastanın kendi hücreleri matrikse doğru ilerler ve yeni dermis tabakasını oluşturur. Sonrasında, İntegra'nın üst tabakası uzaklaştırılır; hastanın epitel hücreleri çok ince bir tabaka olarak hastaya uygulanır ve hasta saç folikülleri hariç yeni ve normal bir epidermis tabakası oluşturur.<sup>8</sup>

### Biobrane®

Biobrane® kullanımı 1970'lerin sonunda başlamıştır ve bugün geçici deri ikamesi olarak kullanılmaktadır. Dermis gibi davranan naylon mesh ve epidermis gibi davranan silikon membran içerir. İkisi de domuz kollajeni içine gömülmüştür.<sup>69,70</sup> Süperfisyal veya mid-dermal parsiyel kalınlıktaki yaralar, yanıklar, *Epidermolysis bullosa* gibi konjenital hastalıklarda ve *Hidradenitis suppurativa*'da kullanılabilir.<sup>71-73</sup> Biobrane® kullanımı bulunurluk, düşük ağrı vermesi, hastanede yatma süresini kısaltması, hızlı yara iyileşmesi sağlaması gibi nedenlerle tercih edilir. Ancak enfeksiyon riskini artırabilir ve altında deri salgılarını biriktirmesi nedeniyle toksik şok sendromuna yol açabilir.<sup>71,72</sup>

**Alloderm®**

Alloderm® deri ikamesi kadavra dermisinden türetilen bir asellüler matriksten yapılıdır. Epidermisi uzaklaştırmak için tuzla muamele edilir; sonrasında sellüler maddeleri uzaklaştırmak için bir çözeltiyle ekstre edilir. Sonrasında dondurularak kurutulur. İşlem sonrasında her ne kadar bazal membranı intakt kalsa da immünolojik açıdan inert olması sağlanır.<sup>69,70</sup> Epidermal tabakası yoktur. Ancak asellüler matriksi, fibroblast ve endotel hücrelerin neodermisten rejenerasyonuna için iyi bir ortam sağlar.<sup>73</sup>

**HÜCRE OTOLOG DERİ İKAMELERİ**

Sellüler allojenik deri ikameleri ve asellüler deri ikameleri hasar görmüş, yanmış deri bölgeleri için geçici bir düzelleme sağlayabilir. Ancak özellikle büyük bölgeler için bir süre sonra split deri greftleri uygulamak veya tekrar greft yapmak ve küçük bölgeler için ise spontan aşamalı epitilizasyonu beklemek gerekir. Bu durumda, kültürlenmiş otolog keratinositleri geçici deri kaplaması için kullanmak oldukça yararlı bir yaklaşım olabilir.<sup>70,74</sup> Bu işlem, ilk olarak Rheinwald ve Green tarafından gerçekleştirilmiştir.<sup>75</sup> Hücre otolog deri ikameleri 2 şekilde yapılabilir:

- Kültürlenmiş epidermal otogreftler [cultured epidermal autograft (CEA)]
- Kültürlenmiş deri ikameleri [cultured skin substitutes (CSS)]

**Kültürlenmiş Epidermal Otogreftler**

Otolog keratinositlerin kültürlenmesi için hastadan deri biyopsisi alınmalıdır. Bu aşamada, dermiş ve subkütan doku uzaklaştırılır ve epidermis tripsin enzimleriyle parçalanır. Sonrasında, süspand edilen keratinositler letal radyasyona maruz bırakılmış fare 3T3 hücreleriyle kültürlenir. Kültür medyumunda, epidermal büyüme faktörleri dâhil tüm esansiyel bileşenler olmalıdır. Ancak kültürlendikten birkaç hafta sonra, keratinositleri yönetmek zorlaşır. Bu durumda bir taşıma sistemi ve destekleyici gerekir. Bu nedenle ticari olarak bulunan kültürlenmiş, epidermal otogreftlerin taşıyıcı sistemleri farklıdır.<sup>70,74</sup> Ayrıca, elde edilen keratinositler, dermal-epidermal bileşimi tam sağlayamayabilirler; tam kalınlıkta deri oluşturamayabilirler ve arada blisterler oluşabilir. Ayrıca, skarlaşma, kontaktür ve hiperkeratosis ortaya çıkabilir.

Diğer bir istenmeyen olay da yara yatağında bulunan kollajenaz enzimlerinin sindirici etkisine kültürlenmiş epidermal otograftların hassas olması nedeniyle ortaya çıkabilir. Bunu önlemek için kadavradan alınan allojenik derinin ilgili yara bölgesine 4 gün önceden konulması önerilir. Böylece, alloepidermis soyulur ve otolog hücreler ilgili bölgeye yerleşebilir.<sup>73</sup>

**Kültürlenmiş Deri İkameleri**

Bu tip ikameler epidermal ve dermal bileşenleri içermektedir. Otolog greftler olduğu için enfeksiyon riskleri düşüktür. Geçici kapatıcı olarak işlev görürler. Uygulamaları kolaydır, blister oluşturmazlar çünkü dermal-epidermal bileşim tam olarak oluşabilir. Ancak geçici süreli kullanılabilirler ve pahalıdırlar. Yapılarında birçok farklı dermal biyosentetik iskele kullanılabilir. En sık kullanılan hyaluronik asit deriveleridir. Hyalüronik asid (hyaluronan) deride zaten var olan bir polimerdir. Kollajenin aksine, birçok türde hyalüronik asidin yapısı benzerdir. Hyalüronik asidin proanjiojenik etkisi olduğu için kan damarlarının büyümesini stimüle eder. Ayrıca fibroblastların büyümesini ve hareketini hızlandırır, matriksin nemlenmesini ve osmoregülasyonu kontrol edebilir. Ayrıca iyi bir radikal yakalayıcı ve inflammatuar düzenleyicidir.<sup>69,70,73</sup>

**DERİ İKAMELERİNİN AVANTAJ VE DEZAVANTAJLARI**

Deri ikameleri, iyileşmeyi uyarmak için gereken hücreler, çözünür araçlar ve hücre dışı matriks malzemeleri sağlayarak yardımcı tedavi olarak kullanım için büyük umut vaat etmektedirler. Piyasada farklı endikasyona sahip çeşitli deri ikameleri bulunmaktadır ve uygun malzeme seçimi iyileşme sonuçlarını etkileyebilir. Her ürünün benzersiz bileşimi ve iyileşmede etkili farklı mekanizması vardır.<sup>74</sup> Bu yöntemlerin birbirlerine karşı bir takım avantaj ve dezavantajları vardır.

Donör ve alıcı aynı olduğundan, otolog deri greftlerinde bağışıklık reaksiyonu ve red riski yoktur. Bu yöntem, donör uygunluğu ve yeterli miktarda deri grefti için acil ihtiyaç sınırlamalarının üstesinden gelmektedir. Ancak, hastanede uzun süreli yatış, ağrı, geniş yüzey alanı yaralanmalarında donör alanda

olası enfeksiyon riskinin artması, otolog deri greftlerinin dezavantajlarından biridir.<sup>70,74</sup> Otolog yöntemlerin aksine, deri bankalarında donmuş kadavralardan veya canlı donörlerden elde edilen deri allogreftleri, donör uygunluğu sınırlamasından etkilenmez. Allogreftler ve ksenogreftler bu sorunu aşarken, yara bölgesinde enflamasyon riski, bağışıklık reddi ve viral transmisyon bu stratejilerin en büyük dezavantajlarından biridir. Allogreftler fonksiyonel geçici bir bariyer oluşturabilir, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin üretimini uyarabilir ve anjiyogenezini artırabilirler, normal iyileşme sürecini ve granülasyonu engellemezler ancak konakçıda immünojenik red nedeniyle uzun ömürlü olamazlar. Ayrıca klinik olarak onaylanmış, allogreft sağlayan sınırlı sayıda doku bankası vardır.<sup>70,74</sup>

Ticari deri ikamelerinde, vaskülarizasyonda azalma, mekanik bütünlükte zayıflama, başarısız bütünlük, yara izi ve bağışıklık reddi gibi sınırlamalar vardır. Vaskülarizasyonda azalmaya bağlı olarak, ikamelerdeki hücreler ölüp, konakçı dokudan uzaklaşabilir. Mevcut deri ikameleri asıl olarak, fibroblastlar ve keratinositlerden oluşur, bu nedenle saç ve ter bezleri gibi farklılaştırmış yapıları yapma yeteneğinden yoksundurlar. Bu nedenle malzemelere endotel hücreleri gibi ek hücre tiplerinin dâhil edilmesine ihtiyaç vardır. Ayrıca, mevcut deri ikamelerinin maliyetleri de tedavi süreçlerinde rahatlıkla kullanılmalarının önünde engel oluşturacak kadar yüksektir.<sup>70,74</sup>

## SONUÇ

İnsan vücudunun en büyük organı olan deri organizmada, iç ve dış çevre arasındaki engeldir. Günümüzde kullanımda olan ve yeni geliştirilen *in vitro* modeller farmakoloji, toksikoloji ve dermatoloji dâhil birçok alanda kullanıma girmiştir. Özellikle kozmetiklerin/kişisel bakım ürünlerinin cilt irritasyon/korozyon testleri, biyotransformasyon ve hastalık modellemesi çalışmalarında tercih edilmektedir. Bu modeller arasında, tam olarak insan derisini taklit edebilen bulunmamaktadır. Bu durum insan derisinin sahip olduğu mikroçevreyi, immün yapılanmayı, mikroanatomiye, iskelet proteinlerinin tam yapılandırmasını, vaskülarizasyonu, bariyer işlevini ve sinir ağrını *in vitro* olarak elde etmenin oldukça zor olma-

sından kaynaklanmaktadır. Ayrıca doku kültürleri oldukça pahalıdır ve tek kullanımlıktır. Ancak deri doku modellerinin birçok avantajı bulunmaktadır. İlaç araştırmalarında kullanılan hayvan sayısının azaltılır; sübjektiviteyi önlerler. Hızlı, nicel, tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebilir ve idameleri kolaydır. Kısa süre içinde kullanıldıkları için fenotipik ve genetik değişiklikler göstermezler, yalancı karakteristikler oluşturmazlar. Bariyer fonksiyonları tam olmadığı için duyarlılık testlerinde verdikleri yanıtlar, aşırı hassas bireylerde ortaya çıkabilecek yanıtların tahminine olanak sağlarlar.

Yaralı epidermis kök hücrelerin varlığı ile kendi kendini yenilemeyi uyarabilir. Ancak derin yaralanma ve yanıklarda iyileşme süreci yeterli olamaz; kronik yara oluşumu gerçekleşir. Günümüzde tam kalınlıkta cilt kaybının tedavisi ve iyileşmeyi sağlamak için kullanılacak en uygun ve etkin yöntem deri ikameleridir. Deriye daha iyi uyum sağlayacak, immünojenik red riski düşük, iyileşme süresini kısaltacak ve buna bağlı olarak enfeksiyon riskini düşürecek özelliklere sahip bir deri ikamesinin uygun maliyetlerle eldesi için araştırmalar her gün artarak sürmektedir.

### Finansal Kaynak

*Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.*

### Çıkar Çatışması

*Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.*

### Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Pınar Erkekoğlu, Suna Sabuncuoğlu; **Tasarım:** Pınar Erkekoğlu, Suna Sabuncuoğlu; **Denetleme/Danışmanlık:** Pınar Erkekoğlu, Suna Sabuncuoğlu; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Sena Erkan, Selinay Başak Erdemli Köse; **Analiz ve/veya Yorum:** Pınar Erkekoğlu; **Kaynak Taraması:** Sena Erkan; **Makalenin Yazımı:** Sena Erkan, Selinay Başak Erdemli Köse, Pınar Erkekoğlu, Suna Sabuncuoğlu; **Eleştirel İnceleme:** Pınar Erkekoğlu.

## KAYNAKLAR

- The European Parliament and The Council of The European Union [Internet]. [Erişim tarihi: 10.08.2020]. Regulation (EC) No 1223/2009 of The European Parliament and of The Council of 30 November 2009 on cosmetic products. Erişim linki: [\[Link\]](#)
- Netzlaff F, Lehr CM, Wertz PW, Schaefer UF. The human epidermis models EpiSkin, SkinEthic and EpiDerm: an evaluation of morphology and their suitability for testing phototoxicity, irritation, corrosivity, and substance transport. *Eur J Pharm Biopharm.* 2005;60(2):167-78. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Lee M, Hwang JH, Lim KM. Alternatives to In Vivo Draize Rabbit Eye and Skin Irritation Tests with a Focus on 3D Reconstructed Human Cornea-Like Epithelium and Epidermis Models. *Toxicol Res.* 2017;33(3):191-203. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Rheinwald JG, Green H. Epidermal growth factor and the multiplication of cultured human epidermal keratinocytes. *Nature.* 1977; 265(5593):421-4. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kandárová H, Letáňová S. Alternative methods in toxicology: pre-validated and validated methods. *Interdiscip Toxicol.* 2011;4(3):107-13. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Kandárová H, Hayden P, Klausner M, Kubilus J, Sheasgreen J. An in vitro skin irritation test (SIT) using the EpiDerm reconstructed human epidermal (RHE) model. *J Vis Exp.* 2009;(29):1366. [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Alrubaiy L, Al-Rubaiy KK. Skin substitutes: a brief review of types and clinical applications. *Oman Med J.* 2009;24(1):4-6. [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Vyas KS, Vasconez HC. Wound Healing: Biologics, Skin Substitutes, Biomembranes and Scaffolds. *Healthcare (Basel).* 2014;2(3):356-400. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Monteiro IP, Shukla A, Marques AP, Reis RL, Hammond PT. Spray-assisted layer-by-layer assembly on hyaluronic acid scaffolds for skin tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2015;103(1):330-40. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- De Wever B, Kurdykowski S, Descargues P. Human skin models for research applications in pharmacology and toxicology: Introducing NativeSkin®, the "missing link" bridging cell culture and/or reconstructed skin models and human clinical testing. *Applied In Vitro Toxicology.* 2015;1(1):26-32. [\[Crossref\]](#)
- Poumay Y, Coquette A. Modelling the human epidermis in vitro: tools for basic and applied research. *Arch Dermatol Res.* 2007;298(8): 361-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Neupane R, Boddu SHS, Renukuntla J, Babu RJ, Tiwari AK. Alternatives to Biological Skin in Permeation Studies: Current Trends and Possibilities. *Pharmaceutics.* 2020;12(2):152. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Liesch M, Grune B, Seiler A, Butzke D, Oelgeschläger M, Pirow R, et al. Alternatives to animal testing: current status and future perspectives. *Arch Toxicol.* 2011;85(8):841-58. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Choksi NY, Truax J, Layton A, Matheson J, Mattie D, Varney T, et al. United States regulatory requirements for skin and eye irritation testing. *Cutan Ocul Toxicol.* 2019;38(2):141-55. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Mertsching H, Weimer M, Kersen S, Brunner H. Human skin equivalent as an alternative to animal testing. *GMS Krankenhhyg Interdiszip.* 2008;3(1):Doc11. [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Zhang Z, Michniak-Kohn BB. Tissue engineered human skin equivalents. *Pharmaceutics.* 2012;4(1):26-41. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Ng WL, Yeong WY. The future of skin toxicology testing - Three-dimensional bioprinting meets microfluidics. *Int J Bioprint.* 2019;5(2.1):237. Erratum in: *Int J Bioprint.* 2020;6(4):309. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- EpiCS datasheet (Erişim Tarihi: 10.08.2020) [\[Link\]](#)
- Ackermann K, Borgia SL, Korting HC, Mewes KR, Schäfer-Korting M. The Phenion full-thickness skin model for percutaneous absorption testing. *Skin Pharmacol Physiol.* 2010;23(2): 105-12. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Wiegand C, Hewitt NJ, Merk HF, Reisinger K. Dermal xenobiotic metabolism: a comparison between native human skin, four in vitro skin test systems and a liver system. *Skin Pharmacol Physiol.* 2014;27(5):263-75. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Groeber F, Schober L, Schmid FF, Traube A, Kolbus-Hernandez S, Daton K, et al. Catch-up validation study of an in vitro skin irritation test method based on an open source reconstructed epidermis (phase II). *Toxicol In Vitro.* 2016;36:254-261. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Phenion [Internet]. ©2020 Henkel AG & Co. KGaA [Erişim tarihi: 10.08.2020]. The Phenion® Open Source Reconstructed Epidermis [OS-REP] goes live! Erişim linki: [\[Link\]](#)
- Alépée N, Bahinski A, Daneshian M, De Wever B, Fritsche E, Goldberg A, et al. State-of-the-art of 3D cultures (organs-on-a-chip) in safety testing and pathophysiology. *ALTEX.* 2014;31(4):441-77. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Groeber F, Engelhardt L, Lange J, Kurdyn S, Schmid FF, Rücker C, et al. A first vascularized skin equivalent as an alternative to animal experimentation. *ALTEX.* 2016;33(4): 415-22. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Cellink Life Sciences [Internet]. CELLINK 2021, All rights reserved [Erişim tarihi: 10.08.2020]. The skinny on bioprinting human skin. Erişim linki: [\[Link\]](#)
- BioSpace [Internet]. ©1985-2021 BioSpace.com [Erişim Tarihi: 10.08.2020]. Bioprinting advanced skin architecture complete with blood vessels using cellink technology. Erişim linki: [\[Link\]](#)
- News medical life sciences [Internet]. An AZoNetwork Site Owned and operated by AZoNetwork, © 2000-2021 [Erişim tarihi: 10.08.2020]. Labskin-3D human skin model for ethical testing. Erişim linki: [\[Link\]](#)
- Harvey A, Cole LM, Day R, Bartlett M, Warwick J, Bojar R, et al. MALDI-MSI for the analysis of a 3D tissue-engineered psoriatic skin model. *Proteomics.* 2016;16(11-2):1718-25. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- El Ghalbzouri A, Siamari R, Willemze R, Ponc M. Leiden reconstructed human epidermal model as a tool for the evaluation of the skin corrosion and irritation potential according to the ECVAM guidelines. *Toxicol In Vitro.* 2008;22(5):1311-20. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mathes SH, Ruffner H, Graf-Hausner U. The use of skin models in drug development. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014;69-70:81-102. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Straticell [Internet]. ©2020 - Straticell | designed with passion by weeb [Erişim tarihi: 10.08.2020]. In Vitro Skin Models.
- Suhail S, Sardashti N, Jaiswal D, Rudraiah S, Misra M, Kumbar SG. Engineered Skin Tissue Equivalents for Product Evaluation and Therapeutic Applications. *Biotechnol J.* 2019;14(7): e1900022. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Nam KH, Smith AS, Lone S, Kwon S, Kim DH. Biomimetic 3D Tissue Models for Advanced High-Throughput Drug Screening. *J Lab Autom.* 2015;20(3):201-15. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Pedrosa TDN, Catarino CM, Pennacchi PC, Assis SR, Gimenes F, Consolaro MEL, et al. A new reconstructed human epidermis for in vitro skin irritation testing. *Toxicol In Vitro.* 2017;42:31-37. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Lee JY, Lee J, Min D, Kim J, Kim HJ, No KT. Tyrosinase-Targeting Gallacetophenone Inhibits Melanogenesis in Melanocytes and Human Skin-Equivalents. *Int J Mol Sci.* 2020;21(9):3144. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
- Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V. Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2017;32(1):403-25. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)



37. Mattek [Internet]. ©2021 mattek all rights reserved [Erişim tarihi: 10.08.2020]. MelanoDerm™. Erişim linki: [\[Link\]](#)
38. epiCS (Erişim Tarihi: 10.08.2020) [\[Link\]](#)
39. Cell Systems [Internet]. ©2020 Imprint - Privacy Policy [Erişim tarihi: 10.08.2020]. epiCS-M/Human Epidermis Equivalent with Melanocytes.
40. EU Science Hub [Internet]. [Erişim tarihi: 10.08.2020]. SAC Opinion on the validation study of the epiCS® Skin Irritation Test (SIT) based on the EURL ECVAM/ OECD Performance Standards for in vitro skin irritation testing using Reconstructed human Epidermis (RhE). Erişim linki: [\[Link\]](#)
41. Rasmussen C, Gratz K, Liebel F, Southall M, Garay M, Bhattacharyya S, et al. The StrataTest® human skin model, a consistent in vitro alternative for toxicological testing. *Toxicol In Vitro*. 2010;24(7):2021-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Gratz K, Rasmussen C, Comer A, Pirnstill S, Nataraj P, Simon S, Allen-Hoffman L. Utility of StrataTest (R), an in vitro human skin model, for skin irritancy and corrosivity assessments. *Toxicology Letters*. 2009;189:S85. [\[Crossref\]](#)
43. Bernard FX, Barrault C, Deguercy A, De Wever B, Rosdy M. Development of a highly sensitive in vitro phototoxicity assay using the SkinEthic reconstructed human epidermis. *Cell Biol Toxicol*. 2000;16(6):391-400. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Brohem CA, Cardeal LB, Tiago M, Soengas MS, Barros SB, Maria-Engler SS. Artificial skin in perspective: concepts and applications. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2011;24(1):35-50. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
45. Jones PA, King AV, Earl LK, Lawrence RS. An assessment of the phototoxic hazard of a personal product ingredient using in vitro assays. *Toxicol In Vitro*. 2003;17(4):471-80. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Bayer M, Doucet O, Garcia NL, Marty JP, Zastrow L. Use of reconstituted human epidermis cultures to assess the disrupting effect of organic solvents on the barrier function of excised human skin. *In Vitro and Molecular Toxicology*. 2000;13(3):159-71. [\[Link\]](#)
47. Lago MEL, Cerqueira MT, Pirraco RP, Reis RL, Marques AP. Skin in vitro models to study dermal white adipose tissue role in skin healing. In: Marques AP, Pirraco RP, Cerqueira MT, Reis RL, eds. *Skin Tissue Models*. 1<sup>st</sup> ed. USA: Academic Press, Elsevier, Cambridge, MA; 2018. p. 327-52. [\[Crossref\]](#)
48. Cavo M, Fato M, Pe-uela L, Beltrame F, Raiteri R, Scaglione S. Microenvironment complexity and matrix stiffness regulate breast cancer cell activity in a 3D in vitro model. *Sci Rep*. 2016;6:35367. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
49. Randall MJ, Jünger A, Rimann M, Wuertz-Kozak K. Advances in the Biofabrication of 3D Skin in vitro: Healthy and Pathological Models. *Front Bioeng Biotechnol*. 2018;6:154. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
50. Sakolish CM, Esch MB, Hickman JJ, Shuler ML, Mahler GJ. Modeling Barrier Tissues In Vitro: Methods, Achievements, and Challenges. *EBioMedicine*. 2016;5:30-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
51. Abaci HE, Guo Z, Doucet Y, Jacków J, Christiano A. Next generation human skin constructs as advanced tools for drug development. *Exp Biol Med* (Maywood). 2017;242(17):1657-68. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
52. Arnette C, Koetsier JL, Hoover P, Getsios S, Green KJ. In Vitro Model of the Epidermis: Connecting Protein Function to 3D Structure. *Methods Enzymol*. 2016;569:287-308. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
53. Nathoo R, Howe N, Cohen G. Skin substitutes: an overview of the key players in wound management. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2014;7(10):44-8. [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
54. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2020;6(1):11. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
55. Perez-Favila A, Martinez-Fierro ML, Rodriguez-Lazalde JG, Cid-Baez MA, Zamudio-Osuna MJ, Martinez-Blanco MDR, et al. Current Therapeutic Strategies in Diabetic Foot Ulcers. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(11):714. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
56. Shpichka A, Butnaru D, Bezrukov EA, Sukhanov RB, Atala A, Burdukovskii V, et al. Skin tissue regeneration for burn injury. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):94. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
57. Genoskin ex vivo clinical testing [Internet]. Genoskin ©2020 [Erişim tarihi: 10.08.2020]. IncoSpharm publishes results using NativeSkin®. Erişim linki: [\[Link\]](#)
58. Organogenesis [Internet]. ©2020 Organogenesis Inc. [Erişim tarihi: 10.08.2020]. Apligraf. Erişim linki: [\[Link\]](#)
59. Zaulyanov L, Kirsner RS. A review of a bi-layered living cell treatment (Apligraf) in the treatment of venous leg ulcers and diabetic foot ulcers. *Clin Interv Aging*. 2007;2(1):93-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
60. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*. 2019;99(1):665-706. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
61. Hart CE, Loewen-Rodriguez A, Lessem J. Dermagraft: Use in the Treatment of Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2012;1(3):138-141. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
62. Li X, Xu G, Chen J. Tissue engineered skin for diabetic foot ulcers: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(10):18191-6. [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
63. Santema TB, Poyck PP, Ubbink DT. Skin grafting and tissue replacement for treating foot ulcers in people with diabetes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;2(2):CD011255. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
64. Food and Drug Administration [Internet]. [Erişim tarihi: 10.08.2020]. Summary of safety and effectiveness data. Erişim linki: [\[Link\]](#)
65. Savoji H, Godau B, Hassani MS, Akbari M. Skin Tissue Substitutes and Biomaterial Risk Assessment and Testing. *Front Bioeng Biotechnol*. 2018;6:86. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
66. Varkey M, Ding J, Tredget EE. Advances in Skin Substitutes-Potential of Tissue Engineered Skin for Facilitating Anti-Fibrotic Healing. *J Funct Biomater*. 2015;6(3):547-63. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
67. JAWSpodiatry [Internet]. Copyright © 2020 JAWSpodiatry [Erişim tarihi: 10.08.2020]. TheraSkin Skin Graft Surgery. Erişim linki: [\[Link\]](#)
68. Wound Source. [Internet]. © 2008-2021 Kestrel Health Information, Inc. [Erişim tarihi: 10.08.2020]. TheraSkin®. Erişim linki: [\[Link\]](#)
69. Horch RE, Jeschke MG, Spilker G, Herndon DN, Kopp J. Treatment of second degree facial burns with allografts--preliminary results. *Burns*. 2005;31(5):597-602. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
70. Supp DM, Boyce ST. Engineered skin substitutes: practices and potentials. *Clin Dermatol*. 2005;23(4):403-12. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
71. Shakespeare P, Shakespeare V. Survey: use of skin substitute materials in UK burn treatment centres. *Burns*. 2002;28(4):295-7. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
72. Shakespeare PG. The role of skin substitutes in the treatment of burn injuries. *Clin Dermatol*. 2005;23(4):413-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
73. Bello YM, Falabella AF, Eaglstein WH. Tissue-engineered skin. Current status in wound healing. *Am J Clin Dermatol*. 2001;2(5):305-13. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
74. Leigh IM, Watt FM. The culture of human epidermal keratinocytes. In: Leigh I, Lane B, Watt F, eds. *The keratinocyte handbook*. 1<sup>st</sup> ed. UK/Cambridge: Cambridge University Press; 1994. p. 43-51.
75. Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*. 1975;6(3):331-43. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)