

Ağız Mukozası Eş Değerleri

Oral Mucosa Equivalents: Review

Gürkan Raşit BAYAR,^a
Aydın GÜLSES,^b
Metin ŞENÇİMEN^c

^aAğız, Diş, Çene Hastalıkları ve
Cerrahisi AD,
GATA, Diş Bilimleri Merkezi, Ankara

Geliş Tarihi/Received: 15.01.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 01.03.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Aydın GÜLSES
GATA, Diş Bilimleri Merkezi,
Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve
Cerrahisi AD, Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
aydingulses@gmail.com

ÖZET Ağız, diş ve çene cerrahlarının günümüze kadar karşılaştıkları en önemli problemlerden biri de travma, preprotetik cerrahi veya cerrahi rezeksiyonlar sonrası defekt sahasının tam olarak örtülebilmesi ihtiyacı olmuştur. Günümüzde ülkemizde, ağız, diş, çene cerrahları bu problemin üstesinden gelebilmek için, verici başka bir bölgeden elde ettikleri yarım kalınlık deri greftleri veya mukoza greftlerini kullanmaktadırlar. Ancak, bu tür işlemler genelde birden fazla cerrahi işlem gerektirir, alınan greft materyali her zaman yeterli miktarda olmayabilir ve greftin alındığı veya yerleştirildiği bölgede bir takım iyileşme problemleri yaşanabilmektedir. Vücut ortamı dışında bir ağız mukozası eş değeri üretebilme yeteneği, bu sorunun çözümünde ağız, diş, çene cerrahlarına yardımcı olabilir. Bu durum, normal ağız mukozası özellikleri taşıyan, sınırsız miktarda bir ağız mukozası doku kaynağı sağlayacaktır. Ayrıca, doku mühendisliği vasıtası ile elde edilen ağız mukozası eş değeri, biyoyumluluk, mukozal irritasyon, ağız içi hastalıklar ve diğer temel biyolojik olayların laboratuvar ortamında incelenmesinde de kullanılabilir. Bu makalede, doku mühendisliği ile ağız mukozası eş değeri üretimi için kullanılan stratejileri, bu stratejilerin avantaj ve dezavantajları ile ağız mukozası eş değerlerinin kullanım alanlarını tekrar gözden geçirmeyi amaçladık. Bunun yanında, sunduğumuz bu makale ile dünyanın çeşitli ülkelerinde günümüzde vücut dışında üretilmekte ve klinik uygulamalar ile halen geliştirilmekte olan insan ağız mukozası eş değeri üretimi konusuna okuyucuların ilgisini çekmek ve bilgilendirmek amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ağız mukozası; epitelyum; doku mühendisliği

ABSTRACT A complete mucosal lining for oral reconstruction after preprosthetic surgery, trauma or surgical resection has been the one of the most challenging problem for oral and maxillofacial surgeons so far. Nowadays, split-thickness skin or oral mucosa grafts harvested from donor sites are using by oral and maxillofacial surgeons to cope with this problem in our country. But these procedures usually requires more than one surgery, graft material can not be enough everytime and are associated with morbidity at the donor and the recipient sites. The ability of the ex vivo production of an oral mucosa substitute can assist to the oral and maxillofacial surgeons. This will make an available unlimited supply of oral tissue that will have similar characteristic to native mucosa. In addition, tissue-engineered oral mucosal equivalents can also use for in vitro studies of biocompatibility, mucosal irritation, oral diseases and other basic oral biology phenomena. We aimed by this paper to review the strategies used for producing tissue-engineered oral mucosal equivalents, their relative advantages and drawbacks, and their applications. Besides, we also aimed by our this paper to draw attention and inform the readers on ex vivo production of human oral mucosal equivalent that is already producing and using on clinical trials at various countries of the world nowadays.

Key Words: Mouth mucosa; epithelium; tissue engineering

Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2011;17(2):193-9

Günümüzde ağız içi yumuşak doku defektlerinin onarımına yönelik olarak, serbest diş eti, palatal diş eti, bukkal mukoza ve dil gibi oral kavite kökenli otoplast greftler sıklıkla kullanılmaktadır.¹⁻⁴ Otoplast

greftler, herhangi bir otoimmün reaksiyona yol açmamaları nedeniyle yumuşak doku onarımlarında birincil seçenek olarak öne çıkmaktadırlar. Bunun yanında oral mukoza, esnek yapıda, yüksek iyileşme potansiyeline sahip ve verici sahada oluşan skar dokusunun estetik sorunlara yol açma olasılığının düşük olması nedeniyle de otolog greftlemede verici saha olarak sıklıkla tercih edilmektedir. Otolog greftlerle ilgili olarak sıklıkla bildirilen sorunlar ise verici saha morbiditesi, verici sahada doku boyutlarının olumsuz etkilenmesi ve alınan dokunun özgün yapısında karşılaşılan kayıplardır.³

Bu sorunların üstesinden gelinmesi amacıyla doku mühendisliği, mühendislik ve biyolojik bilimlerin prensiplerinin birleştiği yeni bir bilim dalı olarak 1980'li yılların başında ortaya çıkmıştır.⁵ Temel amacı, yapay olarak insan organ ve dokularının biyolojik eş değerlerinin üretilmesi olan doku mühendisliği, günümüzde laboratuvar ortamında insan oral mukoza eş değerlerinin üretilmesine olanak vermektedir.^{6,7} Bu amaca yönelik olarak, başlarda küçük boyutlardaki biyopsi örneklerinden üretilen insan cilt ve oral mukozalarına ait epitel-yum yaprakları şeklindeki ürünler, öncelikli olarak yanık tedavisi ve intraoral greftleme işlemlerinde kullanılmıştır.⁸⁻¹⁰ Başarılı klinik sonuçlara sahip onarımlar, ancak keratinositlerin tek başına ya da fibroblastlarla birlikte izole edilebilmeleri ve dermal matrisler üzerinde in vitro olarak cilt ve oral mukozanın tam kalınlıklı eş değerleri olarak üretilmelerini sonrasında gerçekleştirilebilmiştir.¹¹

Tam kalınlıklı ağız mukoza eş değerlerinin kullanımıyla ilgili olarak, greftin tutunma başarısının yüksek olmasının yanında, yara kontraksiyonu ve skar dokusunun en alt düzeyde gerçekleşmesi gibi üstünlükler de rapor edilmiştir.¹² Bunun yanında mukoza eş değerlerinin üretilmesi ile birlikte, birçok bilimsel çalışma için de yeni laboratuvar çalışma modelleri oluşturulabilmiştir. Bu sayede, yara iyileşmesi, mukotoksisite ve biyoyuymululuk ile ilgili deneylerin laboratuvar ortamında yapılabilmesi mümkün olabilmektedir. Günümüzde insan oral mukoza eş değeri üretimine yönelik çalışmalar, yeni hücre kültürü yöntemlerinin geliştirilmesi ve kök hücre izolasyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Bu araştırmanın amacı, gü-

nümüzde insan ağız mukoza eş değerleri, üretimleri ve kullanım alanları ile ilgili olarak bilgi sunmaktır.

ORAL MUKOZA

Ağız mukoza temelde iki farklı tabakadan oluşmaktadır:- yüzey epitel ve bu tabakayı destekleyen bağdoku tabakası (lamina propria). Bu iki tabakadan oluşan ağız mukoza, ağzın birçok bölgesinde altında yer alan dokulara gevşek bağ dokusu komponenti olan submukoza ile yapışır. Bu üç tabaka, cildin epidermal, dermal ve hipodermal katmanlarının analoglarıdır.⁹

Ağız mukoza epitel çok katlı yassı tipte bir epitel olup, ağız içinde yer aldığı bölgeye göre keratinize (yapışık diş eti, palatal mukoza) ya da non-keratinize (yanak mukoza, ağız tabanı) olma özelliği sergiler. Çok katlı yassı epitel, tabandan yüzeye doğru aynı hücre tipinin (keratinosit) yapısal ve şekilsel olarak farklılık arz eden dört farklı tipte hücre içeren katmanlardan oluşur. Bu tabakalar, stratum bazale, stratum spinosum, stratum granulozum ve stratum korneum tabakası olarak bilinir. Bazal katman keratinositleri, yüzeye doğru göç ederken terminal değişime uğrayan progenitör hücrelerdir. Keratinizasyon ile birlikte, granüler katmandaki görülebilir keratinositlerin organellerinden yoksun sitokeratin filamentleriyle kaplı ölü yüzeyel hücrelere dönüşür. Non-keratinize ağız epitelinde granüler katman, keratin katman ile yer değiştirirken hücrelerin keratoyalin granülleri içermediği gözlenir. Keratinositlere ek olarak oral epitelium melanosit (mukoza melanin isimli pigment üreterek renk veren hücreler), langerhans hücreleri (mukoza lenf dolaşımı ile bağlantısında görev aldığı ileri sürülen hücreler) ve merkel hücreleri (mukoza duyuşal faaliyetlerinde görev aldığı ileri sürülen hücreler) gibi keratinosit olmayan hücreler de içerir. Ağız mukoza epitel hücreleri arasındaki adezyonlar desmozomlar aracılığı ile gerçekleşirken, bazal katman, alttaki lamina propriaya hemidesmozomlar, tip IV kollajen, laminin ve fibronektin içeren bir membran (basement membrane) aracılığı ile tutunur.^{9,10,13}

Sitokeratinler, epitelial dokuda intrastoplazmik hücre iskeleti içinde bulunan orta genişlikteki

filamentleri (10 nm) oluşturan ve keratin içeren proteindirler. Sitokeratinler, farklı dokulardaki (deri, mukoza) keratinosit tipinin ve epiteliyal değişimin en temel belirteçlerinden biri olup her çeşit epitelde keratinositler içerisinde yer alır. Örneğin, sitokeratin 3 (K-3) gözde korneum epiteline özgü bir sitokeratinken, sitokeratin 76 (K-76) ağız mukozası epiteline özgü bir sitokeratindir. Yine, sitokeratin 10 (K-10) bir keratinizasyon belirteçidir ve keratinize ağız mukozası epitelinde ve deri keratinositlerinde bulunur. Sitokeratin 13 (K-13) ise non-keratinize ağız mukozası epiteline özgü bir sitokeratindir.^{10, 13}

Lamina propria epitelyum altında yer alan konnektif bir dokudur ve bol miktarda tip I kollajen lifler içeren ağlardan oluşur. Daha derinde tip III kollajen ve elastik lifler, çeşitli oranlarda yer almaktadır. Ağız mukozasında, yüzeydeki epitel tabakanın oluşturduğu girinti ve çıkıntuların (rete-ridge) arasında yer alan papiller tabaka ile bu tabakanın altında yer alan derin retiküler tabakadan oluşmaktadır. Fazlaca fibroblastların varolduğu tabakada, ayrıca makrofajlar, plazma hücreleri, mast hücreleri ve lenfositler de nadiren gözlenir. Lamina propria, bu oluşumlara ek olarak vasküler bileşenlere, endotelial hücrelere, sinir hücreleri ve sinir uçlarına da sahiptir (Resim 1).¹³

Daha derinde bulunan submukozada ise minör tükürük bezleri, çizgili kas dokusu, yağ dokusu, periosteum ve kemik yer almaktadır. Yağ bezleri oral kavitede de bulunur ancak ağız mukozası kıl follikülü içermediğinden deride olduğu gibi bir yağ-kıl follikülü ilişkisi içermez.

ORAL MUKOZA EŞ DEĞERİ ÜRETİMİ

Ağız mukozası eş değeri üretiminde, öncelikle ağız mukozası biyopsi örneğinden bir takım kimyasal metotlar ile ayrıştırılan canlı keratinosit ve fibroblastların bu işlem için özel olarak üretilen hücre kültür kaplarında tek tabaka (monolayer) olarak çoğaltılmaları gerekmektedir (Resim 2). Yeterli miktarda keratinosit, fibroblast sayısına ulaşıldığında, üreme kapasitelerinin yüksek olduğu veya 2. pasajlarda, hücreler iskelet yapısı üzerine ekilir ve burada çoğalmaya ve değişime uğramaya devam etmeleri sağlanır.

Normal oral mukozaya benzeyen ideal ve tam kalınlıklı yapay oral mukoza eş değerini oluşturan katmanlar şunlardır:

- Çok katlı yassı epitel: Membranın tabanında daha yoğun görüntü veren ve yüzeye doğru geçtiğinde değişime uğrayan keratinositleri içerir.

- Ara membran: Lamina propria ve epitel birbirinden ayırır. Ara membranın varlığı transmisyon elektron mikroskopunda lamina densa, lamina lucida ve bağlantı liflerinin izlenmesi ile karakterizedir.¹⁴

- Lamina propria: Ekstraselüler matriksi üreten üç boyutlu iskelet yapısı (scaffold) içine infiltre olmuş fibroblastları içerir.¹⁵

Tam kalınlıklı veya sadece yüzey epitelini içeren oral mukoza eş değerinin üretilmesinde çeşitli bileşenlerin belirlenmesi ve kullanılması gerekmektedir (Resim 3 a-b).

Araştırmacının seçim yapmasını gerektiren ve doku mühendisliğiyle ağız mukozası eş değeri üretiminde kullanılan bileşenler:

1. İskelet Yapısı (Scaffold).
2. Hücre Kaynağı.
3. Besleme Solüsyonlarıdır (Culture Medium).

1. İSKELET YAPISI (SCAFFOLD)

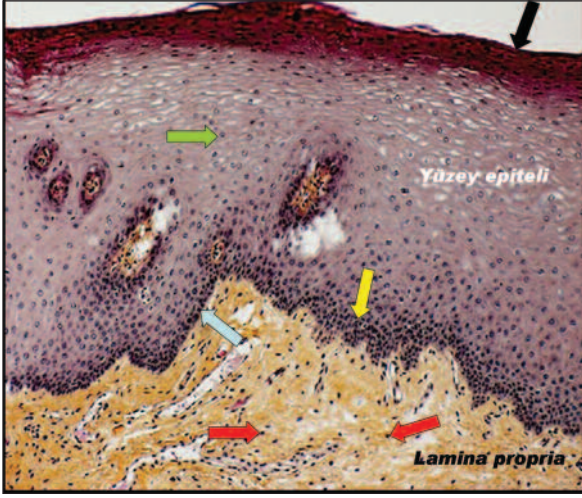
Oral mukoza ve cilt rekonstrüksiyonunda, hücreler için destek görevi yapan iskelet bir yapısının varlığı oldukça büyük önem taşır. İdeal biyoyoumluluğa, gözeneklere, biyostabiliteye ve mekanik özelliklere sahip doğru iskeletin seçimi, doku mühendisliğinde en önemli adımdır. Oral mukoza ve cilt rekonstrüksiyonu amacıyla kullanılan iskeletler çeşitli şekillerde sınıflanabilir.

- Doğal yolla elde edilen iskeletler. Kadavradan elde edilmiş hücresiz ve immünojenik olmayan dermis (AlloDerm™) veya amniyotik membran gibi.^{16,17}

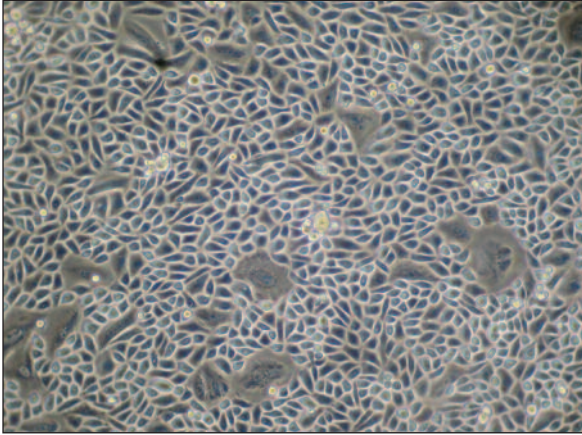
- Fibroblasttan zengin deri eş değerleri (Dermagraft™, Apligraf™)¹⁸

- Kollajen bazlı iskelet yapılar: Saf kollajen veya kompozit kollajen gibi.^{19,20}

- Jelatin bazlı iskelet yapılar (Glucan).²¹



RESİM 1: Normal ağız mukozası doku örneğinde lamina propria'da yer alan fibroblastlar (kırmızı ok), ara membran (basement membrane) (mavi ok), yüzey epitelinin bazal tabakası ve üreme potansiyeli yüksek olan keratinositler (sarı ok), üst tabakalarda değişime uğramış keratinositler (yeşil ok) ve ko-meum tabakası (siyah ok) izlenmektedir. X200 büyütme ile incelemede nükleus hematoxilin ile maviye, sitoplazma filoksin ile pembeye, ekstraselüler matriks ise safron ile sarı/kavun içi renge boyanmış olarak izlenmiştir.¹³



RESİM 2: Hücre kültürü kabı tabanında tek tabaka (monolayer) koloni oluşturmuş keratinositler.

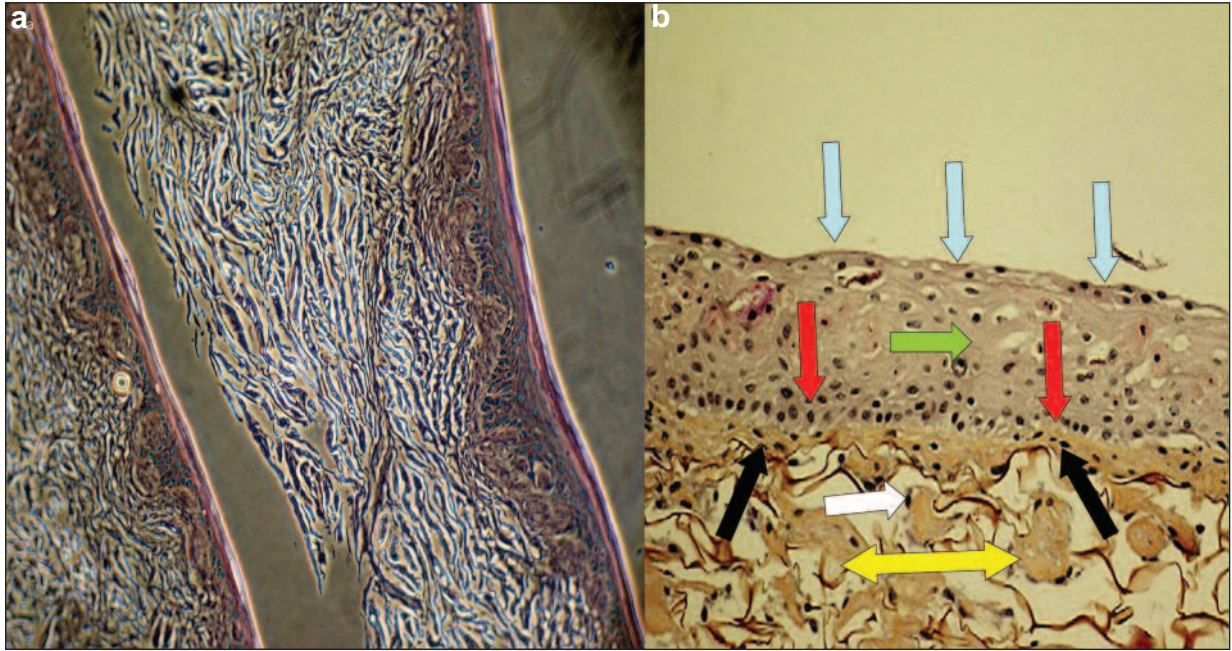
- Fibrin bazlı ürünler (Bioseed™).²²
- Sentetik iskelet yapılar. Polimerler gibi.
- Doğal ve sentetik matrislerin bileşiminden oluşan hibrid iskelet yapılar.

Doğal yolla elde edilen iskelet yapıların hücresiz olmaları nedeniyle yabancı cisim reaksiyonuna yol açmamaları gibi avantajlarının yanında, bir taraftan keratinositlerin tutunmasına ve epitelin bazal tabakasını oluşturabilmelerine izin veren bir yüzeye sahip olmaları, diğer taraftan da fibrob-

last infiltrasyonuna izin veren sağlam kanalcıklar içermeleri gibi üstünlükleri mevcuttur.²³ Ancak doğal kaynaklı iskelet yapıların çoğunlukla insan ya da hayvan dokularından üretilmesinden dolayı, büyük boyutlarda elde edilememesi, pahalı olmaları ve fiziksel özelliklerinin sınırlı olması gibi dezavantajları da mevcuttur. Bu gibi olumsuz özelliklerin varlığı, araştırmacıları sentetik materyallerin üretimine yönlendirmiştir. Hastalık bulaşma riskinin olmaması ve mekanik özelliklerinin iyi olması sentetik iskelet yapıların en önde gelen avantajlarıdır. Ng. ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, pöröz yapıdaki polilaktik poliglukolik asit iskelet yapıların, hücre dağılımının sağlanması ile doku oluşumunda doğal iskelet yapıları üstünlük sağladıkları savunmuşlardır.²⁴ Hibrid iskelet yapılar ise, genellikle polilaktik poliglukolik asit ve kollajen bileşiminden oluşan iskelet yapılarıdır. Bunun yanında, biyouyumluluk özellikleri yüksek olmasına karşın doku kontraksiyonuna yol açma oranları fazladır.²⁵

2. HÜCRE KAYNAĞI

Hücre kaynağı olarak, ağız mukozası rekonstrüksiyonu uygulanacak kişinin kendisinden veya direkt olarak insandan elde edilen ağız mukozası biyopsisinden ayrıştırılan keratinositler (primer kültür) veya daha önce elde edilmiş ve dondurularak saklanmış hazır keratinosit hücre dizileri kullanılabilir. Primer kültürler genelde klinik uygulamalar için doku üretimde kullanılırken, hazır hücre dizileri ticari olarak da temin edilebilir ve genelde laboratuvar çalışmalarında kullanılırlar. Fibroblastlar da keratinositler gibi genelde ağız mukozası biyopsisinden elde edilebildiği gibi hazır hücre dizileri şeklinde ticari olarak da temin edilebilirler. Ancak hem fibroblastlar hem de keratinositler doku mühendisliğinde erken pasajlarda kullanılırlar. Bunun nedeni pasaj sayısı yükseldikçe fibroblastlar tarafından üretilen ekstraselüler matriks yapımının azalması, keratinositlerin üreme kapasitelerini kaybetmeleri ve değişime uğramaya başlamalarıdır.²⁶ Keratinositler keratinize veya non-keratinize çok katlı yassı epitel oluşturma ihtiyacına göre ağız mukozasında farklı bölgelerden elde edilebilir. Sert damak ve yapışık diş eti keratinize ağız mukozası kaynağı ve bukkal mu-



RESİM 3: a. Hücre kültürü kabı tabanında tek tabaka (monolayer) koloni oluşturmuş keratinositler. b. x200 büyütme ile incelemede nükleus hematoksilin ile mavimsi, sitoplazma filoksin ile pembe, ekstraselüler matriks ise safran ile sarı/kavun içi renge boyanmış olarak izlenmiştir.¹³

koza ise non-keratinize ağız mukozası kaynağı olarak sıklıkla tercih edilen bölgelerdir.²⁷⁻²⁹

BESLEME SOLÜSYONU (CULTURE MEDIUM)

Ağız mukozası rekonstrüksiyonunda en sık tercih edilen besleme solüsyonu, fetal buzağı serumu, glutamin, epidermal büyüme faktörü, hidrokortizon, adenin, insülin, transferin, tri-iyodotironin, fungizon, penisilin ve streptomisin ile desteklenen Dulbecco'nun modifiye Eagle (DMEM) solüsyonu ve Ham'in F-12 solüsyonundan oluşan karışımdır (3:1).

AĞIZ MUKOZASI EŞ DEĞERLERİNİN KLİNİK UYGULAMALARI

Doku mühendisliği ile elde edilen dokuların klinik uygulamalarında dikkat edilmesi gereken önemli nokta, uygulamanın amaca uygun bir şekilde gerçekleştirilmesinin gerekliliğidir. Örneğin; greftleme, transplantasyon, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu gibi uygulamalarda, alıcı bölgedeki doku zamanla eş değerini yerini alacağından, optimal mekanik özelliklere sahip rezorbe olabilen bir iskelet seçilmesi uygun olacaktır. Ayrıca, rezorbe olmayan bir materyalin kullanımı, uzun vadede yabancı cisim reaksiyonuna yol açabilir. Bunun ya-

nında, enfeksiyon bulaşma riski ve doku reddi gibi sorunlar da ortaya çıkabilir. Tümör türevi ya da viral olarak transforme edilen hücre dizilerinin kullanımı engellenmelidir. Doku üretiminde yüksek standartlara sahip koşulların oluşturulması ve kalitenin korunması için standart kontrollerin yapılması zorunludur.

1. AĞIZ İÇİ KLİNİK UYGULAMALAR

Tam kalınlıklı ağız mukozası eş değerleri, genel olarak preprotetik cerrahi, ankiloglosi ameliyatları, dental implant çevresi periodontal rekonstrüksiyonlarda ve maksillofasial rekonstrüktif cerrahiye yönelik uygulamalarda kullanım alanı bulur.³⁰⁻³⁴

2. EKSTRAORAL UYGULAMALAR

Ağız mukozası eş değerleri son yıllarda ağız dışı bölgelerde kullanım amacıyla da üretilmeye başlanmış olup, özellikle üretroplasti uygulamalarında başarılı sonuçlar bildirilmektedir.³⁵ Bunun yanında, oküler yüzey rekonstrüksiyonuna yönelik olarak, oral mukoza eş değerlerinin insan amniyotik membranına otolog transplantasyonu kabul edilebilir bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır.¹⁷ Yoshizawa ve ark., göz kapağı onarımı için oral mukoza eş değer-

lerini kullanmışlardır.²⁸ Ağız mukozası eş değerleri, yanık onarımına yönelik olarak da kullanım alanı bulmaktadır.³⁶

Ayrıca, laboratuvarında elde edilmiş ağız mukozası eş değerleri, ağız mukozasına ait bir takım patolojik hastalıkların laboratuvarında detaylı bir şekilde incelenmesine fırsat vermektedir. Bunun yanında, ağız mukozası eş değerleri insanlar üzerinde kullanımını sakıncalı olabilecek bir takım farmakolojik ürünlerin toksisitesinin veya biyoyararlanımının değerlendirilmesinde de laboratuvarında üç boyutlu bir doku modeli oluşturmaktadırlar.³⁷

SONUÇ

Otolog keratinosit transplantasyonu ile kıyaslandığında tam kalınlıklı oral mukozası eş değerleri, daha hızlı ve daha iyi yara iyileşmesi sağlamaktadır.³² Uzun dönem oral mukozası eş değerlerinin transp-

lantasyonuna ait çalışmalar sonrasında elde edilen sonuçlar, yüz güldürücü niteliktedir. Ancak, ülkemizde de olduğu gibi yapay olarak üretilen dokuların klinik olarak kullanımına yönelik yasal kısıtlamaların varlığı, üretim koşullarının sağlanmasındaki güçlükler ve mali açıdan düşük getiri sağlamaları nedeniyle kullanım alanları sınırlı kalmaktadır. Doğal ağız mukozasını ideal bir şekilde taklit eden eş değerlerin üretilmesine yönelik araştırmalar devam etmektedir. Anjiyogenezisin ve revaskülerizasyonun daha başarılı bir şekilde gerçekleşmesi için endotel hücrelerinin, bağışıklık cevabının elde edilebilmesi içinse monositlerin, lenfositlerin ve langerhans hücrelerinin kültürüne yönelik araştırmalar gerekmektedir. Bunun yanında, doku mühendisliği ile elde edilen ağız mukozası eşdeğerleri üzerinden oluşturulacak ağız hastalıkları modelleri ile yeni tedavi seçeneklerinin geliştirileceği değerlendirilmektedir.

KAYNAKLAR

- Ozbek S, Aytac S, Karli N. Reconstruction of sphincteric function after dysfunctional total lower lip reconstruction using free muscle graft technique. *J Craniofac Surg* 2007;18(1):203-7.
- Axéll T, Henriksen BM. Treatment of gingival lichen with free palatal grafts. *J Oral Pathol Med* 2007;36(2):105-9.
- Sinha RJ, Singh V, Sankhwar SN, Dalela D. Donor site morbidity in oral mucosa graft urethroplasty: implications of tobacco consumption. *BMC Urol* 2009;21(9):9-15.
- Song LJ, Xu YM, Lazzeri M, Barbagli G. Lingual mucosal grafts for anterior urethroplasty: a review. *BJU Int* 2009;104(8):1052-6.
- Vacanti CA. The history of tissue engineering. *J Cell Mol Med* 2006;10(3):569-76.
- Kaya Tİ. [Tissue engineering]. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005;1(48):165-9.
- Akdoğan E, Omay SB. 3Stem cell applications in tissue engineering8. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2006;2(43):63-8.
- Madden MR, Finkelstein JL, Staiano-Coico L, Goodwin CW, Shires GT, Nolan EE, et al. Grafting of cultured allogeneic epidermis on second- and third-degree burn wounds on 26 patients. *J Trauma* 1986;26(11):955-62.
- Lauer G, Otten JE, von Specht BU, Schilli W. Cultured gingival epithelium. A possible suitable material for pre-prosthetic surgery. *J Craniomaxillofac Surg* 1991;19(1):21-6.
- Ueda M, Ebata K, Kaneda T. In vitro fabrication of bioartificial mucosa for reconstruction of oral mucosa: basic research and clinical application. *Ann Plast Surg* 1991;27(6):540-9.
- Izumi K, Feinberg SE, Iida A, Yoshizawa M. Intraoral grafting of an ex vivo produced oral mucosa equivalent: a preliminary report. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003;32(2):188-97.
- Cooper ML, Andree C, Hansbrough JF, Zapata-Sirvent RL, Spielvogel RL. Direct comparison of a cultured composite skin substitute containing human keratinocytes and fibroblasts to an epidermal sheet graft containing human keratinocytes on athymic mice. *J Invest Dermatol* 1993;101(6):811-9.
- Kinikoglu B, Auxenfans C, Pierrillas P, Justin V, Breton P, Burillon C, et al. Reconstruction of a full-thickness collagen-based human oral mucosal equivalent. *Biomaterials* 2009;30(32):6418-25.
- Black AF, Bouez C, Perrier E, Schlotmann K, Chapuis F, Damour O. Optimization and characterization of an engineered human skin equivalent. *Tissue Eng* 2005;11(5-6):723-33.
- Berthod F, Hayek D, Damour O, Collombel C. Collagen synthesis by fibroblasts cultured within a collagen sponge. *Biomaterials* 1993;14(10):749-54.
- Izumi K, Takacs G, Terashi H, Feinberg SE. Ex vivo development of a composite human oral mucosal equivalent. *J Oral Maxillofac Surg* 1999;57(5):571-7.
- Nakamura T, Endo K, Cooper LJ, Fullwood NJ, Tanifuji N, Tsuzuki M, et al. The successful culture and autologous transplantation of rabbit oral mucosal epithelial cells on amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(1):106-16.
- Purdue GF. Dermagraft-TC pivotal efficacy and safety study. *J Burn Care Rehabil* 1997;18(12):13-4.
- Moharamzadeh K, Brook IM, Van Noort R, Scutt AM, Smith KG, Thornhill MH. Development, optimization and characterization of a full-thickness tissue engineered human oral mucosal model for biological assessment of dental biomaterials. *J Mater Sci Mater Med* 2008;19(4):1793-801.
- Ma L, Gao C, Mao Z, Zhou J, Shen J, Hu X, et al. Collagen/chitosan porous scaffolds with improved biostability for skin tissue engineering. *Biomaterials* 2003;24(26):4833-41.
- Lee SB, Jeon HW, Lee YW, Lee YM, Song KW, Park MH, et al. Bio-artificial skin composed of gelatin and (1-->3), (1-->6)-beta-glucan. *Biomaterials* 2003;24(14):2503-11.
- Ruszymah BH. Autologous human fibrin as the biomaterial for tissue engineering. *Med J Malaysia* 2004;59(Suppl B):30-1.
- Livesey SA, Herndon DN, Hollyoak MA, Atkinson YH, Nag A. Transplanted acellular allograft dermal matrix. Potential as a template for the reconstruction of viable dermis. *Transplantation* 1995;60(1):1-9.

24. Ng KW, Khor HL, Huttmacher DW. In vitro characterization of natural and synthetic dermal matrices cultured with human dermal fibroblasts. *Biomaterials* 2004;25(14):2807-18.
25. Ng KW, Tham W, Lim TC, Werner Huttmacher D. Assimilating cell sheets and hybrid scaffolds for dermal tissue engineering. *J Biomed Mater Res A* 2005 1;75(2):425-38.
26. Takeda K, Gosiewska A, Peterkofsky B. Similar, but not identical, modulation of expression of extracellular matrix components during in vitro and in vivo aging of human skin fibroblasts. *J Cell Physiol* 1992;153(3): 450-9.
27. Cho KH, Ahn HT, Park KC, Chung JH, Kim SW, Sung MW. Reconstruction of human hard-palate mucosal epithelium on de-epidermized dermis. *J Dermatol Sci* 2000;22(2):117-24.
28. Yoshizawa M, Feinberg SE, Marcelo CL, Elnor VM. Ex vivo produced human conjunctiva and oral mucosa equivalents grown in a serum-free culture system. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62(8):980-8.
29. Bhargava S, Chapple CR, Bullock AJ, Layton C, MacNeil S. Tissue-engineered buccal mucosa for substitution urethroplasty. *BJU Int* 2004;93(6):807-11.
30. Lauer G, Schimming R. Tissue-engineered mucosa graft for reconstruction of the intraoral lining after freeing of the tongue: a clinical and immunohistologic study. *J Oral Maxillofac Surg* 2001;59(2):169-75.
31. Ewers R, Hoffmeister B. Reconstruction of the mandibular denture bearing area and freeing of the tongue after tumor surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1988;46(4):272-5.
32. Lauer G, Schimming R. [Clinical application of tissue-engineered autologous oral mucosa transplants]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2002;6(6):379-93.
33. Millesi W, Rath T, Millesi-Schobel G, Glaser C. Reconstruction of the floor of the mouth with a fascial radial forearm flap, prelaminated with autologous mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998;27(2):106-10.
34. Lauer G, Schimming R, Frankenschmidt A. Intraoral wound closure with tissue-engineered mucosa: new perspectives for urethra reconstruction with buccal mucosa grafts. *Plast Reconstr Surg* 2001;107(1):25-33.
35. Ahmed S, Gough DC. Buccal mucosal graft for secondary hypospadias repair and urethral replacement. *Br J Urol* 1997;80(2):328-30.
36. Iida T, Takami Y, Yamaguchi R, Shimazaki S, Harii K. Development of a tissue-engineered human oral mucosa equivalent based on an acellular allogeneic dermal matrix: a preliminary report of clinical application to burn wounds. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2005;39(3):138-46.
37. Moharamzadeh K, Brook IM, Van Noort R, Scutt AM, Thornhill MH. Tissue-engineered oral mucosa: a review of the scientific literature. *J Dent Res* 2007;86(2):115-24.