

MEKANİK DERİ TESTLERİ İÇİN DÜZGÜN DERİ KESİLMESİNİ SAĞLAYAN YENİ BİR YÖNTEM VE DONDURMA İŞLEMİNİN DERİ MEKANİK TEST SONUÇLARINA ETKİSİ

A novel technique to cut skin precisely for mechanical skin tests and the influence of freezing procedure on test results

İrfan ÖZYAZGAN¹, Mustafa TERCAN²

Özet

Amaç: Derinin mekanik özelliklerinin değerlendirildiği deneysel çalışmalarda, deri düzgün ve istenen şekilde kesilebilmesi için çoğu kez önceden bir dondurma işleminden geçirilir. Fakat çok az sayıda da olsa, dondurma işleminin derinin doğal mekanik özelliklerini değiştirdiği gösterilen çalışmalar bulunmaktadır. Biz dondurma işlemine gerek kalmadan düzgün bir deri kesme yöntemi geliştirmek ve dondurma işleminden geçen derilerin fiziksel özelliklerinde değişimler olduğunu göstererek bu yöntemin gerekliliği fikrini desteklemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Geliştirdiğimiz bu yöntemin esası, taze deri parçalarının iki zımpara yüzeyi arasında tutularak kaymalarının önlenmesidir. Çalışmanın ilk kısmında beş ratın sırt derisi alınarak, geliştirdiğimiz alet ile üçer deri şeridi hazırlandı ve şeritlerin beş ayrı noktadan genişlik ölçümleri yapıldı. Bu ölçümlerin varyansları, yine beş rattan makasla hazırlanan deri şeritlerinin ile karşılaştırılıp, şeritlerin düzgünlükleri ile ilgili veriler elde edildi. Çalışmanın ikinci kısmında ise $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bir gece bekletilen deri şeritlerinin mekanik test sonuçları ile taze derinin test sonuçları değerlendirildi.

Bulgular: Geliştirilen alet yardımıyla hazırlanan deri şeritlerinin en ölçümlerinin varyansları, makasla hazırlananlara kıyasla daha küçük olarak belirlendi ve dondurduktan sonra test edilen deriler ile taze deriler arasında, uzama oranları ve gerilme gücü açısından fark gözlemlendi ($p<0.05$).

Sonuç: Geliştirilen alet ile elde edilen deri şeritleri, makasla elde edilenlere göre daha düzgün olarak hazırlanabilmektedir. Düzgün deri şeritleri hazırlanmasında yararlanılabilen yöntemlerden birisi olan dondurma işlemi ise, derinin fiziksel özelliklerinde değişikliklere neden olduğu için kullanılmamalıdır ($p<0.05$).

Anahtar Kelimeler: Deri; Dondurma; Stres, mekanik; Testler

Abstract

Purpose: To be able to cut skin precisely while performing mechanical tests in experiments, skin is frequently frozen beforehand. However, changes in native properties of skin after freezing have rarely been reported in the literature. We aimed to develop a new regular (smooth) fresh skin cutting method which does not necessitate any preceding freezing procedure.

Material and methods: The main feature of this method is to prevent slipping of fresh skin by stabilizing the skin between two sandpaper covered surfaces. In the first part of this study, to determine the accuracy of this method, widths of skin bands were prepared using the defined device and scissors compared to evaluate the regularity of the skin bands. In the second part of the study, the mechanical test results of stored skin samples frozen at $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperature overnight were compared with fresh skin samples.

Results: Variation in width measurements of skin bands which were prepared by the new technique was smaller than that prepared by scissors; when frozen and freshly prepared samples were compared, there was a statistically significant difference between the elongation ratio and tensile forces of two samples prepared according to two different methods ($p<0.05$).

Conclusion: Skin strips can be prepared more regularly with our novel device when compared to those prepared by the scissors. We do not recommend freezing since it causes changes in physical properties of the skin.

Key Words: Freezing; Skin; Stress, mechanical; Testing

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 38039 KAYSERİ
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi. Y.Doç.Dr.¹.
Sağlık Bakanlığı İstanbul Haydarpaşa Numune Hastanesi
Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi. Doç.Dr.².

Geliş tarihi: 22 Ağustos 2002

Derinin mekanik özellikleri, yaşlanmanın deride yaptığı değişiklikler ve yara iyileşmesi çalışmalarında sıklıkla kullanılır. Derinin mekanik özelliklerinin bazıları in-vivo çalışılabilirken (1,2)

gerilme ve kopma çalışmaları daha çok deneysel hayvan çalışmalarında ve eks-vivo olarak (3,4) değerlendirilir.

Rat derisinde bazı tedavi şekillerinin derinin mekanik özelliklerinde yapabileceği değişikliklerin değerlendirilmesi amacıyla yaptığımız bir ön çalışmada, makas veya bisturi kullanarak derinin test için gereken düzgün bir şekilde kesilmesinin imkansız olduğu gözlenerek literatürde kullanılan yöntemler araştırılmıştır. Bu çalışmada, deneysel eks-vivo çalışmalarda, mekanik testler yapılmadan önce derinin sıklıkla bir dondurma işleminden geçirildiği görülmüştür (4-8). Bunun iki nedeni vardır: 1- Bazı çalışmalarda sayı fazlalığı nedeni ile derinin elde edilmesi ile mekanik testlerin yapılması arasında geçen süre uzun olmakta ve bu süre içinde derinin bozulmasını engelleyecek optimal şartlarda saklanması gerekmektedir (3,4). 2- Derinin mekanik testler sırasında standart ölçülerde elde edilmesi gerekmektedir ve hem esnek, hem de kaygan yapıdaki bu doğal dokunun belli şekillerde kesilmesi güçlük çıkarmaktadır. Bu sorunun üstesinden gelmek için deri dondurulup katılaştırıldıktan sonra kesilmektedir (5,6,8). Ancak dondurma işleminin derinin bazı özelliklerini değiştirme ihtimali vardır. Deri içindeki suyun donmasından sonra oluşacak buz kristallerinin derinin mekanik özelliklerinden en fazla sorumlu olan kollajen liflerin (9) yapılarında değişiklik yapması olasıdır (10). Keza donma işleminin rat derisi mekanik özelliklerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kopma kuvveti, deri dondurularak test edildiğinde belirgin olarak artmıştır (3). Dondurma işleminin derinin doğal fizik özelliklerini bozması nedeniyle, en doğrusu dondurma işlemi uygulamadan taze deride test yapmaktır.

Yukarıdaki nedenlerle derinin dondurmaya gerek kalmadan test işlemleri için gerekli düzgün kesimini sağlayacak bir yöntem araştırılıp geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemle veya makas ile hazırlanan deri şeritlerinin genişlikleri karşılaştırılarak, yöntemin mekanik deri testleri için gerekli düzgün deri elde edilmesindeki etkinliği araştırılmıştır. Ayrıca dondurma işleminin derinin mekanik test sonuçları üzerinde yapabileceği değişiklikleri

göstererek, sunulan yöntemin gerekliliği için ek destek sağlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada ağırlıkları 250-300 g arasında değişen her iki cinsten 34 Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı.

Çalışmanın ilk bölümünde, 10 hayvan intraperitoneal yüksek doz ketamin ile sakrifiye edilerek, sırtlarından kuru tıraş sonrasında 5 x 10 cm lik birer deri parçası pannikulus ile birlikte elde edildi. Bu derilerin beşi aşağıda tariflenecek araç yardımıyla kabaca kum saati şeklinde kesilerek sefalokaudal orta hatta göre birbirinin simetriği olacak şekilde iki deri şeridi elde edildi (Şekil 1, Şekil 2A-C). Kalan diğer 5 deri ise, önceki yöntemdeki şekil ve boyutlarda bir çizimin, bir kalıp yardımı ile deri üzerine aktarılmasından sonra (Şekil 2D) makas ile kesildi ve analog deri şeritleri elde edildi (Şekil 2E). Tüm deri şeritleri ek bir kuvvet uygulamadan düzgün bir yüzey üzerine serildikten sonra, şeritlerin dar bölümlerinden bir kumpas yardımıyla, 1 cm aralıklı beş ayrı noktadan genişlikleri ölçüldü. Her bir şerit içinde, her bir ratta ve her bir kesme yönteminde bu ölçümlerin varyansları hesap edilerek genişlik ölçümlerinin homojenitesi değerlendirildi. Her iki yöntemle elde edilen şerit genişlik ölçümlerinin hepsinin varyansı Levene'in varyans eşitlik testi ile, her bir şeridin ve her bir ratın varyansları ise non parametrik Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılarak p değerinin 0,05'e eşit veya küçük olması durumu istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışmanın ikinci kısmında 16 ratın sırtından yukarıda tariflenen şekilde deri elde edildi. Deri alınırken pannikulus da, in-situ olarak deriden ayırmanın güçlüğü nedeni ile, deri ile birlikte kaldırıldı. Pannikulus ex-vivo olarak mekanik testlere istenmeyen etkileri olabileceğinden (11) eksize edildi. Bu deriler aşağıda tariflenecek yöntemle kesilerek dorsal orta hatta simetrik, birbirinin benzeri iki deri şeridi elde edildi. Bu şeritlerden birisi ilk bir saat içinde test edilirken diğeri -25 °C'de bir gece bekletilip kendi halinde

erimesinden sonra mekanik testlerden geçirildi.

Dondurma işleminden geçen veya taze olarak test edilen derilere ait mekanik sonuçları eşleştirilmiş Student's t testi ile karşılaştırılarak p değerinin 0.05'e eşit veya küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Dondurulduktan sonra veya taze olarak test edilen deriler arasında mekanik testler açısından bir fark olması halinde, bu farkın dondurma işlemi için bir gecelik bekleme süresine bağlı olabileceği ihtimalini test etmek için sekiz ratta ek bir çalışma daha yapılarak ikinci kısımdaki gibi her bir rata ait simetrik ve benzer ölçülerde deri şeritleri elde edildikten sonra şeritlerden birisi hemen, diğeri ise +4 °C'de bir gece bekletildikten sonra mekanik testlerden geçirildi. Mekanik test sonuçları eşleştirilmiş Student's t testi ile karşılaştırılarak p değerinin 0.05'e eşit veya küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

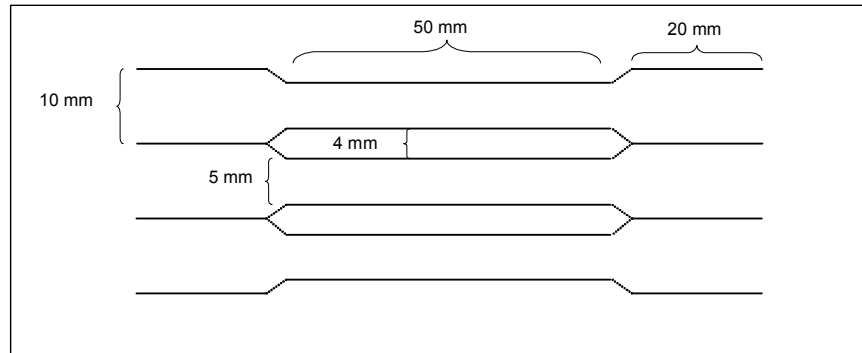
Deri şeritlerinin elde edilmesi:

Düzgün deri şeritlerinin elde edilmesindeki temel güçlük derinin esnek ve kaygan olmasıdır. Biz, derinin bu kaygan tabiatının üstesinden gelmek amacıyla zımpara kullandık. 12 x 7 cm boyutlarında iki parça kaba ağaç zımparası, 12 x 7 x 1 cm boyutlarındaki iki ağaç bloğun birer yüzüne yapıştırıldı. Ağaç bloklardan birisinin köşelerine dört vida yerleştirildi ve diğer ağaç bloğa, bu vidalara karşılık gelecek delikler açılarak, iki zımpara yapıştırılmış yüzey birbirine bakacak şekilde yerleştirildi. Üstteki ağaç bloğa, daha sonra

deriyi kesmek için kullanılacak bisturiye kılavuzluk etmek üzere, "kıl testere" kullanarak istenilen şekilde ve birbirinden belli uzaklık ve boylarda ince yarıklar oluşturuldu (Şekil 2A).

Deriler tabanda yer alan ağaç bloğun zımpara yapıştırılmış yüzüne kendi halinde, ek bir kuvvet uygulamadan düzgün olarak serildi ve üzerine diğer blok, zımpara yüzeyi deriye gelecek şekilde yerleştirildi. Bloklar hafifçe sıkıştırıldıktan sonra üstteki bloğun yarıklarından 11 numara bisturi geçirilip deri kesildi. Deri bloklardan alındıktan sonra, makas kullanarak, üzerinde yapılmış olan kesileri birleştiren küçük ek kesiler yapılarak üç adet, kabaca kum saati şeklinde deri şeridi elde edildi (Şekil 2C). Bu şeritlerden ortadaki atılıp, birbirinin simetriği olan lateral yerleşimli iki deri şeridi kullanılarak mekanik özellikler, yukarıda anlatılan plana uygun olarak değerlendirildi.

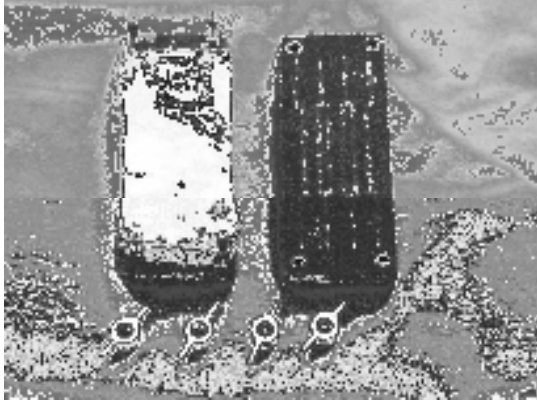
Deri örneklerinin kesilmesi dışında karşılaşılan bir başka problem de derinin tensometreye bağlanması sırasında yaşanmıştır. Normalde kumaş gibi materyallerin test edilmesi için kullanılan tensometrenin bağlayıcı çenelerinin yüzeyi parlak idi ve bu özellik de derinin çenelerden kaymasına yol açmıştı. Bu sorunun da üstesinden gelmek amacıyla 105 x 50 mm boyutlarındaki bir deri parçasının bir yüzüne yine 50 x 50 mm boyutlarında iki parça zımpara yapıştırılarak, test edilecek deri parçasının bu zımpara yüzeyleri arasına konulduktan sonra çeneye bağlanması sağlandı (Şekil 2F).



Şekil 1. Derinin istenilen şekilde kesilmesine kılavuzluk edecek yarıkların şematik görünümü. Düz çizgiler geliştirilen alet yardımıyla kesildikten sonra, noktalı çizgiler makasla kesilerek şeritler ayrılmıştır.

C'de bekletilen deri şeritlerinin mekanik test

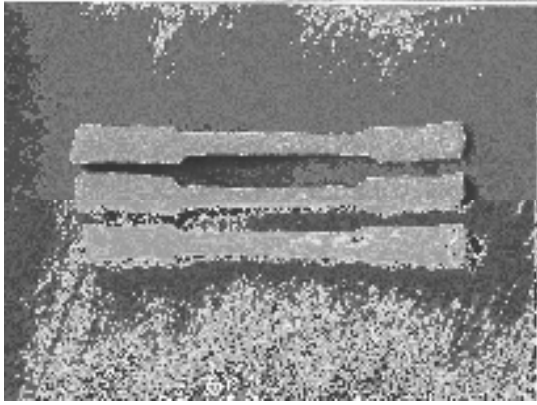
sonuçları açısından ise bir fark bulunamadı



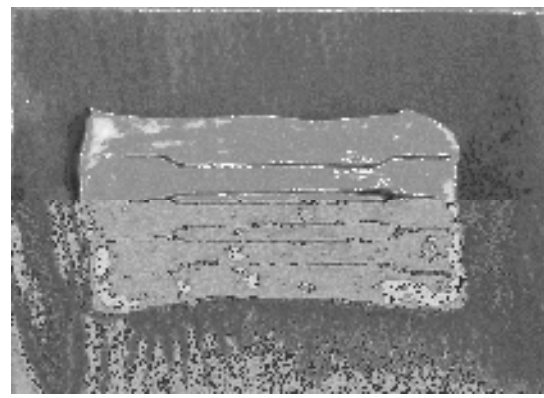
A



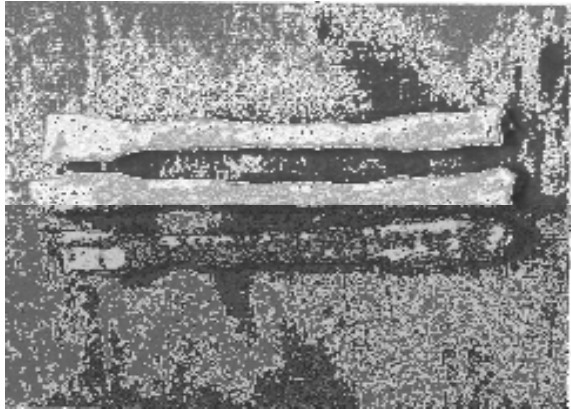
B



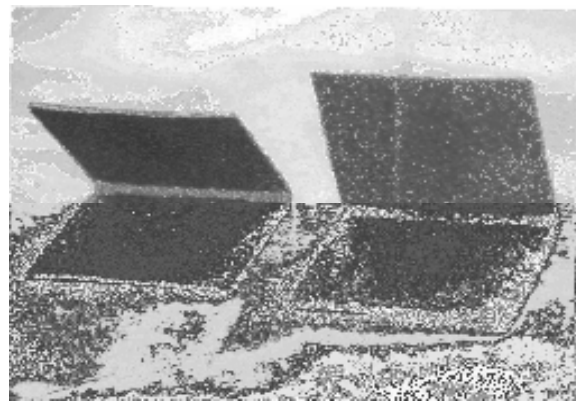
C



D



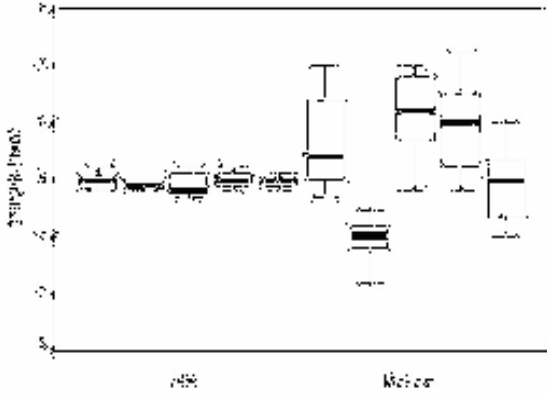
E



F

Şekil 2 A, B- Derinin yerleştirilmesi ve kesilmesi. C- Kabaca kum saati şeklindeki deri şeritleri. D- Makasla kesilmek üzere çizilmiş deri. E- Makas kullanarak elde edilen deri şeritleri. F- Deri şeritlerinin tensometrenin çeneleri arasında kaymaması için, bu zımpara yapılandırılmış yüzeyler arasında sıkıştırılarak bağlandı.

Mekanik deri testleri için düzgün deri kesilmesini sağlayan yeni bir yöntem ve dondurma işleminin deri mekanik test sonuçlarına etkisi



Şekil 3. Farklı kesme yöntemleri kullanılan beşer rattan elde edilen şeritlerin genişlikleri, minimum-maksimum değerleri

Mekanik testler (Tensometri)

Deri şeritlerinin kalınlıkları, 25 g/cm² basınç uygulayarak kalınlık ölçer (R&B Cloth Thickness Tester, James H. Heal & Co. Ltd. Halifax England) ile ölçüldükten sonra Instron marka tensometre yardımıyla deriye ait mekanik değerler elde edildi. Deri şeritleri yukarıda tariflenen tutucular yardımı ile, çeneler arası mesafe 50 mm olacak şekilde tensometreye bağlandıktan sonra hareketli olan çene 50 mm/dak hızında, deri kopana kadar çekilerek, oluşan kuvvet/uzama eğrileri elde edildi. "Instron Series IX Automated Material Testing System Version 5.33" kullanılarak deri şeritlerinin kopma kuvveti, gerilme gücü başlangıç uzunluğa göre test sırasındaki uzama yüzdesi ve esneklik

modülü (Young's modulus) sonuçları alındı. Deri şeritleri tensometre çenelerine geniş olan uç kısımlarından bağlandı. Böylece deri şeritleri daima daha dar olan ara kısımdan koptu ve çenelerin sıkmasına bağlı olarak zayıflayan kısımdan koparak hatalı sonuçlar çıkması önlenmiş oldu.

Sonuçlar

Deri şeritlerinin test edilen dar bölümlerinden yapılan genişlik ölçümlerinin hepsinin varyansı, 15 deri şeridinin genişliklerinin varyanslarının ortalaması ve her bir rattın kendi şeritlerinden alınan 15 genişlik ölçümünün varyansı, geliştirdiğimiz aletle elde edilen şeritlerde, makasla elde edilenlere kıyasla daha küçüktü. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo I).

Aynı hayvana ait, dondurulduktan sonra ve dondurulmadan test edilmiş deri örneklerinin sonuçları eşleştirilerek karşılaştırıldı. Dondurulmamış deri şeritlerinin ortalama kopana kadar olan uzama yüzdesi 36.7 (SD±9.3) , kopma kuvveti 51.6 newton (SD±6.9), gerilme gücü 8.1 MPa (SD±1.8) ve Young's modülü 26.5 MPa (SD±6.5) olarak tespit edildi. Dondurulduktan sonra ölçüm yapılan deri şeritlerinin ortalama kopana kadar olan uzama yüzdesi ise 31.5 (SD±9.8), kopma kuvveti 49.8 newton (SD±7.1), gerilme gücü 7.5 MPa (SD±1.5) ve Young's modülü 25.2 MPa (SD±4.9) olarak tespit edildi. Bu değerlere göre gruplar arasında uzama yüzdesi ve gerilme gücü açısından fark vardı (p<0.05) (Tablo II). Taze test edilen deri şeritleri ile bir gece +4 °

Tablo I. Farklı kesme yöntemlerindeki genişlik ölçümlerinin ortanca değerleri

	Tüm ölçümlerin varyansı (n=75)	Şerit varyanslarının ortancaları (Min-Mak) (n=15)	Rat varyanslarının ortancaları (Min-Mak) (n=5)
Alet	0.0171*	0.013** (0.003-0.38)	0.02781*** (0.0063-0.2005)
Makas	1.091	0.183 (0.02-0.75)	0.47381 (0.1426-0.6742)

* p<0.00001, F=156.1, Varyansların eşitliği için Levene's test

** p<0.00001, Z= -4.508

*** p<0.01, Z= -2.611

Tablo II. Gruplarda mekanik test sonuçlarının ortalama değerleri

Test değerleri	Gruplar		t	p
	Dondurulmuş deri (n=16) $X \pm SD$	Taze deri (n=16) $X \pm SD$		
Uzama (%)	36.7 \pm 9.3	31.5 \pm 9.8	4.28	0.001
Kopma kuvveti (Newton)	51.6 \pm 6.9	49.8 \pm 7.1	1.05	0.307
Gerilme Gücü (MPa)	8.1 \pm 1.8	7.5 \pm 1.5	2.35	0.032
Esneklik Modülü (MPa)	26.5 \pm 6.9	25.2 \pm 4.9	1.363	0.193

MPa: MegaPaskal

(p>0,05).

TARTIŞMA

Bu çalışmanın ilk kısmında, geliştirilen alet ile veya makas kullanılarak elde edilen derilerin düzgünlüğü, şeritlerin genişliklerinin analizi ile karşılaştırılmıştır. Gruplarda elde edilen deri şeritlerinin farklı yerlerinden yapılan genişlik ölçümlerinin varyanslarının karşılaştırılması, geliştirilen alet ile kesilen deri şeritlerinin daha homojen bir şekil ve ölçüde elde edildiğini göstermektedir. Bu homojenlik hem şeridin kendi içinde, hem aynı ratın şeritleri arasında ve hem de aynı aletin kullanıldığı farklı ratlardan elde edilen tüm şeritler için söz konusudur (Şekil 3). Deri şeritlerinin elde edilmesinde makas kullanmaktan başka yöntemler de literatürde bulunmakla birlikte, biz kendi metodumuzu sadece makasla elde edilenlerle karşılaştırdık; çünkü amacımız yöntemimizin tüm diğer metodlardan üstün olduğunu değil, düzgün şeritler elde etmede yeterli olduğunu göstermektir.

Dokularda herhangi bir etkiyle oluşabilecek değişiklikler, dokunun mekanik özelliklerini de değiştirir (12-15). Dokuların çeşitli şartlarda saklanması da bu tür etkiler yapması

muhtemeldir. Bu ihtimale rağmen deride yapılacak mekanik testlerden önce deri sıklıkla dondurulmaktadır. Derinin dondurulması için, saklanma ihtiyacından başka bir gerekçe de doğal taze derinin düzgün kesilmesinde karşılaşılan güçlüklerdir. Taze deri bir cetvel altında bıçakla veya bir makasın ağızları arasında düzgün olarak kesilememektedir. Çünkü deri bu kesici aletlerin ağızlarından kayganlığı nedeniyle kaçmakta ve sonuçta düzgün olmayan genişlikte deri şeritleri elde edilmektedir. Standardize olmayan bu deri şeritlerinin mekanik testlerden geçirilmesi sonuçları güvensiz kılmaktadır. Bir yüzey üzerine doğal halinde serilerek dondurulan deri ise bu katı halinde bir bıçakla istenilen şekilde kesilebilir. Bu yöntem bir çok deri mekanik özellik çalışmasında kullanılmıştır (5,6,8). Bu çalışmalarda tüm spesmenlerin aynı şartlarda test edilmiş olmasının, gruplardaki ölçümlerin standardize edilmesini sağlaması fikriyle dondurma işleminin deride yapabileceği değişiklikler göz ardı edilmiş olabilir. Ancak eğer zorunlu değilse, bilerek böyle bir işlemin yapılması bilimsel olarak uygunsuz kabul edilmelidir.

Dondurma işleminin deride (3,16) ve başka dokularda (17-21) mekanik özellikleri etkilediği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da aynı şekilde kesilen ve bir ratın sırtında orta hatta göre simetrik ve identik olarak hazırlanan deri şeritlerinin

mekanik testleri yapıldığında, başlangıç uzunluğa göre derinin kopana kadar gösterdiği uzama değerleri ve kopma kuvvetinin kesit alana oranı olan gerilme gücü değerleri taze deriye göre azalmış olarak bulunmuştur. Diğer iki mekanik test parametresinde ise gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Hangi parametrede olursa olsun dondurma işleminden sonra gözlenen değişiklikler, dondurma işleminin deri mekanik testleri etkilediği anlamına gelmektedir ve bu nedenle uygulanmaması yerinde olur.

Donma işlemini derinin mekanik özelliklerine etkisinin araştırıldığı Foutz ve ark. larının çalışmasında kopma kuvveti değeri dondurma işleminden sonra artmış (3), bizim çalışmamızda ise azalmıştır. Ancak adı geçen çalışmada doku hızlı olarak ve -70 °C'de, bizim çalışmamızda ise yavaş ve -25 °C'de dondurulmuştur. Sonuçların farklılığının nedeni bu olabilir. Aslında daha hızlı ve derin dondurma işleminde dokuda daha büyük ve dolayısı ile daha bozucu buz kristalleri oluşacağından (22) kopma kuvvetinin daha az çıkması beklenirdi. Bu açıdan bakıldığında bu parametre açısından bizim elde ettiğimiz sonuçlar, adı geçen diğer çalışmaya kıyasla daha güvenilir görünmektedir. Bunun yanında sonuçlardaki değişkenliğin bir başka nedeni mekanik testlerde bizim çekme hızımızın 50mm/dak., diğer çalışmada ise 5mm/dak. şeklinde seçilmesi olabilir.

Kullandığımız deri kesme yöntemi derinin, bu çalışmada da sakıncaları gösterilen dondurma işlemine gerek kalmadan kesilebilmesini sağlamaktadır. Quirinia ve Viidik de dondurma işleminin derinin mekanik özelliklerinin olumsuz olarak etkilediğini, mümkün olduğunca taze deri kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir (16). Eğer dondurma işleminin gerekçesi, mekanik testlerin derilerin elde edilmesinden daha sonraki günlerde yapılabildiği kadar saklanması değilse, ucuz ve kolaylıkla hazırlanabilen alt elemanlardan oluşan aparatımız kullanılarak düzgün kesilmiş deri seritleri elde edilebilir.

Teşekkür

Mekanik deri testlerinin yapılması sırasında yardımlarından dolayı Orhan S. Sezgin ve Mahmut Korkmaz'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Piérard GE, Letawe C, Dowlati A, Pierard Franchimont C. Effect of hormone replacement therapy for menopause on the mechanical properties of skin. *J Am Geriatr Soc*, 1995; 43: 662-665.
2. Schmidh JB, Binder M, Demschik G, Bieglmayer C, Reiner A. Treatment of skin aging with topical estrogens. *Int J Dermatol* 1996; 35: 669-674.
3. Foutz TL, Stone EA, Abrams CF: Effects of freezing on mechanical properties of rat skin. *Am J Vet Res* 1992; 53: 788-92.
4. Schneider MS, Borkow JE, Cruz IT, Marangoni RD, Shaffer J, Grove D. The tensiometric properties of expanded guinea pig. *Plast Reconstr Surg* 1988; 81: 398-405.
5. Ågren M, Franzen L: Influence of zinc deficiency on breaking strength of 3-week-old skin incisions in the rat. *Acta Chir Scand* 1990; 156: 667-670.
6. Engesaeter LB, Skar AG: Effects of oxytetracycline on the mechanical properties of bone skin in young rats. *Acta Orthop Scand* 1978; 49: 529-534.
7. Solheim LF, Rønningen H, Barth E, Langeland G. Effects of acetylsalicylic acid and naproxen on the mechanical and biochemical properties of intact skin in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1986; 20: 161-163.
8. Wie H, Engesaeter LB, Beck EI. Effects of cyclophosphamide on mechanical properties of bone and skin in rats. *Acta Orthop Scand* 1979; 50: 629-634.
9. Vogel HG. Correlation between tensile strength and collagen content in rat skin. Effect of age and cortisol treatment. *Connect Tissue Res* 1974; 2: 177-182.

10. Tsuchida T, Yasuda K, Kaneda K, Hayashi K, Yamamoto M, Miyakawa K, Tanaka K. Effects of in situ freezing and stress-shielding on the ultrastructure of rabbit patellar tendons *J Orthop Res* 1997; 15: 904-910.
11. Glaser AA, Marangoni RD, Must JS, et al. Refinements in the methods for the measurement of the mechanical properties of unwounded and wounded skin. *Med Electron Biol Eng* 1965; 3: 411-419.
12. Barham RE, Butz GW, Ansell JS. Comparison of wound strength in normal, radiated, and infected tissues closed with polyglycolic acid and chromic catgut sutures. *Surg Gynecol Obstet* 1978; 146: 901-907.
13. Devereux DF, Kent H, Brennan MF. Time dependent effects of adriamycin on x-ray therapy on wound healing in the rat. *Cancer* 1980; 45: 2805-2810.
14. Devereux DF, Thibault L, Brennan MF. Effects of tumor removal on wound breaking strength in rats. *Surg Forum* 1980; 31: 234-236.
15. Potts RO, Chrisman Jr DA, Buras Jr EM. The dynamic mechanical properties of human skin in vivo. *J Biomech* 1983; 16: 365-372.
16. Quirinia A, Viidik A. Freezing for postmortal storage influences the biomechanical properties of linear skin wounds. *J Biomech* 1991; 24: 819-823.
17. Black J, Shadle CA, Parsons JR, Brighton CT. Articular cartilage preservation and storage. II. Mechanical indentation testing of viable, stored articular cartilage. *Arthritis Rheum* 1979; 22: 1102-1108.
18. Gottsauner-Wolf F, Grabowski JJ, Chao EY, An KN. Effects of freeze/thaw conditioning on the tensile properties and failure mode of bone-muscle-bone units: a biomechanical and histological study in dogs. *J Orthop Res* 1995; 13: 90-95.
19. Parker R, Nandakumaran K, Al-Janabi N, Ross DN. Elasticity of frozen aortic valve homografts. *Cardiovasc Res* 1977; 11: 156-159.
20. van Noort R, Martin TR, Black MM, Barker AT, Montero CG. The mechanical properties of human dura mater and the effects of storage media. *Clin Phys Physiol Meas* 1981; 2: 197-203.
21. Webster DA, Werner FW. Mechanical and functional properties of implanted freeze-dried flexor tendons. *Clin Orthop* 1983; 180: 301-309.
22. Vogel JE, Dellon AL. Frostbite injuries of the hand. *Clin Plast Surg* 1989; 19: 565-576.