

T.C.  
OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**DERİ KAN AKIMI DİNAMİĞİNİN LASER DOPPLER FLOW  
TEKNİĞİ İLE İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

118147

**Fatma ÖZBEBİT**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Tez Yöneticisi:  
Prof. Dr. Hamza ESEN

ESKİŞEHİR-2002

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**Fatma ÖZBEBİT**'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "**Deri Kan Akımı Dinamiğinin Laser Doppler Flow Tekniğı ile İncelenmesi**" başlıklı bu çalışma, jürimiz Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğı'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

19.08.2002

**Prof.Dr. Hamza ESEN**  
ÜYE

**Prof.Dr. Kevser EROL**  
ÜYE

**Prof.Dr. Ziya KAYGISIZ**  
ÜYE

**Doç.Dr. Sacit GÜLEÇ**  
ÜYE

**Doç.Dr. Sadettin DERNEK**  
ÜYE

Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 02.09.2002  
gün ve 554/1541 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

**Prof.Dr. Yusuf ÖZYÜREK**  
Enstitü Müdürü Vekili  
Yrd. Doç. Dr. Ferhan ESEN.

## İÇİNDEKİLER

|   |           |
|---|-----------|
| ÖZET.....   | ii        |
| SUMMARY.....  | iii       |
| ANAHTAR SÖZCÜKLER.....  | iv        |
| ŞEKİL VE RESİM DİZİNİ.....  | v         |
| TABLO DİZİNİ.....   | vi        |
| SİMGE VE KISALTMALAR.....   | vii       |
| <br>  |           |
| <b>1. GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>                                      | <b>1</b>  |
| <b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>                                     | <b>3</b>  |
| 2.1. Deri Kan Dolaşım Sistemi ve Mikrovasküler Anatomi.....       | 3         |
| 2.2. Mikrovasküler Kan Akımı.....                                 | 7         |
| 2.2.1. Mikrovasküler Kan Akımını Ölçme ve Gözleme Yöntemleri..... | 7         |
| 2.2.1.1. Laser Doppler Akış Ölçer (LDF).....                      | 7         |
| 2.2.2. Mikrovasküler Kan Akımını Etkileyen Uyarılar.....          | 9         |
| 2.2.2.1. İyontoforez.....   | 9         |
| 2.3. Deri Kan Dolaşımının Reolojik Özellikleri.....               | 9         |
| 2.4. Deri Kan Dolaşımının Kontrolü.....                           | 13        |
| 2.5. Mikrovasküler Dolaşımın Önemi.....                           | 18        |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                    | <b>22</b> |
| 3.1. İyontoforetik Yanıt Eğrilerine Teorik Yaklaşım.....          | 23        |
| <b>4. BULGULAR.....</b>   | <b>29</b> |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>                                  | <b>39</b> |
| <b>6. KAYNAKLAR DİZİNİ.....</b>                                   | <b>41</b> |
| <b>7. ÖZGEÇMİŞ.....</b>   | <b>49</b> |

## ÖZET

Gittikçe artan sayıda kanıt, endotelial vazomotor fonksiyon bozukluğunun koroner dolaşıma özgü ve onunla sınırlı olmadığını, koroner arterlerde ortaya çıkan bozukluğun derecesi ile orantılı olarak periferik dolaşımda da saptandığını göstermektedir. Bu nedenle, periferik mikrovasküler endotelial hücre fonksiyonunu değerlendirmeyi olanaklı kılan non-invasiv yöntemlere yoğun ilgi duyulmaktadır. İyontoforez ile laser Doppler akış ölçer (LDF) bu amaçla birlikte kullanılmaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalar, vazodilatör maddelerin neden olduğu LDF sinyalinin çeşitli özelliklerini ortaya koymuş olmakla birlikte deneysel verilerin zamanla değişimini betimleyen bir matematiksel analiz yapılmamıştır. Bu nedenle, endotel hücre fonksiyonunda yer alan mekanizmaları açıklığa kavuşturan ve deneysel eğrilere uyum sağlayan bir matematiksel fonksiyon bulmak üzere bu çalışma planlanmıştır.

Deneysel, sigara içmeyen ve periferik vasküler bozukluğu olmayan 36 sağlıklı erkek birey ( $21,3 \pm 2,7$  yıl) yürütülmüştür.

Bu çalışma, asetilkolin (ACh) veya sodyum nitroprusiat (SNP)'in iyontoforezi sırasında gözlenen LDF sinyalinin iki ayrı hiperbolik yanıt eğrisinin üst üste binmesi ile oluştuğunu göstermiştir. Bu eğrilerin her biri, uygun dönüşüm altında elde edilen doğrunun eğimine eşit olan kendine özgü bir sabite,  $k$ , sahiptir. Bu sabitler, vazodilatör maddelerin, vasküler yapılarla etkileşim mekanizmalarını gösterir.

Bu çalışmada elde edilen yukarıdaki sonuç, ACh'in mikrodolaşım üzerinde çift etkiye sahip olduğu düşüncesini destekler.

Bu çalışmada, SNP nin vazodilatör etkisi açısından da iki mekanizmanın var olduğu, ilk kez gösterilmiştir. Çünkü SNP nin iyontoforezine karşı gözlenen yanıt iki farklı sabite sahiptir.

## SUMMARY

Increasing evidence indicates that impaired endothelial vasomotor function is not limited to coronary circulation but is also detected in peripheral circulation proportionate to the degree of endothelial dysfunction occurring in the coronary arteries. Thus there is considerable interest in non-invasive methods for assessing peripheral microvascular endothelial cell function. Iontophoresis in combination with laser Doppler flowmetry (LDF) have been used for this purpose.

Previous reports have demonstrated various features of LDF signals caused by vasodilator substances but no mathematical analysis was done describing the time course of the experimental data. Therefore this study was designed to find a mathematical function that reveal the involved mechanisms in endothelial cell function and fitting to experimental curve.

Experiments were performed in 36 healthy male subjects ( $21,3 \pm 2,7$  yr) with no history of peripheral vascular abnormalities and all were non-smokers.

This study shows that the LDF signal during the iontophoresis of acetylcholine (ACh) or sodium nitroprusside (SNP) are the superposition of two separate hyperbolic response curves. Each curve has its own constant,  $k$ , which is equal to the slope of the straight line obtained under appropriate transformation. These constants reflect the interaction mechanisms of vasodilator substances with vascular structure.

Above result of the present study support the concept of a dual action of ACh on the microcirculation.

This study has shown for the first time that there are two different biological mechanisms for the vasodilator effect of SNP since the microvascular response to iontophoresis of SNP also has two different constants.

## **ANAHTAR SÖZCÜKLER**

Deri Kan Akımı

Laser Doppler Akış Ölçer

İyontoforez

Asetilkolin

Sodyum Nitroprusiat



## **KEY WORDS**

Skin Blood Flow

Laser Doppler Flowmetry

Iontophoresis

Acetylcholine

Sodium Nitroprusside

## ŞEKİL VE RESİM DİZİNİ

|                    |    |
|--------------------|----|
| 1. Şekil. 1.....   | 3  |
| 2. Şekil. 2.....   | 4  |
| 3. Şekil. 3.....   | 5  |
| 4. Şekil. 4.....   | 11 |
| 5. Şekil. 5.....   | 15 |
| 6. Şekil. 6.....   | 16 |
| 7. Şekil. 7.....   | 20 |
| 8. Şekil. 8.....   | 21 |
| 9. Şekil. 9.....   | 24 |
| 10. Şekil. 10..... | 31 |
| 11. Şekil. 11..... | 32 |
| 12. Şekil. 12..... | 33 |
| 13. Şekil. 13..... | 34 |
| 14. Şekil. 14..... | 35 |
| 15. Şekil. 15..... | 36 |

## TABLO DİZİNİ

|                  |    |
|------------------|----|
| 1. Tablo. 1..... | 36 |
| 2. Tablo. 2..... | 37 |





## SİMGE VE KISALTMALAR

|                  |   |
|------------------|---|
| ACh              | Asetilkolin                                   |
| AVA              | Arterio-venöz Anastomozlar                    |
| cAMP             | Siklik Adenozin Monofosfat                    |
| cGMP             | Siklik Guanozin Monofosfat                    |
| CGRP             | Kalsitonin Geniyle İlişkili Peptid            |
| EDHF             | Endotelden Türeyen Hiperpolarize Edici Faktör |
| EDRF             | Endotelden Türeyen Gevşetici Faktör           |
| EKG              | Elektrokardiyogram                            |
| eNOS             | Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz                |
| GC               | Guanilat Siklaz                               |
| LDF              | Laser Doppler Akış Ölçer                      |
| nNOS             | Nöronal Nitrik Oksit Sentaz                   |
| NO               | Nitrik Oksit                                  |
| NOS              | Nitrik Oksit Sentaz                           |
| PGI <sub>2</sub> | Prostasiklin                                  |
| SNP              | Sodyum Nitroprusiat                           |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Deri kan akımı, plastik cerrahi, yanık tedavisi, dermatoloji gibi vasküler olaylarla ilgilenen alanlar açısından çok önemlidir. Bu konuda yapılan çalışmalar, dolaşımın yerel kontrolünün önemini vurgulamakta ve vasküler endotelin bu kontrolde kilit rol oynadığını belirtmektedir (36, 42, 51). Günümüzde gittikçe artan sayıda kanıt, koroner kalp hastalıklarının temelinde de endotel fonksiyon bozukluklarının yattığını göstermektedir. Endotel fonksiyon bozukluğu yalnızca koroner dolaşıma özgü ve onunla sınırlı da değildir. Koroner arter endotel fonksiyon bozukluğu olan kişilerde, bu bozukluğun derecesi ile orantılı olarak, periferik dolaşımda da benzer sorunlarla karşılaşıldığı ifade edilmektedir (42). Bu nedenle, periferik vasküler fonksiyonu değerlendirmeye yönelik non-invasif yöntemler yoğun ilgi görmektedir. Bu konudaki araştırmaların büyük bir bölümü reaktif hiperemi sonucu veya vazoaaktif ajanların iyontoforezi sırasında kan akımında ortaya çıkan değişiklikleri gözlemeye dayalıdır. Böylece vasküler yapıların biyomekanik özellikleri ile vasküler endotel fonksiyonlarının altında yatan temel mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

Endotel hücre fonksiyonunun incelenmesinde, asetilkolin (ACh) ve sodyum nitroprusiat (SNP)'in iyontoforez yoluyla deri içlerine gönderilmesi en yaygın yöntemlerden biridir. Bu süreçte, ACh'in muskarinik reseptörlere bağlanmasının ardından gerçekleşen nitrik oksit (NO) üretimi, canlı endotel hücrelerin varlığını gerektirdiğinden, ACh iyontoforezine karşı oluşan yanıt, bu hücrelerin fonksiyonunu test etmeyi olanaklı kılar. Kendisi NO'yu doğrudan sağlayan ve NO üretimi endotelden bağımsız olan SNP ise kontrol olarak kullanılır. Her iki durumda da NO, siklik guanozin monofosfat (cGMP) yoluyla vasküler düz kas üzerine etki ederek vazodilatasyona neden olur ve kan akımını değiştirir. Böylece, iyontoforez ve laser Doppler tekniği ile akım ölçümü (Laser Doppler Flowmetry, LDF) mikrovasküler fonksiyonu doğrudan değerlendirmeyi olanaklı kılan, uygulanması kolay, non-invasif bir yöntem oluşturmayı sağlar.

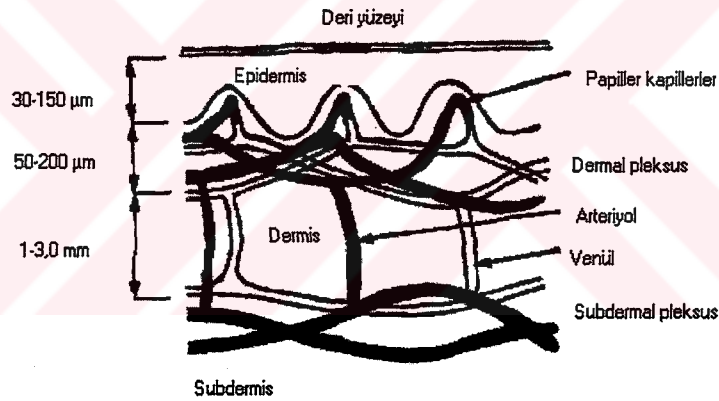
Literatürde, vazodilatör maddelerin iyontoforezi sırasında ortaya çıkan kan akımı değişiklikleri, birbirleri ile çelişen mekanizmalara dayandırılmıştır. Yapılan çalışmalarda, deneysel olarak gözlenen eğrilerin yalnızca maksimum değerleri birbirleri ile karşılaştırılmış, bu eğrilerin zamanla değişimi analizlenmemiştir (23, 33, 34, 46, 53, 57). Genellikle deneysel sonuçlarda gözlenen bağıl değişiklikler, yapılan yorumların dayandığı temel öge olmaya devam etmektedir. Derinin, vazoaaktif ajanlara karşı oluşan yanıtı etkileyebilecek heterojen yapısı da bu çalışmalarda dikkate alınmamıştır. Örneğin epidermal kalınlık, elektrikle yüklü taneciklerin hareketine karşı gösterilen direnç ve gözlem bölgelerinin mikrovasküler anatomilerinin farklılığı gibi çeşitli faktörler, gözlenen yanıtları değiştirebilme özelliğine sahiptir.

Literatürde görülen ve yalnızca yanıt maksimumlarını karşılaştırarak bilgi çıkaran genel yaklaşım, deneysel eğri içinde gizlenmiş yararlı bilgilerin kullanılmadan atıldığını ve gerçek karmaşık olayın incelikli olmayan bir tarzda sunulduğunu düşündürür. Bu nedenle, bu tezde, vazoaaktif ajanların iyontoforezi sırasında gözlenen deri mikrovasküler kan akımı sinyalinin matematiksel analizi yapılmaya ve deneysel eğriye en iyi uyan fonksiyon bulunmaya çalışılmıştır. Varsa, böyle bir matematiksel fonksiyonla uyumlu kan akımı değişikliğini oluşturan biyolojik yapı/olay ve mekanizmaların açıklığa kavuşturulması daha incelikli çalışmaları gerektirir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Deri Kan Dolaşım Sistemi ve Mikrovasküler Anatomi

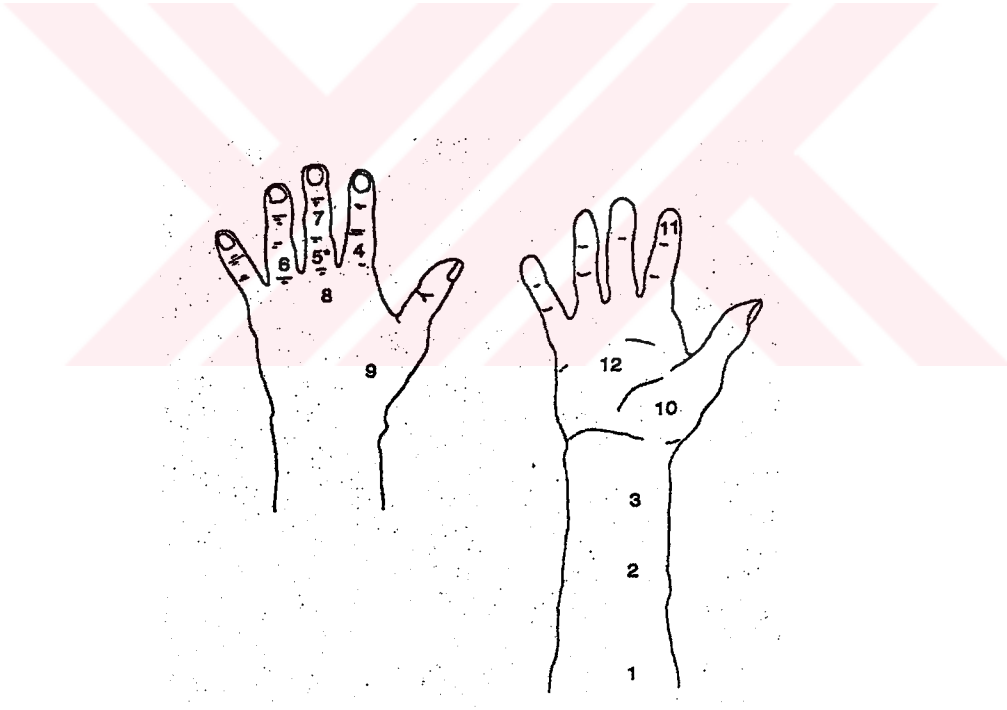
Laser Doppler tekniği, deri yüzeyine yakın bölgeleri besleme görevini yerine getiren kılcıl damarlar ile onun altında yer alan ve vücut deri sıcaklığının düzenlenmesinde rol üstlenen arteriyollerdeki/venüllerdeki (Şekil.1.) bağıl kan akımını ölçmemizi sağlar (20, 44). Gözlem yapmada kullanılan doku derinliği yaklaşık 1 mm (5, 6, 14, 27, 45, 48, 53), kan akımının gözlemlendiği doku hacmi yaklaşık 1 mm<sup>3</sup> (5, 14, 35, 47), kılcıl damar çapı 10 µm ve ölçülebilen hız değerleri ise 0,01-10 mm/s aralığındadır (22).



**Şekil. 1.** Deride, LDF tekniği ile ölçülen kan akımı sinyalini oluşturan vasküler yapıların şematik görünümü (38).

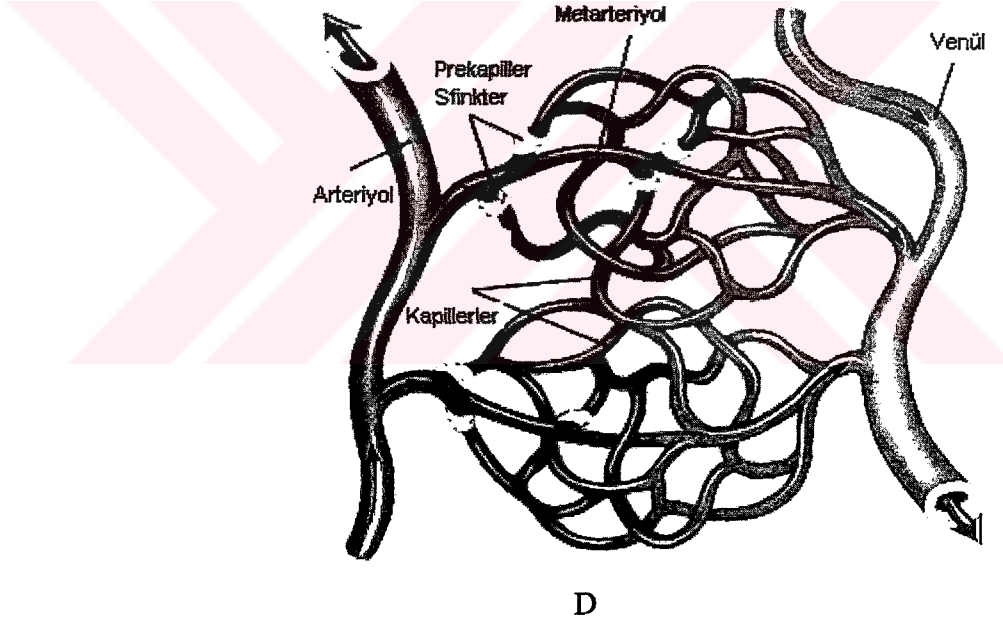
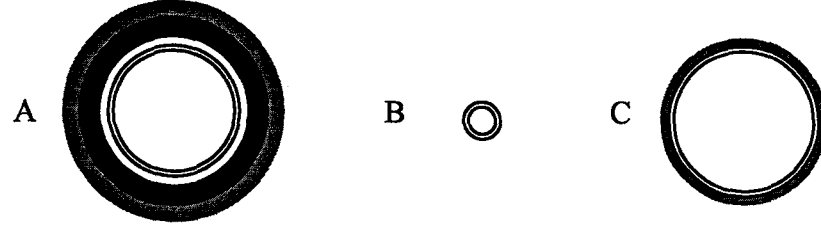
Yukarıda Şekil.1. de şematik olarak verilen vasküler yapının, vücutta bütün bölgelerdeki dağılımı aynı değildir. Elin palmar tarafı, termoregülasyonda rol oynayan arterio-venöz anastomozlar (AVA) açısından zengindir. Mikrovasküler yapının, önemli ölçüde beslenme rolünü üstlendiği parmakların dış yüzeyinde AVA'lar yok denecek kadar az, elin dış yüzeyinde ise yoktur. İçerdiği vasküler yapılar ve deri anatomisi

açısından ön kol ile eli bölgelere ayıran bir şematik resim Şekil.2. de görülmektedir. Ön kolda 1, 2, 3 numaralı bölgeler ile elin dış yüzeyinde 8 ve 9 numaralı bölgelerdeki vasküler yapılar beslenmeden sorumludur. Palmar bölgeler (10 ve 12 numaralı bölgeler) ile parmak ucunda (11 numaralı bölge), yukarıda da ifade edildiği gibi çok sayıda arterio-venöz anastomoz vardır. Parmakların dış yüzeylerinde 4, 5, 6 ve 7 numaralı bölgelerdeki arterio-venöz anastomoz sayısı palmar bölgelerdekinden daha azdır. Şekilde 5 nolu bölge kontrol bölgesidir (16). Mikrovasküler yapıda görülen bu çeşitlilik nedeni ile farklı bölgelerden ölçülen kan akımı da değişkenlik gösterir. Yukarıda ön kol ve el için yapılan sınıflandırma, vücudun diğer bölgelerindeki mikrovasküler yapılar için de yapılabilir. Bununla birlikte, bu çalışmada diğer bölgeler kullanılmadığından, bu bilgi ayrıntılı olarak verilmemiştir.



**Şekil. 2.** LDF sinyalini kayıtlamada kullanılacak ve ön kol ile eli, farklı vasküler anatomik yapılar cinsinden bölgelere ayıran bir şekil. Ön kolün anterior görünümü üzerinde işaretlenen 1, 2 ve 3 numaralı bölgeler, bilek çizgisinden sırası ile 30, 10 ve 5 cm uzaklıktadırlar (16). Çeşitli bölgelerdeki vasküler yapı farklılığı metin içinde ayrıntılı olarak verilmiştir.

Yukarıda sunulan bilgiden de anlaşılacağı gibi, laser Doppler tekniği ile ölçülen deri mikrovasküler kan akımı, aralarında herhangi bir ayırım yapmaksızın kılcal damarlar, arteriyoller ve venüllerden gelen bilgileri içerir (14, 20, 29). Bu vasküler yapıların mikroanatomileri ile doku içerikleri de birbirlerinden farklıdır (Şekil.3.).



**Şekil. 3.** Arteriyollerden venüllere kadar olan bölgede bulunan damarların mikroanatomik yapıları. A : Arteriyol, B : Kılcal damar, C : Venül. Şekillerde, endotel tabaka: == , düz kas: ■■■■ , kollajen: ■■■■ şeklinde ifade edilmiş, endotel ile düz kas arasında yer alan elastin ise beyaz boşluk olarak bırakılmıştır. Bu bölgedeki dolaşım sisteminde (D), kılcal damarlardaki perfüzyon, arteriyoller, metarteriyoller ve venüller tarafından düzenlendiğinden tüm yapı bir fonksiyonel birim gibi ele alınır ve terminal vasküler yatak (mikro-dolaşım) olarak adlandırılır (49).

İç çapları 15-50  $\mu\text{m}$  arasında değişen arteriyoller sempatik adrenerjik liflerin innerve ettiği, yapısındaki düz kasların kasılması ile de toplam periferik direnci önemli ölçüde değiştirebilen damarlardır. Arteriyollerden dallanarak oluşan metarteriyoller de düz kaslara sahiptir. Arterio-venöz anastomozlar (AVA), arteriyoller ile venüller arasında doğrudan iletişimi sağlayan kısa dolaşım yapılarıdır. Deride sıcaklık kontrolünde rol üstlenen bu yapıların çeperi endotel, elastin, düz kas ve kollajen içermekle birlikte büyük ölçüde düz kastan oluşmuştur (19).

Kılcal damarlar 1  $\mu\text{m}$  kalınlığında bazal membrana sahip, tek tabakalı endotel hücrelerden oluşurlar. Bu damarların iç çapı 3 ile 10  $\mu\text{m}$ , uzunluğu ise 0,5 ile 1 mm arasındadır. Pek çok dokuda kılcal damarlar bir ağ oluşturacak biçimde birbirleri ile bağlanırlar. Kan ve dokular arasında besin ve atık madde alışverişini sağlayan bu yapıların ağzı prekapiller sfinkter adı verilen düz kas gruplarınca sarılmıştır. Kılcal damarlarda prekapiller sfinkter dışında kasılabilir öğeler yoktur ve bu öğelerin kasılma durumu gerçek kılcal damarlar içinden akan kan kesrini belirler. Kılcal damarlardan farklı olarak, venüllerdeki endotel hücreleri kollajen bir dış örtü ile çevrelenmiştir (19).

Yukarıda kısaca özetlenen mikro-dolaşım sisteminde, gerçek kılcal damarlar içinden geçen kan kesri prekapiller sfinkterlerce belirlenmekle birlikte, metarterioller ile kılcal damarlar içinden geçen toplam kan hacmi arteriyollerdeki düz kasların kasılma durumuna bağlıdır (19).

## **2.2. Mikrovasküler Kan Akımı**

### **2.2.1. Mikrovasküler Kan Akımını Ölçme ve Gözleme Yöntemleri**

Bir organa yönelik kan akımının ölçülmesi hem tanısal hem de sürdürülen bir tedavinin iyileştirmedeki etkinliğini izlemek açısından önemlidir. Kan akımının ölçülmesinde kullanılan yöntemlerden bazıları fotoelektrik pletismografi (2, 7, 8, 21, 27, 35, 37-39, 48, 53), termal klirens (35, 38), radyoaktif mikroküre birikimi (14, 35, 48), florometri (37, 48), hidrojen (veya  $^{133}\text{Xe}$ ,  $^{85}\text{Kr}$ ) klirensi (14, 21, 26, 35, 48, 53), elektromanyetik akış ölçer (35, 38), termografi (5, 7, 21, 38, 48), kapillaroskopi (7, 35, 48), karbondioksit ve oksijen kısmi basıncı ölçümü (7, 37, 48) ve laser Doppler akış ölçer (LDF) (5, 7, 8, 14, 17, 21, 22, 26, 27, 32, 35, 38, 45, 48, 53) şeklinde sıralanabilir. Açıkça görülebileceği gibi, her yöntem farklı bir fizyolojik ilkeyi kullanır. Bu yöntemlerden bazıları sürekli kullanım ve mikrodolaşım açısından uygun değildir. Bazıları ise belli bir bölgede bir süre gözlenen bilgiyi kullanarak ortalama kan akımını ölçmemizi sağlar.

#### **2.2.1.1. Laser Doppler Akış Ölçer (LDF)**

Deri mikrovasküler kan akımının ölçülmesi, bu akımı etkilemeyen non-invasive yöntemlerin kullanılmasını gerektirir. Bu çalışmada da, bu nitelikteki yöntemlerden biri olan LDF (14, 20, 24, 31, 34, 35, 42, 45, 48, 50) (Şekil. 9.) kullanılmıştır. Bu yöntem de kusursuz değildir. Yöntemin en büyük eksikliği kan akımının nicel olarak ölçülmesine olanak sağlamamasıdır. Diğer bir deyişle, bu yöntemde yalnızca bağıl değerler ölçülebilir.

Laser ışığının deri yüzeyinden deri içlerine doğru uygulandığı LDF yönteminde, kan içinde bulunan ve onunla birlikte hareket eden eritrositlerden yansıyan ışıkta gözlenen Doppler kayması kullanılır (3, 11, 14, 21, 27, 33, 35, 44, 48, 53).



Belli bir frekansa sahip olan bir ışık hareketsiz bir sistem üzerine uygulandığında, yansıyan enerjinin frekansı değişmez ve aynı kalır. Böyle bir enerjinin, mikrovasküler dolaşımında olduğu gibi, hareket eden eritrositlerden yansması durumunda ise frekansı aynı kalmaz ve değişir (53). Bir dalganın bir ortamda yayılması sırasında dalga kaynağının veya gözlemcinin bağıl hareketinden kaynaklanan bu frekans değişikliği Doppler olayı olarak adlandırılır. Frekansta gözlenen değişme, hareketli tanecığın bağıl hızı ile orantılıdır. Frekansta gözlenen bu kaymanın bilgi olarak kullanıldığı LDF sistemlerinde, sistemin çıktısı kan hücre akışı (perfüzyon) cinsinden kalibre edilir. Burada, kan hücre akışı veya mikrovasküler perfüzyon, doku örnek hacminde hareket eden hücre sayısı (konsantrasyon) ile bu hücrelerin ortalama hızlarının çarpımı olarak tanımlanmaktadır (20, 35).

Elektromanyetik enerjinin dalgaboyu küçüldükçe derideki soğrulma ve saçılma olayları arttığından bu olayların en düşük ve deri içlerine sızma derinliğinin en yüksek olduğu 600-1200 nm aralığındaki elektromanyetik enerji tercih edilir (35).

Genel olarak, epidermis, optik açıdan soğurucu filtre gibi davranır. Kollajen liflerde görülen saçılma ise ışığın deri içlerine doğru sızmasını engeller (35). LDF yönteminde, ayırdedilebilen doku hacmi, çeşitli dokulardaki soğrulma/saçılma özelliklerine bağlı olarak değişmekle birlikte, 1 mm<sup>3</sup> dolayındadır (14, 35). Bu nedenle, mikrovasküler yapılarıdaki kan akımını değiştirecek etkilerden (basınç vb.) sakınılmalıdır. Ayrıca, LDF de gözlenen sinyalin, daha önce de ifade edildiği gibi, aralarında herhangi bir ayırım olmaksızın arteriyoller, kılcal damarlar ve venüllerden gelen bilgileri içerdiği (14, 20, 29) unutulmamalıdır .

## **2.2.2. Mikrovasküler Kan Akımını Etkileyen Uyarılar**

LDF sinyalinin bağıl bilgi vermesi ve gözlem yapılan bölgeye bağıl olarak değişmesi nedeni ile, aynı bir bölgede ve çeşitli uyarılara karşı oluşturulan yanıtların karşılaştırılması daha yararlıdır. Derin nefes alma, elektriksel uyarılar, sıcak ve soğuk etkisinde bırakma, iyontoforez, oklüzyon (reaktif hiperemi), postür (veno-arteriyolar refleksi), ultraviyole ışık (UV) ve valsalva manevrası gibi uyarılar bu amaçla kullanılabilir (35, 48). Bunlardan iyontoforez, LDF ile birlikte, enjeksiyon travmasına neden olmadan endotel ve düz kas fonksiyonunu incelemeyi olanaklı kılan bir yöntemdir (10, 25). Bu nedenle, yapılan araştırmalarda LDF ve iyontoforez yöntemleri birlikte kullanılmaktadır.

### **2.2.2.1. İyontoforez**

İyontoforez, iyonik çözeltilerin, potansiyel gradyenti altında deri içlerine sürülmesi yöntemidir (23, 39, 54). ACh gibi lipofilik olmayan vazodilatör ajanlar deri yüzeyine uygulandıklarında yüzeyde kalırlar ve böyle maddelerin deri içlerine difüzyonu çok yavaştır. Düşük potansiyel farkı (< 30V) ve sabit akım şiddeti altında, elektrikle yüklü bu maddelerin, kontrollü bir biçimde deri içine sürülmeleri daha kolaydır. Böylece hem dozun ayarlanabilmesi hem de nicel olarak belirlenebilmesi mümkündür.

## **2.3. Deri Kan Dolaşımının Reolojik Özellikleri**

Kan, homojen bir sıvı değildir. Plazma ve kan hücrelerinin (büyük ölçüde eritrosit) karışımı olan bu sıvının viskozitesi, makaslama zoruna bağımlı olduğundan Newtonian sıvı özelliği de taşımaz. Bununla birlikte, çapı eritrositlerin çapından pek çok kez büyük olan arterlerdeki kan akımını ve basınç pulsı dalgalarını incelerken, kanı homojen bir sıvı olarak düşünebiliriz. Öte yandan çapı, eritrositlerin çapı dolayında olan

kılcal kan damarlarındaki kan akımını incelerken ise kanı taneciklerden oluşan bir süspansiyon olarak dikkate almamız gerekir. Diğer bir deyişle, mikro-dolaşımda eritrosit damar çeperi etkileşiminin önem kazanması, makro ölçekteki hemodinamik yasaların bu sisteme aynen uygulanmasını güçleştirir. Makro ölçekte geçerli yasaları, mikro ölçekte gözlenen olayları açıklamada kullanmak, bunları ortak bir noktada birleştiren kavramlar tanımlamayı gerektirir. Görünür (apparent) viskozluk ile bağlı (relative) viskozluk, bu amaçla, deneysel verileri düzenlerken kullandığımız kavramlardır. Bu kavramların anlamlarını açıklayabilmek için, akışını gözlediğimiz sıvının Newtonian, sıvı akışının da laminar olduğu bir durumu dikkate alalım. Böyle bir sıvı akışı Hagen-Poiseuille Yasası'na uyar ve matematiksel olarak (15, 19),

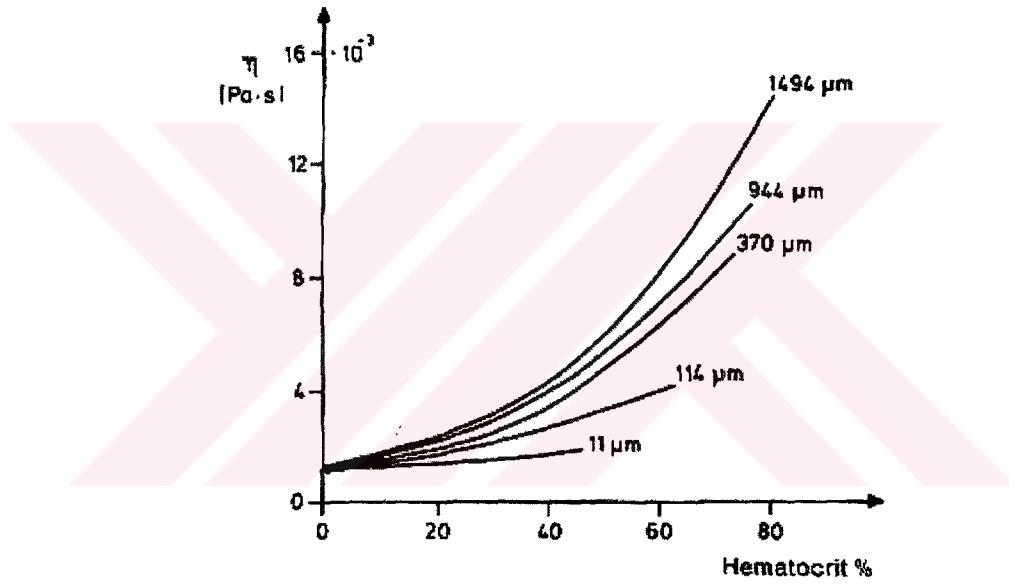
$$\frac{\Delta p}{\Delta L} = \frac{8\eta}{\pi.a^4} \dot{Q} \quad (1)$$

eşitliği ile tanımlıdır (15, 19, 39). Burada  $\Delta p$ , uzunluğu  $\Delta L$  olan bir damardaki basınç düşmesini,  $\eta$  sıvının viskozluk katsayısını,  $a$  damar yarıçapını,  $\dot{Q}$  ise hacimsel akış hızını göstermektedir. Akışını izlediğimiz sıvı kan ise, hâlâ  $\Delta p / \Delta L$  ve  $\dot{Q}$  büyüklüklerini deneysel olarak ölçebiliriz; fakat yukarıdaki denklemi bu kan akımını analizlemede kullanamayız. Bu denklemi kullanabilmenin tek yolu, ölçülen bu büyüklükleri kullanarak,

$$\eta = \frac{\pi.a^4}{8} \frac{1}{\dot{Q}} \frac{\Delta p}{\Delta L} \quad (2)$$

eşitliğinden viskozluk katsayısını hesaplamaktır (15, 19, 39). Bu şekilde hesaplanan büyüklük *görünür viskozluk katsayısı* olarak adlandırılır. Newtonian bir sıvı olan plazmanın viskozluk katsayısı  $\eta_0$  ile gösterilirse  $\eta / \eta_0$  oranı ise *bağlı viskozluk* olarak tanımlanır. Bağlı ve görünür viskozluk kanın kendi özelliği olmadığı gibi sabit olmak zorunda da değildir. Bu büyüklük, kanın kendi özelliklerinin yanısıra kan ile içinden aktığı damarlar arasındaki etkileşime bağlıdır (15).

Yukarıda da ifade edildiği gibi, çapı 1 mm den büyük damarlardaki kan Newtonian sıvı gibi davranırken, damar çapı küçüldükçe, kanın viskozluğu makaslama zorunun artması ile küçülür. Yukarıda, görünür viskozite ile açıklanan bu normal dışı reolojik davranış, eritrositlerden kaynaklanır. İnsan eritrositleri, çapı 8  $\mu\text{m}$  olan iki yüzü çukur disk biçimindedirler. Görünür kan viskozluğu, hematokrit (paketlenmiş hücre hacminin kan hacmine oranı) değeri ile ifade edilen eritrositlerin konsantrasyonuna bağlıdır. Bu büyüklüğün normal değeri ise % 45 dolayındadır (19).



**Şekil. 4.** Serum fizyolojik içerisindeki eritrosit süspansiyonu görünür viskozluğunun, hematokrit değerine bağlı değişimi (  $T=25\text{ }^\circ\text{C}$ ). Her bir eğri, iç çapı yan tarafta belirtilen katı çeperli borudaki perfüzyon sonucu elde edilmiştir (19).

Farklı çaptaki tüpler içinden akan eritrosit süspansiyonunun görünür viskozitesi Şekil.4. de görülmektedir. Çapın 1 mm veya daha büyük olduğu durumda, hematokrit değerinin artması ile birlikte, viskozite de keskin bir biçimde artar. Daha küçük çaplarda, artma düzgünleşir veya diğer bir deyişle, aynı hematokrit değeri için görünür viskozluk küçülür. Görünür viskozluk, 10  $\mu\text{m}$  çap dolaylarında, hematokrit

değerinden kabaca bağımsızdır ve hücreleri içermeyen sıvının viskozluğundan çok az büyüktür. Görünür viskozluğun bu özel davranışı, büyük ölçüde, eritrositlerin mükemmel biçim değiştirme (akışkanlık) yeteneğinden kaynaklanır. Bu hücrelerin çok esnek zarları ve sıvı içerikleri, akan kanın, katı taneciklerin süspansiyonu gibi değil, emülsiyonu gibi davranmasına neden olur. Makaslama kuvveti, hücrelerin dönmelerine ve hücre zarının hücre içi sıvıya göre kayarak eliptik deformasyonuna neden olur. Sonuçta, hücrenin uzun eksenini kanın akış yönüne yakın yönelerek hücreler, damar ekseninde yüksek hızla hareket eden tabakalara göç ederler. Bu yolla, yüksek esneklik özelliğine sahip eritrositlerin birbirlerine yakın paketlenmesi merkezi bir hücre sütunu oluşur ve damarın uzun eksenini yakınlarındaki akıntı içinde bulunan hücre konsantrasyonu artar. Bunun tersine, çepere yakın sıvı tabakalarındaki eritrosit sayısı düşer. Bu süreç nedeniyle, çepere yakın tabakalardaki makaslama hızı artarken eksen yakınlarındaki makaslama hızı da azalır. Böylece, çepere yakın tabakaların viskozluğunun küçülmesi, merkezi hücre sütununun yüksek hızla hareket etmesini olanaklı hale getirir. Damar inceldikçe, görünür viskozluktaki küçülme belirgin hale gelir (Şekil.4.). Bu davranış, Fåhræus-Lindqvist etkisi olarak adlandırılır. Görünür viskozitenin minimum değeri, plazmanın viskozitesinden % 20 daha büyüktür ve bu durumla 8-9  $\mu\text{m}$  çap dolayında karşılaşılır. Daha küçük çaplar için görünür viskozluk yeniden artar (19).

Merkezi hücre sütununun hızlı hareketi nedeniyle, bir eritrositin kılcal damar içinde kalma süresi, karşılık gelen hacim elemanı içinde bulunan plazmanınkinden daha kısadır. Bu nedenle, perfüze olan kılcal damarlardaki dinamik hematokrit, durgun kanın hematokrit değerinden daha küçüktür (19).

Kan, iç çapı 3  $\mu\text{m}$  olan kılcal damarlar içinden akma yeteneğine sahiptir. Bu durumda eritrositler çok büyük deformasyona uğrayarak ok başı veya damla biçimini alırlar (19).

Kanın akıcılık özelliklerinin yanısıra, perfüzyon basıncı ve direnç damarlarındaki kasların kasılma durumu da dokuların kan kaynağını belirlemede önemlidir. Ortalama kan basıncı, arteriyoller boyunca önemli düşüş gösterir. Kılcal damarlara gelindiğinde, transmural basınç proksimal uçta 4-5 kPa dolayındadır ve distal uçta 1,5-2,5 kPa dolaylarına düşer. Basınç pulsları ve kan akımı dalgalanmaları, arteriyollerde ve daha küçük bir biçimde kılcal damarlarda da gözlenir. Fakat normal olarak post-kapiller mikrovasküler yapılarda bu dalgalanmalar görülmez (19).

#### **2.4. Deri Kan Dolaşımının Kontrolü**

Kan dolaşımı, *merkezi sinir sistemi*, kanda dolaşan *hormonlar* ve *yerel vasküler mekanizmalar* tarafından kontrol edilir (49). Bu nedenle, deri kan dolaşımının kontrolünün anlaşılması, daha önce kısaca özetlendiği gibi, belli ölçüde damar çeperlerinin mikro-anatomik yapısı ile bu yapı içindeki kan akımının uyduğu hemodinamik ilkelerin bilinmesini, otonom sinir sistemi ve vasküler düz kasın bu kontroldeki rollerinin anlaşılmasını gerektirir.

Deri kan damarları, *sempatik adrenerjik vazokonstriktör* liflerle innerve edilirler (8, 17). Bu nedenle, deri kan akımının nöral kontrolünde bu sistemin aktivasyonu önemli rol oynar. Sempatik adrenerjik sistemin aktivasyonu, derinin distal akrall bölümlerindeki arteriyol, AVA ve prekapiller sfinkter gibi düz kas içeren mikrovasküler yapılarda *vazokonstriksiyon* oluştururken, bu sistemin *merkezi sinir sistemi* tarafından *inhibisyonu vazodilatasyon* ile sonuçlanır. Ekstremitelerin proksimal kısımlarında gerçekleşen vazodilatasyonun kaynağı ise, *sudomotor kolinerjik* liflerin aktivasyonu ile birlikte salınan *bradikinindir*.

Deri kan akımında görülen vazodilatasyonun diğer bir kaynağı ise *akson refleksi*dir. Derideki myelinsiz ağrı lifleri mekanik veya kimyasal bir uyarı ile uyandırıldıklarında oluşan yanıt, yalnızca afferent (*ortodromik*) yolda spinal kolona doğru

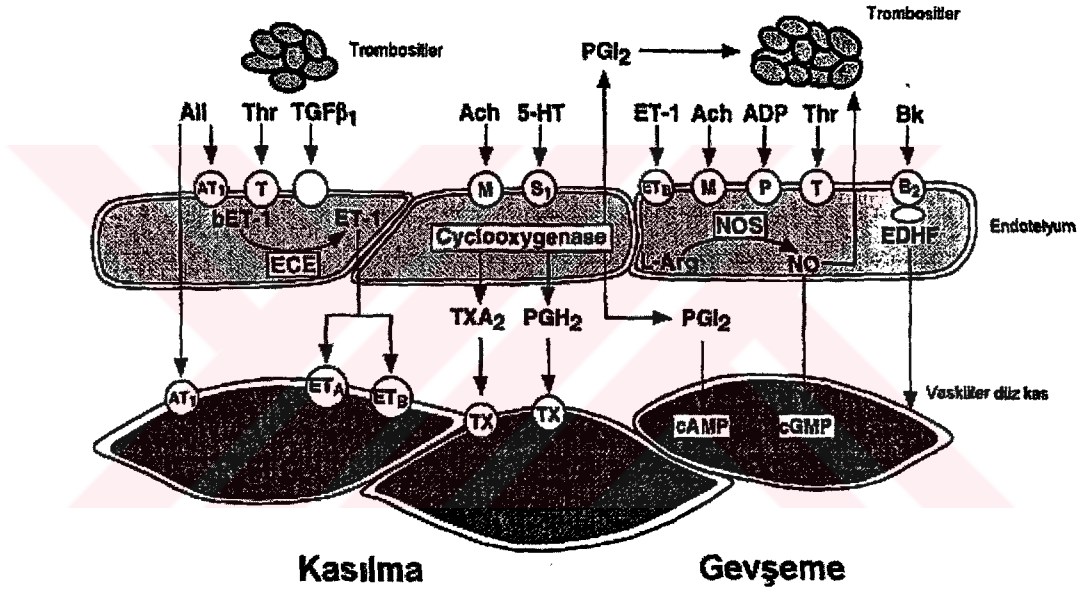
iletilmekle kalmaz aynı zamanda, efferent kollaterallerce innerve edilen deri bölgesindeki arteriyollere de iletilir (*antidromik iletim*) (17, 18, 56). Böylece, bu afferent yolun uyarılmasıyla, çeşitli nöropeptidleri (P maddesi ve CGRP) içeren capsaicine duyarlı liflerce desteklenen kan damarlarında vazodilatasyon görülür (*antidromik vazodilatasyon*) (17, 18, 41, 56).

Kan akımının yerel vasküler mekanizmalar ile de kontrol edildiği düşüncesi yakın geçmişte kabul edilmiştir. Kan akımının yerel kontrolü açısından bakıldığında, vasküler endotelin, damar çeperinde en önemli anatomik konumda (kan ile vasküler düz kas arasında) yer alan öge olduğu görülür. Yakın zamana kadar sadece pıhtılaşmayı engelleyen basit bir tabaka olarak görülen endotelin, vasküler yapı ile fonksiyonları kontrol eden merkezi bir geçiş yolu olduğu anlaşılmıştır. Endotel hücreleri, etkisinde kaldıkları çeşitli türden uyarılara karşı kasılma (düz kaslarda), çoğalma, göç, ölüm (apoptozis) gibi hücrenel süreçleri kontrol eden ve pıhtılaşma gibi olayları değiştiren özellikte aracı maddeler salarak yanıtta bulunurlar (40) (Şekil.5.). Bu maddelerden NO, prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) ve endotelden türeyen hiperpolarize edici faktör (EDHF) damar düz kasının gevşemesine aracılık ederler (1, 28, 34, 40, 55). Şekil.5. in endotel fonksiyonlarının tümünü kapsamadığı ve kısmen tezin konusu olan mikrovasküler kan akımının düzenlenmesinde gereksinim duyulabilecek bilgilerle sınırlandırıldığı dikkate alınmalıdır.

Başlangıçta endotelden türeyen gevşetici faktör (EDRF) olarak adlandırılan aracı maddenin NO serbest radikali olduğu daha sonra anlaşılmıştır (13, 28). Yarı ömrü birkaç saniye dolayında olan NO, L-arjininden, onun guanidin-nitrojen terminalinin oksidasyonu sonucu elde edilir (12, 13, 28, 43, 55, 58) (Şekil.6.). Reaksiyonun katalizörü olan nitrik oksit sentazın (NOS), endotelial NOS (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS) olarak adlandırılan iki izoformu kardiyovasküler fizyoloji açısından önemlidir (12, 58). Bu izoformlar kalsiyum/kalmodulin bağımlıdır ve oldukça az miktarlarda NO sentezlerler (12, 13, 58). Nitrik oksidin fizyolojik hedefi siklik GMP' yi sentezleyen guanilat siklazdır (GC) (12, 58). Guanilat siklazın bazal aktivitesi çok düşük olmakla



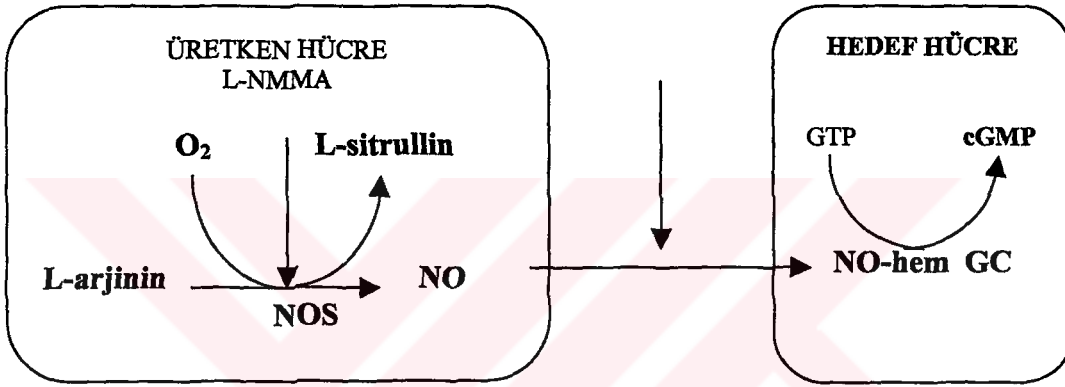
birlikte NO ile bağlanma sonucu bu aktivite, 400 kattan fazla artar. Bu şekilde, hücre içi cGMP konsantrasyonunun artması vasküler düz kasın vazodilatasyonuna neden olur ve kan akımı artar. Hücre içi cGMP artışı, aynı zamanda, kan pulcuklarının birbirlerine yapışarak kümelenmelerini engellediğinden kanın akıcılık özelliklerini iyileştirir (58). Böylece endotel, fizyolojik koşullar altında, kanda dolaşan hücrelerin yapışarak kümeleşmesini engelleyen ve vasküler yapıyı genişlemiş durumda tutan koruyucu bir role sahiptir.



**Şekil. 5.** Endotelden türeyen vazoaktif maddeler. Endotel, vasküler düz kası gevşeten (sağda) ve onun kasılmasına neden olan (solda) çeşitli faktörlerin kaynağıdır. Şekilde AT, anjiyotensin; ACh, asetilkolin; ADP, adenosin difosfat; Bk, bradikinin; cAMP/cGMP, siklik adenosin/guanosin monofosfat; EDHF, endotelden türeyen hiperpolarize edici faktör; 5-HT, 5-hidroksitriptamin (serotonin); ET, endotelin-1; L-Arg, L-arginin; NO, nitrik oksit; PGI<sub>2</sub>, prostasiklin ; TGFβ<sub>1</sub>, büyüme faktörü; Thr, trombin, TXA<sub>2</sub>, tromboksan A<sub>2</sub> kısaltmaları kullanılmıştır. Hücre yüzeylerine yerleştirilmiş daireler reseptörleri göstermektedir (28).



Endotel hücrelerden NO salınmasını sağlayan maddelerin ve makaslama zoru (kan akımının uyguladığı) gibi etmenlerin çoğu, aynı zamanda, bu hücrelerden prostasiklin salınmasına da neden olurlar. Prostrasiklin, düz kastaki siklik 3', 5'-adenozin monofosfatı (cAMP) artırarak vazodilatasyona neden olur (12, 28). Bununla birlikte, prostasiklinin vasküler tonusun regülasyonundaki rolünün çok az olduğu ifade edilmektedir (28).



**Şekil. 6.** Nitrik oksit sentaz (NOS), NO'nun L-arjinin ile moleküler oksijenden sentezlenmesinde katalizör olarak görev alır. Reaksiyonun yan ürünü L-situllindir. Fizyolojik etki, üretilen NO'nun guanilat siklazın (GC) hem grubuna bağlanarak bu enzimi GTP'den cGMP üretmek üzere aktive etmesinden sonra gerçekleşir (58).

Kan akımının yerel kontrolü, *metabolik*, *myojenik* ve *parakrin* olmak üzere üç temel mekanizma ile gerçekleşir (51).

Metabolik kontrol, metabolik aktivitenin artmasına veya oksijen kaynağının azalmasına yanıt olmak üzere parankimal ve endotelial hücrelerden salınan adenzin, prostanoidler, K<sup>+</sup> iyonu, H<sup>+</sup> iyonu ve Pco<sub>2</sub> gibi vazodilatör metabolitlerin arteriyoler düz kas yakınlarına difüzlenmesiyle gerçekleşir. Arteriyollerin düz kasında ortaya çıkan gevşeme, bu damarların çapında ve kan akımında artışa, böylece dokulara daha fazla besin maddesi ile oksijen sağlanmasına neden olur (51).

Myojenik kontrol, transmural basınçta görülen artma ve azalmaların hücrelerinin gerilme durumu üzerinde oluşturduğu değişiklikleri karşılamak üzere gösterilen yanıttır. Kan damarları, transmural basınçtaki artmaya büzülme/daralma bu basınçtaki azalmaya ise genişleyerek yanıtta bulunurlar. Düz kasların kendine özgü ve nöral, metabolik, hormonal etkilerden bağımsız olan bu davranışı, arteriyollerde çok belirgindir. Myojenik kontrol, kan akımının otheregölasyonu ile reaktif hiperemide rol oynar (51).

Parakrin kontrol kan damarlarının yaralanmaya karşı gösterdikleri yanıttır. Deri kan damarlarındaki parakrin kontrol, mekanik ve ısısızal kökenli yaralanmalarda böcek ısırması ve allerjik reaksiyon oluşturan durumlarda görölür. Yaralanma bölgesinde görölün kızartı, histamin, bradikinin, prostaglandinler ve NO gibi çeşitli vazodilatörlerin lokal olarak salınması sonucu ortaya çıkar. Yukarıda sıralanan uyarıların neden olduğu ve ağrı duyumunun iletimine aracılık eden aksonların kollaterallerinden salınan vazodilatörler (CGRP) de kan akımının yerel kontrolüne katkıda bulunurlar. Bununla birlikte, bu mekanizma parakrin kontrolle ilgili değildir (51). Bu konudan daha önce, antidromik vazodilatasyon kavramı kullanılarak söz edilmişti.

Yukarıda belirtilen üç mekanizmanın dışında kalan diğer bir yerel kontrol ise kan akımı etkisi ile gerçekteşen vazodilatasyondur.

Metabolik hızın düşük olması nedeni ile kan akımında ciddi sorunlara dayalı bir azalma olmadığı sürece, deri kan akımı bu organın gereksinimlerini çok kolay karşılar. Bu nedenle, deri kan akımındaki değişikliğin büyük bölümü lokal metabolik değişiklikler ile ilgili değildir. Oysa deri sıcaklığı hem kan akımını etkiler hem de kan akımına bağlı olarak ondan etkilenir. Deri kan akımı, *nötral sıcaklık bölgesinde* bile, deri sıcaklığının değişkenliğine bağlı olarak büyük bölgesel farklılıklar gösterir. Gövde sıcaklığı arttıkaça deri kan akımı ve deri sıcaklığı artar. Bu durum, sempatik tonusun azalmasından, yüksek sıcaklıklarda ise aktif ter bezlerinden bradikinin

serbestleştirilmesinden kaynaklanır. Lokal olarak yüksek sıcaklık etkisinde kalan bir bölgeye yönelik kan akımı artar. Çok yüksek veya çok düşük sıcaklıklarda ise daha farklı mekanizmalar işler. Sıcaklığın 45 °C ve daha yüksek olduğu durumda, yaralanmaya karşı oluşan yanıtın benzeri görülür. Sıcaklık 10 °C ve daha düşük olduğunda soğuk etkisi ile vazodilatasyon görülür. Bu sıcaklıkta , vasküler düz kas kasılmadığından deri kan damarları genişler. Bununla birlikte, artan kan akımı ile birlikte ısınan kasların kasılması deri kan akımında dalgalanmalara neden olur (51).

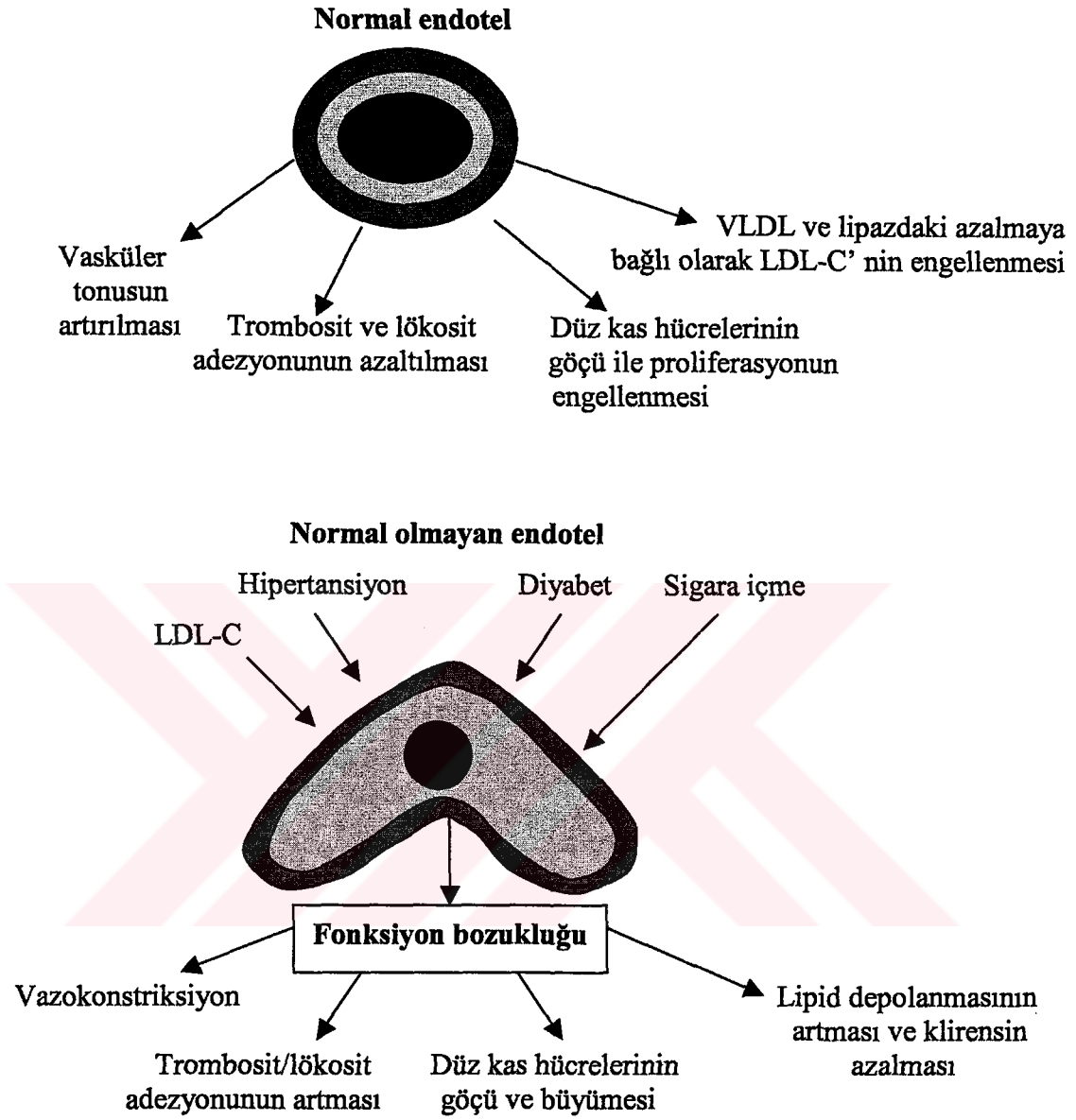
### **2.5. Mikrovasküler Dolaşımın Önemi**

Vasküler anatomi dikkatle incelendiğinde, bu yapının tümünde yer alan tek ortak ögenin endotel olduğu görülür. Kardiyovasküler hastalık riski taşıyan kişilerde görülen vasküler yapı değişikliğinin ortak paydası da endotel fonksiyonlarının bozulmuş olmasıdır. Büyük damarlarda bu ögede görülebilecek bir sorunun mikrovasküler yapılarda görülme olasılığının düşük olmadığı yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır (23, 33). Bu nedenlerle, endotel fonksiyonlarının non-invasive yöntemlerle incelenebilmesini olanaklı kılan mikrovasküler dolaşım ayrı bir önem kazanmaktadır.

Endoteliyal hücreler çok sayıda farklı molekülü sentezlemekle birlikte, bunlardan NO çeşitli açılardan çok özel bir öneme sahiptir. Normal işlevlerini yerine getiren endotel hücreleri, NO oluşturabilir ve çeşitli biyolojik süreçleri kontrol edebilirken, fonksiyonu bozulan endotel hücrelerinde, bu kontroldeki dengeler bozulmakta ve süreç bir vasküler hastalıkla sonuçlanabilmektedir. Örneğin, normalde NO'ya dayalı mekanizmaları kullanarak vazodilatasyonu gerçekleştiren endotel hücreleri, fonksiyon bozukluğuna uğradığında yeterli miktarda NO salarak düz kas hücrelerinin gevşemelerini sağlayamamakta ve vasküler yapının ACh infüzyonuna net yanıtı kasılma olmaktadır. Endotel-bağımlı vazodilatasyonda görülen bu kusur, endotel fonksiyon bozukluğunu belirleme yollarından birini oluşturmaktadır. Endotelin diğer normal fonksiyonları arasında, kan pulcuğu ve lökositlerin adezyonunu azaltma, düz kas hücrelerinin göçü ile proliferasyonunu engelleme, lipid birikiminden koruma ve normal

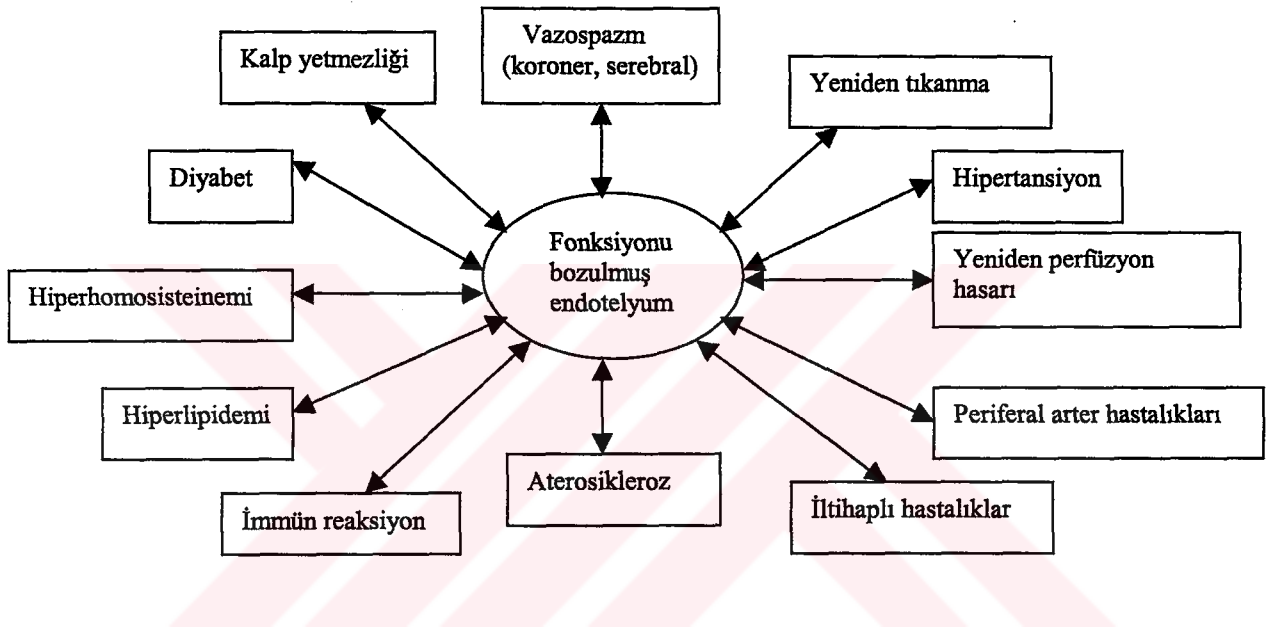
lipid klirensi sayılabilir (Şekil.7.). Endotel hücrelerinin fonksiyonel bozukluğu, kan pulcuğu ve lökositlerle olan normal dışı adezyonu, kan pulcuklarının kümelenmesinde görülen artış ve düz kasların kasılma aktivitesi proliferasyonu ve göçündeki artma ile de saptanabilir (40). Bu ikinci durumda, vasküler yapıda yalnızca fonksiyonel bozukluk değil, aynı zamanda kan damarlarında yapısal değişiklikler de görülebilir.





**Şekil. 7.** Endotel fonksiyon kaybı çeşitli fizyolojik süreçler arasındaki dengenin bozulmasına ve vasküler bir sorunla karşılaşılmasına neden olur (40).

Yukarıda belirtilen fonksiyon bozukluğunun ortaya çıkışında oksidize olmuş düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL-C) artışı, diyabet, yüksek kan basıncı, sigara içme, bayanlarda östrojen yetersizliği ve kronik kalp yetmezliği gibi faktörler sıralanmaktadır (40) (Şekil.8.).



Şekil. 8. Endotel fonksiyon bozukluğunun nedenleri ve sonuçları (40).

Bütün bu bilgilerin doğrultusunda, vazoaktif ajanların iyontoforezi sırasında gözlenen deri mikrovasküler kan akımı sinyalinin matematiksel analizi yapılmaya ve deneysel eğriye en iyi uyan fonksiyon bulunmaya çalışılmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, herhangi bir kardiyovasküler rahatsızlığı olmayan, sigara içmeyen ve yaşları  $21,3 \pm 2,7$  aralığında değişen 36 erkek gönüllü bireyin deri kan akımı değişimi LDF yöntemi ile incelenmiştir. Kullanılan laser ışığının dalgaboyu 780 nm, LDF sisteminin (LDF 100A BIOPAC Systems, Inc. Santa Barbara CA) çıkış gücü ise 0,5-1 mW dır.

Kişilerin, deneyden önceki 12 saat içinde , kafein ve alkol içeren yiyecekler ile içecekleri almamaları bir haftalık sürede de aspirin ve benzeri ilaçları kullanmamaları istenmiştir. Çalışma, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunca kabul edilmiştir. Her denek yapılacak deney konusunda bilgilendirilmiş ve deneyi gönüllü olarak kabul ettiğini belirten bir form imzalamıştır.

Deneylerde, öncelikle, 15 dakika süre ile EKG (DII), solunum aktivitesi (termistör pnömograf) ve kan akımının dinlenim verileri kayıtlanmıştır. Kayıtlama işlemleri bir veri toplama sistemi (Data Acquisition System, BIOPAC Systems Inc., Santa Barbara CA) ile daha sonra analizlenmek üzere bilgisayara aktarılmıştır. Veri toplamada, örnekleme hızı 1 kHz olarak seçilmiştir.

Kayıtlar, sessiz bir odada ve kişi yatar durumda iken yapılmıştır. Çevresel sıcaklık periferik kan akımı üzerinde önemli etkiye sahiptir. Buna ek olarak, deney odasının sıcaklığının kişinin geldiği ortamın sıcaklığından farklı oluşu da uyum açısından çok önemlidir. Bu nedenle, tüm deneyler aynı sıcaklık koşulları altında ( $24-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) yapılmıştır. Sıcaklığın oluşturabileceği olumsuz etkileri azaltmanın diğer bir yolu sıcaklığa bağımlı olmayan kan akımı bölgelerini seçmektir. Bu nedenle, ön kolda kan akımı değişimi büyük ölçüde beslenmeyle ilişkili olan bölge (Şekil.2. de 3 numaralı bölge) kullanılmıştır.

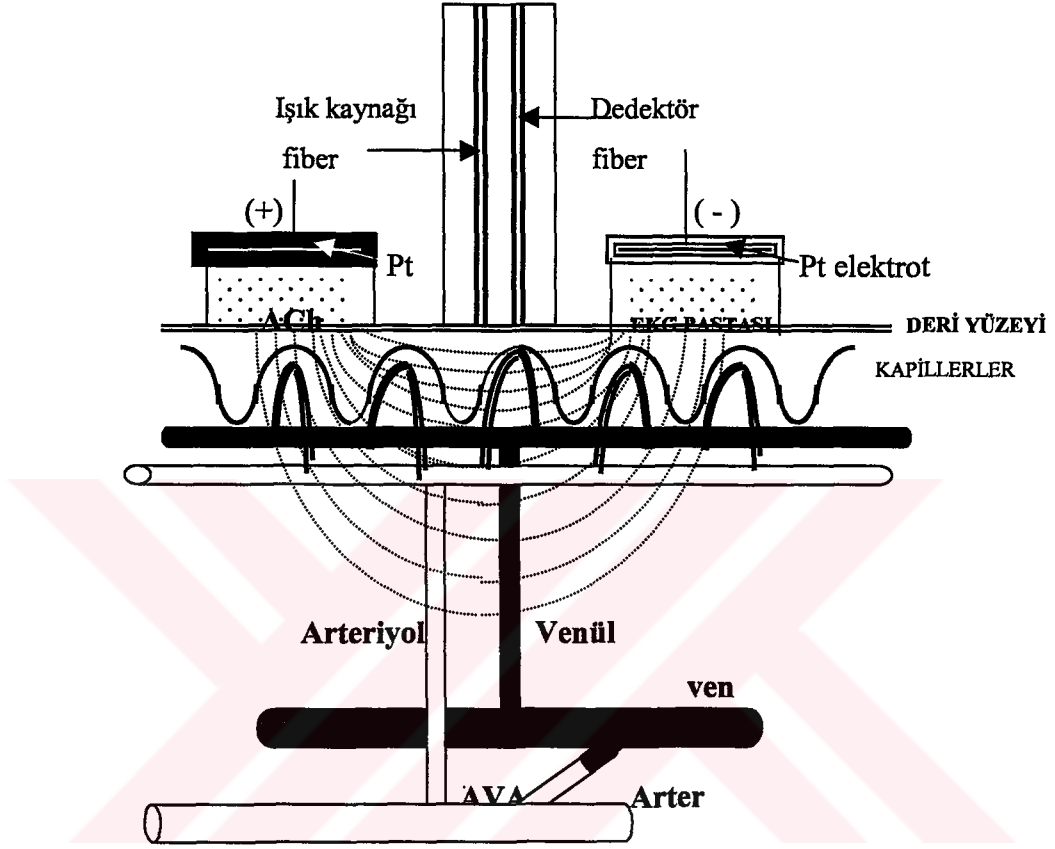
Bu çalışmanın konusu olan deri kan akımı dinamiğini incelemek üzere, kan akımını etkileyen uyaranların uygulanmasında, daha önce de ifade edildiği gibi, iyontoforez yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, %1'lik çözeltileri hazırlanan elektrikle yüklü vazoaktif ajanlar (ACh ve SNP), 200  $\mu$ A lik iyontoforez akımı altında ve 5 dakika süre ile dominant olmayan ön kolun 3 numaralı bölgesine (Şekil.2.) uygulanmıştır. Bu uygulamalardan önce kayıt alınacak bölge isopropil alkolle temizlenmiştir. ACh pozitif SNP ise negatif elektrik yükü ile yüklü davrandığından (1, 4, 23, 25, 31), her uygulamada bunlardan yalnızca biri, yükü ile uyumlu iyontoforez kabına konmuş, referans olarak seçilen diğer kaba ise EKG elektrot pastası yerleştirilmiştir. Bu uygulamanın etkisinin geçtiğinin belirlenmesinin ardından ikinci vazoaktif ajanla deney tekrarlanmıştır. SNP, ışıktan etkilendiği için %1'lik çözeltisi deneylerden hemen önce hazırlanmış ve deney sırasında çıkabilecek bir sorunda yedek olarak hazırlanan SNP çözeltisi ise koyu renkli bantla sarılmış enjektör içinde ve dolapta korunmuştur. İyontoforez sırasında da, yukarıda ifade edilen kayıtlamalar aynen yapılmıştır. Mikrovasküler yapılarıdaki kan akımını değiştirecek etkilerden (basınç vb.) sakınmak amacı ile LDF probu ve iyontoforez kabı iki tarafı yapışkan bir bant ile deri yüzeyine tutturulmuştur.

İyontoforez ve LDF yöntemlerinin birlikte uygulanmasında kullandığımız deneysel düzenek Şekil.9. da şematik olarak görülmektedir.

### **3.1. İyontoforetik Yanıt Eğrilerine Teorik Yaklaşım**

Literatürde, reaktif hiperemi sırasında gözlenen deneysel eğrilerin matematiksel analizine yönelik çalışmalar olmakla birlikte, iyontoforez için yeterli bir inceleme yapılmamıştır. Genellikle deneysel sonuçlarda gözlenen bağıl değişiklikler, yapılan yorumların dayandığı temel öge olmaya devam etmektedir. Gözlem yönteminin bağıl olması nedeni ile de bu sonuçlar arasında çelişkiler görülebilmektedir (20).





**Şekil. 9.** Bu çalışmada kullanılan ve mikrovasküler kan akımını incelemek üzere LDF ve iyontoforez yöntemlerinin birlikte uygulanışını gösteren basitleştirilmiş şematik şekil. İyontoforezde, uygulama elektrotları Platin (Pt) olarak seçilmiştir.

Bir vazoaktif ajanın iyontofrez yolu ile deriye uygulanmaya başlandığı andan, vasküler yanıtın ortaya çıkmasına kadar geçen sürede karşılaşılabilecek süreçler aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- 1- Yüklü vazoaktif taneciklerin, hareketlerini engelleyen bir ortamda, bir potansiyel gradyenti altında ilerleyerek etkileşim bölgelerine (reseptör moleküllerine vb.) kadar ulaşmaları.
- 2- Yüklü vazoaktif taneciklerin kendilerine duyarlı bölgeler ile etkileşmeleri.
- 3- Duyarlı bölgelerin/reseptör moleküllerinin aktif hale gelmesi veya reaksiyonu.
- 4- Yanıtın ortaya çıkmasından sorumlu yeni ara ürünlerin oluşumu.
- 5- Etki ile biyolojik yanıtın ortaya çıkması.
- 6- Mesaj taşıyıcı maddenin inaktivasyonu.
- 7- Vazoaktif ajanın duyarlı bölgeler / transmitterler ile hiç etkileşime girmeden veya ara süreçlerden birinde kan akımı ile bölgeden uzaklaştırılması.

Yukarıda sıralanan basamakların hepsinin her olayda ve aynen gerçekleşmesi zorunluluğu da yoktur. Etkileşim süreçlerindeki değişiklikler yanıtın uyduğu doza bağlı fonksiyonel ilişkiyi de değiştirebilir.

Genellikle, hormon veya ilaç gibi maddelerin reseptörle etkileşim şemaları hiperbolik bir fonksiyona uyan *doz-yanıt* eğrileri oluşturur. Reaksiyon denge sabiti K ve yanıtın maksimum değeri  $Y_{max}$  ile gösterildiğinde, doza veya konsantrasyona (c) bağlı böyle bir ilişkinin;

$$Y = \frac{Y_{max} Kc}{1 + Kc} \quad (3)$$

eşitliği ile ifade edilebileceği de çok iyi bilinmektedir (39).

Buradaki temel soru, vasküler sistemin vazoaktif ajanların iyontoforezine karşı yanıtının derinin özelliklerine, akım şiddeti (I)/akım yoğunluğuna (J) ve uygulama süresine nasıl bir ilişki ile bağımlı olduğudur. İyontoforezde ortama sürülen mol cinsinden madde miktarı;

$$c = \frac{I.t}{Z_i F} \quad (4)$$

eşitliği ile belirlidir. Burada c mol sayısı cinsinden konsantrasyonu,  $Z_i$  yüklü vazoaktif maddenin cebirsel değerliğini, F ise Farady sabitini göstermektedir. Uygulamada akım sabit seçildiğinden, zaman eşelinin doğrudan konsantrasyonu belirleyeceği ve konsantrasyonun zamanla orantılı olarak artacağı ileri sürülebilir. Bununla birlikte, kan akımı ile uzaklaştırma, etkileşimin ardından yıkım ve uygulama süresi gibi çeşitli faktörler nedeni ile konsantrasyon artışı, orantılı ilişkiden sapabilir. Bu sapma uygulanan akım yoğunluğu/akım şiddetine bağlı bir değişkenlik de gösterebilir. Bunlara ek olarak, iyontoforez yoluyla aktarılan maddenin tamamının yalnızca gözlem bölgesindeki vasküler yapıları etkileyeceği de söylenemez. Çeşitli faktörler dikkate alındığında iyontoforez sonucu deri içlerine sürülen ve vasküler yanıtın sorumlu olan madde miktarını belirlemek kolay değildir. Lokal dokuya aktarılan aktif madde konsantrasyonunu belirleme yöntemlerinden biri, mikrodializde olduğu gibi kan örneği alarak, kinetik yoldan ölçmek olabilir. Bu yöntemde bile, gözlem yapılan bölgedeki madde konsantrasyonunu ve onun zamanla değişimini belirlemek kolay değildir.

Yukarıda sözü edilen güçlüğü yenmenin yöntemlerinden biri, gözlenen biyolojik olayı açıklayan düşünsel bir model oluşturmak veya varsa böyle modellerden yararlanmaktır. Böylece, modelden hesaplanan değerlerin deneysel verilerle uyumuna bakılarak bir biyolojik sürecin nasıl gelişeceği öngörülebilir. Teorik modellerden böyle öngörüler için yararlanmak bilimin sıkça başvurduğu yöntemlerden biridir. Bununla birlikte, kendi içinde ve deneysel sonuçlarla tutarlı olan fakat ilgilenilen biyolojik olayı doğru açıklayamayan bir düşünsel model kurmuş olmak da olanaklıdır.

Öncelikle, gözlem yaptığımız hacim elemanında ( $\sim 1 \text{ mm}^3$ ) ortaya çıkan kan akımı değişiminin *doz-yanıt* eğrilerine uyduğunu ve Denk.(3) ile tanımlı olduğunu varsayalım. İkinci olarak, uygulandığı doku bölgesindeki dağılımını ve zamanla nasıl değiştiğini bilmediğimiz konsantrasyonun Denk.(4) ile temsil edilebileceğini kabul edelim. Bu kabulde, iyontoforez yolu ile madde aktarma kinetiğinin, ilgilendiğimiz akım şiddeti değeri için doğrusal olduğunu öngören literatür bilgisi dikkate alınmıştır (52). Buna göre, iyontoforez sırasında gözlenen kan akımının zamanla değişimi, Denk.(3) ve Denk.(4) birlikte kullanılarak;

$$Y = \frac{Y_{\max} kt}{1 + kt} \quad (5)$$

şeklinde yazılabilir. Burada  $k = KI / Z_i F$  şeklinde tanımlıdır.

Yukarıda ifade ettiğimiz düşüncelerimiz doğru temellere oturuyorsa Denk.(5) den hesaplayarak çizeceğimiz eğri, deneysel olarak gözlediğimiz eğri ile çakışmalıdır. Eğri uyumunu test etmede, doğrusal olmayan istatistik yöntemler kullanılabilir olmakla birlikte deneysel olarak ölçülen  $Y_{\max}$  değeri pek çok faktöre bağlıdır. Gerçekte LDF bağıl bir yöntem olduğundan bu büyüklüğün anlamlı olup olmadığı da tartışılabilir. Bu nedenle, Denk.(5) ve bununla uyumlu olduğu düşünülen deneysel sonuçları 1'e normalize etmek daha uygun bir yoldur. Böylece, incelenen biyolojik sistemin değişmez özelliklerini bulmak ve tartışmaya açık değişken deneysel verilerden kurtulmak olanaklı hale gelir.

Biyolojik bilimlerde, doz-yanıt eğrileri (Denk.(5)), genellikle düşey eksene yanıt yatay eksene ise dozun (burada konsantrasyon veya zaman) logaritması yerleştirilerek çizilir. Böyle bir gösterimde, hem hiperbolik hem de üssel eğriler *sigmoid* veya *S* biçimli görünüme sahiptirler. Özellikle eğrilerin başlangıç bölümleri dikkate alındığında, yukarıdaki iki fonksiyon arasında ayırım yapmak da zordur. Ayrıca,

böyle bir gösterimde bağıl yanıtın  $0,2 < Y < 0,8$  olduğu aralıkta eğri doğrusallaşır ve bu bölge denge sabitini bulmada kullanılır. Yukarıdaki eşitliklerde,  $Y = Y_{\max}/2$  için  $K = 1/c$  ve  $k = 1/t$  olduğu kolayca görülebilir.

Yukarıda ifade edilen geleneksel gösterimde, bağıl yanıtın çok küçük olduğu  $Y \rightarrow 0$  ve doygunluğa ulaştığı  $Y \rightarrow 1$  sınır değerlerin ayırdedilebilmesi ve varsa bu bölgelerdeki bilgilerin ortaya konması olanaksızdır. Bu bölgelere gizlenmiş bilgileri ortaya koyabilmek, Denk.(5) e bu açıdan uygun dönüşümler uygulayabilmeyi gerektirir. Şanslı olarak bu denklem ve bu denklemle uyumlu olduğu düşünülen deneysel sonuçlar;

$$\frac{\frac{Y - Y_{\min}}{Y_{\max}}}{1 - \frac{Y - Y_{\min}}{Y_{\max}}} = Kc = kt \quad (6)$$

dönüşümü altında doğrusallaşır. Kuşkusuz ki deneysel verilerde doğrusal ilişki oluşturamamızı sağlayan dönüşümleri bulmak kolay değildir ve çoğu durumda da olanaksız olabilir.

Bu çalışmada, iyontoforez sırasında gözlenen kan akımı eğrilerine yukarıda sunulan ve literatürde karşılaşılmayan dönüşümler uygulanmış ve elde edilen bulgular madde aktarma kinetiği ile etkileşim mekanizmaları açısından değerlendirilmiştir.

Doğrusal ilişkiler regresyon analizi ile test edilmiş ve doğruların eğimleri ( $k$ ) bulunmuştur. Hesaplanan ortalama eğim değerleri arasındaki farkın istatistiksel anlamlılığı, t-testi (eşleşmiş/eşleşmemiş serilere uygulanan) ile araştırılmıştır.

#### 4. BULGULAR

Vazoaktif ajanların (ACh ve SNP) iyontoforezi sırasında gözlenen mikrovasküler kan akımı değişimini incelemek üzere gerçekleştirilen bu çalışmada deneysel eğrilerin matematiksel analizi yapılmıştır. Deneysel sırasında kayıtlanan tipik kan akımı değişimleri, Şekil.10A. ve Şekil.10B. de görülmektedir. Eğrilerde görülen ve kan basınç pulsarı ile ilgili olan kan akımı dalgalanmalarından kurtulmak üzere, bu eğriler 0,15 Hz kesilme frekansına sahip düşük frekans süzgeci ile filtrelenmiştir. Filtrelemeden sonra normalizasyon işlemi uygulanmış, Şekil.10C. ve Şekil.10D. de görülen eğriler elde edilmiştir. Bu iki eğriye (C ve D) gereç ve yöntem bölümünde sunulan doğrusal dönüşüm uygulandığında E ile F eğrileri elde edilir. İki tane doğrusal bölüme sahip görünen bu eğriler lineer regresyon analizi ile analizlenmiş ve her bir doğrusal bölümün denklemi belirlenmiştir. Bu işlem bütün deneyler için aynen tekrarlanmıştır. Asetilkolin iyontoforezi için bulunan böyle bir doğrunun analiz sonuçları, Şekil.11. de özetlenmiştir. Elde edilen bu doğru denklemlerini ( $y_1$  ve  $y_2$ ) kullanarak, deneysel olarak gözlenen kan akımı eğrilerini yeniden oluşturmak olanaklıdır. Bunun yanısıra, bu verilerin kullanılması sonucu hesaplanan değerlerle, deneysel bir eğriyi bileşen eğrilerin ( $Y_1$  ve  $Y_2$ ) toplamı şeklinde ifade etmek, varsa her biri farklı bir biyolojik süreçle bağlantılı parçalara ayırmak da olanaklıdır. Şekil.11. in sonuçlarından yararlanan böyle bir analizleme ve bileşen eğriler Şekil.12. de özetlenmiştir. Bu iki şekil dikkatle incelendiğinde,  $y_1 \geq 0$  ve  $y_2 \geq 0$  için;

$$y = y_1 + y_2 \quad (7)$$

yazılabileceği, doğrusal grafiklere uygulanacak ters dönüşümle de;

$$Y_1 = a \frac{y_1}{1 + y_1} \quad (8)$$

$$Y_2 = b \frac{y_2}{1 + y_2} \quad (9)$$

elde edilebileceği kolayca görülebilir. Burada a ve b, 1'e normalize edilmiş eğride  $a + b = 1$  koşuluna uyan iki sabittir. Deneysel eğriye uyum gösteren fonksiyon ise;

$$Y = Y_1 + Y_2 = \frac{y}{1 + y} \quad (10)$$

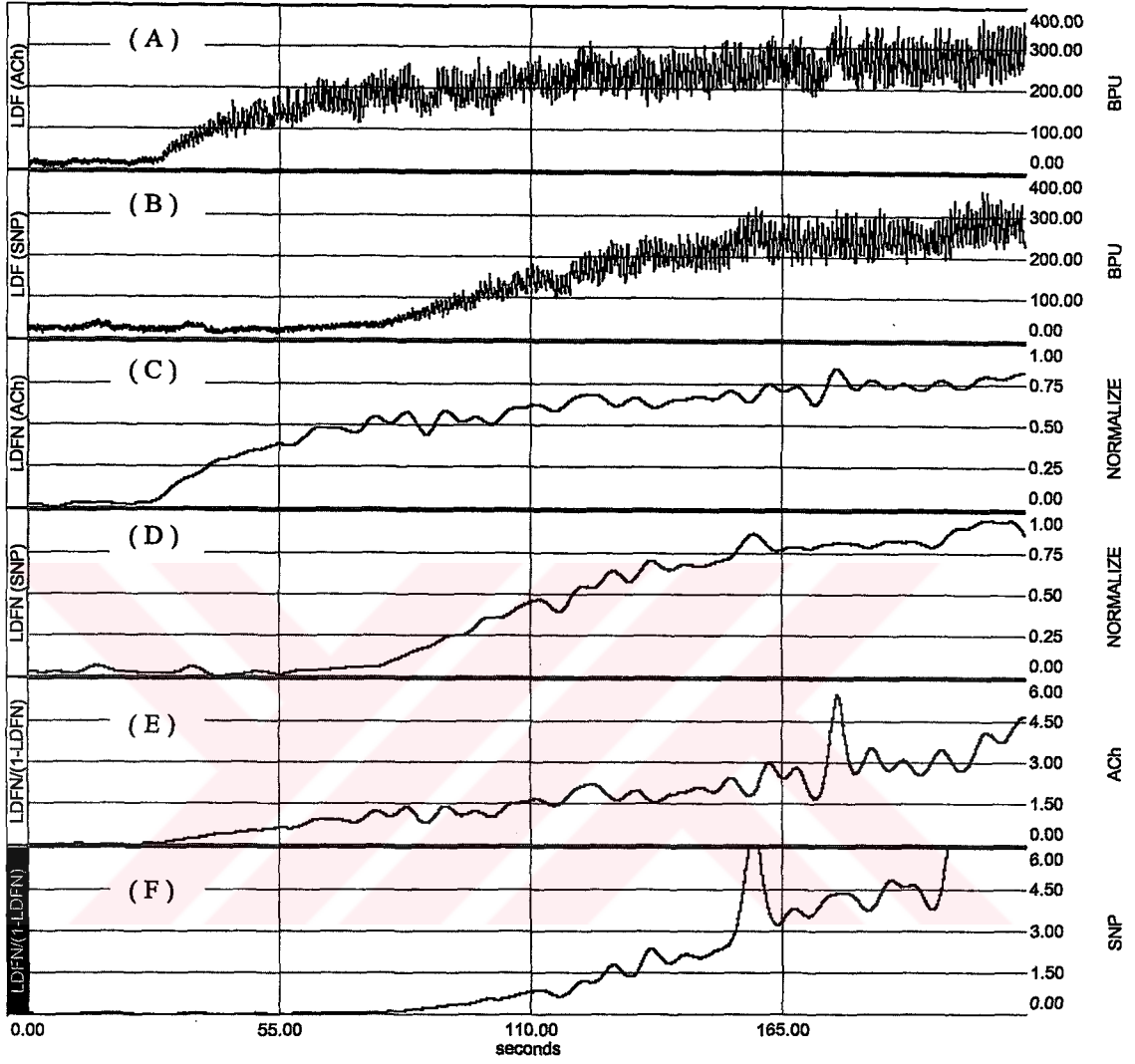
şeklinde tanımlıdır.

Yukarıdaki tartışmadan, yapılan analizlerden ve bu analizlerle ilgili sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, iyontoforez sırasında gözlenen kan akımı Denk.(5) e benzeyen fakat,

$$Y = \frac{Y_{\max 1} k_1 t}{1 + k_1 t} + \frac{Y_{\max 2} k_2 (t - t_0)}{1 + k_2 (t - t_0)} \quad (11)$$

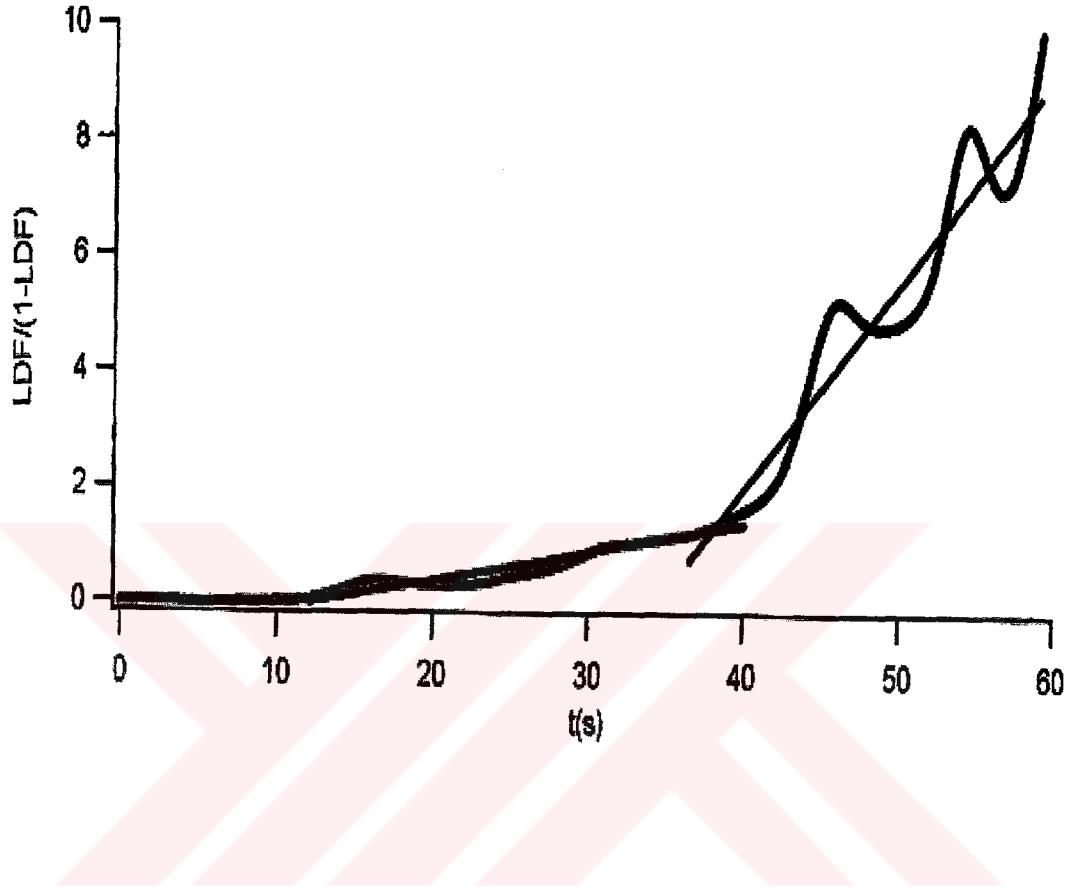
şeklinde tanımlı iki terimin toplamından oluşmaktadır. Burada, ikinci terimin belirli bir  $t_0$  değerinden (veya buna karşılık gelen  $c_0$  konsantrasyonundan) itibaren görüldüğüne (Şekil.12.) ve bu terimin negatif değerlerinin anlamsız olduğuna (fonksiyon  $(t - t_0) \geq 0$  için tanımlıdır) dikkat edilmelidir.

Elde edilen doğru denklemlerinden hesaplama sonucu bulunan eğri (Şekil.12. de Y eğrisi) deneysel olarak kayıtlanan 1'e normalize eğri ile birlikte Şekil.13. de görülmektedir. Bu iki eğri arasındaki uyum, dolaylı olarak lineer regresyon analizi sonuçlarına bağımlı olduğundan ayrıca test edilmemiştir.

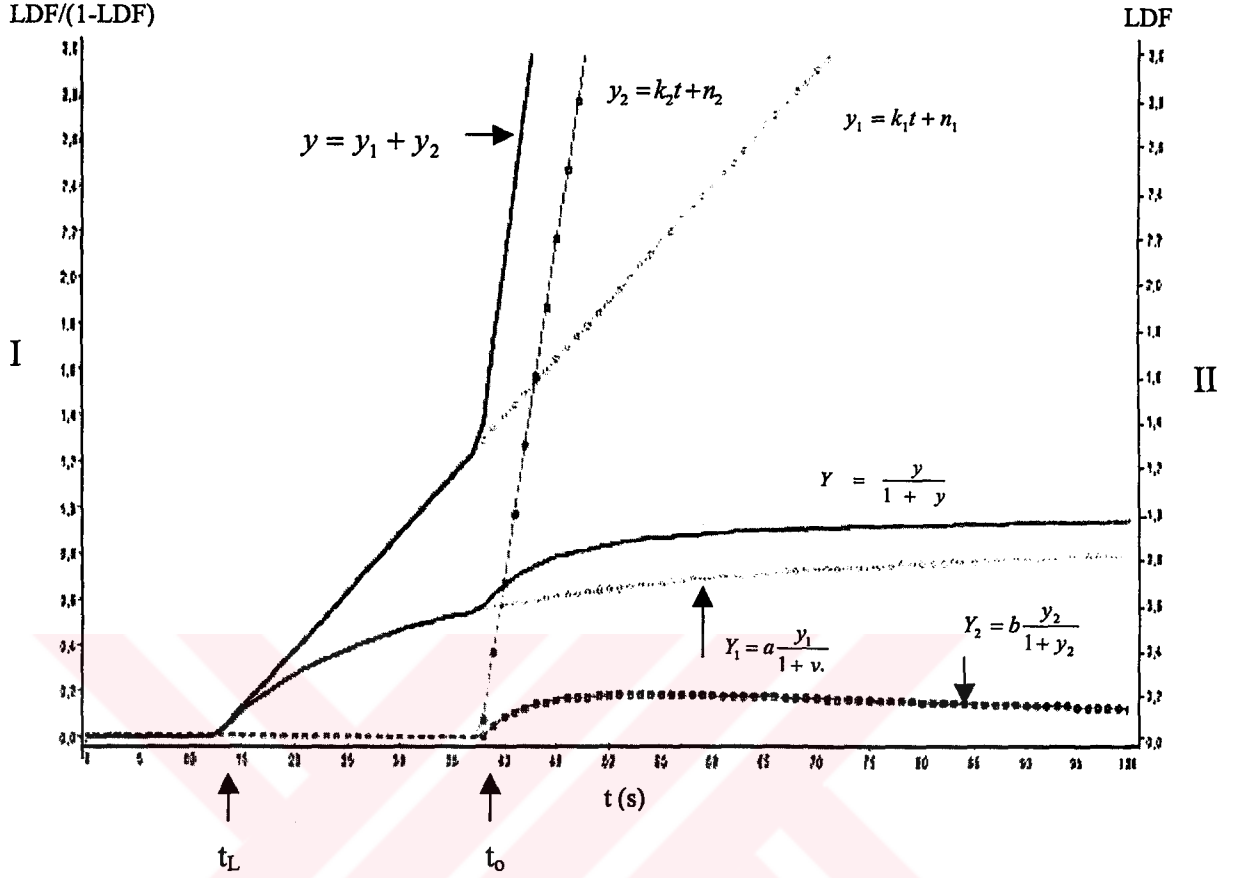


**Şekil. 10.** Yukarıdan aşağıya doğru, sırası ile ACh ve SNP'nin iyontoforezi sırasında deneysel olarak gözlenen kan akımları (A ve B). Bu eğrilerin 0,15 Hz'lik düşük frekanslı filtreden geçirildikten ve normalize edildikten sonraki biçimleri (C ve D). Normalize edilmiş verilere doğrusal dönüşüm uygulandıktan sonra elde edilen eğriler (E ve F).

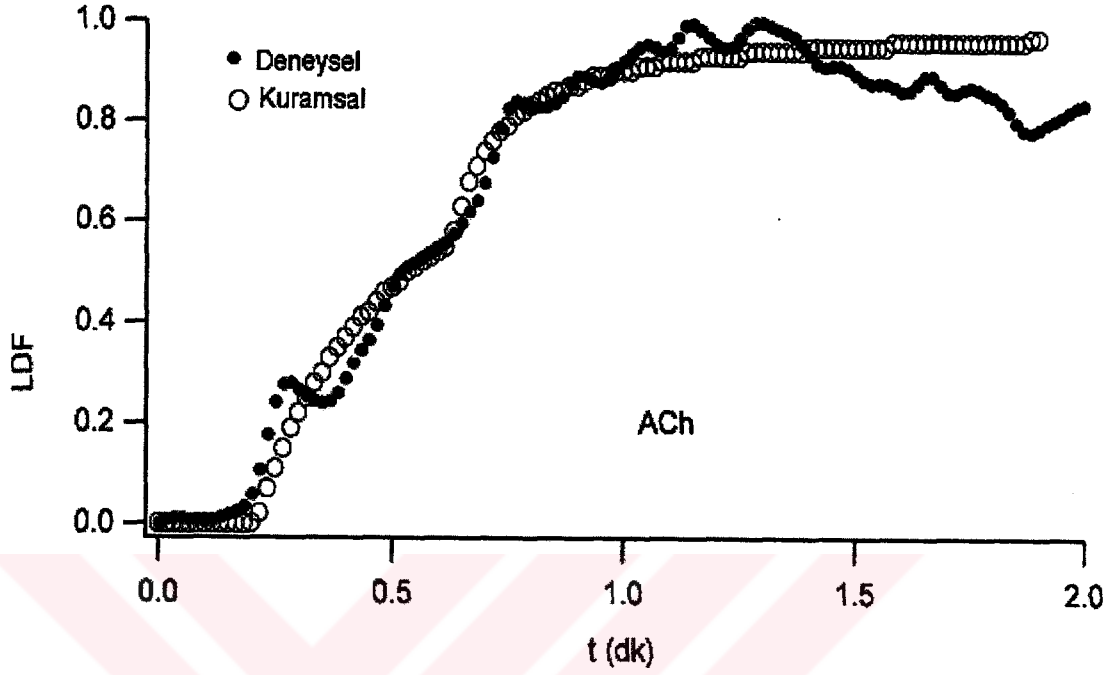




**Şekil. 11.** Asetilkolinin iyontoforezi sırasında kayıtlanan kan akımı sinyalinden çeşitli dönüşümler (filtreleme, normalizasyon ve doğrusallaştırma) uygulandıktan sonra elde edilmiş bir eğri. Bu eğrinin, iki doğrunun cebirsel toplamı şeklinde ifade edilip edilemeyeceği incelenebilir. Böyle bir incelemede, lineer regresyon analizi ile bulunan ve deneysel noktaları en iyi içeren doğrular yukarıda görülmektedir. Verilen bu örnek için doğruların denklemleri ;  $y_1 = 0,051t - 0,64$  ( $r^2 = 0,90$ ) ve  $y_2 = 0,3t - 11,32$  ( $r^2 = 0,95$ ) olarak bulunmuştur. Deneysel eğri (kırık doğru) ise  $y = y_1 + y_2$  olarak belirlidir. Ayrıntılı analiz için Şekil.12. ye bakınız.



**Şekil. 12.** Asetilkolin için deneyde gözleneceği öngörülen eğri ( $Y$ ) ve bu eğriyi oluşturan bileşen eğriler ( $Y_1$  ve  $Y_2$ ) (II. grafik), yukarıda Şekil.11. den hesaplanan doğrular ( $y_1$  ve  $y_2$ ) (I. grafik) kullanılarak bulunabilir. Benzer hesaplama SNP için de geçerlidir. Burada, büyük olasılıkla, her biri farklı bir biyolojik süreçle bağlantılı iki doğru ( $y_1$  ve  $y_2$ ) ve her biri bu doğrulardan elde edilebilen iki hiperbolik eğrinin ( $Y_1$  ve  $Y_2$ ) olduğu görülmektedir. Analizler bire normalize edilmiş eğriler üzerinde gerçekleştirildiğinden,  $a + b = 1$  olduğuna ve fonksiyonların negatif değerlerinin tanımlı olmadığına dikkat edilmelidir. Ayrıca  $Y = Y_1 + Y_2$  dir. Şekilde, vazoaaktif ajanın uygulanmasından yanıtın ortaya çıkışına kadar geçen süre (latans)  $t_L$ , ikinci olası biyolojik sürecin başlangıç anı (veya eğrinin kırılma noktası)  $t_0$  ile gösterilmiştir. Bu büyüklükler konsantrasyon cinsinden de ifade edilebilir.

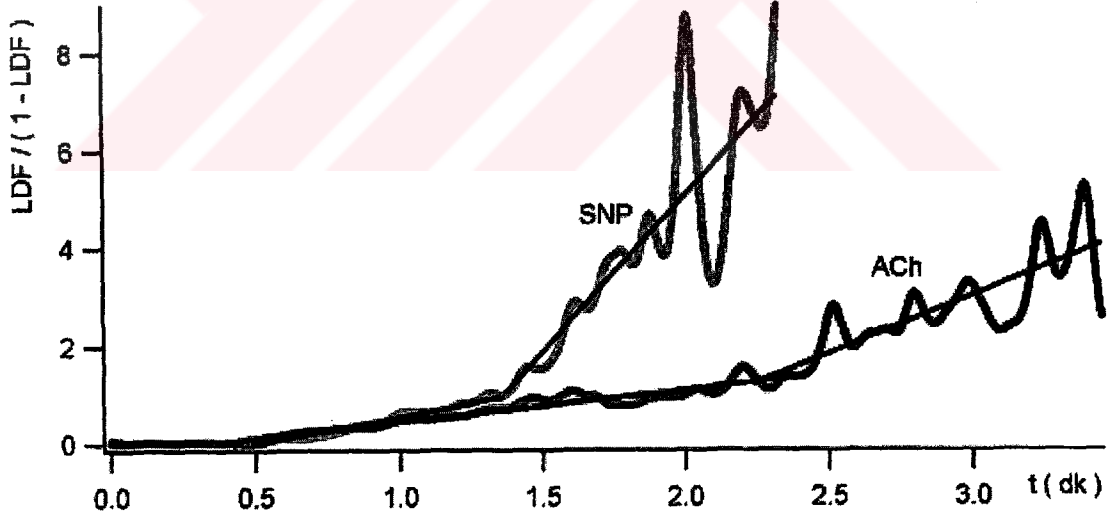


Şekil. 13. Şekil.11. de görülen doğruların denklemleri ve Şekil.12. de açıklanan analiz tekniği kullanılarak hesaplanan kuramsal eğrinin, filtrelenmiş ve 1'e normalize edilmiş deneysel eğri üzerindeki görünümü.

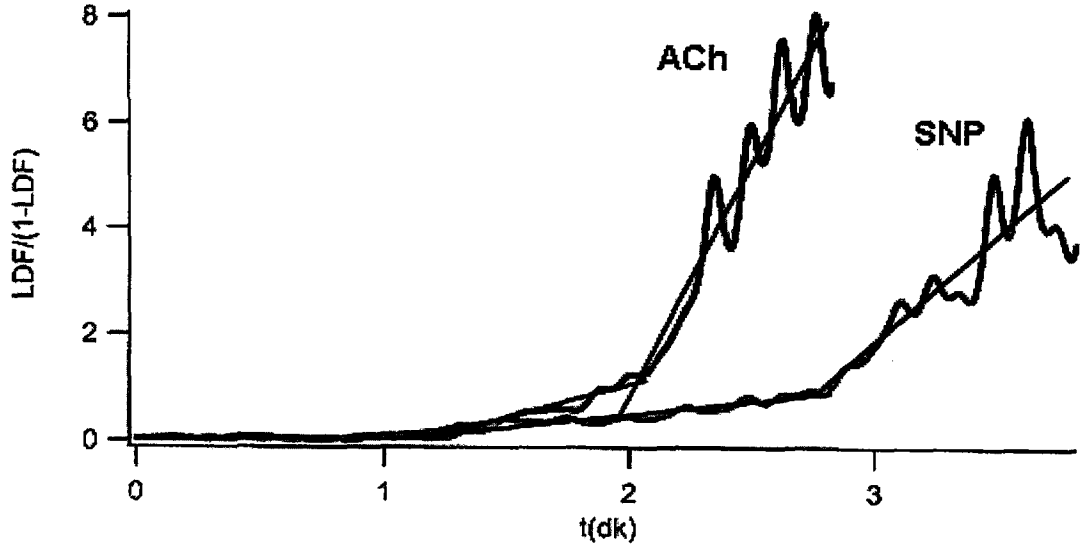
Yukarıdaki analizler sırasında karşılaşılan karakteristik büyüklükler eğimler ( $k_1$ ,  $k_2$ ), latans ( $t_L$ ) veya latansa karşılık gelen eşik konsantrasyon ( $c_L$ ), doğruların kesişme (eğrinin bükülme) anı ( $t_0$ ) veya buna karşılık gelen konsantrasyon ( $c_0$ ), sırası ile  $y_1$  ve  $y_2$  fonksiyonlarını 1 (veya  $Y_1$  ve  $Y_2$  fonksiyonlarını 0,5) yapan  $t_1$  ve  $t_2$  (veya bunlara karşılık gelen  $c_1$  ve  $c_2$ ) değerleri olarak sıralanabilir. Yapılan analizler,  $c_L$  ve  $c_0$  konsantrasyonlarının çok çeşitli bireysel faktör nedeni ile büyük sapma gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu faktörler kontrol edilemediğinden, bu büyüklüklerin istatistiksel sonuçları tablolaştırılmamıştır. Ayrıca, yukarıda ifade edilen  $t_1$  ve  $t_2$ , veya  $c_1$  ve  $c_2$  büyüklüklerinin,  $k_1$  ve  $k_2$  eğimlerine  $c_1 = 1/k_1$  ve  $c_2 = 1/k_2$  ilişkileri ile bağımlı oldukları kolayca görülebilir.

Bu nedenle, istatistiksel analiz sonuçları  $k_1$  ve  $k_2$  büyüklüklerinin ACh/SNP için aldıkları değerler üzerinde yoğunlaşmıştır (Tablo.1. ve Tablo.2.).

Bu analizler sırasında  $k_1$ ,  $k_2$  değerlerinin de büyük sapmalar gösterdiği bulunmuştur. Bununla birlikte, ACh ve SNP için bulunan doğruların eğimleri açısından bakıldığında,  $k_1$  eğimi için  $k_1(\text{ACh}) > k_1(\text{SNP})$  ve  $k_1(\text{ACh}) < k_1(\text{SNP})$  şeklinde tanımlı iki grup;  $k_2$  eğimi için ise yine  $k_2(\text{ACh}) > k_2(\text{SNP})$  ve  $k_2(\text{ACh}) < k_2(\text{SNP})$  şeklinde tanımlı fakat yukarıdaki ile aynı olmayan iki grup olduğu görülmüştür. Bu grupların ortalama değerleri birbirlerinden farklıdır ve bu farklılık istatistiksel açıdan da anlamlıdır (Tablo.1.). Doğruların eğimlerinin farklılığını gösteren iki örnek şekil ise Şekil.14. ve Şekil.15. de verilmiştir.



Şekil. 14. Doğruların eğimlerinin  $k_1(\text{ACh}) < k_1(\text{SNP})$  ve  $k_2(\text{ACh}) < k_2(\text{SNP})$  olduğu bir birey.



**Şekil. 15.** Asetilkolin için elde edilen yanıtların hem daha hızlı hem de  $k_1$  ve  $k_2$  eğimlerinin SNP'nin karşılık gelen eğimlerinden daha büyük olduğu bir kişi.

**Tablo. 1.** Asetilkolin veya SNP'nin iyontoforezi sırasında gözlenen kan akımı değişimlerinin karakteristik büyüklükleri. Denekler  $k_1$  ve  $k_2$  değerleri açısından farklı gruplarda kümelenmektedir. Farklılıkları Student t-testi sonuçları ile de görülen bu gruplar tabloda I, II, III ve IV sembolleri ile gösterilmiştir.

|     | $k_1$ (I)                   | $k_1$ (II)                  | $k_2$ (III)                 | $k_2$ (IV)                  |
|-----|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| ACh | $0,03 \pm 0,02$<br>(n = 20) | $0,01 \pm 0,01$<br>(n = 16) | $0,32 \pm 0,25$<br>(n = 15) | $0,06 \pm 0,04$<br>(n = 19) |
|     | p < 0,0001***               |                             | p < 0,01**                  |                             |
| SNP | $0,03 \pm 0,02$<br>(n = 16) | $0,01 \pm 0,01$<br>(n = 20) | $0,19 \pm 0,18$<br>(n = 18) | $0,09 \pm 0,08$<br>(n = 16) |
|     | p < 0,001***                |                             | p < 0,01**                  |                             |

**Tablo 2.** Tablo 1 de verilen  $k$  büyüklüklerinin ortalama değerleri arasındaki farkların istatistiksel anlamlılığı. Analizlerde, eşleşmiş/eşleşmemiş serilere uygulanan Student-t testi kullanılmıştır.

|     |             | ACh                |                    |                    |                    |
|-----|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|     |             | $k_1$ (I)          | $k_1$ (II)         | $k_2$ (III)        | $k_2$ (IV)         |
| SNP | $k_1$ (I)   | $p > 0,05$<br>n.s. | $p < 0,001$ ***    |                    |                    |
|     | $k_1$ (II)  | $p < 0,001$ ***    | $p > 0,05$<br>n.s. |                    |                    |
|     | $k_2$ (III) |                    |                    | $p > 0,05$<br>n.s. | $p = < 0,01$ **    |
|     | $k_2$ (IV)  |                    |                    | $p < 0,01$ **      | $p > 0,05$<br>n.s. |

Yukarıda çeşitli formül ve şekillerle sunulan bulgular sözel anlatımla aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

Vazoaktif ajanların iyontoforez yoluyla uygulanması sırasında gözlenen kan akımı değişikliklerinin matematiksel olarak formüle edilmesi olanaklıdır. Buna göre, ACh ve SNP'nin iyontoforezine karşı gözlenen yanıtlar, her biri kendine özgü bir  $k$  değerine sahip iki eğrinin toplamından oluşmaktadır.

Her bir  $k$  sabiti, kan akımı değişiminden sorumlu farklı bir biyolojik sürecin etkinlik gösterdiği anlamını taşır.

Asetilkolin ve SNP iyontoforezine karşı yanıt bakımından bireyler gruplara ayrılabilir. Bu ayırım istatistiksel açıdan da anlamlıdır (Tablo.1).

Asetilkoline karşı gözlenen yanıt, her biri kendine özgü bir k sabitine sahip iki hiperbolik eğrinin toplamından oluşmaktadır (Şekil.12. ve Şekil.13.). Yine bu çalışmada, SNP'ye karşı gözlenen yanıtın da iki terimin toplamından oluştuğu bulunmuştur.



## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmanın ortaya koyduğu en önemli sonuç, vasküler endotel fonksiyonlarını incelemede kullanılan deneysel eğrileri matematiksel olarak formüle etme olanağı sunmasıdır. Böyle bir formülasyon, bağıl değerlerden bilgi çıkarmaya çalışan literatür bilgisinden (23, 24, 31, 33, 34, 46, 52, 53, 57) farklı olarak karmaşık bir süreci bileşenlerine ayırmayı, her bir bileşenin ortaya çıkışından sorumlu mekanizmaları açığa kavuşturmayı olanaklı kılması nedeni ile önemlidir.

Bu çalışmada, ACh ve SNP'ye karşı gözlenen yanıtların iki farklı bileşenden oluştuğu görülmüştür. İki farklı süreçle ilgili olduğu düşünülen bu bileşenlerin ortaya çıkışından sorumlu biyolojik mekanizmaları açıklığa kavuşturmamış olması bu çalışmanın eksik yanlarından biridir. Bununla birlikte, bu bulgu, asetilkoline karşı gözlenen yanıtı NO ve prostasiklin ile ilişkilendiren iki mekanizmaya dayalı literatür bilgisi ile tutarlı gözükmemektedir (9, 23-25, 30, 31, 34, 46, 52). Oral veya intravenöz yolla verilen aspirinin asetilkoline karşı oluşan vazodilatör yanıtı küçültmesi bu mekanizmanın doğrulayıcısı olarak sunulmaktadır (1, 34, 42). Bu konudaki literatür bilgisi çelişkilidir (31) ve konunun henüz açığa kavuşturulamadığı düşünülebilir.

Literatürde, SNP'ye yalnızca NO'ya dayalı bir görev yüklenmektedir (9, 23, 24, 31, 51, 52, 57). Oysa bu çalışmada, SNP'ye karşı gözlenen yanıtın da iki terimin toplamından oluştuğu görülmüştür. Diğer bir deyişle SNP için de iki farklı  $k$  sabiti vardır. Bu sonuç, SNP için, her biri farklı bir biyolojik süreçle ilgili iki etkileşim mekanizmasının olduğunu düşündürür. Literatürde karşılaşılmayan bu bulgu yenidir.

Asetilkolin ve SNP iyontoforezine karşı yanıt bakımından bireyler gruplara ayrılabilir. Bu ayırım istatistiksel açıdan da anlamlıdır (Tablo.1.). Bu grupların  $k_1$  ve  $k_2$  eğimleri açısından farklılık göstermesi, karşılık gelen biyolojik süreçlerin her bireyde farklı bir biçimde ortaya çıkabileceğini düşündürür.



Asetilkoline karşı yanıtın diyabet ve hiperkolesterolemi durumlarında küçüldüğü, endotel fonksiyon bozukluğunun göstergesi olan bu davranışın aterosklerotik süreçlerin erken dönemdeki özelliği olabileceği ifade edilmektedir (23, 24, 36). Bu açıdan bakıldığında  $k_1(\text{ACh}) < k_1(\text{SNP})$  ve/veya  $k_2(\text{ACh}) < k_2(\text{SNP})$  olmasının, olası bir vasküler fonksiyon bozukluğundaki önemi sorgulanabilir.

Deneysel eğriyi oluşturan ve her biri farklı bir biyolojik süreçle bağlantılı olan bileşen eğrilerin ortaya çıktıkları anlar (veya bu anlara karşılık gelen konsantrasyonlar) da önemli bilgi içermelidir. Bununla birlikte, deri direnci gibi çok çeşitli biyolojik faktörler nedeni ile anlamlı bilginin belirsizleştiği bu veriler daha dikkatli ve sınırlandırılmış koşullarla yeniden değerlendirilmelidir. Literatürde bu konu değerlendirilmemiştir.

Genel olarak, doz-yanıt eğrilerinde, düşük konsantrasyonlarda küçük; yüksek konsantrasyonlarda ise daha güçlü bir yanıt beklenir. Oysa, bu çalışmanın sonuçları, yüksek konsantrasyonlar için yanıtta gözlenen değişikliğin daha önemsiz olduğunu göstermektedir (Şekil.12.).

Sonuç olarak, bu çalışmada, vasküler endotel fonksiyonu ile bağlantılı deneysel verileri analizlemede kullanılabilecek farklı bir yaklaşım ve yöntem tanımlanmıştır. Biyofizikte sıkça başvurulan fakat diğer biyolojik disiplinlerin hiç kullanmadığı bu yaklaşımın, endotel fonksiyon bozukluğunun temelinde yatan mekanizmaların aydınlatılmasına katkıda bulunacağına inanıyoruz.

## KAYNAKLAR

1. ABOU-ELENIN, K., XYDAKIS, A., HAMDY, O., ECONOMIDES, P.A., HORTON, E.S., VEVES, A.: The Effect of Aspirin and Iontophoresis Solution Vehicle on Skin Microvascular Reactivity. *Microvascular Research*, 63: 91-95, (2002).
2. ALLEN, J., MURRAY, A.: Similarity in Bilateral Photoplethysmographic Peripheral Pulse Wave Characteristics at the Ears, Thumbs and Toes. *Physiol. Meas.*, 21: 369-377, (2000).
3. ARILDSSON, M., NILSSON, G.E., STROMBERG, T.: Effects on Skin Blood Flow by Provocation during Local Analgesia. *Microvascular Research*, 59: 122-130, (2000).
4. ÅSBERG, A., HOLM, T., VASSBOTN, T., ANDREASSEN, A.K., HARTMANN, A.: Nonspecific Microvascular Vasodilation during Iontophoresis is Attenuated by Application of Hyperosmolar Saline. *Microvascular Research*, 58: 41-48, (1999).
5. BORNMYR, S., SVENSSON, H.: Thermography and Laser-Doppler Flowmetry for Monitoring Changes in Finger Skin Blood Flow Upon Cigarette Smoking. *Clinical Physiology*, 11: 135-141, (1991).
6. BRAVERMAN, I.M., KEH, A., GOLDMINZ, D.: Correlation of Laser Doppler Wave Patterns with Underlying Microvascular Anatomy. *J. Invest. Dermatol.*, 95: 283-286, (1990).
7. CLAEYS, L.G.Y.: Effects of Spinal Cord Stimulation on Nutritional Skin Blood Flow in Patients with Ischemic Pain. *Neuromodulation*, 3(3): 123-130, (2000).

8. COFFMAN, J.D.: Effects of Endothelium-Derived Nitric Oxide on Skin and Digital Blood Flow in Humans. *Heart Circ. Physiol.*, 36: H2087-H2090, (1994).
9. CUPISTI, A., ROSSI, M., PLACIDI, S., FABBRI, A., MORELLI, E., VAGHEGGINI, G., MEOLA, M., BARSOTTI, G.: Responses of the Skin Microcirculation to Acetylcholine in Patients with Essential Hypertension and in Normotensive Patients with Chronic Renal Failure. *Nephron*, 85: 114-119, (2000).
10. DURAND, S., FROMY, B., BOUYÉ, P., SAUMET, J.L., ABRAHAM, P.: Vasodilatation in Response to Repeated Anodal Current Application in the Human Skin Relies on Aspirin-Sensitive Mechanisms. *Journal of Physiology*, 540(1): 261-269, (2002).
11. ESSEX, T.J.H., BYRNE, P.O.: A Laser Doppler Scanner for Imaging Blood Flow in Skin. *J. Biomed. Eng.*, 13: 189-194, (1991).
12. FARACI, F.M., HEISTAD, D.D.: Regulation of the Cerebral Circulation: Role of Endothelium and Potassium Channels. *Physiological Reviews*, 78(1): 53-97, (1998).
13. FLEMING, I., BUSSE, R.: NO: the Primary EDRF. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 31: 5-14, (1999).
14. FRERICHS, K.U., FEUERSTEIN, G.Z.: Laser-Doppler Flowmetry. *Molecular and Chemical Neuropathology*, 12: 55-70, (1990).
15. FUNG, Y.C.: *Biomechanics*, Second ed., Springer-Verlag New York, United States of America, (1984).

16. GARDNER-MEDWIN, J.M., TAYLOR, J.Y., MACDONALD, I.A., POWELL, R.J.: An Investigation into Variability in Microvascular Skin Blood Flow and the Responses to Transdermal Delivery of Acetylcholine at Different Sites in the Forearm and Hand. *Br. J. Pharmacol.*, 43: 391-397, (1997).
17. HÄBLER, H.J., WASNER, G., JÄNIG, W.: Interaction of Sympathetic Vasoconstriction and Antidromic Vasodilatation in the Control of Skin Blood Flow. *Exp. Brain Res.*, 113: 402-410, (1997).
18. HOLZER, P., JOCIČ, M.: Cutaneous Vasodilatation Induced by Nitric Oxide-Evoked Stimulation of Afferent Nerves in the Rat. *Br. J. Pharmacol.*, 112: 1181-1187, (1994).
19. HOPPE, W., LOHMANN, W., MARKL, H., ZIEGLER, H.: *Biophysics*, Second ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, (1983).
20. HUMEAU, A., SAUMET, J.L., L'HUILLIER, J.P.: Simplified Model of Laser Doppler Signals during Reactive Hyperaemia. *Med. Biol. Eng. Comput.*, 38: 80-87, (2000).
21. KARANFILIAN, R.G., LYNCH, T.G., LEE, B.C., LONG, J.B., HOBSON, R.W.: The Assessment of Skin Blood Flow in Peripheral Vascular Disease by Laser Doppler Velocimetry. *Am. Surg.*, 50: 641-644, (1984).
22. KERNICK, D.P., SHORE, A.C.: Characteristics of Laser Doppler Perfusion Imaging in vitro and in vivo. *Physiol. Meas.*, 21: 333-340, (2000).
23. KUBLI, S., WAEBER, B., DALLE-AVE, A., FEIHL, F.: Reproducibility of Laser Doppler Imaging of Skin Blood Flow as a Tool to Assess Endothelial Function. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 36: 640-648, (2000).

24. KVERNMO, H.D., STEFANOVSKA, A., KIRKEBØEN, K.A., KVERNEBO, K.: Oscillations in the Human Cutaneous Blood Perfusion Signal Modified by Endothelium-Dependent and Endothelium-Independent Vasodilators. *Microvascular Research*, 57: 298-309, (1999).
25. KVERNMO, H.D., STEFANOVSKA, A., KIRKEBØEN, K.A., ØSTERUD, B., KVERNEBO, K.: Enhanced Endothelium-Dependent Vasodilatation in Human Skin Vasculature Induced by Physical Conditioning. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 79: 30-36, (1998).
26. LAWRENCE, E., BRAIN, S.D.: Responses to Endothelins in the Rat Cutaneous Microvasculature: A Modulatory Role of Locally-Produced Nitric Oxide. *Br. J. Pharmacol.*, 106: 733-738, (1992).
27. LINDBERG, L.G., TAMURA, T., ÖBERG, P. Å.: Photoplethysmography Part 1 Comparison with Laser Doppler Flowmetry. *Med. Biol. Eng. Comput.*, 29: 40-47, (1991).
28. LÜSCHER, T.F.: *The Endothelium in Cardiovascular Disease, Pathophysiology, Clinical Presentation and Pharmacotherapy*, Springer, Bern, (1997).
29. MEYER, M.F., SCHATZ, H.: Influence of Metabolic Control and Duration Disease on Microvascular Dysfunction in Diabetes Assessed by Laser Doppler Anemometry. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 106: 395-403, (1998).
30. MORRIS, S.J., KUNZEK, S., SHORE, A.C.: The Effect of Acetylcholine on Finger Capillary Flow in Healthy Volunteers. *Journal of Physiology*, 494(1): 307-313, (1996).

31. MORRIS, S.J., SHORE, A.C.: Skin Blood Flow Responses to the Iontophoresis of Acetylcholine and Sodium Nitroprusside in Man: Possible Mechanisms. *Journal of Physiology*, 496(2): 531-542, (1996).
32. MUCK-WEYMANN, M.E., ALBRECHT, H.P., HAGER, D., HILLER, D., HORNSTEIN, O.P., BAUER, R.D.: Respiratory-Dependent Laser-Doppler Flux Motion in Different Skin Areas and its Meaning to Autonomic Nervous Control of the Vessels of the Skin. *Microvascular Research*, 52: 69-78, (1996).
33. NEWTON, D.J., KHAN, F., BELCH, J.J.F.: Assessment of Microvascular Endothelial Function in Humans Skin. *Clinical Science*, 101: 567-572, (2001).
34. NOON, J.P., WALKER, B.R., HAND, M.F., WEBB, D.J.: Studies with Iontophoretic Administration of Drugs to Human Dermal Vessels in vivo: Cholinergic Vasodilatation is Mediated by Dilator Prostanoids rather than Nitric Oxide. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 45(6): 545-552, (1998).
35. ÖBERG, P.Å.: Laser-Doppler Flowmetry. *Biomedical Engineering*, 18(2): 125-163, (1990).
36. PANIAGUA, O.A., BRYANT, M.B., PANZA, J.A.: Transient Hypertension Directly Impairs Endothelium-Dependent Vasodilation of the Human Microvasculature. *Hypertension*, 36: 941-944, (2000).
37. PARK, D., HWNAG, J., JANG, K., HAN, D-G., AHN, K-Y.: Mapping of the Human Body Skin with Laser Doppler Flowmetry. *Annals of Plastic Surgery*, 39(6): 597-602, (1997).
38. PAYNE, P.A.: Measurement of Properties and Function of Skin. *Clin. Phys. Physiol. Meas.*, 12(2): 105-129, (1990).

39. PEHLIVAN, F.: *Biyofizik, İkinci baskı, Feryal Matbaası, Ankara, (1997).*
40. PEPINE, C.J.: *The Endothelium: Redefining the Origins of Cardiovascular Disease. Vascular Biology in Clinical Practice, 1(1): 1-8, (2001).*
41. PINTÉR, E., HELYES, Z., PETHŐ, G., SZOLCSÁNYI, J.: *Noradrenergic and Peptidergic Sympathetic Regulation of Cutaneous Microcirculation in the Rat. European Journal of Pharmacology, 325: 57-64, (1997).*
42. RAMSAY, J.E., FERRELL, W.R., GREER, I., SATTAR, N.: *Factors Critical to Iontophoretic Assessment of Vascular Reactivity: Implications for Clinical Studies of Endothelial Dysfunction. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 39: 9-17, (2002).*
43. REES, D.D., PALMER, R.M.J., SCHULZ, R., HODSON, H.F., MONCADA, S.: *Characterization of Three Inhibitors of Endothelial Nitric Oxide Synthase in vitro and in vivo. Br. J. Pharmacol., 101: 746-752, (1990).*
44. RENDELL, M.S., FINNEGAN, M.F., HEALY, J.C., LIND, A., MILLIKAN, B.K., FINNEY, D.E., BONNER, R.F.: *The Relationship of Laser-Doppler Skin Blood Flow Measurements to the Cutaneous Microvascular Anatomy. Microvascular Research, 55: 3-13, (1998).*
45. RENDELL, M.S., GREEN, S.S., CATANIA, A., OLIVETO, J., WELLS, J., BANSET, E.J., WANG, H.: *Post-Exercise Cutaneous Hyperaemia Resulting from Local Exercise of an Extremity. Clinical Physiology, 17: 231-224, (1997).*
46. RICHARDS, N.T., POSTON, L., HILTON, P.J.: *Cyclosporin A Inhibits Endothelium-Dependent, Prostanoid-Induced Relaxation in Human Subcutaneous Resistance Vessels. Journal of Hypertension, 8: 159-163, (1990).*

47. SAUMET, J.L., ABRAHAM, P., JARDEL, A.: Cutaneous Vasodilation Induced by Local Warming, Sodium Nitroprusside, and Bretylium Iontophoresis on the Hand. *Microvascular Research*, 56: 212-217, (1998).
48. SCHABAUER, A.M.A., ROOKE T.W.: Cutaneous Laser Doppler Flowmetry: Applications and Findings. *Mayo. Clin. Proc.*, 69: 564-574, (1994).
49. SEELEY, R.R., STEPHENS, T.D., TATE, P.: *Anatomy Physiology*, second edition, The McGraw-Hill Companies, United States of America, (1996).
50. SHIHHARA, Y., HIROTA, A., KOBAYASHI, Y., NAKAMIYA, T., KODAMA, M.: Skin Blood Flow Responses during Sleep by Laser Doppler Flowmetry. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 53: 117-119, (1999).
51. SPARKS, H.V.: Learning the Regulation of Peripheral Blood Flow. *Am. J. Physiol.*, 277: S164-S173, (1999).
52. STEFANOVSKA, A., BRAČIČ, M., KVERNMO, H.D.: Wavelet Analysis of Oscillations in the Peripheral Blood Circulation Measured by Laser Doppler Technique. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 46(10): 1230-1239, (1999).
53. SUNDBERG, S.: Acute Effects and Long-term Variations in Skin Blood Flow Measured with Laser Doppler Flowmetry. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 44: 341-345, (1984).
54. TASHIRO, Y., KATO, Y., HAYAKAWA, E., ITO, K.: Iontophoretic Transdermal Delivery of Ketoprofen: Effect of Iontophoresis on Drug Transfer From Skin to Cutaneous Blood. *Biol. Pharm. Bull.*, 23(12): 1486-1490, (2000).



55. VANE, J.R., ÄNGGÅRD, E.E., BOTTING, R.M.: Regulatory Functions of The Vascular Endothelium. The New England Journal of Medicine, 323(1): 27-36, (1990).
56. WÅRDELL, K., NAVER, H.K., NILSSON, G.E., WALLIN, B.G.: The Cutaneous Vascular Axon Reflex in Humans Characterized by Laser Doppler Perfusion Imaging. Journal of Physiology, 460: 185-199, (1993).
57. WARREN, J.B.: Nitric Oxide and Human Skin Blood Flow Responses to Acetylcholine and Ultraviolet Light. FASEB J., 8: 247-251, (1994).
58. WEBB, D., VALLANCE, P.: Endothelial Function in Hypertension, Springer, (1997).

## ÖZGEÇMİŞ

- 15.11.1975                      Almanya’da doğdum.
- 1981 – 1986                      İzmir / Kemalpaşa’da Cumhuriyet İlkokulu’nu bitirme.
- 1986 – 1992                      İzmir / Kemalpaşa Lisesi’nden mezun olma.
- 1993 – 1998                      Ege Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik tahsili.
- 1998 (Eylül)                      Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimine başlama.
- 10–11 Aralık 1998              “Patch-Clamp Tekniği ve İyon Kanalları” ve “Elektromanyetik Reseptörler” konulu seminerlere katılım (Eskişehir).
- 19-30 Temmuz 1999            “Beyin Dinamiği: Nörofizyoloji ve Kognitif Süreçlerde Entegrasyon” başlıklı Lisansüstü Yaz Okulu’na katılım (Diyarbakır).
- 31 Ekim-2 Kasım 1999            “XI. Ulusal Biyofizik Kongresi” ne katılım (Antalya).
- 20-21 Aralık 1999              “Ege Çalıştayı” na katılım (İzmir).
- 5-7 Eylül 2001                    “XIII. Ulusal Biyofizik Kongresi” ne katılım (Eskişehir).
- 16-20 Mart 2002                “I. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi” ne katılım (Eskişehir).