

T. C  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ

**BOTULİNUM TOKSİNİNİN ARTERİYEL  
VAZOKONSTRÜKSİYONA  
ETKİLERİNİN İN VİTRO VE İN VİVO  
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Nazmi YOĞURTÇU

**2017- İZMİR**

T. C  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ

**BOTULİNUM TOKSİNİNİN ARTERİYEL  
VAZOKONSTRÜKSİYONA  
ETKİLERİNİN İN VİTRO VE İN VİVO  
KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Nazmi YOĞURTÇU

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ**

Prof. Dr. Can KARACA

## İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ .....	IV
ŞEKİL LİSTESİ .....	V
RESİM LİSTESİ .....	VI
KISALTMALAR LİSTESİ .....	VII
ÖZET .....	X
ABSTRACT .....	XII
1-GİRİŞ .....	1
2-GENEL BİLGİLER.....	2
2. 1. Plastik Cerrahide Mikrocerrahi Tarihçesi .....	2
2. 1. 1. Mikrocerrahinin Doğuşu ve Gelişmesi .....	5
2. 2 Arterin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonu.....	8
2. 2. 1. Arter Duvarının Hücresel Yapısı.....	8
2. 2. 2. Arterlerde Kasılma Fizyolojisi .....	9
2. 3. Arter Vazospazmında Kullanılan Vazoaktif Maddeler .....	11
2. 3. 1. Adrenalin .....	11
2. 3. 2. Asetil Kolin .....	12
2. 3. 3. Noradrenalin.....	13
2. 4. Arter Vazospazmında Kullanılan Vazodilatatör Maddeler .....	14
2. 4. 1 Papaverin.....	14
2. 4. 2 Lidokain .....	15
2. 5 Botulinum Toksin (BTx).....	15
2. 5. 2. BTx'in Yapısal Özellikleri ve Etki Mekanizması .....	16
2. 5. 2. BTx'in İmmunolojik Özellikleri .....	21

2. 5. 3. Doz Önerileri ve Saklama Koşulları .....	22
2. 5. 4. Sıçanlarda Uygulanabilecek BTx-A Dozları ve Etki Süresi .....	23
2. 5. 5. Tedavi Endikasyonları ve Yeni Uygulamalar .....	23
2. 5. 6. İlaç Etkileşimleri .....	24
2. 5. 7. Bölgesel Yan Etkiler .....	25
2. 5. 8. Sistemik Yan Etkiler .....	26
2. 6. Mikrocerrahi Sonrası Damar Akımı Takibi .....	26
2. 6. 1. Yöntemler.....	26
2. 6. 2. Lazer Doppler Flowmetri (LDF).....	26
2. 6. 2. 1. Lazer.....	26
2. 6. 2. 2. Doppler Kayması.....	28
2. 6. 2. 3 LDF'nin Tarihsel Gelişim Süreci.....	30
2. 6. 2. 4. LDF Tekniğinin Gelişimi.....	31
2. 6. 2. 5. LDF Cihazının Yapısı .....	32
2. 6. 2. 5. 1. Lazer Işın Kaynakları .....	32
2. 6. 2. 5. 2. Foto-detektörler.....	33
2. 6. 2. 5. 3. Fiber Optik Düzen.....	33
2. 6. 2. 5. 4. Sinyal İşleme .....	33
2. 6. 2. 6. Cihazın Ölçüm Şekli ve Ölçüm Derinliği .....	34
2. 6. 2. 7. LDF'nin Teorik Temeli.....	34
2. 6. 2. 8. LDF Ölçümlerinde Kullanılan Birimler.....	35
2. 6. 2. 9. LDF Metodunun Tıpta Kullanım Alanları .....	36
2. 6. 3. Doppler Ultrasonografi (DU).....	37
2. 6. 3. 1. DU'nun Teorik Temeli.....	37

2. 6. 3. 2. DU'de İnceleme Yöntemleri .....	38
2. 6. 3. 2. 1. Sürekli Dalga Formu Doppler .....	38
2. 6. 3. 2. 2. Puls Formu Doppler .....	38
2. 6. 3. 2. 3. Spektral Doppler USG (SDU).....	39
2. 6. 3. 2. 4. Renkli Doppler USG (RDU).....	40
2. 6. 3. 2. 5. Power Doppler USG (PDU).....	40
2. 6. 3. 3. Hemodinami ve Akımın Değerlendirilmesi .....	40
<b>3-GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>43</b>
3. 1. Deney Hayvanları.....	43
3. 2. Deneyde Kullanılan Malzemeler.....	43
3. 3. Deney Grupları.....	43
3. 4. Deney Cerrahisi Akış Planı .....	43
3. 5. Hayvanların Sakrifikasyonu.....	46
3. 6. Değerlendirme .....	46
<b>4-BULGULAR ve SONUÇLAR.....</b>	<b>47</b>
4. 1. Vazoaktif Maddelerin Kan Akış Hızına (KAH) Etkileri .....	47
4. 2. Vazoaktif Maddelerin Damar Çaplarına Etkileri .....	58
<b>5-TARTIŞMA.....</b>	<b>61</b>
<b>6-SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>68</b>
<b>7-KAYNAKLAR .....</b>	<b>69</b>

## **TABLO LİSTESİ**

**Tablo 1:** Adrenalin uygulanan grupta KAH verileri

**Tablo 2:** Papaverin uygulanan grupta KAH verileri

**Tablo 3:** %2'lik lidokain uygulanan grupta KAH verileri

**Tablo 4:** %20'lik lidokain uygulanan grupta KAH verileri

**Tablo 5:** 6 IU Botulinim toksin A uygulanan grupta KAH verileri

**Tablo 6:** 12 IU Botulinim toksin A uygulanan grupta KAH verileri

**Tablo 7:** 18 IU Botulinim toksin A uygulanan grupta KAH verileri

## **ŞEKİL LİSTESİ**

**Şekil 1:** Damar anastomozlarında kullanılan invaginasyon tekniği

**Şekil 2:** Payr'ın coupling device aletinin benzeri

**Şekil 3:** Carrell'in 3 dikiş tekniği

**Şekil 4:** BTx'in yapısal özellikleri

**Şekil 5:** BTx'in presinaptik nörona bağlanması

**Şekil 6:** BTx'in hücre içine girmesi

**Şekil 7:** BTx'in presinaptik nöronda asetilkolin salınımını bloke etmesi

**Şekil 8:** BTx'in serotipleri

**Şekil 9:** BTx aktivitesinin sonlanma aşamaları

**Şekil 10:** Lazerin şematik yapısı

**Şekil 11:** Günümüzde kullanılmakta olana LDF cihazları

**Şekil 12:** İletici ve toplayıcı şematik görünümü

**Şekil 13:** Çalışmamızda kullanılan spektral el doppleri

**Şekil 14:** Vazoaktif maddelerin Kan Akım Hızına Etkileri

**Şekil 15:** Vazoaktif maddelerin Damar Çaplarına Etkileri

## RESİM LİSTESİ

**Resim 1:** Sağ femoral arter diseksiyonu ardından spektral el doppler yardımıyla akım ölçülmesi

**Resim 2:** Adrenalin uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Resim 3:** Adrenalin uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

**Resim 4:** Papaverin uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Resim 5:** Papaverin uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

**Resim 6:** % 2 Lidokain uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Resim 7:** % 2 Lidokain uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

**Resim 8:** % 20 Lidokain uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Resim 9:** % 20 Lidokain uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

**Resim 10:** 6 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Resim 11:** 6 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

**Resim 12:** 12 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Resim 13:** 12 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

**Resim 14:** 18 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Resim 15:** 18 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı



## **KISALTMALAR**

**BTx-A:** Botulinum toksin tip A

**BTx-B:** Botulinum toksin tip B

**cm:** Santimetre

**Er: YAĞ:** Erbiyum: YAG (Yttrium-Aluminum-Garnet) Lazer

**He-Ne:** Helyum-Neon Lazer

**Hz:** Hertz

**Ho: YAG:** Holmiyum: YAG (Yttrium-Aluminum-Garnet) Lazer

**Kd:** Kilodalton

**KHz:** Kilohertz

**LDF:** Lazer Doppler Flowmetri

**LD50:** median lethal dose

**Mg:** miligram

**ml:** mililitre

**mm:** milimetre

**mmHg:** Milimetre cıva

**MU:** mouse unit

**Nd: YAG:** Neodmiyum: YAG (Yttrium-Aluminum-Garnet) Lazer

**PDU:** Power Doppler Ultrasonografi

**RDU:** Renkli Doppler Ultrasonografi

**RI:** Rezistivite İndeks

**SDU:** Spektral Doppler Ultrasonografi

**SNAP-25:** 25 synaptosome associated protein

**SPSS:** Statistical Package for Social Sciences

**ss:** Standard Sapma

**USG:** Ultrasonografi

**V:** Volt

**VAMP:** Vesicle-associated membrane protein

**VEGF:** Vascular endothelial factor

**µm** mikrometre

**µg:** mikrogram

**nm:** Nanometre



## TEŞEKKÜR

Tıbbi branşlar arasında en uzun ve en zorlu sürece sahip olan Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi uzmanlık eğitim hayatımda eğitim sorumlu hocam olduğu için şanslı hissettiğim, asistanlık eğitim hayatım boyunca gerek yurt içi; gerek yurt dışı deneyimlerimde her zaman desteğini ve inancını hissettiğim, mesleki rol modelim olan çok değerli hocam Prof. Dr. Can Karaca'ya başta olmak üzere, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Ali Barutçu, Prof. Dr. Mustafa Yılmaz, Prof. Dr. Adnan Menderes, Prof. Dr. Haluk Vayvada ve Doç. Dr. Cenk Demirdöver'e teşekkürü borç bilirim.

Asistanlık eğitimim boyunca acı tatlı birçok anıyı paylaştığım, beraber ağlayıp beraber güldüğümüz anabilim dalı sekreterimiz Tülay Güler'e, poliklinik sekreterimiz Figen Çardak'a, servis sekreterimiz Gülay Turgut Elölen'e, personelimiz Melek Çıbuk ve özellikle ameliyathane personelimiz M. Erdi Kuş'a, tüm servis ve ameliyathane hemşire ve personellerine teşekkür ederim.

Hayata gelmemi sağlayan, topluma yararlı bir birey olma çabamda en büyük pay sahibi olan, attığım her adımda doğru ya da yanlış olduğuna bakmadan arkamda duran, başarılarımda en büyük pay sahibi, en büyük gurur kaynağım olan ve evlatları olmaktan her daim onur duyacağım babam Semir Yoğurtçu'ya, annem Mihriban Yoğurtçu'ya, ben olmamda sonsuz emeği olan abim Mehmet Nedim Yoğurtçu ve kardeşim Nilay Yoğurtçu'ya minnet ve sonsuz sevgi ile teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Nazmi YOĞURTÇU



## ÖZET

Başlık: Botulinum Toksininin Arteriyel Vazkonstrüksiyona Etkilerinin İn Vitro ve İn Vivo Karşılaştırılması

Araştırmacının Adı, Fakültesi ve yazışma Adresi

Dr. Nazmi Yoğurtçu, nazmiyogurtcu@hotmail.com

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi(DEUTF) Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

### Amaç ve Hipotez:

Serbest doku nakilleri komplike vücut deformitelerinde sıklıkla kullanılan mikrocerrahi prosedürlerdir. Cerrahi sonrası flep veya organ kayıpları arasında birçok sebep bulunur. Bunlar hastaya bağlı faktörler, kullanılan cerrahi teknik, cerrah tecrübesi, vasküler manipülasyon derecesi ve postoperatif cerrahi bakımı gibi faktörlerdir. Bu faktörler arasında en önemli problem vasküler spazm ve vasküler trombozlardır. Bu vasküler trombozlar arteriyel ve venöz kaynaklı olabilir.

Çalışmamızda Plastik cerrahide serbest doku nakilleri ve replantasyon cerrahisinde intraoperatif olarak sık kullanılan ajanların (papaverin, heparin ve lidokain) kısa süreli etkiye sahip olması göz önünde bulundurularak; Botulinum toksin A'nın uzun süreli etkisinden (3 ay) faydalanılarak vazospazm ve tromboza bağlı komplikasyonlarda düşüş sağlanması hipotezi kurulmuştur.

### Gereç ve Yöntem:

Çalışmada ortalama ağırlıkları 200 – 230 gram olan, 30 adet Wistar türü Albino suşu dişi sıçan kullanıldı.

Grup 1 Negatif Kontrol (n:4): Adrenalin uygulanan grup

Grup 2 (n:4): Papaverin uygulanan grup

Grup 3 (n:4): %2'lik lidokain uygulanan grup

Grup 4 (n:4): %20'lik lidokain uygulanan grup

Grup 5 (n:4): 6 ü Botulinum toksin A uygulanan grup

Grup 6 (n:4): 12 ü Botulinum toksin A uygulanan grup

Grup 7 (n:4): 18 ü Botulinum toksin A uygulanan grup

Sıçanlar 7 gruba ayrıldıktan sonra her grupta sağ ve sol femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri yöntemiyle işlem öncesi ve işlem sonrası olmak üzere 2 kez kan akım hızı ölçüldü.

İki adet sıçandan sol ve sağ femoral arter diseksiyonunu takiben femoral arter 3 cm uzunluğunda eksize edilerek serum fizyolojik ile damar segmenti ve lümeninin yıkanması ardından 7 adet 2 mm genişliğinde halka şeklinde vasküler yapılar elde edilerek ayrı petri kaplarına alınacak olup in vivo olarak uygulanan tedavi in vitro olarak uygulandı. Damar çapları ölçülerek kayıt altına alındı.

### **Bulgular:**

El doppleri yardımıyla akım hızı ölçümlerinde;12 ve 18 IU BTx-A dozlarının rutin işlemlerde en sık kullanılan papaverine göre kan akım hızında belirgin artış etkisinin olduğu saptandı. Ayrıca 6 IU BTx-A'nın yine rutinde sık olarak kullanılan %2 ve %20 lidokaine kan akım hızında artış etkisinde benzer etkilere sahip olduğu; 12 ve 18 IU BTx-A dozlarının rutin işlemlerde sık kullanılan %2 ve %20 lidokaine göre kan akım hızında belirgin artış etkisinin olduğu saptandı. Yapılan ölçümlerde 12 ve 18 IU BTx-A dozlarının rutin işlemlerde en sık kullanılan papaverine göre damar çapında belirgin artış etkisinin olduğu saptandı. Ayrıca 6 IU BTx-A'nın yine rutinde sık olarak kullanılan %2 ve %20 lidokaine göre damar çapında artış etkisinde benzer etkilere sahip olduğu; 12 ve 18 IU BTx-A dozlarının rutin işlemlerde sık kullanılan %2 ve %20 lidokaine göre damar çapında belirgin artış etkisinin olduğu saptandı.

### **Sonuç:**

Elde edilen bulgular sonucunda BTx-A'nın vazokontrüksiyon üzerine etkilerinin klasik vazodilatatör ajanlara üstünlüğü gösterilmiş olup; intraoperatif tedavi protokollerinde diğer ajanlara alternatif olabileceği veya birlikte kullanabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Botulinum toksin, Vazkonstrüksiyon, Kan Akım Hızı, Damar Çapı, Spektral Doppler

## **ABSTRACT**

Title: Comparison of In Vitro and In Vivo Effects of Botulinum Toxin on Arterial Vasconstriction

Name, Faculty and Address

Nazmi Yoğurtçu MD, nazmiyogurtcu@hotmail.com

Dokuz Eylül University Faculty of Medicine

Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, Inciralti-Izmir-Turkey

### **Aim and Hypothesis:**

Free tissue transplantations are frequently used microsurgical procedures in complicated body deformities. There are many causes between flap and organ loss after surgery. These are factors such as patient-related factors, surgical technique used, experience of surgeon, degree of vascular manipulation, and postoperative surgical care. The most important problem among these factors is vascular spasm and vascular thrombosis. Vascular thromboses can be caused by arterial and venous origin. In our study, taking into account the short-term effects of commonly used intra-operative agents (papaverine, heparin and lidocaine) in free tissue transplants and replantation surgeons in plastic surgery. The long-term effect of Botulinum toxin A (3 months) has been hypothesized as providing a reduction in vasospasm and thrombocyte-associated complications.

### **Materials and Method:**

In the study, 30 Wistar-type Albino strain female rats with average weights of 200 - 230 g were used.

Group 1 Negative Control (n: 4): Adrenaline applied group

Group 2 (n: 4): Group treated with papaverine

Group 3 (n: 4): Group treated with 2% lidocaine

Group 4 (n: 4): Group treated with 20% lidocaine

Group 5 (n: 4): Group treated with 6 iU botulinum toxin

Group 6 (n: 4): Group treated with 12 iU botulinum toxin

Group 7 (n: 4): Group treated with 18 iU botulinum toxin

After 7 groups of rats were separated, the blood flow velocity was measured twice before and after the treatment with the spectral hand-Doppler method in vivo following right and left femoral artery dissection in each group.

Following the dissection of two left and right femoral arteries of the rat, the femoral artery is excised 3 cm in length. After washing of the vessel segment and lumen with saline physiology, 7 piece 2 mm wide ring vascular structures are obtained and taken in separate petri dishes. The diameters of the chambers were measured and recorded.

### **Findings:**

In the flow velocity measurements with the hand Doppler, 12 and 18 iU doses of BTx-A were found to be significantly increased in blood flow rate compared to the most commonly used papaverine in routine procedures. In addition, 6 iU dose of BTx-A had similar effects on the increase in blood flow rate of 2% and 20% of lidocaine, which are frequently used in the routine of BTx-A; The 12 and 18 iU doses of BTx-A were found to be significantly increased in blood flow rate compared to the 2% and 20% lidocaine commonly used in routine procedures. In the measurements made, 12 and 18 iU doses of BTx-A were found to be significantly increased in vessel diameter compared to the most commonly used papaverine in routine procedures. In addition, 6 iU dose of BTx-A had similar effects on the increase in vessel diameter compared to 2% and 20% lidocaine, which are frequently used in the routine of BTx-A; The 12 and 18 UIU doses of BTx-A were found to be significantly increased in the vessel diameter compared to the commonly used 2% and 20% lidocaine in routine procedures.

### **Results:**

As a result of the obtained findings, the effects of BTx-A on vasoconstriction have been shown to be superior to classical vasodilator agents; We think that they may be alternatives to other agents in intraoperative treatment protocols or they may be used together.

### **Keywords:**

Botulinum toxin, Vasoconstriction, Blood Flow Velocity, Vein Diameter, Spectral Doppler



## 1-GİRİŞ

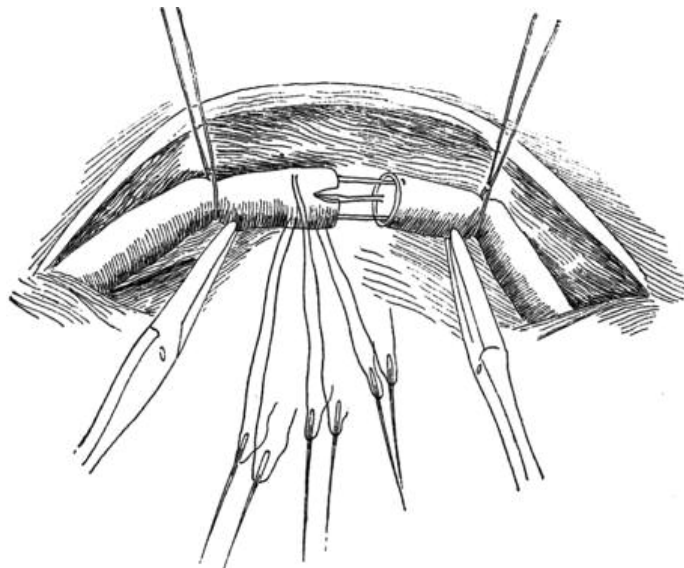
Serbest doku nakilleri komplike vücut deformitelerinde sıklıkla kullanılan mikrocerrahi prosedürlerdir. Cerrahi sonrası flep veya organ kayıpları arasında birçok sebep bulunur. Bunlar hastaya bağlı faktörler, kullanılan cerrahi teknik, cerrah tecrübesi, vasküler manipülasyon derecesi ve postoperatif cerrahi bakımı gibi faktörlerdir. Bu faktörler arasında en önemli problem vasküler spazm ve vasküler trombozlardır. Bu vasküler trombozlar arteriyel ve venöz kaynaklı olabilir. İntraoperatif olarak papaverin, %2 ve % 20'lik lidokain uygulaması; postoperatif dönemde antiaggregan ve antitrombotik ajanların kullanılması vasküler tromboz ve spazmı önlemeye yönelik tedavi yöntemleri arasındadır(1, 2)

Bu çalışmada Plastik cerrahide serbest doku nakilleri ve replantasyon cerrahisinde intraoperatif olarak sık kullanılan ajanların (papaverin, heparin ve lidokain) kısa süreli etkiye sahip olması göz önünde bulundurularak; Botulinum toksin A'nın uzun süreli etkisinden (3 ay) faydalanılarak vazospazm ve tromboza bağlı komplikasyonlarda düşüş sağlanması hipotezi kurulmuştur.

## 2-GENEL BİLGİLER

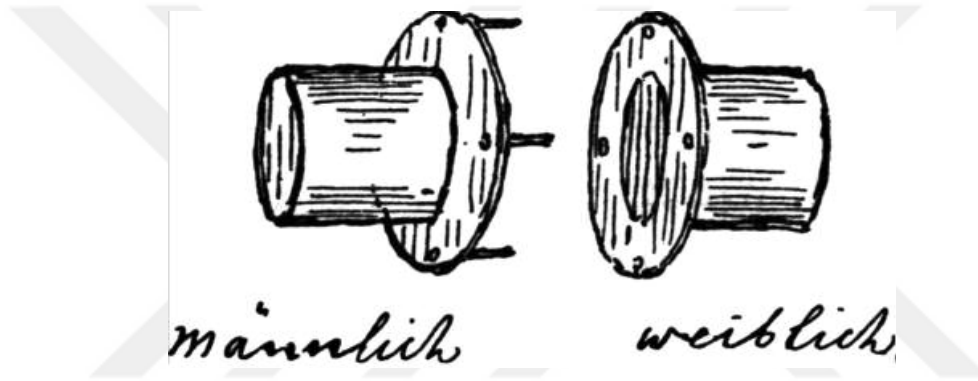
### 2. 1. Plastik Cerrahide Mikrocerrahi Tarihçesi

Mikrocerrahinin tarihçesi mikroskobun tarihçesi ve damar cerrahisinin tarihçesi le sıkı ilişki içindedir. Mikroskobun tam olarak ne zaman icat edildiğine dair kesin bir tarih olmasa da, 1590 veya 1618 tarihlerinde, Hollanda veya İtalya da icat edildiğine dair bilgiler çoğunluktadır (3). Birinci kuşak diye adlandıracağımız mikroskoplar 1590 ile 1921 tarihleri arasında kullanılan mikroskoplar olup daha çok mikro organizmaların araştırmalarında kullanılmıştır. 1921 yılında kulak burun boğaz doktoru olan Nylen ilk olarak monooküler mikroskobu orta kulak girişimlerinde kullanmıştır. İsveç'te yine bir kulak burun boğaz doktoru olan Holmgren ikinci kuşak olan binoküler mikroskobu geliştirmiştir. 1940 yılının ortalarında göz doktorlarının da mikroskobu kullanmaya başlamasıyla Avrupa'da yaygın halde kullanılmaya başlanmıştır (4, 5). Yazılı literatürde 18. yüzyılın sonuna kadar damarlardaki cerrahi girişiminin sadece damarı bağlamaktan ibaret olduğu, bu asrın sonuna doğru toplam 9 damar anastomozunun başarılı olduğu literatürde yayınlanmıştır(6). 1877 de Leningard'da Eck deneysel olarak köpekler de ilk porto-kaval anastomoz ameliyatını gerçekleştirerek sonuçlarını yayınlamıştır (7). 1896 yılında Amerika'nın Şikago şehrinde Murphy, 29 yaşında karnından ve kasığından kurşunlanan İtalyan gencin, femoral arterin yaralanan kısmını tamamen rezeke ettikten sonra, arteri invaginasyon tekniği ile onarmıştır (Şekil 1).



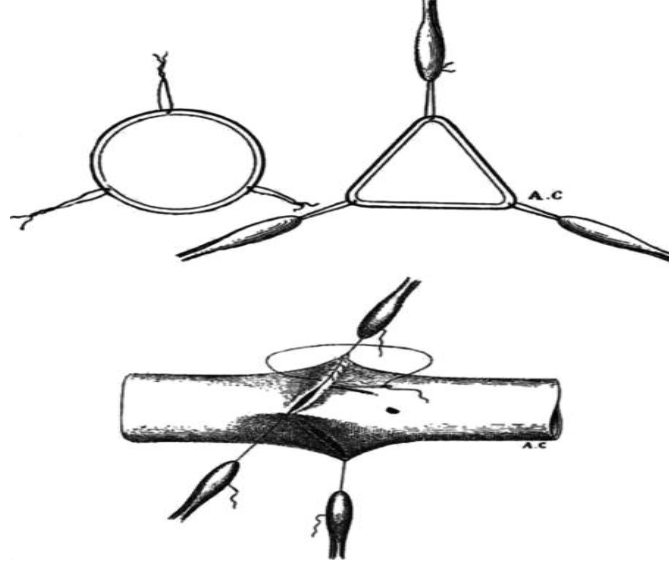
**ŞEKİL 1:** Damar anastomozlarında kullanılan invaginasyon tekniği

Bu ameliyat tekniği daha önce venlerde uygulanmış olmasına rağmen, Murphy bu işlemi arterde yaparak hastanın hayatını kurtarmış ve literatüre katkı sağlamıştır(8). 1897 yılında Moskova'da yapılan uluslararası tıp kongresinde İstanbul'dan Cemil Topuzlu Paşa aksiller arter onarımı yaptığı iki vakayı sunmuştur(9). Bu tarihten sonra damarlar da anastomoz yapılabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. 1901 de Almanya'dan Payr küçük magnezyum tüplerinin içerisinden damarları geçirip damarların uç kısmını evertte ederek anastomoz yapmayı kolaylaştıran, bugün mikrocerrahi damar anastomozlarında kullandığımız coupling device, aletin bir benzerini yapmıştır(Şekil 2)(10).



**ŞEKİL 2:** 1901 yılında Payr'nin magnezyum tüplerinden yapmış olduğu anastomoz yapmayı kolaylaştıran, bugün mikrocerrahi damar anastomozlarında kullandığımız coupling device, aletin bir benzeri.

Carrel Fransa'daki Lyon üniversitesine akademisyen olmak için iki defa imtihana girmiş, imtihanda başarısız olması üzerine Fransa'yı terk ederek Şikago üniversitesinde fizyoloji anabilim dalında çalışmaya başlamıştır. Burada yapmış olduğu çalışmalarda damar cerrahisinde kullanılan 3 dikiş tekniğini yayınlayarak, çığır açmıştır (Şekil 3)(11).



**ŞEKİL 3:** Carrell'in damar cerrahisinde kullanılan 3 dikiş tekniği

On dokuzuncu asrın başlarında damar anastomozunun temel prensipleri ortaya çıkmaya başlamış ve damar anastomozunda damarın intima tabakasının suture dâhil edilip edilmeyeceği tartışılmaya başlanmıştır(6, 12-18). 1904 yılında, Carrel ve Guthrie damar cerrahisi için uygun alet, dikiş ve dikiş iğneleri ürettikten sonra, köpeklerde böbrek, kalp over, tiroid nakilleri ve arter defektlerinde ven greftlerini kullandılar. 1906 yılında ise bir köpekten diğer köpeğe, uyluk nakli yapıldı. Ancak 50 saat sonra bacakta venöz problem olduğu görülüp eksplorasyon için ameliyata aldılar. Ameliyat bulgusu olarak damarlarda kan akımının normal olduğu, bu dolaşım probleminin nedenin baskılı pansuman olduğunu bildirdiler. 1916 yılında Johns Hopkins Üniversitesi tıp fakültesinde öğrenci olan Jay Mclean tarafından heparin keşfedildi(19). 1930 yıllarında Charles ve Scott tarafından damar cerrahisinde heparin ilk olarak kullandı(20). Bu tarihten sonra heparin damar cerrahisinde kullanılan temel ilaç olarak kabul edildi. İkinci Dünya savaşı ve Kore savaşında gerek deneysel olarak gerekse klinik uygulamalarda binlerce damara cerrahi işlemi yapıldı. Fakat bu damarlar genellikle büyük damarlar olup çapları 3 mm üzerinde idi. 3 mm altında damar anastomozlarında ise %30-40 oranında trombozların geliştiği görüldü. 1950'li yıllarda artık 5-6 mm'nin altındaki damar anastomozlarında tromboz oluşmasının kaçınılmaz olduğu düşüncesi yerleşti(21, 22).

## 2. 1. 1. Mikrocerrahinin Doğuşu ve Gelişmesi

1960 yılında Amerika'da Vermont Üniversitesi araştırma merkezinde çalışan Jacobson'un mikroskobu damar cerrahisinde kullanması mikrocerrahinin doğuşu olarak kabul edilmektedir. Jacobson fizyoloji laboratuvarında birlikte çalıştığı arkadaşı, kendisinden köpek karotis arterinin otonomik sinirlerden denervasyon yapmasını isteyince, bunun en iyi yolunun arteri kesip tekrar anastomoz yapılması olacağını söyledi. Ancak o tarihlerde küçük damar anastomozlarının kaçınılmaz sonucu olarak kabul edilen tromboz gelişeceğini düşünüyordu. Karotis arter anastomozlarında, kuyumcuların kullandığı büyütme gözlüğü ve özel pensetleri kullanmasına rağmen tromboz oluşuyordu. Bu işlemlerden sonra aslında cerrahi manipülasyonlarda problemlerin olmadığı ancak damarların lümenini görmede problem olduğunu anladı. Bunun üzerine kulak burun boğaz cerrahlarının kullandıkları mikroskobu kullanarak tekrar anastomozlar yaptı ve damarlarda trombozların oluşmadığı ve kan akımının varlığı dikkatini çekti(23). Bundan sonra Dr. Jacobson Carl Zeiss firmasıyla iletişim kurarak 1961 yılında çift taraflı binoküler mikroskop geliştirildi ve bu mikroskobu diploskop olarak adlandırdı. Dr. Jacobson ve Suarez damar cerrahisinde kullandığı aletler, iğne ve dikişlerin çok kaba olduğunu fark edip kuyumcuların kullandığı daha hassas aletler, çok küçük dikiş iğneleri ve dikişler geliştirdi. 1960 yılında 20 köpekte çapı 3. 2 mm olan ve 6 tavşanda çapı 1. 4 mm olan damarlarda yaptığı anastomozların hiçbirinde tromboz gelişmediğini gördü(18). Carrel ve Guthrie köpekten köpeğe uyluk nakli yaptıktan sonra Amerika, Japonya, Rusya'da cerrahi ekipler oluşturularak organ nakli üzerine çalışmaya başlamışlardır. 1958 yılında Tamai ve Onji Japonya Nara Üniversitesi'nde bacağına orta kısmından kopmuş olan 12 yaşındaki bir kız çocuğuna revaskülarizasyon yaptı. Ancak hasta ameliyatın 4. haftasında enfeksiyon nedeniyle kaybedildi. Ağustos 1959 yılında yine kopmuş bacağı olan başka bir hastaya revaskülarizasyon yapıldı. Daha önceki hastadan edinmiş oldukları tecrübeden yararlanarak, yaptıkları ameliyat başarılı oldu ve hasta hayatta kaldı. Bu tarihten sonra iskemi-reperfüzyon hasarı konuları gündeme gelerek bu konuda çalışılmaya başlandı(24). Bu yıllardan sonra ampute olan alt ve üst ekstremiteler replante edilmesi için büyük bir gayret sarf edilmeye başlandı. 1963 yılında Amerika'nın Louisville kentinden Kleinert ve ark. üst ekstremitesi kopan 4 farklı hastaya revaskülarizasyon yaptığını yayınladı (25). 1962 yılında Malt ve McKhanmayis kolu kopan 12 yaşında ki bir çocuğa ilk ön kol replantasyonunu gerçekleştirdi(26). Bu tarihe kadar yapılan bütün replantasyon vakaları el bileği veya daha proksimalindeki replantasyon vakaları olup hiçbirinde mikroskop kullanılmamıştı. Aynı otörler kopan parmakları da replante etmeye çalışmış ancak başarılı olamamışlardı. 1960'lı

yılların başında Yaşargil mikroskobu beyin cerrahi ameliyatlarında kullanmaya başlamış kendi adı ile bilinen birçok mikrocerrahi aleti dizayn etmiş dünyanın ileri gelen mikrocerrahları arasına girmiştir(27). İkinci dünya savaşı ve sonrasında doku nakli gerektiğinde, İngiltere'den Gillies'in geliştirdiği tüp pedikül ile gerçekleştiriliyordu. Bu tekniğin birçok zorlukları olduğunu İngiltere'nin Glasgow Üniversitesinde çalışan Gibson'un dikkatini çekmişti. 1958 yılında yanında araştırma asistanı olarak çalışan Buncke'ye tüp pedikül tekniği yerine doku nakli yapıp, nakil edilen doku ile alıcı bölge arasında yeni damarların gelişinceye kadar vücut dışında geçici kan dolaşımını sağlanması konusunda çalışmasını istedi. Bu çalışmanın sonunda Buncke oksijenatör ile dokunun damarları arasında bağlantılarla ilgili birçok teknik problem olduğu gördü. Bunun üzerine Gibson, Buncke'ye doku transplantasyonunda damarları anında anastomoz yapmayı önerdi(28). Ancak bu o tarihlerde çok zordu. Buncke Jacobson'nun dizayn etmiş olduğu dikiş iğnelerini modifiye ederek mikroskop altında damar çapı 0,8 mm olan damarları tavşan kulaklarında anastomoz yapmaya başladı. Yaptığı ilk 54 damar anastomoz başarısız oldu ancak 1964 yılında deneysel olarak ilk başarılı tavşan kulak replantasyonunu gerçekleştirdi(12). Buncke evinin garajında 75 mikron çapındaki dikiş iğnelerinin arka kısmına eliyle 25 mikronluk delikler açıp Japon pazarından almış olduğu ipek kozalaklarındaki ipekleri bu deliğe yerleştirerek mikrocerrahide kullanılan dikişler üretti. Bundan dolayı bazı literatürlerde Buncke mikrocerrahinin babası olarak yazılmaktadır(29). 1965 yılında Buncke ve Schulz maymunlarda ayak parmağını ele nakil ameliyatını gerçekleştiren kişiler olarak literatüre girmiştir(30). 1965 yılında Japonya'dan Nara kopmuş olan işaret parmağı replante ettiği, Kamatsu and Tamai sol el baş parmağı kopan 28 yaşındaki bir hastaya ilk olarak replantasyon yapıldığı yayınlanmıştır(31).

Nisan 1967 yılında, İngiltere'den Cobbett, elini hızar makinesine kaptırarak başparmak, işaret ve orta parmağı ampute olan 28 yaşındaki hastaya, ayak parmağını başparmak rekonstrüksiyonu için nakil yaptı(32). Mikrocerrahide mikroskobun kullanılması sonucunda başarıyı ne kadar etkilediğini gösteren yayın Çin'in Şangay kentinden Prof. Chung-Wei'ye aittir. 1971 yıllarında mikroskopları olmadığı için mikroskop kullanmayarak yapmış oldukları parmak replantasyonda başarı oranı %51 iken mikroskop kullandıktan sonra başarı oranları%91,5 çıkmıştır(32, 33). 1960 yıllarının sonuna kadar mikrocerrahi çoğunlukla replantasyon cerrahisi veya deneysel modellerde doku nakilleri yapılmıştır. 1970'li yıllarından sonra mikrocerrahi olgunlaşmaya başlamıştır.

Deneyisel alışmalar devam etmiş, mikrocerrahi teknikleri geliştirmiş, damarlarda kan akımın durduran buna karşılık damarlarda hasar oluşturmayan damar klempleri kullanıma girmiştir. 1970'li yılların başında dokuların damar anatomisinin daha iyi bilinmesinin sonucu olarak serbest doku nakil ameliyatlari yapılmaya başlanmıştır. 1972 yılında skalp rekonstrüksiyonu için serbest ilk omentum flebi, 1973 yılında serbest kasık flebi yapılmıştır(34, 35). Dünyada mikrocerrahi gelişirken, ülkemizde de mikrocerrahinin gelişimi sıkı bir şekilde takip edilmiştir. Ülkemizde ilk mikrocerrahi girişim Güngören tarafından ulnar arter ve sinir kesisi olan 18 yaşında bir hastaya Ankara'da ankaya Hastanesinde Eylül 1976 yılında yapılmıştır. Yine aynı yıl İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinde Güngören ve ekibi tarafından parmak replantasyonu, serbest ileum transferi, ayaktan ele parmak nakli, serbest kasık flebi gibi mikrocerrahi ameliyatlari yapıldı. Ülkemizde yapılan ilk deneysel mikrocerrahi çalışması 1977 yılında Erçetin tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada köpeklerde interkostal damarlar üzerinden kosta periostu kasık bölgesine nakil edilerek periost kaynaklı yeni kemik oluşumu araştırılmıştır. Ülkemizde, mikrocerrahi derneğinin kurulması Fransız Pasteur Hastanesi'nde 1987'de olmuştur(9). 1998 yılına kadar, birçok deneysel ve klinik doku nakilleri, doku nakilleri sonrasında trombozu önleyecek ilaç araştırmaları, mikrocerrahi aletlerinin ve mikroskopların geliştirilmesi gibi mikrocerrahide başarıyı artırmaya yönelik çabalar olmuştur.

## 2. 2 Arterin Morfolojik Yapısı ve Fonksiyonu

### 2. 2. 1. Arter Duvarının Hücresel Yapısı

Çap ve fonksiyon olarak sınıflandırıldığında arterler 3 gruba ayrılır(36). Aorta ve kommon iliak arter gibi büyük elastik arterler, diyastol sırasında kasılarak hidrostatik kan basıncının devamının sağlanmasına yardımcı olurlar. Koroner ve süperfisiyal femoral arterler gibi orta ve küçük musküler arterler, kan akım dağılımını regüle eder ve küçük arteriyoller vasküler tonusu düzenler. Hangi boyda olursa olsun tüm arterler üç farklı tabakadan oluşur. Bunlar sırasıyla lümeden dışa doğru 1. tunica intima, 2. tunica media, 3. Tunica adventisyadır. Tunica intimada bazal membran üzerine yerleşmiş tek sıra endotelial hücreler bulunur. Bu iki katmanın altında subendotelial bağ dokusu ve internal elastik lamina bulunur. Normalde intima çok incedir. Ancak yaş ve ateroskleroz gibi hastalıklara sekonder olarak kalınlaşabilir.

Endotelial hücreler mezenkimal kaynaklı olup içerdikleri ultrastrüktürel yapılarla karakterizedir. Bu yapılar hücreyi çeviren bir bazal lamina, pinositik veziküller ve Weibel Palade cisimleri olarak bilinen intrasitoplazmik yapılardır(37). Weibel-Palade cisimleri von Willebrand faktörü salınmasıyla ilgili yapılardır. Endoteliumun ayrıca anjiyogenezis, hemostazis, inflamasyon ve vasküler tonus ayarlanması ile ilgili kritik görevleri vardır(38). Pinositik veziküller aracılığıyla oluşturulan bir sistemle de endotelium, kanla damar duvarı arasında molekül alışverişi sağlar.

Arterin media tabakası bağ dokusu matriksi ile çevrelenmiş düz kas hücrelerinden oluşur. Bu katman musküler arterlerde, normalde intima ve adventisya tabakalarından daha kalındır. Düz kas hücreleri aktin ve miyozin filamentleri içerir. Bu aktin ve miyozin filamentlerinin kontraksiyon ve relaksasyonu damar yapısının ayarlanmasını sağlar. Düz kas hücreleri ayrıca damar duvar yapısındaki bağ dokusunun önemli bir bölümünü üretirler. Media v tabakasındaki düz kas hücrelerinin migrasyon ve proliferasyonu, intimal proliferasyon ve ateroskleroz patogenezinde çok önemli rol oynar.

Adventisya tabakası eksternal laminanın dışını saran tabakadır. Adventisya tabakası içerisinde gevşek bağ dokusu, elastik fibriller, sinirler, lenfatik kanallar ve vasa vasorum olarak bilinen besleyici damarlar bulunur(39).



## 2. 2. 2.Arterlerde kasılma ve gevşeme fizyolojisi:

Arterlerde kasılma ve gevşemeyi sağlayan damarın media tabakasıdır. Media tabakası içerisinde yer alan aktin ve miyozin filamentleri esas olarak kasılmayı sağlayan yapılardır. Düz kaslar iskelet kaslarına göre çok daha küçük liflerden, genellikle 2-5 mikron çapında ve yalnız 50-200 mikron uzunluğundaki liflerden oluşmuştur. Halbuki iskelet kası lifleri çap olarak yaklaşık yirmi kat daha geniş, binlerce kat daha uzundur. Buna karşın iskelet kasındaki kontraksiyon ilkelerinin birçoğu düz kaslara da uygulanabilir. En önemlisi, düz kaslarda iskelet kasındaki kimyasal maddeler kontraksiyon yaratır, fakat kas lifleri tamamen farklı bir fiziksel düzen içerisindedir. Düz kaslar da kimyasal karakteristikleri iskelet kasındakine benzeyen fakat aynı olmayan aktin ve miyozin filamentleri içerir. Düz kas ve iskelet kasının fiziksel ve organizasyonundaki farklar yanında fonksiyonel yönden de eksitasyon-kontraksiyon bağıntısı, kontraksiyonun kalsiyum iyonlarıyla kontrolü, kontraksiyon süresi ve kontraksiyon süreci için gerekli enerji gibi konularda da düz kaslar farklılık gösterir. Düz kaslarda aktin ve miyozin filamentlerini iskelet kastaki çizgili yerleşimleri bulunmaz.

Düz kas hücrelerinde çok sayıda aktin filamentleri yoğun cisimciklere tutunurlar. Bu cisimlerin bazıları hücre membranına tutunurken, ötekiler bütün hücreye yayılmış olarak bulunsa da yoğun cisimlerin arasını karşılıklı birleştiren yapısal proteinlerden oluşmuş bir çatı onların yerlerinde kalmalarını sağlar. Aktin filamentleri arasında yaklaşık 2,5 kat daha kahn filamentler bulunur. Miyozin filamentleri olduğu kabul edilen filamentlerin sayısı, aktinlerin yaklaşık on beşte ya da yirmide biri kadardır.

Miyozin filamentlerinin sayıları nispeten az olduğu halde, birçok aktin filamentini çekebilecek kadar çapraz köprüye sahip oldukları ve çizgili kaslarda olduğu gibi kayan filament mekanizmasıyla kontraksiyon yaratabilecekleri kabul edilmektedir. Düz kasların maksimum kontraksiyon güçlerinin hemen hemen iskelet kasındaki gibi, enine kesitin santimetre karesinde 3 kg olması çok ilginçtir.

Tipik bir düz kas dokusu uyarıldıktan 50-100 milisaniye sonra kasılmaya başlayarak, yarım saniye sonra tam bir kontraksiyona erişir. Düz kaslarda, iskelet kasındaki kadar bir gerimin devam ettirilmesi için, iskelet kasındakinin dört yüzde biri kadar bir enerji yeterlidir. Düz kasların enerji tüketimindeki bu ekonomi vücuttaki bütün fonksiyonlar açısından büyük önem taşır.

Düz kaslardaki hücre membranlarında, iskelet kaslarındakinden çok daha fazla kalsiyum kanalları, fakat çok daha az sayıda sodyum kanalları bulunur. Bu nedenle, düz kaslarda aksiyon potansiyellerinin doğuşunda sodyum kanallarının katkısı iskelet kaslarındakine göre çok daha küçük ölçüdedir. Buna karşın aksiyon potansiyellerinin oluşumunda başlıca sorumlu olan hücre içine akan kalsiyum iyonlarıdır.

Aksiyon potansiyelleri sırasında hücre içine giren kalsiyumun başka bir önemi de bu iyonların düz kaslardaki aktin ve miyozin kontraksiyon mekanizmasına doğrudan etkiyerek kasılma yaratmalarıdır. Böylece kalsiyum iki görevi birlikte yürütür.

Düz kasları innerve eden otonom sinirlerden salgılandığı bilinen iki ayrı transmitter madde asetilkolin ve noradrenalinidir. Genellikle asetilkolin bir kas lifini eksite ederse noradrenalin onu inhibe eder ya da asetilkolin noradrenalinin eksite ettiğini inhibe eder. Niye bu farklı cevaplar alınır? Bunun cevabını asetilkolin ve noradrenalinin ilk olarak kas hücre membranının yüzeyindeki bir reseptör proteine bağlanmasında aranmalıdır. Bu reseptör iyon kanallarının açılıp kapanmasını kontrol eder, ya da başka yollardan düz kas liflerinin aktivasyon ya da inhibisyonunu düzenler. Bu reseptör proteinlerinin bazıları eksitatör reseptörler bazıları da inhibitör reseptörlerdir. O halde düz ya da kasların inhibisyon ve eksitasyonları sağlayanlar reseptörler, bu olaylara neden olan transmitterler de asetilkolin ve noradrenalinidir.

Dolaşımdaki hormonların çoğu, düz kas kontraksiyonlarını hiç değilse bir derece, bazıları da çok kuvvetli olmak üzere etkiler. Bu hormonlar arasında en önemlileri noradrenalin, adrenalin, asetilkolin, anjiyotensin, vazopressin, oksitosin, serotonin ve histamin sayılabilir. Bu hormonların bazıları kuvvetli eksitatör etki ile saatler süren düz kas spazmı yaratabilirler. Düz kas kontraksiyonlarının çoğunda hormonlar, aksiyon potansiyellerin uyarmasında olduğu gibi, kas hücrelerinde kalsiyum iyon konsantrasyonunu arttırarak olayı başlatırlar. Genellikle hormonlar membrandaki özgün reseptör proteine bağlanarak, kalsiyum kanallarını açarak membran potansiyelini bir miktar azaltarak, yani membranı depolarize ederek kontraksiyonu başlatır. Aksiyon potansiyeli yaratmayan bu depolarizasyonla kalsiyum iyonları hücre içine akarak kontraksiyona neden olur.

Bazen de düz kas kontraksiyonu membran potansiyeli hiç değişmeden de başlayabilir. Bu durumda hormonlar hücre membranındaki adenilat siklaz enzimini aktive eder. Bu enzimin bir bölümü hücre içine çıkıntı yaparak siklik AMP oluşumuna neden olur. Siklik AMP'de hücre içi organellerinden kalsiyumun salınımına neden olur. Buna ek olarak siklik AMP'nin

kendisi de miyozin başlarındaki ATP az aktivitesini çoğaltarak, düz kas kontraksiyonunun derecesini arttırabilir. Kan damarlarının uzun süreli kontraksiyonu aksiyon potansiyelleri olmaksızın hormonal uyarı aracılığıyla olmaktadır.

Düz kasların iskelet kaslarından çok önemli bir farkları da çok daha fazla kısalabilmeleridir. İskelet kası ancak uzunluğunun %25-35'i kadar bir kısalma gösterir. Düz kaslar ise boylarının yarısı hatta dörtte birine kadar kısalarak dört kat fazla bir kontraksiyon genliği sağlarlar. Düz kasların başka bir önemli niteliği de boylarını gerimde büyük bir değişme olmadan değiştirebilme yeteneğidir. Bu, stres-gevşeme olayından kaynaklanır. Eğer bir düz kas segmenti 2. 5 cm'den ani olarak 5 cm'ye uzatılırsa iki ucu arasındaki gerim birden çok fazla artar, fakat bu gerim · artışı derhal kaybolarak kasın boyu iki katına çıkarıldığı halde, birkaç; dakika içinde gerim başlangıç değerine döner. Bu belki de düz kaslardaki aktin ve miyozin filamentlerinin gevşek düzeninden kaynaklanmaktadır. Bir zaman sonra gerilen kastaki filamentlerin bağları yeniden düzenlenerek kayma olayı meydana gelir ve gerim hemen hemen başlangıç; değerine döner. Düz kaslar kısaldığı zaman tam aksi olay meydana gelir. Buna tersine stres-gevşeme olayı adı verilir (40).

## **2. 3 Arter Vazospazmında Kullanılan Maddeler**

### **2. 3. 1 Adrenalin**

Vücutta adrenal medullada sentez edilir ve oradan salgılanarak hormon görevi yapar. Adrenerjik sinir uçlarındaki (presinaptik)  $\beta_2$  reseptörlerini aktive ederek noradrenalin salıverilmesini de artırır. Katekolaminler içinde en fazla kullanılan ve çok çeşitli etkileri olan bir ilaçtır. Adrenalin vazokonstriktör etkisiyle hemostazı arttıran ve lidokainin subkutanöz dokulardan hızlı sistemik absorpsiyonunu önleyen potent adrenerjik bir ajandır. Adrenalin dozu deneysel olarak saptanmış olup nihai belirlenen adrenalin dozu 0,5-1 mg/L (konsantrasyon olarak 1:2000000- 1:1000000) düşük taşikardi insidansı ile tutarlı bir vazokonstriksiyon oluşturmaktadır

Adrenalin kan kaybını önemli miktarda azaltan dramatik bir hemostaz sağlar. Adrenalinin yüksek konsantrasyonlarda daha efektif hemostaz sağlanmasıyla birlikte hastaların hipertansiyon ve taşikardi açısından monitörize edilmeleri gerekmektedir. Ayrıca tiroid ve kardiyovasküler hastalıklar gibi altta yatan medikal nedenlerle adrenalinin daha düşük dozları

da düşünölmelidir. Adrenaline duyarlılık durumlarında klonidin ile premedikasyon hastalarda faydalı olabilir.

Adrenalinin beta blokörlerle birlikte eşzamanlı kullanımı istenmeyen alfa stimölasyon ile sonuçlanabilmektedir. Fakat bu durum klinik adrenalin uygulamalarında karşımıza çıkmamaktadır. Klinik pratikte adrenalin in absorpsiyonunun çok yavaşlaması ile belirgin bir problem olarak ortaya çıkar. Bu problem yapılmış büyük çalışmaların hiçbirinde morbidite ve mortalite nedeni olarak gösterilmemiştir. Sonuç olarak hastalar beta blokör dozlarına her zamanki dozlarında devam ederler. Ancak modifiye tümesent tekniğı ve genel anestezi uygulandığında anesteziyolojist için propranolol kullanımından istenmeyen potansiyel adrenerjik stimölasyonu sebebiyle kaçınılması tavsiye edilir(41).

### **2. 3. 2 Asetilkolin**

Sempatik ve parasempatik sistemin birinci sıra nöronlarından ve parasempatik sistemin ikinci sıra nöronlarından oluşur. Bu nöronların gangliyonlardaki veya nöroeffektör kavşaklardaki akson uçlarından salıverilen ve sinaptik aşırımından sorumlu olan nörotransmiteri asetilkolindir. Ekrin ter bezlerine giden ikinci sıra sempatik nöronların tümü ve çizgili kasların damarlarına gidenlerin bir kısmı da kolinerjik nöronlardır. Ter bezlerine, tükrük bezlerine ve bronş ve barsak salgı bezlerine giden Asetilkolin, kolinerjik sinir uçlarından kolinin enzimatik asetilasyonu ile sentez edilir. Bu olayı katalize eden enzim kolin asetiltransferaz enzimidir.

Hastaların hipertansiyon ve taşikardi açısından monitörize edilmeleri gerekmektedir. Ayrıca tiroid ve kardiyovasküler hastalıklar gibi altta yatan medikal nedenlerle adrenalinin daha düşük dozları da düşünölmelidir. Adrenaline duyarlılık durumlarında klonidin ile premedikasyon hastalarda faydalı olabilir.

Adrenalinin beta blokörlerle birlikte eşzamanlı kullanımı istenmeyen alfa stimölasyon ile sonuçlanabilmektedir. Fakat bu durum klinik adrenalin uygulamalarında karşımıza çıkmamaktadır. Klinik pratikte adrenalin in absorpsiyonunun çok yavaşlaması ile belirgin bir problem olarak ortaya çıkar. Bu problem yapılmış büyük çalışmaların hiçbirinde morbidite ve mortalite nedeni olarak gösterilmemiştir. Sonuç olarak hastalar beta blokör dozlarına her zamanki dozlarında devam ederler. Ancak modifiye tümesent tekniğı ve genel anestezi uygulandığında anesteziyolojist için propranolol kullanımından istenmeyen potansiyel

adrenerjik stimülasyonu sebebiyle kaçınılması tavsiye edilir(41) kolinerjik sinir uçlarında asetilkolin yanında aynı veziküller içinde vazoaktif intestinal peptid de bulunur ve salıverilir. Asetil kaynağı sinir ucundaki mitokondrilerde sentez edilen asetilkoenzim A'dır. Kolin sinir ucuna sinaps veya kavşak arasından aktif transport ile alınır. Kolin kaynağı, aralıkta yıkılan asetilkolinden oluşan kolin, vücutta yıkılan fosfolipidlerden oluşan kolin ve diyetle alınan ekzojen kolindir.

Sinir ucunun depolarizasyonu, asetilkolinin sinaps veya kavşak aralığına salıverilmesine neden olur. Salıverilme parsiyel ekzositoz şeklinde olur. Vezikül membranı sitoplazma membranına belirli noktalarda yapışır, yapışma yerinde membranlar erir ve vezikül içindeki asetilkolin molekülleri aralığa atılır. Daha sonra membranların üzerindeki delik kapanır. Böylece boşalan, fakat sitoplazma içinde kalan boş veziküller kap olarak yeniden kullanılırlar. Yani onların içine tekrar asetilkolin depolanır. Sözü edilen salıverme şekline kuvantal salıverme adı da verilir. Sinir uçlarından istirahat halinde nörotransmitterin sızma sureti ile non-kuvantal bir biçimde salıverilmesi de mümkündür

Asetilkolinin kan damarları üzerine belirgin etkileri vardır. İn vivo olarak tüm damarları gevşetir. 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki yaptıkları çalışmada endotelyumu intakt olan damarlara asetilkolin uygulandığında damarlarda dilatasyon yanıtı olduğunu ortaya koymuşlardır(42). Endotel hasarlı ise damarda vazokonstriksiyon oluşmaktadır. Endotelial hücrelerin serotonin, adenosin, histamin ve katekolaminler gibi ajanlara spesifik reseptörleri vardır. Nitrik oksit (NO) bunların içerisinde ilk keşfedilen endotel kaynaklı relaksasyon faktörü (EKRF)dür. Endotelial hücreler tarafından sentez edilir ancak; etkisini gevşemiş düz kas hücreleri üzerinde, vazokonstriktör maddelerin etkisini sınırlandırarak veya modifiye ederek gösterir. Endotelinde hasar olan hastalarda (ateroskleroz gibi) EKRF sentezi azalır ve vazokonstriksiyon oluşur. Bu da vasküler hasarı olan hastaların gösterdikleri farklı tepkileri açıklamaktadır. Endotelial hücreler asetilkolin stimülasyonuna bir veya daha fazla endotel kaynaklı relaksasyon faktörü (EKRF) salgılayarak cevap verir(43).

### **2. 3. 3 Noradrenalin (NA)**

Noradrenalin, adrenalinin azot atomunda metil gurubu içermeyen türevidir. Nor öneki, Almanca "nitrogen ohne radikal" deyimindeki sözcüklerin ilk harflerinden oluşmuştur. İlave olarak noradrenalinin bitartrat veya hidroklorur tuzundan hazırlanan enjeksiyonluk solüsyonu

kullanılır. Ağız yoluyla etkisizdir. Noradrenalin koronerler hariç bütün damar yataklarında vazokonstriktör etki yapar ve kan akımını azaltır. Venüllerin büzülmesi sonucu venöz dönüş artar. Noradrenalin periferik damar direncini daima ve her dozda yükseltir. Bu sebeple de hem sistolik hem de diyastolik kan basıncını yükseltir. Kardiyovasküler sistem dışındaki etkileri diğer katekolaminlere göre zayıftır(44). Çalışmamızda negatif kontrol grubunda bu sebeple tercih edilmemiştir.

## **2. 4. Arter Vazospazmında Kullanılan Vazodilatatör Maddeler**

### **2. 4. 1. Papaverin**

Afyon içinde yaklaşık %1 oranında bulunan ondan veya haşhaş kapsülünden elde edilen bir alkaloiddir. Kimyaca izokinolon türevidir ve hidroklorür tuzu olarak kullanılır. Bütün düz kaslı yapıları gevşetebilir. Direkt etkisiyle düz kasları gevşeten ilaçların en eskisidir. İlaçların belirli bir reseptörü etkilemeksizin ve belirli bir nöromedyatör ile etkileşme yapmaksızın oluşan düz kas gevşetici etkileri farmakoloji sözlüğünde papaverin benzeri etki diye bilinir. Damar düz kaslarından başka, mide barsak kanalı, safra yolları, üreter, bronşlar ve gözdeki siliyer kas gibi yapıların düz kaslarını da gevşetir. Papaverinin damar ve diğer yapıların düz kas hücreleri üzerindeki gevşetici nitelikteki etkilerinin hücrelerde fosfodiesteraz enzimini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu sanılmaktadır. Bu enzim, hücrelerde adenilat siklaz enzimi tarafından ATP'nin yıkılması sonucu oluşan ve ikinci ulak görevi yapan siklik AMP'yi inaktive eder. Papaverin etkisi altında siklik AMP'nin inaktivasyonunun azalması, damar düz kaslarının gevşemesine ve miyokard hücrelerinin uyarılmasına yol açar. Ayrıca, papaverin endojen adenozinin alımını bloke ederek onun vazodilatatör etkinliğini artırır. Oldukça çabuk bir şekilde ve karaciğerde metabolize edilmek suretiyle elimine edilir. Periferik damar hastalıklarının tedavisinde etkisinin şüpheli olması nedeniyle tavsiye edilmez.

Başlıca yan etkileri, yüzde ve boyunda kızarma, bulantı, baş dönmesi, baş ağrısı, hafif uyuşukluk hali, iştahsızlık, mide bozukluğu, kabızlık veya ishal ve cilt döküntüleridir. Papaverinin hepatotoksik etkisi de vardır. İntravenöz enjeksiyon hızlı yapılırsa aritmilere neden olabilir. Glokom krizini başlatabilir (44). Papaverin arteriyel greftlerin hazırlanması sırasında antispazmodik olarak en sık kullanılan maddelerden biridir(45, 46).

## 2. 4. 2 Lidokain

Amid yapılı lokal anestetikler içinde kullanıma ilk giren, etkisi hızlı başlayan ve orta etkili bir lokal anestetik olan lidokain spinal ve epidural anestezi, periferik blok, infiltrasyon anestezi, topikal anestezi ve rejyonel intravenöz anestezi de kullanılmaktadır (47, 48).

Proteine %64 oranında bağlanır. Plazma yarı ömrü erişkinlerde 1, 6 saat iken yenidoğanlarda üç saattir (48). Sinir hücresi membranının sodyum ve potasyum geçirgenliğini değiştirerek lokal anestetik etki gösterir (49). İlacın dozuna, uygulama süresi ve uygulanan bölgeye göre etkinin başlama hızı ve süresi değişiklik gösterir. Metabolitleri olan ksilidin ve monoetilaminoasetik aside, karaciğer mikrozomal enzimleri aracılığıyla dönüşürken %10'u değişmeden idrarla atılır (48, 49). Bilinen lidokain alerjisi, malign hipertermi öyküsü ve şiddetli kalp bloklarında kullanımı kesin kontrendike iken hipovolemi, şok, karaciğer ve böbrek yetmezliğinde dikkatli kullanılmalıdır (49).

Sersemlik, yorgunluk ve amnezi gibi bulgular sistemik toksik etki ortaya çıkmadan olabilir (48). Uyuşukluk, parestezi, dizatri, nistagmus ve dezoryantasyon gibi hafif SSS bulgularından başlayıp gerekli önlemler alınmadığında konvülsiyon, solunum depresyonu ve komaya uzanan bir yan etki profili vardır (49).

## 2. 5 Botulinum Toksin

Dr. Justinus Kerner botulinum toksin zehirlenmesini 1817 yılında klinik olarak ilk tanımlayan kişidir. Daha sonra Prof. van Ermengen botulinum toksininin kaslarda paralizi yaparak ölüme sebep olduğunu bildirmiştir ve bu toksinin kaynağı olan anaerobik sporlu basili Bacillus botulinus olarak adlandırmış, ilerleyen zaman içinde isim değişerek Clostridium botulinum haline gelmiştir. Botulizm için ilk antiserum 1897'de W. Kemper tarafından geliştirilmiştir. Botulinum toksinin ikinci serotipi (tip B) 1910'da Leuchs tarafından bulunmuştur. 1949'da Burgen botulinum toksinin etki mekanizmasını tanımlamıştır. Scott tarafından 1973'te hayvanlarda test edilen nörotoksin 1978'de yapılan pilot çalışmaların ardından, 1989'da strabismus, hemifasiyal spazm ve blefarospazm tedavisi için ABD'de FDA (Food and Drug Administration) onayıyla kullanılmaya başlanmıştır. Botulinum toksin tip A'nın kozmetik kullanımı ise ilk olarak Jean Carruthers ve Alastair Carruthers tarafından rapor edilmiştir (50).

Clostridium ailesinin iki ana ögesi, temel yapı ve fonksiyonel özellikleri benzerlik gösteren Clostridium Tetani ve Clostridium botulinum'dur. Cl. Tetani merkezi sinir sistemi üzerine, Cl. Botulinum ise periferik sinir sistemi üzerine etkilidir. Botulinum toksin (BTx), sporlu, gram (+), anaerob C. botulinum'un ekzotoksinidir. BTx'in A, B, C1, D, E, F ve G olmak üzere yedi farklı serotipi bulunur(50). Botulinum sporları kaynadıktan sonra bile yaşamını sürdürebilmekle beraber, serbest toksin 80°C (176°F)'nin üzerinde, 10 dakikadan fazla tutulduğunda veya 7'nin üzerindeki pH değerlerinde kolayca ortadan kaldırılabılır (51).

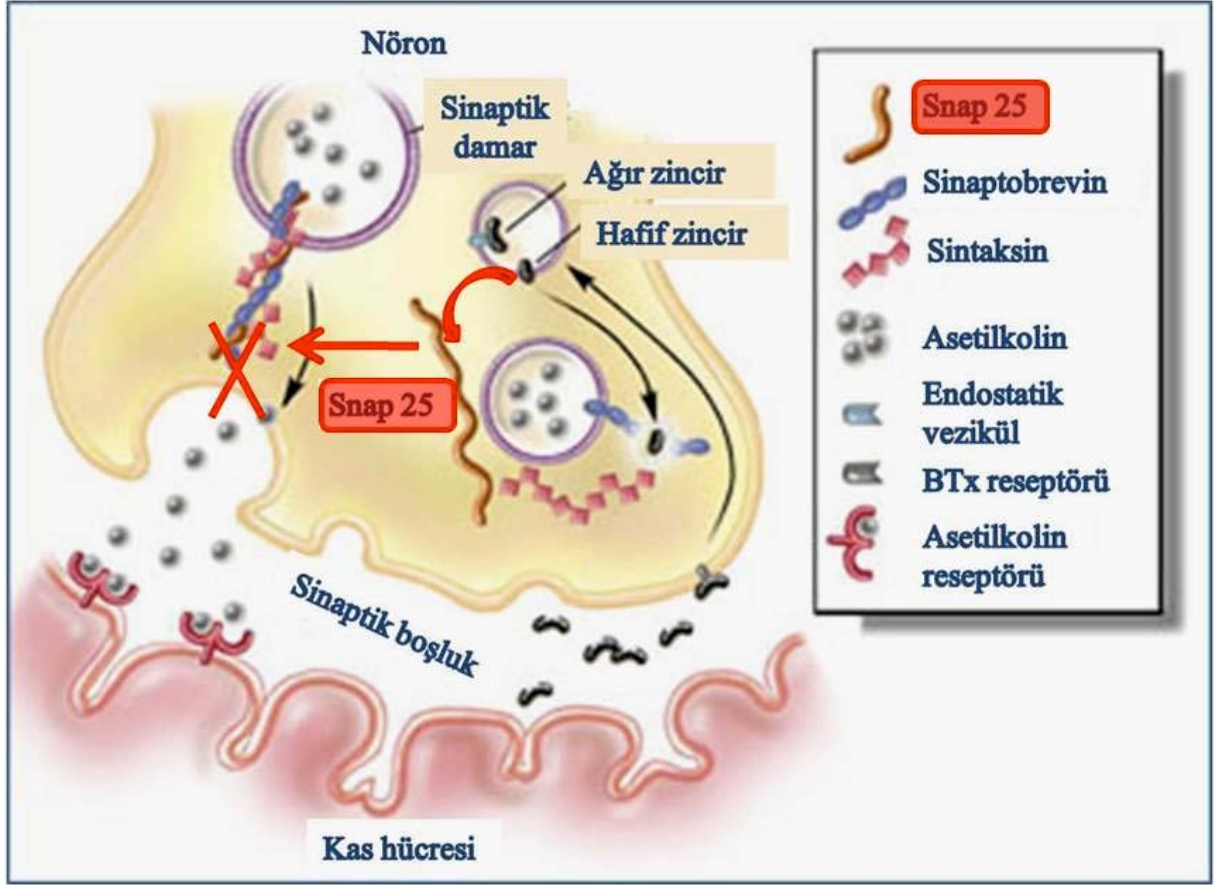
Botulizmin 5 farklı klinik formu vardır.

1. İnfantil (intestinal) botulizm: Basil sporlarının yutulması sonucunda bu sporların kalın barsaklarda açılması ile olur.
2. Besin (klasik) botulizmi: Basille kontamine yiyeceklerin tüketilmesi ile olur.
3. Yara botulizmi: Basille enfekte yarada meydana gelir.
4. İnhalasyonel botulizm: Biyolojik silah olarak kullanım sonrası literatürde 3 olguda bildirilmiştir (51).
5. İyatrojenik botulizm: Tedavi amaçlı BTx uygulaması sonrasında bölgesel veya sistemik botulizm bulguları görülmesidir. Literatürde iki olguda bildirilmiştir (52).

### **2. 5. 1. BTx'in Yapısal Özellikleri ve Etki Mekanizması**

Botulinum nörotoksinleri 150 kd inaktif polipeptidler şeklinde bulunup, tripsin benzeri bakteriyel proteaz tarafından aktif forma dönüştürülür. 100 kd ağır zincir ve 50 kd hafif zincir, ısıya duyarlı disülfid bağlarıyla bir arada tutulurlar. Isı ile ağır ve hafif zincirler ayrışır ve nörotoksin inaktive olur. Bütün serotipler, periferik sinir sisteminde, nöromusküler bileşkenin presinaptik terminallerinden, asetilkolin serbestleştirilmesini inhibe ederek, gevşek bir paraliziye sebep olurlar(53). (Şekil 4).





**Şekil 4:** Botulinum toksin periferik sinir sisteminde reseptörlere bağlandıktan sonra hücre içine alınarak aktive olur. Daha sonra presinaptik kavşakta asetilkolin salınımını geri dönüşümsüz olarak engeller.

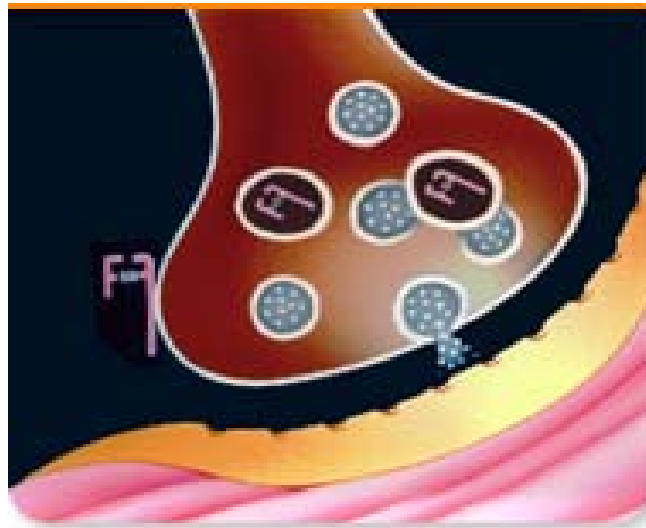
Botulinum Toksininin yol açtığı paralizi üç adımda gerçekleşir.

- Bağlanma: Presinaptik kolinerjik reseptörlere geri dönüşüz olarak bağlanır (Şekil 5).



**Şekil 5:** BTx-A presinaptik nörona bağlanmış durumda

- Hücre içine giriş: Nörotoksin reseptör bağımlı endositozla hücre içine girdikten sonra ağır ve hafif zinciri bağlayan disülfid bağları bilinmeyen bir mekanizma ile kırılır. Daha sonra ağır zincirin N- terminali hafif zincirin hücre zarından geçişine yardımcı olur (Şekil 6).



**Şekil 6:** BTx-A presinaptik nörona endositoz ile girmiş durumda nörotransmitter salınımının inhibisyonu:

Asetilkolin taşıyan veziküllerin hücre zarı ile birleşerek, içerdiği asetilkolini nöromüsküler kavşağa bırakması için, hücre içinde aktif SNARE kompleksinin bulunması gereklidir. SNARE kompleksi 3 temel yapıdan oluşmaktadır. “Synaptobrevin”(VAMP=Vesicle associated membrane protein), “SNAP-25” (25 kd synaptosome associated protein) ve “Sintaksin” dir. Aktif SNARE kompleksinin varlığında, asetilkolin taşıyan veziküllerin hücre membranı ile birleşerek, içerdiği asetilkolini nöromüsküler kavşağa veya ekrin bezlerin otonomik boşluklarına bırakması gereklidir. BTx’in hafif zinciri, çinko bağımlı endopeptidaz aktivitesi ile proteolitik etkinlik kazanarak, asetilkolin veziküllerinin ekzositozundan sorumlu zar proteinlerini parçalar ve asetilkolin salınımını engeller (Şekil 7).



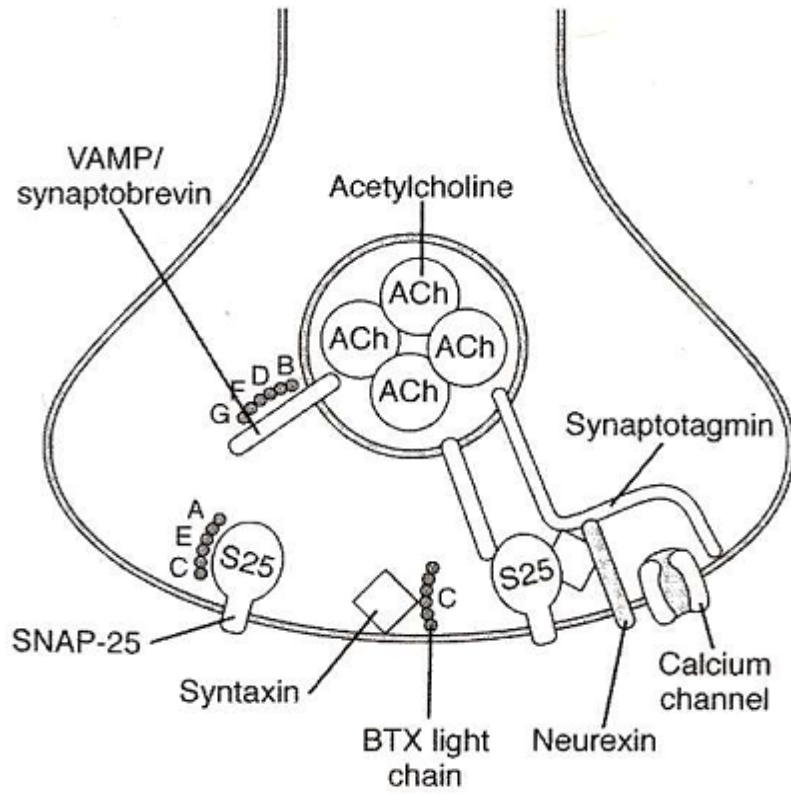
**Şekil 7:** BTx-A presinaptik nöronda asetilkolin salınımını bloke etmiş durumda

Her bir serotip farklı bir proteini ayırır; (Şekil 8)

Serotip A, C, ve E: SNAP-25’i

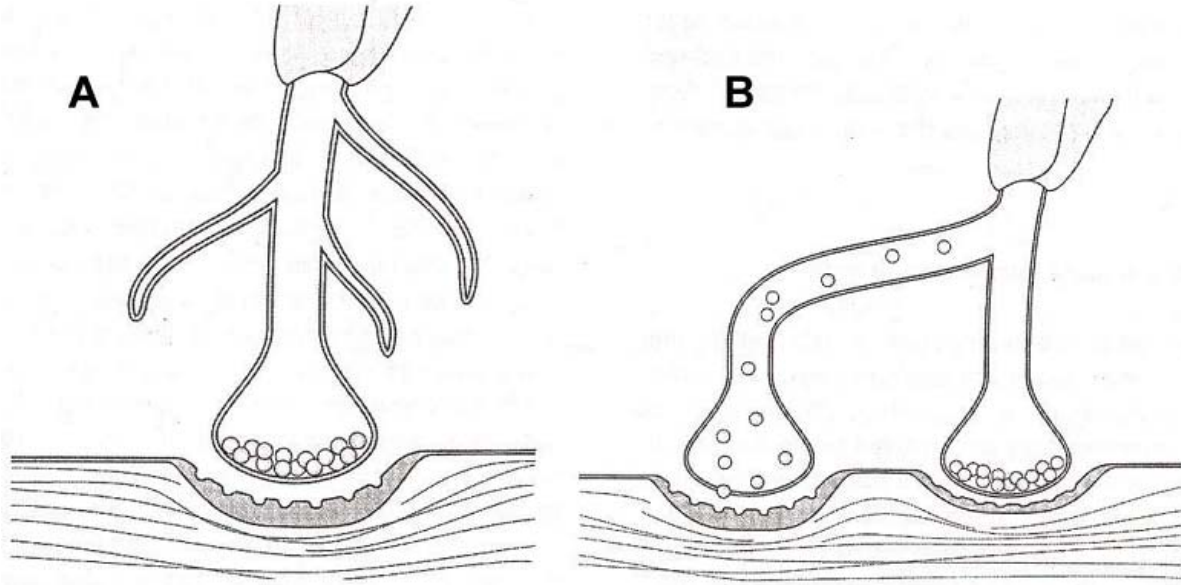
Serotip B, D, F ve G: Synaptobrevin (VAMP)’i

Serotip C: SNAP 25’i ayırmanın yanında primer olarak sintaksin üzerinden etkili olur.



**Şekil 8:** Botulinum toksin serotipleri, asetilkolin salınımını SNARE reseptör kompleksinin farklı elemanlarını bloke ederek engeller (52).

BTx sinir-kas kavşağında, birbirini takip eden iki aşamada geri dönüşümlü denervasyon atrofisine yol açar. Bu süreç 2 basamakta incelenebilir. Basamak: Başlangıçta, nonkollateral aksonal filizlenme meydana gelir. Bu sinir terminalleri, motor son plak bölgesinin ekspansiyonuna yol açar ve yeni bir nöromusküler bileşkenin inşa edilmesini sağlarlar. Bu yeni kollateral aksonlar, 28 günde iyileşir ve bütün nöral iletim yeni filizlenen aksonlar aracılığıyla olur (Şekil 9A). Birinci basamakta orijinal ana terminaller nöral geçişi yeniden kazanır ve yeni oluşan aksonal filizlenmelerin sinaptik fonksiyonlarının kaybı ve eliminasyonları gözlenir. İkinci aşama yaklaşık 91 gün sonra tamamlanır ki BTx aktivitesinin klinik kaybı ile ilişkilidir(50, 52, 53). (Şekil 9B).



**Şekil 9:** BTx aktivitesinin sonlanma aşamaları. A. Aksonal filizlenme. B. Sinir terminallerinin yeni fonksiyonel nöromusküler bileşkeyi oluşturması ve sonrasında yeni terminalin gerileyip, ana terminalin tekrar işlev görmeye başlaması (52).

### 2. 5. 2. BTx'in İmmunolojik Özellikleri

BTx'e karşı gelişen antikorlar belirgin olarak 150 kd toksine, nontoksin proteine veya her iki segmente olmak üzere, nörotoksin molekülünün herhangi bir bölgesine bağlanabilirler. Nontoksin bölümüne karşı oluşan antikorlar, klinik olarak nörotoksin aktivitesini bozmadıklarından "non-nötralizan antikorlar" olarak tanımlanırlar. Nörotoksin karşı oluşan ve onun etkinliğini bloke eden antikorlar ise "nötralizan antikorlar" olarak isimlendirilir. BTx'in herhangi bir serotipini nötralize edebilen antikorlar, diğer tiplere karşı etkisizdir ve böyle bir immün yanıt oluşması halinde başka bir serotipe geçilmesi uygun olacaktır. Servikal distoni sebebiyle fazla sayıda BTx-A enjeksiyonu yapılan hastaların %3-5'inde tedaviye yanıtızsızlık gelişmiştir. Nötralizan antikorların gelişiminde en önemli risk faktörleri; enjeksiyonun sık aralıklarla veya yüksek dozlarda uygulanmasıdır. BTx-A'nın etkili en düşük dozunun kullanımı, enjeksiyonlar arası zamanın en az 8 hafta ya da ideal olarak 12 haftadan fazla olması, kısa sürede bolus enjeksiyonlardan kaçınılması ile immün direnç gelişimi engellenebilir(50). BTx-A preparatlarında stabilizan ajan olarak kullanılan insan albumini, antikor oluşumunda suçlanan etkenlerden en önemlisidir. Düşük protein içeriğinden dolayı Botox® kullanımında antijenik yanıt insidansı, Dysport® kullanımından daha düşüktür(54).

### 2. 5. 3. Doz Önerileri ve Saklama Koşulları

Serotipler arasında BTx-A en sık kullanılan serotip olup, Avrupa'da Dysport® (Ipsen; Maidenhead, UK), Neuroblock® (Elan Pharmaceuticals) ve Botox® (Allergan; Irvine, California) ticari isimleri ile bulunmaktadır. Sonradan FDA onayı alan BTx-B ise Myobloc® ticari adıyla satışa sunulmuştur. Bir ünite ya da mouse unit (MU), periton içerisine enjeksiyon sonrası, 18-22 gr dişi Swiss-Webster farelerinin %50'sini öldürebilecek doz olarak belirlenmiştir. 1 Botox® ünitesi, yaklaşık 4 Dysport® ünitesine ve 60-75 Myobloc® ünitesine eşdeğerdir (50). 70 kg ağırlığındaki bir kişi için LD50 (median lethal dose) 2500 3000 ünite BTx olup, spastisite tedavisi amacıyla kullanılan en yüksek doz ise 400 ünite (55, 56). Yüzde mimik kırışıklıkları için kullanılan en yüksek Botox® dozu, her bir seans için 60 ünite (57). Botulinum toksinin tedavi edici doz aralığı oldukça geniştir ve sistemik toksisite olasılığı çok düşüktür. Ancak kaza ile zehirlenme ya da yüksek doza maruz kalınması durumunda, 24 saat içinde antitoksin verilmesi gerekmektedir (58). Yüz bölgesinde BTx-A uygulamalarında, hayatı tehdit eden allerjik ya da ürtikeryal reaksiyonlar bildirilmemiştir.

Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında, uzun dönemde, immunojenik, karsinojenik ve diğer potansiyel zararlı yan etkiler tespit edilmemiştir (58). En sık kullanılan BTx preparatlarından Botox® -5°C, Dysport® + 2-8°C'de saklanmaktadır. Sulandırıldıktan sonra her ikisi de +2-8°C'de aseptik şartlarda korunmalıdır. Sulandırılan Dysport® preparatlarının 8 saat içinde tüketilmesi önerilir. +4°C'de saklanan sulandırılmış Botox® preparatlarının aktivitesi 1. günün sonunda %90-100, 3. gün % 70-80, 7. gün % 40-50, 14. günde minimal olarak bulunmuştur (57). Sulandırılmış Botox® flakonlarının tekrar dondurulmasının, toksin aktivitesini korumada bir avantajının olmadığı görülmüş ve +4°C'de 24 saatten az saklanması en uygun olduğu kabul edilmiştir. 2007 yılında Elmas ve ark. yaptığı çalışmada, iki hafta süre ile +4°C'de saklanan Botox®'un etkileri, yeni sulandırılmış Botox®'un etkileri ile elektron mikroskopik olarak kıyaslanmış ve beklenmiş Botox®'un, yeni sulandırılmış Botox® ile aynı etkileri oluşturabildiği, ancak etki süresinin kısaldığı gösterilmiştir (59).

#### **2. 5. 4. Sıçanlarda Uygulanabilecek BTx-A Dozları ve Etki Süresi**

Aoki 2002 yılında farelerde yaptığı çalışmada BTx-A'nın maksimum kas paralizisi oluşturan dozu 29 ünite/kg etki süresini 36 gün olarak, hayvanların %50'sini öldüren dozun 81, 4 ünite/kg olduğunu bildirmiştir(60).

Clemens ve ark. 2009 yılında yaptığı bir çalışmada sıçanlarda femoral bölgede perivasküler etki için 10 ünite BTx-A'nın uygulanabileceğini bildirmişlerdir(1). Kim ve ark. 2008 yılında gelişigüzel kanlanan patern flep yaşayabilirliğini artırmayı hedefledikleri çalışmada flep içine uygulanacak doz aralığının 0, 5-2, 5 ünite (en optimal uygun 1, 5 ünite) arasında olduğunu bildirmişlerdir (61). Kemirgenlerde BTx-A enjeksiyonu sonrası, etkinin 24. saat içinde başladığı ve 4-6 hafta etkinin devam ettiği belirtilmiştir(62).

#### **2. 5. 5. Tedavi Endikasyonları ve Yeni Uygulamalar**

BTx-A; blefarospazm, spazmodik tortikollis, ekstremitte distonisi, disfoni, hemifasiyal spazm, serebral palsi, spastik dipleji, esansiyel baş tremoru, distonik tikler, gerilim tipi baş ağrısı, tenisçi dirseği, palatal myoklonus, kekeleme, pelvirektal spazmlar ve nistagmus gibi nörolojik ve oftalmik endikasyonlarla kullanılmakla beraber, yüzdeki mimik kırışıklıkların giderilmesi amacıyla kozmetik alanında da 1990'dan beri kullanılmaktadır(63).

Son zamanlarda, hiperhidrozis, hipersiyalore, Frey's sendromu, fasiyal asimetriler, platismal bantların tedavisinde de kullanılmaktadır(64-66). Subpektoral implant yerleştirilmesini takiben pektoral kas spazmını önlemek için BTx- A uygulanmış ve hastaların ameliyat sonrası dönemi ağrısız geçirmesi, elde edilen kozmetik sonucun daha iyi olması, geri dönüşümlü bir denervasyona sebep olmasından dolayı bu yöntemin, nörektomiye tercih edilebileceği ifade edilmiştir(67, 68). Ayrıca BTx-A pektoral adaledeki kasılmaların protez üzerine yaptığı çekintilerin önlenmesi amacıyla kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır(68, 69)

Yüzdeki skarların genişlemesinin önlenmesi amacıyla yara dudaklarına BTx-A enjeksiyonunun yara iyileşmesinde (70, 71) ve hipertrofik skar oluşumunun önlenmesinde faydalı olduğu bildirilmiştir(72). BTx-A fleksör tendon onarımı yapılmış hastaların kas origolarına uygulanmış ve tendon rüptürü oranlarının azaldığı bildirilmiştir(73). BTx-A vazospastik hastalıkların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır(74-76). Neumastier ve ark. Raynaud Fenomeni tanısı ile takip edilen 19 hastanın avuç içlerinde damar-sinir pediküllerin

gececeği alanlara etki edecek şekilde BTx-A uygulanmışlar ve sonucunda tek doz uygulamayla hastaların 15'inde ağrılarının azaldığı ve parmak dolaşımının arttığını bildirmişler(76). O'Reilly ve ark. 2005 yılında aksiller hidradenit tedavisinde BTx-A kullanımı sonrasında bölgesel lezyonların kaybolduğunu ve 10 aylık süreçte rekürrens görmediklerini bildirmişler(77). Çelik ve ark. 2006 yılında sıçan pektoral kas flebinde yaptıkları çalışmada cerrahi denervasyon ve BTx-A ile yapılan kimyasal denervasyonun kas stabilizasyonu üzerine olan etkilerini araştırmışlar. Sonuçta iki yöntemin de kas stabilizasyonu sağladığını, denervasyon yapılan grupta daha fazla olmak üzere kaslarda atrofi görüldüğünü belirtmişler(78).

Arnold ve ark. 2009 yılında yayınladıkları çalışmalarında BTx-A uygulamasının sıçan deri fleplerinde, sağkalımı artırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca perivasküler uygulanan 5 ünite BTx-A sonrası 1., 14. ve 28. günlerde damar çaplarını ölçmüşler ve tüm ölçümlerde arter ve ven çaplarının anlamlı şekilde arttığını tespit etmişler. Bu artışın 14. Günde maksimum seviyede olduğunu bildirmişlerdir(79, 80).

Clemens ve ark. 2009 yılında BTx-A'nın sıçan femoral damar çapları ve yapılan anastomozların başarısına etkilerini incelemişler. Bu amaçla cerrahiden 5 gün önce perivasküler 10 ünite BTx-A uygulamışlar. Cerrahi sırasında yaptıkları ölçümlerde BTx-A yapılan grupta damarların, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde büyük olduğunu görmüşler. Damarlar kesilip anastomoz yapıldığında BTx-A yapılan tarafta anastomozların daha hızlı ve kolay yapıldığı ayrıca cerrahi sonrası trombozların daha az görüldüğü bildirilmiştir(1). BTx-A ile gelişigüzel kanlanan fleplerin sağkalımının artırılması ile ilgili iki yayın bulunmaktadır. Yıldırım ve ark. sıçanların sırtında hazırlanan gelişigüzel kanlanan fleplere 8 noktadan toplam 2, 5 ünite BTx-A uygulamışlar ve flep sağkalımını artırdıklarını bildirmişlerdir(81). Kim ve ark. ise 2009 yılında yayınlanan makalelerinde sıçanların sırtında hazırlanan gelişigüzel kanlanan flebe 1, 5 ünite BTx-A yaptıklarını ve flep sağkalımını artırdıklarını bildirmişlerdir(61).

## **2. 5. 6. İlaç Etkileşimleri**

Sinir-kas kavşağında nörotransmitter geçişini engelleyen ilaçlar BTx-A ile etkileşebilirler. Aminoglikozidler (Gentamisin), siklosporin, D-penisilamin, kas gevşeticiler (kürar tipi non-depolarizan blokörler, süksinilkolin), aminokinolonlar, kinidin, magnezyum sülfat,



linkozamid BTx-A'nın etkisini değiştirebilen ilaçlardır. Bunların çoğu nöromüsküler geçiş üzerine intrinsik inhibitör etkiye sahip olduklarından, BTx-A'nın etkinliğini arttırmaları. Aminoglikozidler yüksek dozda sinir-kas kavşağında asetilkolinin salınımını önleyebilirler ve botulizm benzeri klinik bir duruma neden olabilirler. Siklosporin, nöromüsküler blokaja ikincil kas güçsüzlüğünü uyarabilir, literatürde bir olguda solunum yetmezliği görülmüştür. 90 D-penisilamin kullanımına bağlı romatoid artritli hastaların bir kısmında, asetilkoline karşı antikör oluştuğu tespit edilmiştir. Bu hasta grubunda myasteniy a gravisli olgulardakine benzer kas güçsüzlüğü tespit edilmiştir. Bu etkilerin tersine klorokin ve hidroklorokin gibi aminokinolonlar, hücre içinde BTx-A ile etkileşime girerek, aktivitesini inhibe edebilir (58).

### **2. 5. 7. Bölgesel Yan Etkiler**

Enjeksiyon sahasında ağrı, dem, ekimoz sıklıkla uygulama tekniği ile ilgili olup yan etki olarak değerlendirilemezler. BTx-A enjeksiyonlarından sonra, baş ağrıları, kuru ağız, grip benzeri tablo görülebilir. Hastanın uygulama öncesi bu konularda bilgilendirilmesi önemlidir. Aspirin, antikoagülan, NSAİİ, E vitamini, ginseng, ginkgo ve yüksek doz sarımsak gibi bitkisel ilaçlar peteşiyal kanamaların oranını arttırmaktadır. Peteşilerin oluşumu, 30 gauge iğne kullanımı, iğnenin sık aralıklarla yenilenmesi, öncesinde ve sonrasında soğuk uygulanması ve enjeksiyonun intradermal yapılması ile azaltılabilir. Uygulama ncesi topikal anesteziklerin uygulanması enjeksiyonun daha az ağrılı olması sağlar. Enjeksiyon sırasında meydana gelen damar yaralanmaları, kompresyon ile durdurulmalıdır.

Uygulama bölgesinde görülebilen geçici hiperestezi, enjeksiyon travması ve/veya BTx- A'nın lokalize antinosiseptif etkisi ile açıklanabilir. Enjeksiyon sonrası enfeksiyon hemen hiç olmamakla beraber literatürde BTx-A enjeksiyonu sonrası bir olguda vücudunda psöriyazis benzeri döküntüler meydana gelen ve beş ay sonra kendiliğinden düzelen bir olgu bildirilmiştir.

Enjeksiyon sonrası ter bezi aktivitesinin de bloke olmasına bağlı deride kuruma ve pullanma da BTx-A tedavisi sonrası gelişebilir. Nemlendiricilerin kullanımı ile bu belirtiler tedavi edilebilir. Sıklıkla gerilim tipi baş ağrılarında ve migren tedavisinde kullanılmakla birlikte, enjeksiyon sonrası nadiren geçici baş ağrısına görülebilir. Bu baş ağrısının nedeni enjeksiyon sırasında iğnenin periosta ulaşması, kas enjeksiyonuna bağlı lokalize hematoma, enjeksiyon stresi olarak açıklanmaktadır. Sıklıkla birkaç saat sürer ancak nadiren 2 güne uzayabilir(58).

## **2. 5. 8. Sistemik Yan Etkileri**

BTx-A'nın etkisinin en yoğun olduğu yer enjeksiyon alanıdır. Bunun yanında bu nörotoksinin küçük miktarları çevre dokulara veya sistemik dolaşıma geçebilir. Bu bölgesel ya da sistemik etkiler sıklıkla, tekrarlayan yüksek doz BTx-A uygulamaları sonucu ortaya çıkmasına karşın, blefarospazm tedavisi için düşük doz BTx-A uygulanan hastalarda da gözlenmiştir (82). Enjeksiyon sahasından uzaktaki adale dokusundaki etkiler, tek lif EMG çalışmaları ile gösterilebilir(83). BTx-A'ya karşı antikör gelişmesi durumunda etki azalır ki bu immun cevap ilk birkaç yıl içinde görülür. Uygulamadan sonraki dört yıl içinde immun yanıt gelişmemesi halinde daha sonradan böyle bir cevap oluşma olasılığı çok düşüktür. Herhangi bir şekilde BTx-A'ya karşı direnç görülürse BTx-B ile tedaviye devam edilebilir (83).

## **2. 6. Mikrocerrahi Sonrası Damar Akımı Takibi**

### **2. 6. 1. Yöntemler**

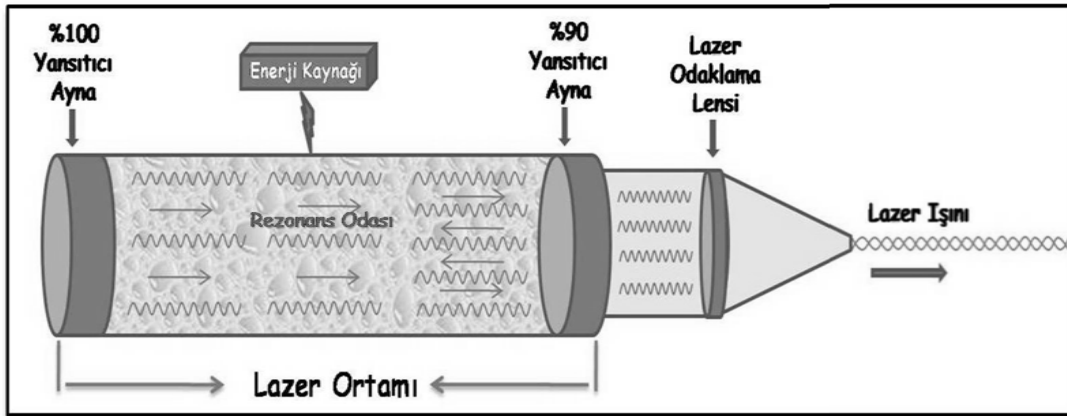
#### **2. 6. 2. Lazer Doppler Flowmetri (LDF)**

LDF, mikro-vasküler sistemdeki ince kan damarlarında bile, doğrudan kan akımı ölçümü yapabilen, invaziv olmayan, elektro-optik bir yöntemdir. Dokuların kanlanması, kan akımının hızı, şiddeti ve damar genişliği bu teknikle incelenebilir. İlk olarak, 1980'li yıllarda kullanılmaya başlanan bu yöntem, günümüzde, tıbbın birçok alanında çok yaygın bir tanı aracı olarak kullanılmaktadır. LDF'nin daha iyi anlaşılabilmesi için, öncelikle Lazerin ve Doppler olayının ayrı ayrı ele alınması gerekmektedir.

#### **2. 6. 2. 1. Lazer**

LAZER "Radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi" anlamına gelen, "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation" kelimelerinin baş harflerinden oluşan bir terimdir (84). İlk defa 1900'lerin başlarında formüle edilen lazerin kavramsal temelini, Einstein'ın "yayılmı stimüle edilmiş radiant enerji" isimli makalesi oluşturmaktadır. Kırk yıl sonra, Amerikalı fizikçi Townes, ilk defa mikrodalga frekanslarının gücünü, stimüle edilmiş radyasyonla arttırarak, kısa adıyla MASER'i (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) tanımlamıştır. Schawlow ve Townes, MASER prensibini, elektromanyetik alanın optik kısmına uyarlamalarını takiben Maiman, yaklaşık elli yıl önce,

yakut bir apareyle çalışan ilk lazeri yapmayı başarmıştır (85). Lazer apareyi, elektrik enerjisini ışık enerjisine dönüştürür. Bütün lazerler genel olarak üç temel kısımdan oluşur. Bunlar; lazer ortamı, bir tarafında %100, diğer tarafında %90 yansıtıcı ayna bulunan rezonans odası ve aktif maddenin bulunduğu rezonans odasına enerji yollayan pompa sistemidir (Sekil 10). Lazer ortamı, lazer enerjisinin kaynağı olup içindeki lazer aktif maddesine göre ismini belirler. Her atomun (-) yüklü elektronları ile (+) yüklü çekirdeği vardır. Atomun bir dış enerji kaynağı ile aktive edilmesi sonucunda elektron ya yüksek bir yörüngeye atlar ya da uyarılmış duruma geçer. Bu atomlara “uyarılmış atom” denir. Çok kısa bir süre içerisinde elektron normal durumuna döner ve bu arada foton denilen ufak bir enerjiyi açığa çıkarır. Buna da “spontan emisyon” denir. Eğer bu foton eşit enerjili bir başka atomu uyarırsa, bu durumda stimüle edilmiş emisyon ve iki benzer foton oluşur. Bu şekilde benzer atomik özelliklere sahip ortamda bu olay devam eder ve fotonlar özel aynalarla ileri geri yansıtılarak büyüyen bir enerji oluşur. Böylece güçlenmiş olan ışınlar % 90 yansıtıcı aynadan % 10-15 oranında geçerek rezonans odasını terk eder (84, 85) (Sekil 10).



**Şekil 10:** Lazerin şematik yapısı

Lazer ışınları, uygulanacakları bölgeye ya doğrudan ya da ışını geçirebilen fiberler yardımı ile dolaylı olarak gönderilebilirler. Lazer ışınları, koherent (dalga boylarının fazları zaman ve yön açısından aynı) monokromatik (tek renkli ve aynı enerjiye sahip) ve kollime (birbirine paralel) ışınlardır. Lazer ışınları kollime ışınlar olduklarından, birbirlerinden ayrılmadan çok uzak mesafelere ulaşabilirler (84, 85).

Lazerlerin dalga boylarına göre sınıflandırılması (85):

- |   |  |
|---|--|
| 1. Ultraviyole ışığa yakın dalga boyundaki lazerler | 6. Karbondioksit Lazerler (CO <sub>2</sub> ) |
| 2. Görülebilir ışığa yakın dalga boyundaki lazerler | 7. Neodmiyum: YAG Lazer (Nd:YAG )            |
| 3. Kızılötesi ışığa yakın dalga boyundaki lazerler  | 8. Erbiyum: YAG Lazer (Er:YAG)               |
| 4. Lazerlerin kullanılan maddeye göre (85):         | 9. Helyum Neon Lazer (He-Ne)                 |
| 5. Yakut Lazerler                                   | 10. Holmiyum: YAG Lazer (Ho:YAG)             |
|   | 11. Argon Lazer                              |
|   | 12. Excimer Lazer                            |

### 2. 6. 2. 2. Doppler Kayması

Doppler kayması, Johann Christian Doppler isimli Avusturyalı bir fizikçi tarafından, 1842 yılında tanımlanan bir gözlemdir. Doppler etkisi, kaynak ve gözlemci arasında bir hareket varsa ortaya çıkar. Harekete bağlı olarak gözlenen frekansın, kaynak frekansından farklı olması sonucu oluşur. Eğer kaynak ile gözlemci birbirine yaklaşıyorsa gözlenen frekans artar, tersi durumda ise azalır. Kısaca doppler olayı hareketten dolayı bir dalganın gözlenen frekansındaki değişimdir (85, 86). Başka bir ifadeyle, sabit frekansla ses veren hareketli bir kaynak yaklaştıkça daha tiz, uzaklaştıkça daha pes işitilir. Aynı olay kaynak sabit, detektör hareketli olduğunda da gözlenir. Ses frekansındaki harekete bağlı bu değişime doppler kayması denir (84-86). Bu temele dayanarak damarlar içinde akan kanın şekilli elemanlarından yansıyan frekans değişiklikleri tespit edilerek yönü ve hızı gibi özellikler incelenebilmektedir. Doppler tekniğinde hareketli hedefler, çoğunlukla kırmızı kan hücreleridir. Kanın, kalp damar sistemindeki hareketini kaydetmek amacıyla kullanılır. Bu sayede dokunun kanlanması, kan akımının hızı, şiddeti ve damar genişliği incelenebilir (84-87).

### 2. 6. 2. Lazer Doppler Flowmetri (LDF)

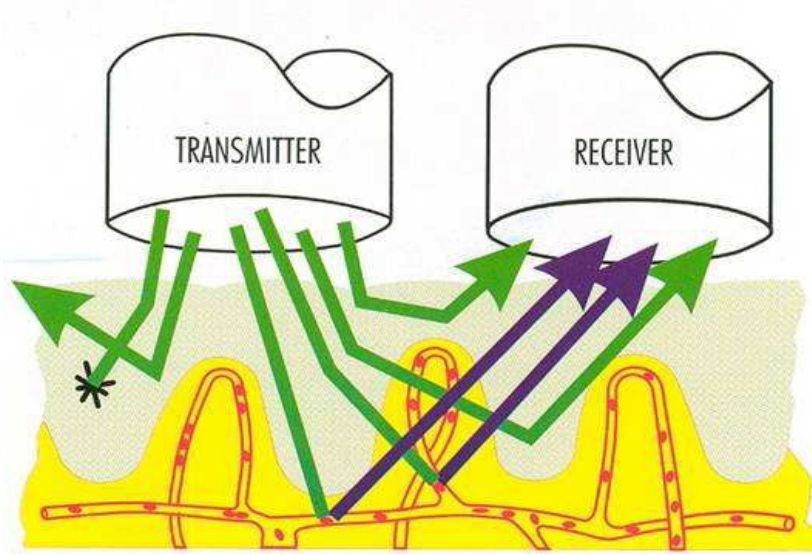
LDF tekniği, yaklaşık otuz yıldır mikro-vasküler kan perfüzyon ölçümünde kullanılmaktadır. Klinik olarak mikro-vasküler kan perfüzyonunun ölçümünde, hassas, gerçek zamanlı, devamlı ve invaziv olmayan bir metot eksikliğinde, LDF bu boşluğu doldurmak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Şekil 11).

LDF ile ilgili kayda değer gelişmeler, 1964 yılında, Yeh ve Cummins'in (88) çalışmaları ile başlamıştır. Lazer Doppler prensibinde, iki lazer ışınının kesiştiği noktadaki partikül hızı ölçülmektedir. Bir noktadaki hız ölçüldüğü için, bu ışınların açıları ve dolayısıyla kesişme noktaları değiştirilerek, farklı konumlarda ve farklı derinliklerde ölçüm yapılabilmektedir (89).



**Şekil 11:** Günümüzde kullanılmakta olan LDF cihazları

LDF metodu, doppler kaymasından yararlanılarak, doku kan akımının, sürekli ve invaziv olmayan ölçümü amacıyla kullanılan bir tekniktir. Bu amaçla düşük, güçlü monokromatik lazer ışını kullanılır ve lazer ışını hedef dokuya bir prob aracılığı ile ulaştırılır. Ölçüm probu içerisinde, ışını dokuya taşıyan verici fiber ve dokudan geri saçılan, ışınları, foto-detektöre taşıyan toplayıcı fiber ya da fiberler bulunmaktadır (Şekil 12). Işın demeti proba dokuya iletildiğinde, ışının bir kısmı dokuda absorbe olurken, büyük bir kısmı dokudan yansır. Işığı yansıtan statik nesnelere dalga boyunu değiştirmezken, ışığı yansıtan hareketli kan hücreleri doppler kaymasına neden olurlar. Doppler kayması meydana gelmiş olan ışın demeti, sinyalleri oluşturur. Bu sinyallerden elde edilen değerler “perfüzyon”, “flow” veya “flux” olarak tanımlanır (89).



**Şekil 12:** Işını dokuya taşıyan “iletici fiber” ve dokudan geri saçılan ışınları, fotodetektöre taşıyan “toplayıcı fiberin” görünümü (transmitter: iletici; receiver: toplayıcı)

### 2. 6. 2. 3 LDF'nin Tarihsel Gelişim Süreci

Belirli bir dalga boyundaki ışığın geri saçılımı sırasında oluşturdukları doppler frekans kaymasını yorumlayarak, bir solüsyon içerisindeki partiküllerin hızının hesaplanabileceği ilk kez, Yeh ve ark. (88) ile Cummins ve ark. (90) tarafından, Maiman'ın (91) ilk lazer çalışmasını yapmasından sadece 4 yıl sonra ortaya atılmıştır. Riva ve ark. (92) ise, ilk kez, kırmızı kan hücrelerinin hızını ölçmek için bu teknik ile, cam tüpten hazırladıkları bir akım modeli üzerinde çalışmışlardır. Ancak, mikro-vasküler olarak lazer doppler kan perfüzyon ölçümü tekniğinin doğumu, Stern'in (93) “In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering” isimli makalesini takiben olmuştur. Hareketli kırmızı kan hücrelerinin ve bazı statik dokuların gönderilen bir ışığın saçılmasına neden olduğunu tespit eden araştırmacı, doppler kayması nedeni ile etrafa saçılan ışığın duyarlı bir foto-detektör yardımı ile toplanması sırasında oluşacak optik atım, ses frekansı halinde fotoakım verisi oluşturacağını öne sürmüştür. Parmak ucundan geri saçılan He-Ne kırmızı lazer ışığının ürettiği fotoakımın spektral analizinde, normal akım ve brakial arterdeki akım arasında açık bir fark olduğu görülmüştür. Gerçek zamanlı görüntülemenin mantığı ise, fotoakım sinyallerinin kök-ortalama-karelerinin akım belirleyici olarak kullanılması üzerine kurulmuştur. Mikro-dolaşım, sıcaklık, duruş şekli, solunum durumu ve duygusal faktörlerden etkilendiğinden, bu metodun

da aynı etkenlere hassas olduğu belirlenmiştir. Metot, akış hızı hakkında bilgi sağladığından, farklı kompartımanlardaki mikro-vasküler kan akımların analizinde kullanılabileceği de bildirilmiştir (86, 93).

#### **2. 6. 2. 4. LDF Tekniğinin Gelişimi**

Holloway ve Watkins (94) Xenon klerans tekniği ile korelasyon olduğunu gösteren, Stern ile birlikte yaptıkları yayımlanmamış çalışmalarını takiben, cihazın klinikte daha pratik kullanılabilmesi için, tekrar dizayn etmişlerdir. Bu sistem, Stern tarafından da kullanılmış olan, kaba ve hantal ışık çoğaltıcı içerisine yerleştirilen, ışığın salınması ve tekrar toplanması için fiber-optikler ve bir foto-diyot içermektedir.

Aynı yıllarda, Stern ve ark. (95) fotoakım spektrumunun ikinci momentinin karekökünü hesaplayan, ampirik tabanlı işlemci ile bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Diğer algoritmaların daha kullanışlı olacağına bilinmesine karşın, gerçek zamanlı kan akım indeksi elde edebilmek için böyle bir yaklaşım seçilmiştir (86) Watkins ve Holloway (96) cihazlarını daha teknik bir şekilde tanımlamışlar ve yapılan ölçümlerin, gözlem zamanının %50'si ile sınırlı kaldığını bulmuşlardır. Bunun nedeninin, bir ana gelişim problemi olan, lazerden kaynaklanan ses kirliliği, gürültü olduğunu tespit etmişlerdir.

Nilsson ve ark. (97) tarafından geliştirilen ikili foto-detektörlü sistem ile bu problemin üstesinden gelinmiştir. Bu sistem sayesinde, her iki detektöre gelen sıradan gürültü elimine edilmiştir. Böylece foton olarak her bir detektöre gelen doppler sinyallerinin gürültüden etkilenmesi engellenmeye çalışılmıştır.

Bu gelişmeyi takiben, Nilsson ve ark. (98) Bonner ve Nossal (99) daha ileri bir sinyal işlemci geliştirilmesine yönelik çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Sinyal inceleme algoritması üzerine kurulu ve esas teorik altyapıyı oluşturan bu işlemci, araştırmacılar ve üretici firmalar tarafından oldukça fazla ilgi görmüştür. Prototipi oluşturulan cihaz, kısa zamanda piyasaya sürülmüştür.

Fischer ve ark.'nın (100) bu cihaz ile gerçekleştirdikleri ilk çalışmada, cihazın mikro-vasküler kan akımının ölçümünde, diğer cihazlarla iyi bir korelasyon gösterdiğinin belirlenmesi üzerine, farklı alanlarda, olumlu sonuçlar veren birçok klinik çalışma gerçekleştirilmiştir. Ancak, geliştirilen bu cihazla ilgili yapılan klinik denemeler sırasında araştırmacılar, ışığın

geçtiği fiber kablonun hareket etmesine bağlı olarak oluşan hareket artefaktına dikkat çekmişlerdir. Bu olay, foto-detektörde, lazer doppler atım frekansına benzer, dalgalanmalara neden olmuştur. Bu şekilde oluşan frekansın 0-3, 5 kHz arası değişebildiği ve gücünün doppler sinyali ile ilgili perfüzyondan daha büyük olabileceği bildirilmiştir. Bu problem, doku esaslı doppler kaymasını arttırmak için, daha geniş çaplı fiberler kullanılarak aşılmaya çalışılmıştır. Lazer doppler sinyalleri ve oluşan gürültünün giderilmesine yönelik çalışmalar, çeşitli bant genişliğine sahip, daha iyi sinyal ve daha az gürültü oluşturan cihazlar geliştirilmesini sağlamıştır (86).

Kullanılan diyotların ürettiği lazer ışının dalga boyları (yaklaşık 780nm) ışığın daha derine inmesine izin vermekte ve deri renginin etkisini azaltmaktadır. Ayrıca, bu dalga boyunda, oksijen ve deoksi hemoglobinlerin, ışığı absorpsiyonları yaklaşık aynı olduğundan, SaO<sub>2</sub>'nin etkisi göz ardı edilebilmektedir (86). Mikrodolaşımın en önemli özelliği, şüphesiz çok geniş uzaysal ve zamansal heterojeniteye sahip olmasıdır. Bu, özellikle çok kanallı cihazları ve LDF'nin geliştirilmesini sağlamıştır. Böylece, aynı organın farklı bölgelerinde veya farklı organlar arasında, devamlı, gerçek zamanlı bir ölçüm yapılabilmesine ve yapılan ölçümlerin karşılaştırılabilmesine olanak sağlanmıştır. Bu gelişmeleri takiben cihaz, bölgesel olarak kan akımının kontrol edilmesi ile ilgilenen bilim dallarının dikkatini çekmiştir (86).

#### LDF Cihazının Yapısı

LDF cihazının 4 ana yapısı vardır (86, 89).

1. Lazer ışın kaynakları
2. Fotodetektörler
3. Fiber optik düzen
4. Sinyal işlemci

#### **2. 6. 2. 5. 1 Lazer Işın Kaynakları**

Lazer ışın kaynağı olarak 1975'ten, 1980'li yılların sonlarına kadar ucuzluğu, kullanım kolaylığı, güvenilirliği ve kayda değer stabiliteleri nedeni ile helyum-neon gibi gaz lazerler tercih edilmiştir. Büyük boyutlu olmaları ve yüksek voltaja ihtiyaç duymaları dezavantajlarıdır. Doksanlı yıllarda alternatif olarak semi-kondüktör lazer diyodlar piyasaya çıkmıştır. Diyod lazerlerin kullanılmaya başlanması, farklı derinliklerdeki vasküler yataklar hakkında bilgi edinilebilmesini sağlayan, farklı dalga boylarının seçimine izin vermiştir.



Diyod lazerler 620-1500 nm dalga boyu arasında bulunan, kızıl ve kızıl ötesi lazer ışınlarını üretebilirler. Piyasada bulunan, diyod lazerle çalışan LDF cihazları yaklaşık 800 nm dalga boyuna sahip lazer ışını üretirler. Diyod lazerlerin en büyük avantajları, ucuz, küçük boyutlu olmaları ve yüksek voltaja ihtiyaç duymamalarıdır (86, 101-103).

Cihazların kullandığı lazer düşük güçlü ve monokromatik lazerdir. Prob ucu çıkış gücü yaklaşık 1mW'tır. Lazer ışınının rengi dalga boyuna göre, yeşil ve kızıl olabileceği gibi gözle görülemeyen dalga boyuna da sahip olabilir (86, 103).

#### **2. 6. 2. 5. 2. Foto-detektörler**

Foto-detektör olarak, fotomultiplier ve semikondüktör diyodlar kullanılmaktadır. Fotomultiplier, yüksek akım kazançlı ve düşük parazitli bir foto-detektördür. Mavi ve yeşil renk aralığında daha duyarlıdır (4416 nm/632.8nm dalga boyu). Semi-kondüktör diyodlar, LDF uygulamalarında en sık kullanılan fotodetektördürler (103).

#### **2. 6. 2. 5. 3. Fiber Optik Düzen**

Lazer ışını, lens aracılığı ile fibere iletilir. Silika gibi plastik fiberler kullanılmaktadır. Fiber optik düzen içerisinde, ışını dokuya taşıyan “iletici fiber” ve dokudan geri saçılan ışınları foto-detektöre taşıyan “toplayıcı fiber” bulunmaktadır (Şekil 11). Fiberlerin çapları 50 ile 2000  $\mu$  arasında değişmektedir. Lazer ışın demeti proba dokuya iletildiğinde, ışının bir kısmı dokuda absorbe olurken, büyük bir kısmı dokudan yansır. Dokudan geri yansıyan ışın, yine optik fiber aracılığı ile foto- detektöre iletilir (86, 103).

#### **2. 6. 2. 5. 4. Sinyal İşlemci**

Sinyal işlemci fotodetektörden gelen sinyali, anlamlı verilere dönüştüren kısımdır. Sinyal işlemcide başlıca sorun, akım ve doppler kayması arasında doğrusal algoritma bulunmamasıdır. Akım hesaplamasındaki ideal bir algoritma, akım, doku tipi ve hematokritin tüm değerleri ile doğrusal bir ilişkiye sahip olmalı ve çoklu saçılma etkilerini hesaba

katmalıdır. Bu amaçla farklı yaklaşımlar önerilmiş olmasına karşın henüz ideal bir algoritma mevcut değildir (86, 102, 103).

İletici fiber aracılığı ile dokuya iletilen lazer ışınının bir kısmı doku tarafından emilirken, büyük bir kısmı ise yansır. Önemli olan yansıyan ışınların oluşturduğu kısımdır. Işın, hareketsiz bir nesneden yansır ise, frekansında herhangi bir değişim olmaz. Ancak, kan hücreleri gibi hareketli nesnelere yansıyan ışınların frekansında bir değişim meydana gelir. Bu değişim doppler kaymasıdır. Yansıyan bu ışın, yine toplayıcı fiberler aracılığı ile toplanarak cihaza taşınır ve doppler kayması sonucu frekansı değişen ışın demetinden elde edilen veriler “volt” cinsinden sinyalleri oluşturur. Bu sinyallerden elde edilen değerler, “perfüzyon” veya “flux” olarak tanımlanır (86, 102, 103).

#### **2. 6. 2. 6. Cihazın Ölçüm Şekli ve Ölçüm Derinliği**

Ölçüm derinliği, genellikle doku yüzeyinin altında, yüzey ışığının penetre olduğu ve yüzeye geri dönebildiği derinliğin, yaklaşık 2/3'lük kısmı olarak tarif edilir. Ölçülen derinlik, kapiller yatağın yapısı ve yoğunluğu gibi doku özelliklerine, ışığın dalga boyuna ve probdaki fiberler arası uzaklığa bağlıdır. Ayrıca, lazerin dalga boyu kısaldıkça, penetrasyon yeteneği de azalmaktadır (86, 101, 103).

#### **2. 6. 2. 7. LDF'nin Teorik Temeli**

Lazer ışığı, doku yüzeyine ulaştığında her bir foton, doku içerisine, dokunun optik özelliklerine bağlı olarak rastgele şekilde dağılır. Bir veya daha fazla hareketli obje ile (kan hücreleri gibi) karşılaştıklarında saçılan fotonlar bir frekans dâhilinde yön değiştirirler. Bu değişimin açısı, dalga boyu ve hızı belirlenebilir. Bu yön değiştirme frekansı, 19. yüzyılda bu olayı açıklayan Avusturyalı biliminsanı J. Christian Doppler'in adıyla anılmakta ve “Doppler Kayması” olarak adlandırılmaktadır (86).

LDF (780nm dalga boyunda ışık kullanan) ile saptanan tipik doppler kayması frekansının değişim aralığı 0-20 kHz'dir. Daha hızlı kan akışına sahip derin damarlardan ölçüm yapılabilmesi için, daha uzun dalga boyuna sahip cihazlara ihtiyaç bulunmaktadır. Ancak, yüksek kapasitede detektör mevcut olmadığından, henüz böyle bir cihazın yapımı mümkün görülmemektedir (86).

## 2. 6. 2. 8. LDF Ölçümlerinde Kullanılan Birimler

“Flow” ve “Flux”, LDF ölçümlerinde birim olarak kullanılan iki terimdir. Ancak, her iki terimin birlikte kullanılması birçok karışıklığa yol açabilir. “Flow” terimi, bir bölgeden geçen kanın miktarını ifade eder. Özellikle klinik çalışmalarda kullanılan “Flux” terimi ise, ortalama kan hücresi sayısı ve hızını ifade eder. Soyut olarak bu terimlerin, amaçlanan tanımlamaya göre çok yüzeysel kaldığı düşünülmektedir. “Flow” hacim veya kütle olarak düşünülebilir ve her ikisi de birim zamanda bir noktadan geçen miktarı (ör; kan hücresi/s, l/s, kg/s) ifade etmektedir. “Flux”, ise kısmen “Flow” ile aynı anlama gelse de, daha kesin bir ifade ile referans alandan/bölgeden geçen “Flow” oranını (ör; hücre/cm<sup>2</sup>/s) göstermektedir (86).

Bu nedenle, LDF ile yapılan çalışmalarda bir birliktelik ve elde edilen verilerin daha kapsamlı ifadesinin sağlanması amacıyla “Perfüzyon” (PU) birimi ile ifade edilmiştir. Perfüzyon birimi, genel olarak LDF’den ölçülen değerin miktarının niceliğini ifade etmektedir. Çok geniş bir kullanım alanı bulmasına karşın, perfüzyon teriminin tanımı konusunda tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Son zamanlarda aşağıdaki tanımlama üzerinde durulmaktadır (86).

“Perfüzyon; kan hücrelerinin bölgesel süratinin (speed) ve konsantrasyonlarının bir ifadesidir.” Bu tanımlamada hız (velocity) yerine, sürat (speed) teriminin kullanılması tercih edilmiştir. Çünkü hız, vektörün yönünü, şiddetini ifade etmekte kullanılırken, sürat vektörün sadece şiddetini ifade etmekte kullanılır (86). LDF cihazlarının sadece kırmızı kan hücrelerinin hareketini inceledikleri bildirilmiştir. Çünkü, pratik olarak mikro-dolaşımdaki kanın içeriğinin yaklaşık %99’u kırmızı kan hücrelerinden oluşmaktadır. Ancak, LDF özellikle kırmızı kan hücrelerini seçerek ölçüm yapmaz. Bu nedenle “kırmızı” kelimesi tanımlamada kullanılmamıştır (86).

Farklı çalışmalarda kullanılan LDF cihazlarından elde edilen perfüzyon değerinin kalibrasyonu henüz sağlanamadığından elde edilen değerlerin mutlak olmadığı ve belirli bir sürede, belirli hacimdeki bir dokudan geçen gerçek hücre sayısı gibi, fizyolojik bir tanımlamayı ifade etmekten çok uzak olduğu bildirilmektedir (86, 101, 102). Bu bakımdan “Avrupa Lazer Doppler Kullananlar Grubu”nun, yaptığı bir toplantıda (European Laser Doppler Users' Groups-ELDUG, London, Great Britain, 1992) “1 Perfüzyon (PU)=10mV” olması konusunda bir görüş birliğine varılmıştır.

### **2. 6. 2. 9. LDF Metodunun Tıpta Kullanım Alanları**

LDF, tıp alanında ilk kez 1972 yılında, tavşan retinasından kan akımı ölçme amacıyla Riva ve ark. (92) tarafından kullanılmıştır. Cihazın ticari olarak piyasaya sürülmesini takiben, LDF ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Başlangıçta deneysel tıbbi çalışmalarda kullanılan cihaz, artık günümüzde tıbbın birçok alanında klinik kullanıma girmiştir (86, 101-103),

-Plastik ve rekonstrüktif cerrahide, replante edilen parmak ve fleplerin kanlanmasının takibinde kullanılmaktadır (104).

-Kalp ve damar cerrahisinde, vasküler ve mikrovasküler kan akımının takibinde, anjiyolojide, bacak arterlerindeki aterosklerozun lokalizasyonu ve derecelerinin değerlendirilmesinde yararlanılmaktadır (105).

-Gastroenterolojide, endoskopik prob ile birlikte mide, kolon, duodenum ve rektumda kan akımı ölçülebilir. Ayrıca, LDF'nin sahip olduğu lazer ışığı nedeniyle karanlık bölgelerin incelenmesi sırasında ekstra bir aydınlatmaya ihtiyaç duyulmamaktadır (106).

-Farmakolojide, insanlarda ve hayvanlarda ilaçların doku kanlanmasına olan etkisi (kan akımı ölçümü ve doz cevabı) LDF ile izlenebilmektedir (107).

-İç hastalıklarında, tüm iç organlardaki fonksiyonel ve yapısal mikroanjiyopatilerin teşhisinde, derinin mikro dolaşımında, vazodilatasyon ve vazokonstrüksiyon cevaplarının belirlenmesinde kullanılmaktadır (108).

-Ortopedide, cerrahi girişim öncesi ve sonrası iskelet kas sisteminin tüm dokularının kan akımı durumu bu yolla takip edilebilmektedir. LDF, diz kartilaj, ligamentler, synovia, kalça eklemleri ve aşıl tendon bozukluklarını incelemede kullanılmaktadır. İğne tipindeki probu ile kas ve tendon gibi yumuşak dokuların incelenmesinde de kullanılabilir (109).

-Dermatolojide, objektif patch testinde, skleroderma, psöriasis ve derinin irritan varis tiplerinin belirlenmesinde uygulanabilmektedir (110).

-İlaç sanayisinde, topikal ilaçların, kozmetiklerin irritan etkilerini belirlemek amacıyla ve bölgesel kan akımındaki değişimlerin takibinde kullanılabilir (111).

-Nörolojide, periferik nöropatiye bağlı olarak ortaya çıkan nörolojik bozuklukların tespitinde teşhis aracı olarak kullanılmaktadır. Raynaud's fenomeninde, paraplejilerde, nörolojik bozuklukların yayılmasının tespitinde, serebral korteks ve çeşitli tip sinirlerin perfüzyon ölçümlerinde kullanılmaktadır (112).

-Anesteziyolojide, kan akımında farklı tip anestezi ve analjezik ajanların etkisinin gözlenmesinde ve bu tip maddelerin etkilerine bağlı olarak ortaya çıkan sempatik blokaj ve periferik kan akımındaki değişikliklerin izlenmesinde kullanılabilir (113).

Tıbbın birçok alanında klinik olarak tercih edilmesinin yanı sıra LDF, birçok laboratuvar çalışmasında da sıklıkla başvurulan bir yöntemdir. Tıbbın ve diş hekimliğinin yanı sıra LDF, veteriner hekimler tarafından da hayvanlardaki rahatsızlıkların teşhisinde ve takibinde kullanılan bir cihazdır.

### **2. 6. 3. Doppler Ultrasonografi (DU)**

Ses dalgaları, parçacıkların ortamda salınım hareketi göstermesine neden olan titreşim kaynaklarınca oluşturulur. Ses enerjisi iletildikçe, zayıflar, saçılır, yansıtılır ve değişik ara yüzlerden eko alınmasına neden olur. Medikal USG’de prob içerisindeki piezoelektrik elemanlar sesin oluşturulmasını ve tespit edilmesini sağlarlar. Yansıtılan ve saçılan eko sinyallerinin alınması sayesinde USG görüntüleri oluşturulmakta ve Doppler etkisi kullanılarak hareketin tespiti sağlanmaktadır (114). Doppler etkisi, dalga kaynağının ya da dedektörün hareketine bağlı olarak tespit edilen dalganın frekansındaki değişimlerdir. Sabit frekanslı bir ses kaynağı yaklaştıkça daha tiz (artmış frekans), uzaklaştıkça daha pes (azalmış frekans) olarak işitilir. Kan akımının niteliğini değerlendirmede ve niceliğini saptamada temel yöntem konumundaki Doppler USG yöntemi, bu fizik kurala dayanır (115)

#### **2. 6. 3. 1. DU’nun Teorik Temeli**

Doppler bilgisi hem sürekli salınan ses demeti hem de puls şeklinde üretilen ses ile elde edilebilir. Görüntü elde etmek için sesin puls şeklinde gönderilmesi gerekir. Uyarılan transdüser elemanlarının ürettikleri ses bir dalga boyu/frekans spektrumu şeklindedir(115). Doppler USG ile kan akımı değerlendirilirken temel prensip, damara belli bir açıyla gönderilen ses demeti frekansının, akımın yönüne ve hızına göre değişmesini saptamaktır. Gönderilen ses demetinin frekansındaki değişim Doppler eşitliği ile gösterilir:

$$f_d = 2f_0 \cdot v \cdot \cos \theta / c$$

$f_d$ =Doppler kayması,  $f_0$ =Transdüserin frekansı,  $v$ =Akımın hızı,  $\cos$ =Kosinüs (derece=1; 30 derece= 0, 87; 60 derece= 0, 5; 90 derece = 0),  $\theta$ =Ses demetinin açısı,  $c$ =Sesin dokudaki hızı (1540 m/sn)

Bu eşitliğe göre Doppler kayması, transdüserin frekansı, kan akımının hızı ve ses demetinin damar duvarı ile yaptığı açının kosinüsü ile doğru orantılıdır. Doppler eşitliğinde diğer faktörler önceden belli olduğundan, Doppler frekans kayması kan akım hızı ile doğru orantılıdır. Hızı belirlemede kan damarı ile ses demeti arasındaki açı ( $\theta$  açısı) önemlidir. Açının ne kadar darsa Doppler kayması o kadar yüksektir. Bu nedenle akım hızı ölçülürken Doppler açısı 30-60 derece arasında olmalıdır (115)

## **2. 6. 3. 2. DU'de İnceleme Yöntemleri**

### **2. 6. 3. 2. 1. Sürekli Dalga Formu Doppler**

Ses dalgalarını sürekli olarak alan ve veren iki adet transdüser vardır. Akımın varlığını ve yönünü saptar, ancak bunun hangi derinlikten geldiğini ve sinyalin kaynağını saptamada yetersizdir. Ucuz ve taşınabilir olması nedeniyle yatak başı değerlendirmelerde ve intraoperatif olarak yüzeysel damarlardaki akımın değerlendirilmesinde faydalıdır (116).

### **2. 6. 3. 2. 2. Puls Formu Doppler**

Ses dalgaları vurular halinde gönderilir, giden ve geri dönen ses dalgası arasında belli bir süre olması ile ortaya çıkan Doppler çifti sesin hangi düzeyden geldiğini gösterir. Doppler bilgisinin gerçek zamanlı gri skala görüntü ile birleştirilmesiyle “dupleks Doppler” görüntüleri elde edilir. Bu sistemde, proba dönen ses dalgaları hem gerçek zamanlı görüntü hem de Doppler dalga formunun gerçekleşmesi için işlenir. Bir saniye içinde gönderilen ses dalgası pulsuna “puls tekrarlama frekansı” (pulse repetition frequency= PRF) denir. İncelenen derinlik arttıkça, ses dalgalarının dönüşü için daha fazla zaman gerekeceğinden PRF azaltılır (116).

### 2. 6. 3. 2. 3. Spektral Doppler USG (SDU)

Kan akımının Doppler analizi için incelecek damarın Bmode görüntüsü üzerinde önce bir inceleme alanı (gate) işaretlenir. Daha sonra bu alana gönderilecek ses demetinin açısı belirlenir. Seçilen bölgeden geri dönen ses dalgaları ile ortaya çıkan frekans farkı, monitörde gri skala görüntünün yanında hız/zaman (cm/sn) veya frekans/zaman (kHz/sn) grafiği şeklinde gerçek zamanlı olarak izlenebilir (117).

Akım bandı ile taban çizgisi (horizontal çizgi) arasında kalan boşluğa “spektral pencere” adı verilir. Örnekleme hacmindeki hız çeşitlendikçe bant genişleyerek bu pencereyi küçültür veya doldurur. Monitörde ayrıca pik hız, ortalama hız gibi akıma ait birçok sayısal değer de gösterilebilir(114, 115). Akan eritrositlerin miktarı ise sinyalin amplitüdünü belirler ve grafiğin z yönünde gösterilir. Akım hızı grafiği iki boyutlu olduğundan z eksenindeki dağılım ancak grafik bandının parlaklığı şeklinde gösterilebilir. Bandın parlak kesimleri o frekansta ya da hızda akan şekilli eleman miktarının göreceli olarak çok olduğunu gösterir. Doppler sinyalinin amplitüd ve frekans komponentleri Fourier değişim yöntemi ile analiz edilerek doppler spektrumu denilen, amplitüde göre frekans dağılım profili elde edilir (114, 115). (Şekil 13)



Şekil 13:Çalışmamızda kullanılan spektral el doppleri

#### **2. 6. 3. 2. 4. Renkli Doppler USG (RDU)**

Spektral Dopplerdeki ek örnekleme alanına karşılık RDU'de "multigate" örnekleme yapılıır. Bu alanlardan gelen bilgiler, yön ve hıza göre renklendirilip, damar görüntüsünün içine yerleştirilirse renkli Doppler görüntüleri elde edilir (88). Renkli Doppler görüntüleri aslında bir spektral görüntüleme değildir. Spektral değerler grafikte değil renklerle ifade edilir. Akımın hızı veya şekli ile ilgili bilgiler ise renk tonlarıyla (renk saturasyon kodlaması) veya farklı renklerle (değişik renk kodlaması) gösterilir. Açık parlak tonlar hızlı akımı, koyu tonlar yavaş akımı gösterir(114, 115). RDU, tüm Doppler bilgilerini içermez, çünkü zaman faktörü yoktur. Renkli Doppler kantitatif değil kalitatif bir yöntemdir (116).

#### **2. 6. 3. 2. 5. Power Doppler USG (PDU)**

Görüntünün, inceleme alanından elde olunan sinyallerin gücü doğrultusunda oluşturulan Doppler uygulamasıdır. RDU'de görüntüyü oluşturmada temel prensip Doppler çifti iken, PDU'de Doppler sinyallerinin gücüdür. Renkli Doppler görüntülerde akımın yön bilgisi korunur ve akım yönü transdüser'e göre değiştiğinde, rengi de değişir. Fakat power Doppler incelemede, Doppler sinyalindeki hız ve yön bilgisi kullanılmaz, sadece Doppler kaymasının yoğunluğu ile görüntü oluşturulur. Doppler sinyalindeki güç, hareket eden ve Doppler kayması oluşturan eritrositlerin toplam sayısına bağlıdır. PDU, dubleks ve RDU uygulamalarından farklı olarak Doppler açısına bağlı değildir. Yöntemin en önemli dezavantajı, harekete aşırı duyarlı olmasıdır. Bu nedenle, kan akımını yumuşak doku hareketinden ayırt etmek güç olabilir. PDU, RDU ile varlığı ve özellikleri güçlükle gösterilebilen damar içi akımların değerlendirilmesi gereken birçok durumda kullanılabilir. Tümörall anjiyogeneziste artmış ve düzensiz akım paternlerinin ortaya konmasında oldukça yararlıdır (117).

#### **2. 6. 3. 3. Hemodinami ve Akımın Değerlendirilmesi**

Arteriyel akımı, damar uçları arasındaki basınç farkı ve damar direnci belirler. Akıma direnç ise damarın çapı, uzunluğu ve kanın viskozitesi ile ilişkilidir (116). Akım karakteristiği arter ve venlerde farklı olduğu gibi, her organ sistemine giden damarlarda da değişiktir. Grafik



spektrumda ve renkli Doppler incelemelerinde farklı görünüm veren “plug”, “laminer” ve “türbülant” olmak üzere başlıca üç tür arteriyel akım örneği vardır.

- Plug akım, aort ve büyük damarlar içerisindeki düzgün akım şeklindedir. Grafik spektrumda plug akım, ince bant ve boş pencere (spektral pencere) ile karakterizedir. Renkli Dopplerde ise, damar lümenini dolduran renk, her tarafta aynı tondadır.

- Laminer akım, 5 mm ve daha küçük çaplı damarlarda görülen normal akım şeklindedir. Bu tür akımda, lümenin ortasındaki akım hızlı, duvara yakın bölgelerdeki akım ise sürtünme etkisi nedeniyle yavaştır. Spektrumun şekli çap ve lümen düzensizliklerinde veya damarın dallandığı kesimlerde, akımın türbülant olması nedeniyle değişir.

- Türbülant akım, hız dağılımının çok geniş olduğu ve hatta ters akımların bulunduğu akım şeklindedir (116, 117). Arteriyel akım pulsatil dalga formundadır ve sistolün başlangıcında dik bir çıkış, diyastolde ise daha az bir iniş eğrisi çizer. Damarlarda ve çevre dokulardaki yerel değişiklikler akım hızını ve dalga formunu değiştirir. Yerel akım değişikliği, damarın kıvrımlı şekil almasına (tortiyozite), aterosklerotik plak veya dıştan bası nedeniyle damarın daralmasına bağlı olabilir (114).

Akımın Değerlendirilmesi: Akım hızının saptanması Doppler USG'nin ana işlevi olup Doppler eşitliğinden kolay ve oldukça doğru bir şekilde hesaplanır. Doppler açısı 90 derece olduğunda kosinüs sıfır olacağından var olan akım saptanamaz. Renkli Doppler görüntülemenin önemli bir üstünlüğü B-mode görüntüleme ile saptanamayacak kadar küçük damarların yerlerini parlamalar şeklinde belirleyerek dubleks Dopplerde ölçüm yapılmasına olanak sağlamasıdır (85, 86). Doppler USG ile elde edilen akım bilgileri şu şekilde sınıflandırılır:

#### 1) Niteliksel

a. Akımın varlığı ve yönü

b. Akım karakteristiği

#### 2) Niceliksel

a. Akımın hızı

b. Akımın hacmi

#### 3) Yarı niceliksel

- a. Pik sistolik / diyastol sonu hız indeksi
- b. RI (Pik sistolik hız -diyastol sonu hız /Pik sistolik hız)
- c. PI (Pik sistolik hız -diyastol sonu hız /Ortalama hız) (114)

Yarı niceliksel Doppler USG verileri, akım direncinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan hesaplamalardır. Ölçülen direnç, akıma karşı tüm etkenlerden kaynaklanan dirençlerin toplamıdır ve damarın Doppler spektrumundan hesaplanabilir. Direnç, akımı kendi içerisinde değerlendirilen bazı indekslerle gösterilir. Pratikte bu amaçla RI ve PI kullanılır (114, 116, 117). RI, payda hiçbir zaman sıfır olmayacağından daha duyarlı kabul edilir. PI ise ortalama hız dikkate alındığından daha duyarlı gibi görünür; ancak ortalama hızın elde edilme yöntemi konusunda tartışmalar ve zorluklar olduğundan kullanımı yaygın değildir(114, 116, 117)

### **3-GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3. 1. Deney Hayvanları**

Her biri altı-sekiz haftalık, ortalama ağırlıkları 200 – 230 gram olan, iç besleme ile yetiştirilen, 30 adet Wistar türü Albino suşu dişi sıçan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından (DEÜTFDHAL) elde edildi. Sıçanlar çalışma süresince oda ısısında ( $20 \pm 2$  °C) ve 12'şer saatlik aydınlık / karanlık ortamında tutulup, standart pelet sıçan yemi ile beslenecek, suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı. Çalışmaya başlamadan önce sıçanlar bir hafta süreyle bu ortamda izlenecek ve ortama uyum sağlamaları gözlemlendi.

#### **3. 2. Deney Grupları**

Sıçanlar 7 gruba ayrıldıktan sonra her grupta sağ ve sol femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri yöntemiyle işlem öncesi ve işlem sonrası olmak üzere 2 kez kan akım hızı ölçüldü.

İki adet sıçandan sol ve sağ femoral arter diseksiyonunu takiben femoral arter 2 cm uzunluğunda eksize edilerek serum fizyolojik ile damar segmenti ve lümeninin yıkanması ardından 7 adet 2 mm genişliğinde halka şeklinde vasküler yapılar elde edilerek ayrı petri kaplarına alınacak olup in vivo olarak uygulanan tedavi in vitro olarak uygulandı. Damar çapları ölçülerek kayıt altına alındı

Çalışmada sonuçlar in vitro olarak damar çapları ölçümleri; in vivo olarak damar içinden geçen kan akımı incelemeleri ile değerlendirildi. Sıçanlar rastgele seçilerek, her biri 4(dört) sıçan içeren 7 grup oluşturuldu.

#### **3. 3. Deney Cerrahisi Akış Planı**

Grup 1 Negatif Kontrol (n:4): Adrenalin uygulanan grup

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü;15 dakika istirahat ardından perivasküler alana adrenalin uygulaması ardından 1 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.

Grup 2 (n:4): Papaverin uygulanan grup

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana papaverin (1.3 mmol/l) uygulaması ardından 1 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.

Grup 3 (n:4): %2'lik lidokain uygulanan grup

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü, 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana %2'lik lidokain uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.

Grup 4 (n:4): %20'lik lidokain uygulanan grup

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü, 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana %20'lik lidokain uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.

Grup 5 (n:4): 6 ü Botulinim toksin A uygulanan grup

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü, 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana 6 ü/Botulinum toksini uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü.

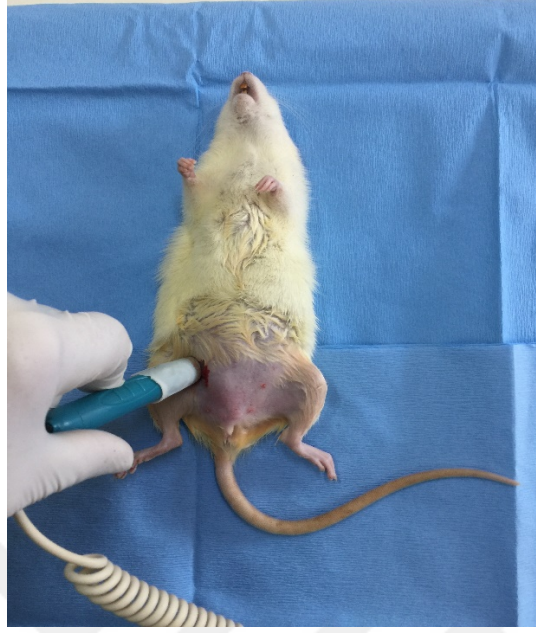
Grup 6 (n:4): 12 ü Botulinim toksin A uygulanan grup

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü, 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana 12 ü/Botulinum toksini uygulaması ardından 5 dk. sonraki kan akımı ölçüldü.

Grup 7 (n:4): 18 ü Botulinim toksin A uygulanan grup

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü,

15 dakika istirahat ardından perivasküler alana 18 ü/Botulinum toksini uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü.



**Resim 1:** Sağ femoral arter diseksiyonu ardından spektral el doppler yardımıyla akım ölçülmesi

Botulinum toksinin etkilerinin İn Vitro olarak araştırılması. İki adet sıçandan sol ve sağ femoral arter diseksiyonunu takiben femoral arter 3 cm uzunluğunda eksize edilerek serum fizyolojik ile damar segmenti ve lümeninin yıkanması ardından 7 adet 2 mm genişliğinde halka şeklinde vasküler yapılar elde edilerek ayrı petri kaplarına alınacak olup in vivo olarak uygulanan tedavi in vitro olarak uygulandı. Damar çapları ölçülerek kayıt altına alındı.

### **3. 5. Sıçanlara anestezi uygulanması:**

Anestezi için Xysilazine HCL (Rompun®-Bayer İlaç San. Türkiye) 5-10 mg/kg intraperitoneal ve Ketamin 50 mg/kg (Ketalar®-Eczacıbaşı İlaç San. Türkiye ) intraperitoneal kullanıldı. Bu uygulama ratlarda yaklaşık 30 dakika süre ile anestezi sağlanması planlanmakta olup, cerrahi işlemin 30 dakikayı aştığı durumlarda ketamin enjeksiyonu 5 mg/kg intraperitoneal olarak tekrarlandı.

### 3. 6. Hayvanların Sakrifikasyonu

Bütün çalışma gruplarındaki ratlar işlemden 1 saat sonra ketamin anestezisi sonrasında intrakardiyak kanı boşaltılıp sakrifiye edildi.

### 3. 7. Değerlendirme

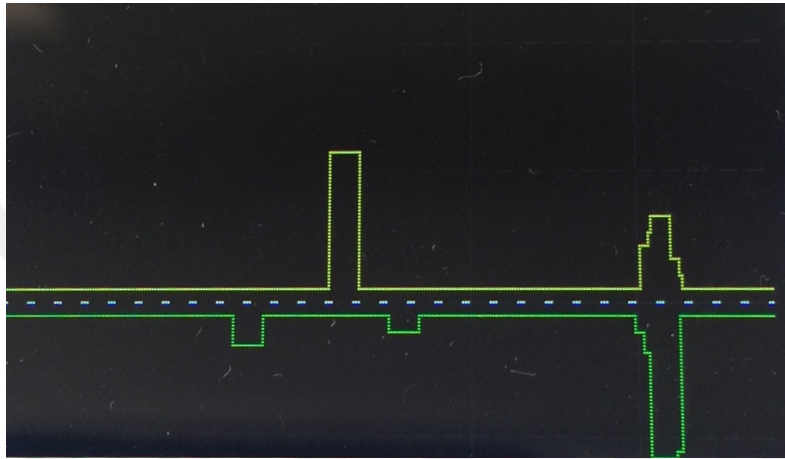
İn vivo olarak etken maddelerin vazokonstrüktif etkileri spektral el doppleri ile; in vitro olarak damar çaplarındaki değişiklikler milimetrik olarak analiz edilip kayıt altına alındı. Çalışmada elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart sapma biçiminde verildi. Araştırma sonuçlarının istatistik analizi, IBM SPSS için Windows istatistik programının 23. 0 versiyonu kullanılarak  $p < 0. 05$  anlamlılık düzeyinde incelendi. Artıkların (rezidüellerin) normal dağılışa uyumu Kolmogorov Smirnov ve Shapiro-Wilk testleriyle kontrol edildi. Normal dağılış uyumunda sorun gözlenmediği için hipotez testlerinde parametrik yöntemler kullanıldı. Gruplar arası ve işlem öncesi-sonrası farklılıkları birlikte incelemek üzere tekrarlayan ölçümler için tek yönlü varyans analizi kullanıldı.

## 4-BULGULAR ve SONUÇLAR

### 4. 1. Vazoaktif Maddelerin Kan Akış Hızına (KAH) Etkileri

#### 4. 1. 1. Grup 1

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü;15 dakika istirahat ardından perivasküler alana adrenalın uygulaması ardından 1 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.

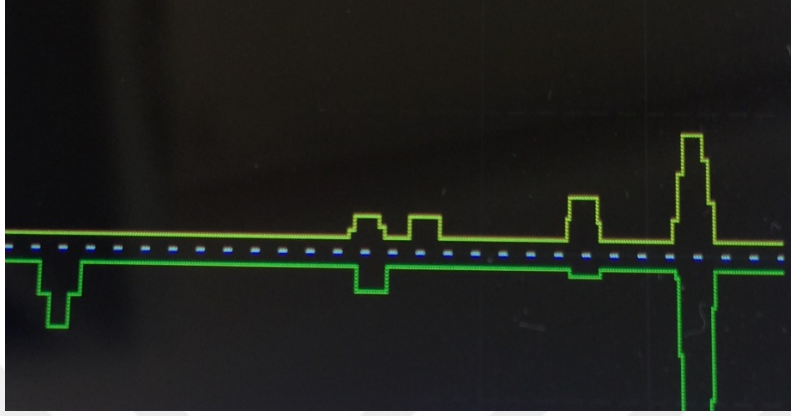


**Resim 2:** Adrenalin uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Tablo 1.** Adrenalin uygulanan sıçanlara ait kan akım hızıyla ilgili bulgular Tablo 1.'de gösterilmiştir.

KAH (cm/sn)	Sağ Femoral Arter		Sol Femoral Arter	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra
1	25,2	10,9	24,6	10,8
2	26,5	11,3	24,3	11,2
3	23,3	10,8	26,8	12,1
4	28,6	17,9	24,2	13,5

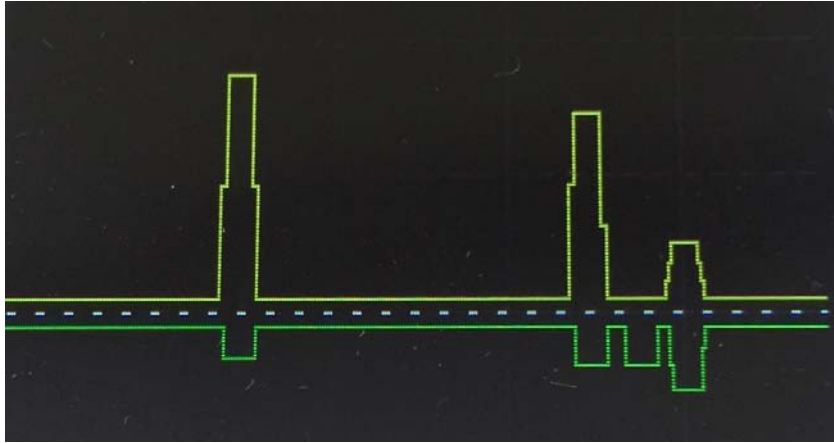
Adrenalin uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı medyan değeri 25.44 cm/ sn (minimum 23.3 cm/ sn, maksimum 28.6 cm/ sn); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 12.31 cm/ sn (minimum 10.8 cm/ sn, maksimum 17.9 cm/ sn) olarak saptandı. Adrenalin uygulama sonrası femoral arter kan akım hızında ortalama 13.12 cm/sn azalma saptandı.



**Resim 3:** Adrenalin uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

#### 4. 1. 2. Grup 2

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana papaverin (1,3 mmol/lit) uygulaması ardından 1 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.



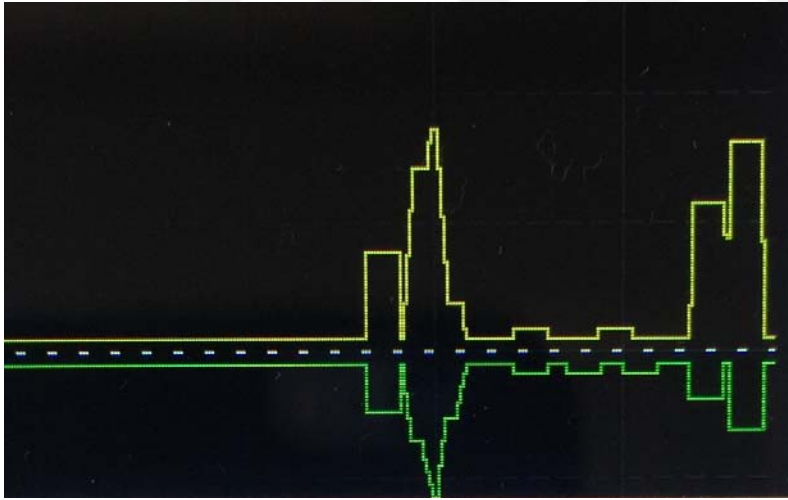
**Resim 4:** Papaverin uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı



**Tablo 2.** Papaverin uygulanan sıçanlara ait kan akım hızıyla ilgili bulgular Tablo 2’de gösterilmiştir.

KAH (cm/sn)	Sağ Femoral Arter		Sol Femoral Arter	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra
1	19,5	54,6	24,3	40,5
2	21,1	60,1	20,3	45,6
3	26,4	72,3	25,4	70,2
4	27,2	61,3	25,3	64,2

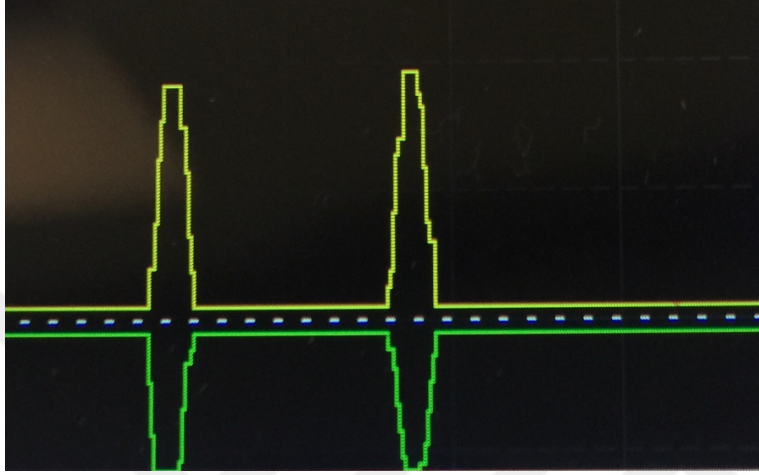
Papaverin uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı medyan değeri 23.70 cm/ sn (minimum 19.5 cm/ sn, maksimum 27.2 cm/ sn); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 58.6 cm/ sn (minimum 40.5 cm/ sn, maksimum 72.3 cm/ sn) olarak saptandı. Papaverin uygulama sonrası femoral arter kan akım hızında ortalama 34.9 cm/sn artma saptandı.



**Resim 5:** Papaverin uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

### 4. 1. 3. Grup 3

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana %2 lidokain uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.



**Resim 6:** % 2 Lidokain uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Tablo 3.** %2 lidokain uygulanan sıçanlara ait kan akım hızıyla ilgili bulgular Tablo 3’de gösterilmiştir.

KAH (cm/sn)	Sağ Femoral Arter		Sol Femoral Arter	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra
1	24,3	28,2	20,1	27,4
2	24,6	30,3	23,8	28,6
3	22,5	27,4	25,3	29,9
4	26,8	32,3	22,1	28,3

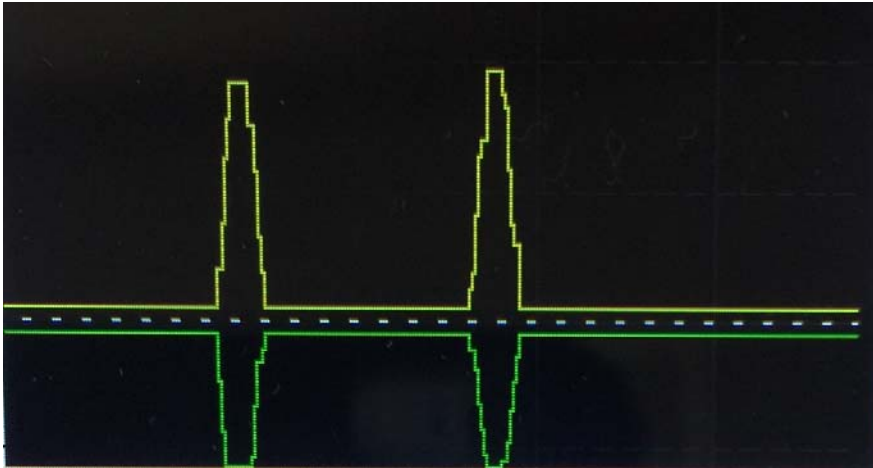
%2 lidokain uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı medyan değeri 23,69 cm/ sn (minimum 20,1 cm/ sn, maksimum 26,5 cm/ sn); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 29,05 cm/ sn (minimum 27,4 cm/ sn, maksimum 32,3 cm/ sn) olarak saptandı. %2 lidokain uygulama sonrası femoral arter kan akım hızında ortalama 5,36 cm/sn artma saptandı.



**Resim 7:** % 2 Lidokain uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

#### 4. 1. 4. Grup 4

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana %20 lidokain uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.

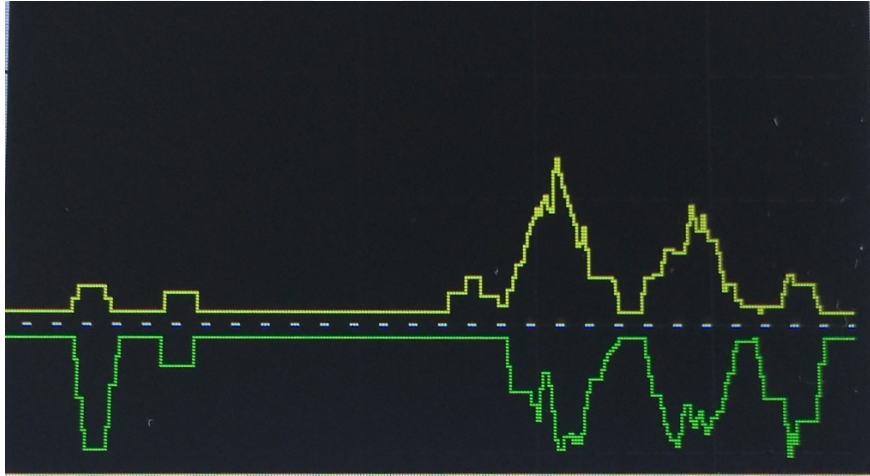


**Resim 8:** % 20 Lidokain uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Tablo 4.** %20 lidokain uygulanan sıçanlara ait kan akım hızıyla ilgili bulgular Tablo 4’de gösterilmiştir.

KAH (cm/sn)	Sağ Femoral Arter		Sol Femoral Arter	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra
1	20,2	30,1	22,1	27,3
2	19,8	29,3	21,7	26,3
3	24,3	32,1	23,9	30,4
4	20,7	28,2	23,5	29,2

%20 lidokain uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı medyan değeri 22,03 cm/ sn (minimum 19,8 cm/ sn, maksimum 32,1 cm/ sn); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 29,11 cm/ sn (minimum 27,4 cm/ sn, maksimum 32,3 cm/ sn) olarak saptandı. %20 lidokain uygulama sonrası femoral arter kan akım hızında ortalama 7,09 cm/sn artma saptandı.



**Resim 9:** % 20 Lidokain uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

#### 4. 1. 5. Grup 5

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana 6 iU BTx-A uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.

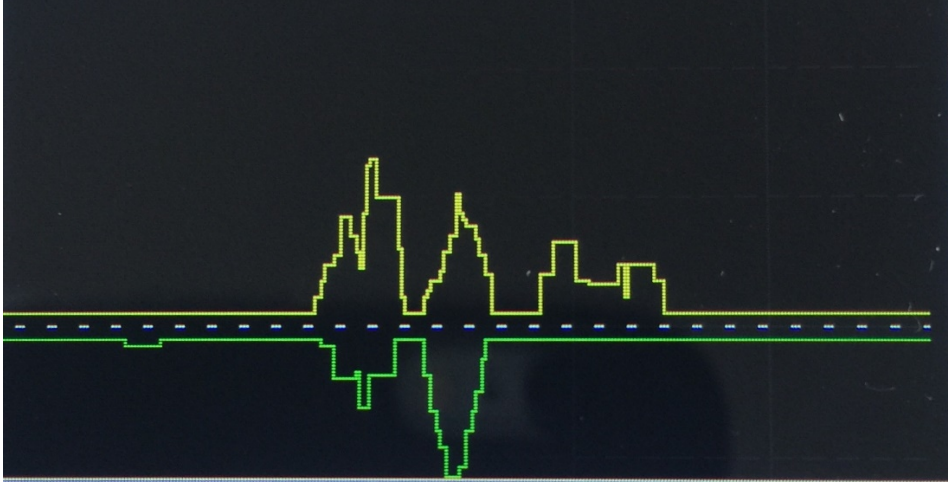


**Resim 10:** 6 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Tablo 5.** 6 iÜ BTx-A uygulanan sıçanlara ait kan akım hızıyla ilgili bulgular Tablo 5’de gösterilmiştir.

KAH (cm/sn)	Sağ Femoral Arter		Sol Femoral Arter	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra
1	18,3	52,5	22,5	35,6
2	21,4	58,3	19,7	33,6
3	25,7	54,1	24,3	53,7
4	25,9	53,4	24,8	55,1

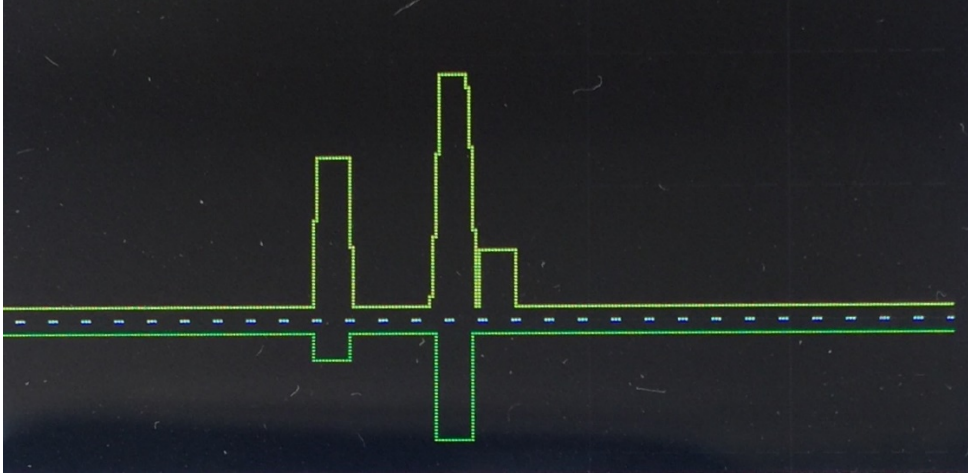
6 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı medyan değeri 22,83 cm/ sn (minimum 18,3 cm/ sn, maksimum 25,9 cm/ sn); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 49,54 cm/ sn (minimum 33,6 cm/ sn, maksimum 58,3 cm/ sn) olarak saptandı. 6 iÜ BTx-A uygulama sonrası femoral arter kan akım hızında ortalama 26,71 cm/sn artma saptandı.



**Resim 11:** 6 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

#### 4. 1. 6. Grup 6

Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana 12 iU BTx-A uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.



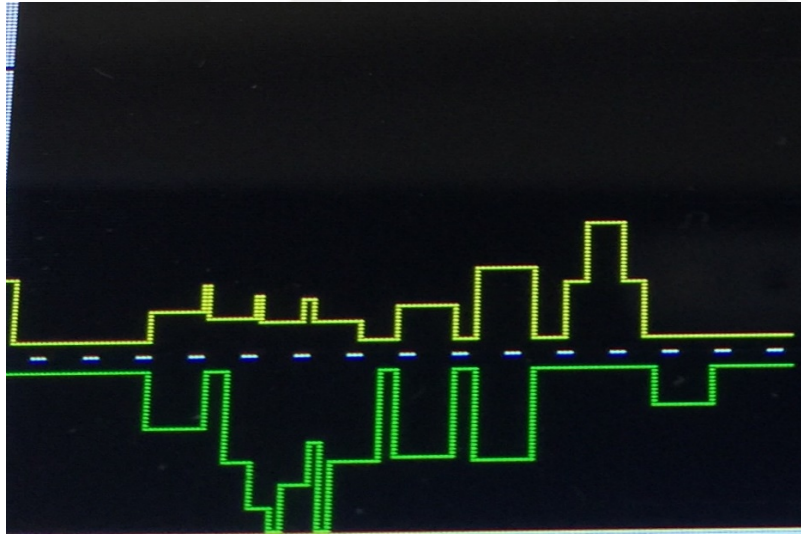
**Resim 12:** 12 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı



**Tablo 6.** 12 iU BTx-A uygulanan sıçanlara ait kan akım hızıyla ilgili bulgular Tablo 6’de gösterilmiştir.

KAH (cm/sn)	Sağ Femoral Arter		Sol Femoral Arter	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra
1	18,6	60,7	22,5	64,6
2	21,3	67,4	23,4	68,3
3	20,8	65,6	21,7	63,2
4	24,3	71,2	24,6	74,5

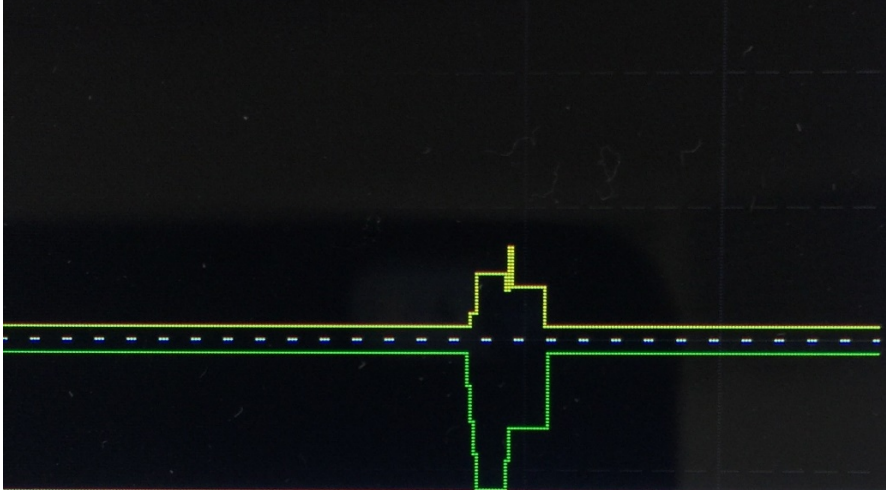
12 iU BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı medyan değeri 22,15 cm/ sn (minimum 18,6 cm/ sn, maksimum 24,6 cm/ sn); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 66,94 cm/ sn (minimum 63,2 cm/ sn, maksimum 74. 5 cm/ sn) olarak saptandı. 12 iU BTx-A uygulama sonrası femoral arter kan akım hızında ortalama 44,79 cm/sn artma saptandı.



**Resim 13:** 12 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı

#### 4. 1. 7. Grup 7

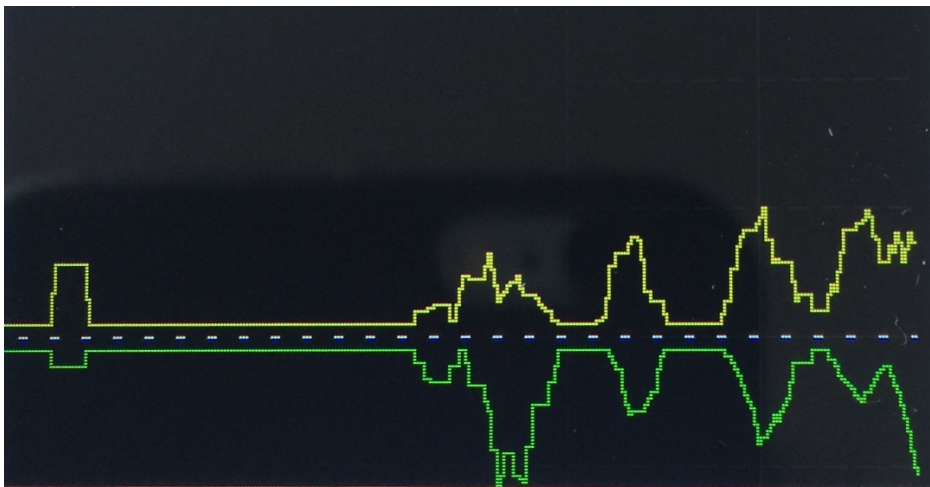
Anestezi altında sağ ve sol kasık bölgesinden açılan insizyon ardından sağ femoral arter diseksiyonunu takiben in vivo olarak spektral el doppleri ile işlem öncesi kan akımı ölçüldü 15 dakika istirahat ardından perivasküler alana 18 iU BTx-A uygulaması ardından 5 dk sonraki kan akımı ölçüldü. Aynı işlem sol tarafa da uygulandı.



**Resim 14:** 18 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı

**Tablo 7.** 18 iÜ BTx-A uygulanan sıçanlara ait kan akım hızıyla ilgili bulgular Tablo 7’de gösterilmiştir

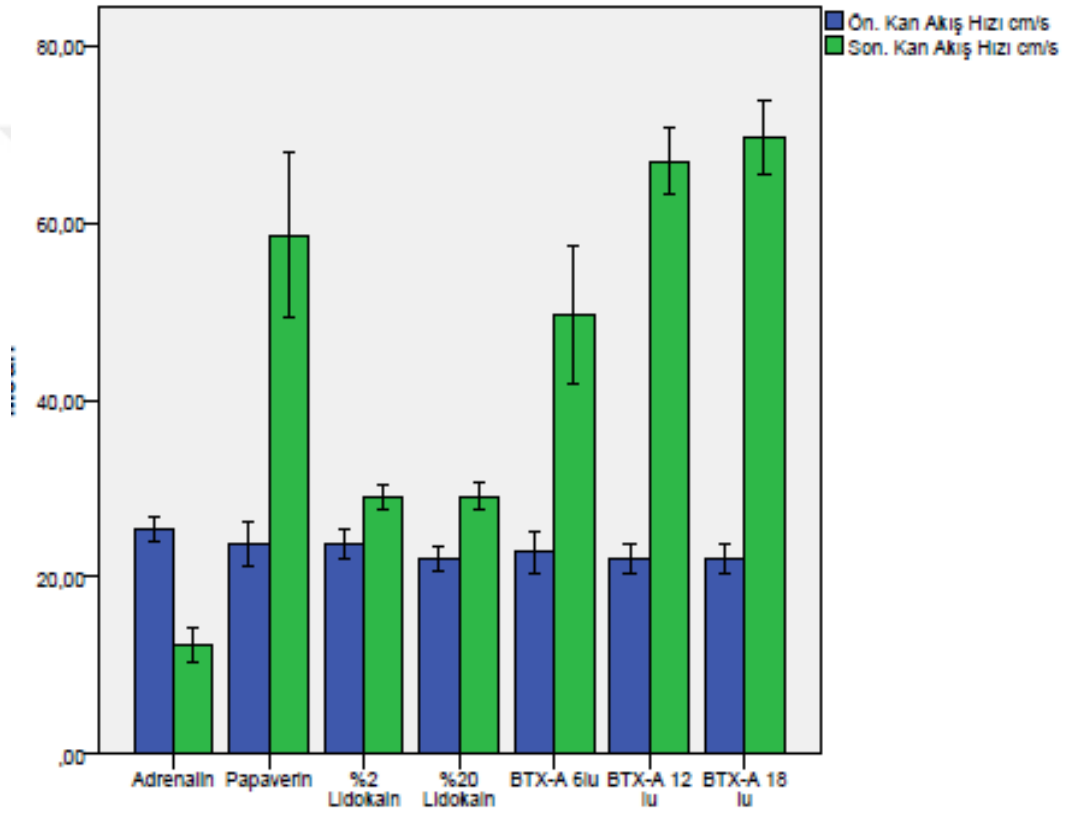
KAH (cm/sn)	Sağ Femoral Arter		Sol Femoral Arter	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra
1	19,2	63,7	22,6	67,4
2	20,3	69,5	23,8	71,3
3	20,6	67,6	21,1	64,7
4	25,2	77,2	23,6	75,5



**Resim 15:** 18 iÜ BTx-A uygulanan grupta işlem sonrası kan akım hızı



18 iU BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi kan akım hızı medyan değeri 22. 05 cm/ sn (minimum 19. 2 cm/ sn, maksimum 25. 2 cm/ sn); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 69. 62 cm/ sn (minimum 63. 7 cm/ sn, maksimum 77. 2 cm/ sn) olarak saptandı. 18 iU BTx-A uygulama sonrası femoral arter kan akım hızında ortalama 47. 57 cm/sn artma saptandı.



**Şekil 14:** Vazoaktif maddelerin Kan Akım Hızına Etkileri

Adrenalin dışında tüm gruplarda işlem sonrasında işlem öncesine göre KAH'da artma gözlemlendi. Adrenalin ile diğer grupların ikili karşılaştırılmalarında tüm gruplarla arasında

anlamli fark saptandı (  $p < 0,001$ ).

Papaverinin; KAH'na olan artış etkisinin %2 ve % 20 lidokaine göre daha fazla olduğu ( $p < 0,001$ ); 6 iU BTx-A ile arasında etki bakımından üstünlük olmadığı saptandı( $p=0,116$ ). Papaverinin; KAH'na olan artış etkisinin 12 ve 18 iU BTx-A göre daha az olduğu saptandı( $p < 0,001$ ). %2 ve % 20 lidokainin; KAH'na olan artış etki bakımından üstünlük olmadığı saptandı ( $p=1,000$ ). 6 iU BTx-A'un; KAH'na olan artış etkisinin %2 ve % 20 lidokaine göre daha fazla olduğu ( $p < 0,001$ ); papaverinle arasında etki bakımından üstünlük olmadığı saptandı( $p=0,116$ ). 12 iU BTx-A'un; KAH'na olan artış etkisinin papaverin, %2 ve % 20 lidokain ve 6 iU BTx-A göre daha fazla olduğu (  $p < 0,001$ ); 18 iU BTx-A ile arasında etki bakımından üstünlük olmadığı saptandı ( $p:1.000$ ).

#### **4. 2. Vazoaktif Maddelerin Damar Çaplarına Etkileri**

İki adet sıçandan sol ve sağ femoral arter diseksiyonunu takiben femoral arter 3 cm uzunluğunda eksize edilerek serum fizyolojik ile damar segmenti ve lümeninin yıkanması ardından 7 adet 2 mm genişliğinde halka şeklinde vasküler yapılar elde edilerek ayrı petri kaplarına alınacak olup in vivo olarak uygulanan tedavi in vitro olarak uygulandı. Damar çapları ölçülerek kayıt altına alındı.

##### **4. 2. 1. Grup 1**

Adrenalin uygulanan grupta işlem öncesi femoral arter damar çapı medyan değeri 81. 75 mm (minimum 79 mm, maksimum 84 mm ); işlem sonrası femoral arter damar çapı medyan değeri 66. 50 mm (minimum 64 mm, maksimum 69 mm) olarak saptandı. Adrenalin uygulama sonrası femoral arter çapında ortalama 15. 25 mm azalma saptandı.

##### **4. 2. 2. Grup 2**

Papaverin uygulanan grupta işlem öncesi femoral arter damar çapı medyan değeri 80. 25 mm (minimum 79 mm, maksimum 82 mm); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 89. 75 mm (minimum 88 mm, maksimum 93 mm) olarak saptandı. Papaverin uygulama sonrası femoral arter çapında ortalama 9. 5 mm artma saptandı.

#### **4. 2. 3. Grup 3**

% 2 lidokain uygulanan grupta işlem öncesi femoral arter damar çapı medyan değeri 77. 50 mm (minimum 77 mm, maksimum 78 mm); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 80. 75 mm (minimum 80 mm, maksimum 82 mm) olarak saptandı. % 2 lidokain uygulama sonrası femoral arter çapında ortalama 3. 25 mm artma saptandı.

#### **4. 2. 4. Grup 4**

% 20 lidokain uygulanan grupta işlem öncesi femoral arter damar çapı medyan değeri 77. 75 mm (minimum 77 mm, maksimum 78 mm); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 82. 00 mm (minimum 80 mm, maksimum 84 mm) olarak saptandı. % 20 lidokain uygulama sonrası femoral arter çapında ortalama 4. 25 mm artma saptandı.

#### **4. 2. 5. Grup 5**

6 iU BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi femoral arter damar çapı medyan değeri 79. 75 mm (minimum 77 mm, maksimum 84 mm); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 85. 25 mm (minimum 82 mm, maksimum 90 mm) olarak saptandı. 6 iU BTx-A uygulama sonrası femoral arter çapında ortalama 5. 50 mm artma saptandı.

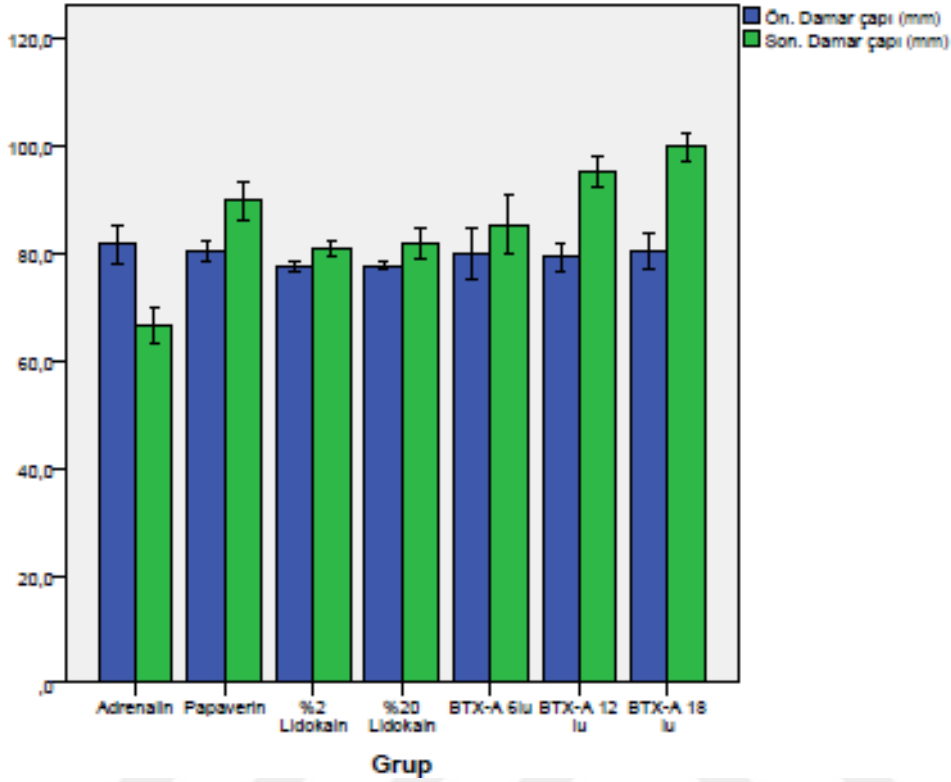
#### **4. 2. 6. Grup 6**

12 iU BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi femoral arter damar çapı medyan değeri 79. 25 mm (minimum 77 mm, maksimum 81 mm); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 95. 00 mm (minimum 93 mm, maksimum 97 mm) olarak saptandı. 12 iU BTx-A uygulama sonrası femoral arter çapında ortalama 15. 75 mm artma saptandı.

#### **4. 2. 7. Grup 7**

18 iU BTx-A uygulanan grupta işlem öncesi femoral arter damar çapı medyan değeri 80. 50 mm (minimum 78 mm, maksimum 83 mm); işlem sonrası kan akım hızı medyan değeri 99.

75 mm (minimum 98 mm, maksimum 102 mm) olarak saptandı. 18 iU BTx-A uygulama sonrası femoral arter çapında ortalama 19.25 mm artma saptandı.



**Şekil 15:** Vazoaktif Maddelerin Damar Çaplarına Etkileri

Adrenalin dışında tüm gruplarda işlem sonrasında işlem öncesine göre femoral arter çapında artma gözlemlendi. Adrenalin ile diğer grupların ikili karşılaştırılmalarında tüm gruplarla arasında anlamlı fark saptandı ( $p < 0,001$ ).

Papaverinin; femoral arter çapına olan artış etkisinin %2 ve %20 lidokaine göre daha fazla olduğu ( $p < 0,001$ ); 6 iU BTx-A ile arasında etki bakımından üstünlük olmadığı saptandı ( $p = 0,020$ ). Papaverinin; femoral arter çapına olan artış etkisinin 12 ve 18 iU BTx-A göre daha az olduğu saptandı ( $p < 0,001$ ). %2 ve %20 lidokainin; femoral arter çapına olan artış etkileri bakımından birbirlerine üstün olmadığı saptandı ( $p = 1,000$ ). 6 iU BTx-A'un; femoral arter çapına olan artış etkisinin %2 ve %20 lidokaine göre daha fazla olduğu ( $p < 0,001$ ); papaverin ile arasında etki bakımından üstünlük olmadığı saptandı ( $p = 0,020$ ). 12 iU BTx-A'un; KAH'na olan artış etkisinin papaverin, %2 ve %20 lidokain ve 6 iU BTx-A göre daha fazla olduğu ( $p < 0,001$ ); 18 iU BTx-A ile arasında etki bakımından üstünlük olmadığı saptandı ( $p = 1,000$ ).

## 5-TARTIŞMA

Serbest doku nakilleri komplike vücut deformatelerinde sıklıkla kullanılan mikrocerrahi prosedürlerdir. Cerrahi sonrası flep veya organ kayıpları arasında birçok sebep bulunur. Bunlar hastaya bağlı faktörler, kullanılan cerrahi teknik, cerrah tecrübesi, vasküler manipülasyon derecesi ve postoperatif cerrahi bakımı gibi faktörlerdir. Bu faktörler arasında en önemli problem vasküler spazm ve vasküler trombozlardır. Bu vasküler trombozlar arteriyel ve venöz kaynaklı olabilir. İntraoperatif olarak papaverin, %2 ve %20'lik lidokain uygulaması; postoperatif dönemde antiagregan ve antitrombotik ajanların kullanılması vasküler tromboz ve spazmı önlemeye yönelik tedavi yöntemleri arasındadır(1, 2)

Çalışmamızda Plastik cerrahide serbest doku nakilleri ve replantasyon cerrahisinde intraoperatif olarak sık kullanılan ajanların (papaverin, heparin ve lidokain) kısa süreli etkiye sahip olması göz önünde bulundurularak; Botulinum toksin A'nın uzun süreli etkisinden (3 ay) faydalanılarak vazospazm ve tromboza bağlı komplikasyonlarda düşüş sağlanması hipotezi kurulmuştur.

Dr. Justinus Kerner botulinum toksin zehirlenmesini 1817 yılında klinik olarak ilk tanımlayan kişidir. Daha sonra Prof. van Ermengen botulinum toksininin kaslarda paralizi yaparak ölüme sebep olduğunu bildirmiştir ve bu toksinin kaynağı olan anaerobik sporlu basili Bacillus botulinus olarak adlandırmış, ilerleyen zaman içinde isim değişerek Clostridium botulinum haline gelmiştir. Botulizm için ilk antiserum 1897'de W. Kemper tarafından geliştirilmiştir. Botulinum toksinin ikinci serotipi (tip B) 1910'da Leuchs tarafından bulunmuştur. 1949'da Burgen botulinum toksinin etki mekanizmasını tanımlamıştır. 1973'de Scott tarafından hayvanlarda test edilen nörotoksin 1978'de yapılan pilot çalışmaların ardından, 1989'da strabismus, hemifasiyal spazm ve blefarospazm tedavisi için ABD'de FDA (Food and Drug Administration) onayıyla kullanılmaya başlanmıştır. Botulinum toksin tip A'nın kozmetik kullanımı ise ilk olarak Jean Carruthers ve Alastair Carruthers tarafından rapor edilmiştir (50).

Clostridium ailesinin iki ana ögesi, temel yapı ve fonksiyonel özellikleri benzerlik gösteren Clostridium Tetani ve Clostridium botulinum'dur. Cl. Tetani merkezi sinir sistemi üzerine, Cl. Botulinum ise periferik sinir sistemi üzerine etkilidir. Botulinum toksin (BTx), sporlu, gram (+), anaerob Cl botulinum'un ekzotoksinidir. BTx'in A, B, C1, D, E, F ve G olmak üzere yedi farklı serotipi bulunur(50).

Schweizer ve arkadaşları farelerde dorsal flep modelinde BTx-A ve BTx-B'nin farklı dozlarının flep sağ kalımına etkisini, kan akım hızına ve parsiyel oksijen basıncına etkilerini

karşılaştırmışlardır. Fareler kontrol grubu, cerrahi öncesi BTx-A ve cerrahi öncesi BTx-B uygulanan grup olmak üzere gruplara ayrılmış olup postoperatif 1. ve 5. günlerde flep kan akımı lazer doppler ile ölçülmüş, PtO<sub>2</sub> değerleri ve flepte nekroz oranları değerlendirilmiştir. BTx-A uygulanan grupta BTx-B uygulanan gruba göre flep nekrozunda azalma, kan akımında ve PtO<sub>2</sub> basınçlarında anlamlı derece artma saptanmıştır. Benzer etkiyi gösteren BTx-A dozunun BTx-B dozundan düşük olduğu (1iü BTx-A=5 IU BTx-B) sonucuna varmışlardır(118).

Park ve arkadaşları sıçanlarda dorsal flep modelinde salin ve BTx-B'nin flep kan akım hızına ve damar çapına etkilerini karşılaştırmışlardır. Cerrahi öncesi 3 gün enjeksiyon uygulanan sıçanlarda postoperatif 3. ve 7. gün spektral doppler ile kan akım hız ve femoral arter çapları değerlendirilmiştir. BTx-B uygulanan grupta damar çapların ve kan akım hızlarında anlamlı artış saptamışlardır(119).

BTx-A, primer olarak sinaptik aralıkta asetilkolin salınımını bloke ederek etki gösterir. Bu ajan, vasküler düz kaslar üzerinde de bloke edici bir etkiye sahip olduğu için vazodilatatör etkiye de sahiptir. BTx-A'nın vazospastik hastalıklardaki kullanımını 2003 yılında başlamış olmasına karşın, bu alanda çok geniş kullanım pratiği henüz oluşmamıştır. Skleroderma gibi hastalıklarda periferik vasküler dolaşımın artırılması amacıyla sempatektomiye iyi bir alternatif olduğu bilinmektedir. BTx-A ile henüz sempatektomi ya da cerrahi kararı alınmayan veya cerrahi uygulanması mümkün olmayan hastalarda BTx-A ile periferik dolaşımın artırılması mümkün olabilmektedir. BTx-A'nın klinik kullanımında daha sık kullanılıyor olması, BTx-B ile ilgili piyasa erişimini kısıtlı olması ve literatürde BTx-B'ye yönelik kısıtlı çalışmalar bulunması sebebiyle çalışmamızda BTx-A'nın diğer ajanların uygulanması sonrasında vasküler akıma etkileri karşılaştırılmıştır(76).

Çalışmamızda mikrocerrahide en sık kullanılan vazodilatatör ajan papaverin ve lidokain ile BTx-A'nın farklı dozlarda etkinlikleri arasındaki fark karşılaştırılmıştır. El doppleri yardımıyla akım hızı ölçümlerinde;12 ve 18 IU BTx-A dozlarının rutin işlemlerde en sık kullanılan papaverine göre kan akım hızında belirgin artış etkisinin olduğu saptandı. Ayrıca 6 IU BTx-A'nın yine rutinde sık olarak kullanılan %2 ve %20 lidokaine kan akım hızında artış etkisinde benzer etkilere sahip olduğu; 12 ve 18 IU BTx-A dozlarının rutin işlemlerde sık kullanılan %2 ve %20 lidokaine göre kan akım hızında belirgin artış etkisinin olduğu saptandı.

Flavahan ve ark skleroderma hastalarında küçük kutanöz damarların düz kaslarında ısıya duyarlı alfa2 adrenerjik reaktivitenin arttığını göstermişlerdir. Alfa2 reseptörlerin sinyalizasyonuna bağlı olarak gelişen vazokonstriksiyon, vasküler dokudaki fosfolipaz D, tirozin kinaz pp60 ve düşük molekül ağırlıklı RhoA proteini ile ilgilidir. Fosfolipaz D aktivitesi komplek olarak Botox ile bloke edilebilir. Benzer şekilde, RhoA antikorları da direkt olarak fosfolipaz D seviyelerini azaltır. Bu mekanizmalarla, hastalığa ya da cerrahiye bağlı olarak vasküler dolaşımın artırılması gereken durumlarda BTx-A iyi bir alternatif olarak düşünülebilir(120).

Arteriyel duvar kas tabakası sempatik fibrillerle innerve olurlar. Bu sinaptik transmisyonunda norepinefrin rol alır. Botox, nöromusküler bileşkede norepinefrin salınımını önlemektedir. Morris ve ark guinea pig uterin arterleri ve vena cava inferiorda norepinefrin veziküllerinin ekzositozunu bloke ederek vasküler düz kaslarda sempatik vazokonstriksiyonu önlediğini göstermişlerdir. Bu kontraksiyon blokajı yaklaşık % 50-60 oranında azaltılabilmektedir(121, 122).

Botox dual bir etkiye sahiptir. Soğğun indüklediği vazospazmı inhibe eder ve soğuk maruziyetine bağlı vasküler düz kaslardaki alfa2 reseptör etkisini azaltır. Botox direkt damar düz kaslarına da etkilidir. Kimyasal olarak afferent sinir blokajı ve sempatik sinir iletim blokajı yapar. Ancak ek etki mekanizmaları da bulunmaktadır. Bu nedenle Btx'in net etki mekanizmasının ortaya çıkarılması için deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır(123).

Plastik cerrahide botoxun estetik cerrahi dışında kullanımına yönelik ve nörotransmitter seviyedeki etki mekanizmasını ortaya koyan deneysel çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. NOS'in genetik olarak farklı üç izo-formu tespit edilmiştir. Bunlar; düşük miktarda üretilerek vasküler tonusu ayarlayan bir konstitutif endotelial izoform (e-NOS), yine düşük miktar üretilen sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen bir konstitutif nöronal izoform (n-NOS) ve yüksek miktarda üretilerek, immun/inflamatuar olaylarda rol alan ve hücre aracılı immun cevapta etkili bir komponent olan uyarılabilir form (i-NOS)'dur. n-NOS ve e-NOS izoenzimleri NO üretimi için Ca<sup>2+</sup> kalmodulin kompleksine bağımlıdır, buna karşın NOS bundan bağımsızdır(124).

Roh ve arkadaşları farelerde oluşturdukları dorsal flep modelinde salin ile BTx-A'nın kan akımı hızına etkisi, noradrenalin (NA), nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentetaz (eNOS), Nöropeptid Y (NPY) ve cilt biyopsilerinde yeni damar oluşumlarını karşılaştırmıştır. Cerrahi öncesi 3 gün boyunca salin ve BTx-A uyguladıkları farelerden postoperatif 3. ve 7. Günde

lazer doppler ile kan akım hızını; western blot ve likid kromotografik analizlerle nörotransmitter seviyelerini değerlendirmiştir. Btx-A uygulanan grupta salin uygulanan gruba göre kan akım hızında, NO, eNOS ve biyopsi materyallerinde anjiyogenezde belirgin artış; NE ve NPY seviyelerinde belirgin azalma saptamışlardır(125).

Btx-A'nın anjiyogenez üzerine etkisinin moleküler düzeyde anlaşılabilmesi için çok geniş deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır. Hynes tüp fleplerde yaptığı ter testine dayandırdığı çalışmasında geciktirme mekanizmasında sempatektominin etkili olduğunu ve buna bağlı oluşan damarlanmanın etkisini vurgulamıştır(126). Hynes'in bu iddiasından yaklaşık 20 yıl sonra 1970'li yıllarda sempatik sinir sisteminin damar tonusu üzerindeki etkisi dikkat çektiği için geciktirme işlemini sağlayan denervasyon sonrası oluşan vazodilatasyon olduğu iddiası popülerize olmuştur.

Finseth ve Cutting bilateral pediküllü sıçan epigastrik flebinin bir pedikülünü önceden bağlayarak geciktirme yapabilmiş, etki mekanizması olarak da denervasyon ve/veya hipoksiye bağlı kalıcı vazodilatasyon gelişmesini göstermişlerdir. Yine aynı araştırmacılar flep kaldırdığı anda sempatik sinir uçlarından salınan vazokonstriktif transmitterler salınarak flep beslenmesinin azaldığını daha sonra bu nörotransmitterlerin ortamda azalması ile vazodilatasyonun ortaya çıktığını öngörmüşlerdir(127). Sıçan nörovasküler ada flebinde arter, ven ve siniri ayrı ayrı keserek yaptıkları geciktirme çalışmasında en iyi flep yaşayabilirliğinin her üç yapının da kesilmesi ile maksimuma ulaştığını, en az faydanın ise sadece ven bağlandığında ortaya çıktığını göstermişlerdir.

Jurell ve arkadaşlarının yayınlamış olduğu çalışmasında geciktirme yapılmış ve yapılmamış fleplerde sempatik denervasyonun etkisini araştırmak için norepinefrin, ATP ve c-AMP düzeylerini incelemiş, geciktirme uygulanan fleplerde nörotransmitterlerin kendiliğinden boşaldığını, özellikle norepinefrin düzeylerinin azaldığını ve buna bağlı olarak vazokonstriksiyonun azaldığını saptamıştır. Antiadrenerjik ilaçlarla yaptığı çalışmalarla da bu sonucunu desteklemiştir(128).

German, Seitchik ve Kahn geciktirme işlemi sonrasında tüp pedikülün uzun eksenine boyunca, küçük damarların uzunlamasına yeniden yerleştiğini boyut artışı olduğunu, buna ek olarak subdermal pleksustaki arter sayısında artış tespit etmişlerdir (129). Johnson, kan damarlarının flebin uzun aksına paralel olacak şekilde yeniden düzenlendiğini, kan akımındaki artışın ise önce vazodilatasyona, sonra neovaskülarizasyona bağlı olduğunu söylemiştir(130). Young, yaptığı bir araştırmada normal deri ile kıyaslandığında, fleplerin distal kısmında besleyici kan akımında azalma saptaması, flebin proksimalindeki A-V anastomozların dilatasyonuna bağlı



olduğu görüşünü desteklemiş ve sonuçta hipoksinin neovaskülarizasyonun en kuvvetli uyarıcısı olduğunu savunmuştur(131).

Büyüme faktörleri, kendilerine duyarlı hücrelerin biyolojik aktiviteleri üzerinde reseptöryoluyla etkilerini gösteren, küçük proteinler veya glikoproteinlerin oluşturduğu sitokinlerdir. Tek başlarına etki gösterebildikleri gibi, bir kısmı sinerjistik etkileşim yollarını kullanır. Bu büyüme faktörleri arasında, VEGF “vascular endothelial growth factor”, PDGF “platelet derived growth factor”, bFGF “basic fibroblast growth factor” ve TGF- $\beta$  “transforming growth factor” en iyi bilinen ve üzerinde en çok araştırma yapılan ajanlardır. Bu faktörler arasında anjiyogenezi en potent şekilde uyaran ve hipoksi ile salınımı tetiklenen faktör VEGF’dir(132).

Park ve arkadaşları farelerde oluşturdukları transvers rektus abdominis (TRAM) flep modelinde salin ile BTx-A’nın flep sağ kalımına etkisi, cilt biyopsilerinde anjiyogenezi arttırdığı bilinen molekül düzeylerini karşılaştırmıştır. Cerrahi öncesi 5 gün boyunca salin ve BTx-A uyguladıkları farelerden postoperatif 0, 1, 3 ve 5. günlerde flepteki nekroz oranlarını; western blot ve PCR analizleriyle anjiyogenezde önemli rol oynayan CD34, vasküler endotelial faktör (VEGF), hipoksi indükleyici faktör-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) seviyelerini değerlendirmiştir. Btx-A uygulanan grupta salin uygulanan gruba göre flep sağ kalımında artış; CD34, VEGF ve HIF-1 $\alpha$  seviyelerinde anlamlı derecede artış saptamışlardır(133).

Kim ve arkadaşları farelerde oluşturdukları derin inferior epigastrik arter perforatör (DİEP) flep modelinde salin ile BTx-A’nın cilt biyopsilerinde anjiyogenezi arttırdığı bilinen molekül düzeylerini karşılaştırmıştır. Cerrahi öncesi 3 gün boyunca salin ve BTx-A uyguladıkları farelerden postoperatif 1. Ve 7. günlerde western blot ve PCR analizleriyle anjiyogenezde önemli rol oynayan CD34, vasküler endotelial faktör (VEGF), hipoksi indükleyici faktör-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), nuclear factor  $\alpha$ B (NF- $\alpha$ B) ve mechanistic target of rapamycin (mTOR) seviyelerini değerlendirmiştir. Btx-A uygulanan grupta salin uygulanan gruba göre flep sağ kalımında artış; CD34, VEGF, HIF-1 $\alpha$ , NF- $\alpha$ B ve mTOR seviyelerinde anlamlı derecede artış saptamışlardır(134).

Temiz ve arkadaşları farelerde oluşturdukları transvers rektus abdominis (TRAM) flep modelinde cerrahi geciktirme ile kimyasal geciktirmenin (BTx-A) flep sağ kalımına etkisi, cilt biyopsilerinde anjiyogenezi arttırdığı bilinen molekül düzeylerini karşılaştırmıştır. Fareleri; geciktirme uygulanmayan, 1 ay önceki cerrahi dönemde subkutan salin uygulanan, 1 ay önceki cerrahi dönemde BTx-A uygulanan, cerrahiden 2 hafta önce kraniyal epigastrik arteri bağlayarak cerrahi geciktirme uygulanan, 1 ay önceki cerrahi dönemde BTx-A uygulanan ve

cerrahiden 2 hafta önce kraniyal epigastrik arteri bağlayarak cerrahi geciktirme uygulanan grup olmak üzere 5 gruba ayırmışlar. Flep kan akım hızını lazer doppler ile, anjiyogenez oluşumunu ise deri biyopsilerinden alınan örneklerde CD31 yoğunluğunu ortaya koyarak değerlendirmişler. Btx-A ile kimyasal geciktirme uygulanan grupla, cerrahi geciktirme uygulanan grup arasında fark bulunamamış olup; en fazla kan akım artışı ve anjiyogenez oluşumunu kimyasal ve cerrahi geciktirmenin birlikte uygulandığı grupta saptamışlardır. Sonuç olarak; BTx-A ile kimyasal geciktirme işleminin plastik cerrahi rutininde sık kullanılan cerrahi geciktirme işlemine alternatif olarak kullanılabilmesi hipotezini ortaya koymuşlardır(135).

Botulinum toksininin iskelet nöromusküler bileşkesindeki etkisi ve klinik uygulamaları geniş bir şekilde tanımlanmıştır. Kimyasal denervasyon, doza bağlı olarak birkaç haftadan aylara kadar değişken olmaktadır. İskelet kaslarının fonksiyonel geri dönüşü yeni sinir terminallerinin tekrar fonksiyon kazanmasıyla ilgilidir. Uygulamamızdaki gibi BTx-A'nın etkisinin diğer gruplara kıyasla daha uzun sürdüğü göz önüne alınırsa, remodelling dönemine kadar vasküler akımı destekleyeceği, bunun yanı sıra bu özelliğin, BTx-A'nın diğer gruplara göre bir avantajı olduğu düşünülebilir(136).

Damarlardaki sempatik aktivitenin blokajı sonrasında 3 fazlı bir cevap ortaya çıkar. Birinci fazda birkaç saat içinde kırmızı kürelerin akışkanlığı artar. İkinci fazda ilk 24 saat içerisinde arteriyoller dilate olmaya başlar. Üçüncü fazda ise denervasyondan 2 hafta sonar mikrodamarlar topikal vazodilatör maddelere karşı oldukça hipersensitiftir. Bu aşamada kapiller akım oldukça fazladır. Bu mekanizmadan hareketle, flep transferi öncesi 2 haftalık dönemde Btx uygulanması ile cerrahi döneminde vasküler akımda istenen artış sağlanabilir. Cerrahi esnasında ise birinci faza etkili papaverin gibi uygulamalara kombine olarak BTx-A, tedavi algoritmasına eklenebilir(137, 138).

Yeni rejenere olan ve fonksiyone endplate ünitesinin botulinum toksin enjeksiyonundan yaklaşık 3-4 ay sonra ortaya çıktığı belirtilmektedir. Bu nedenle botulinum toksininin bir diğer avantajı da remodelling sonrasında normal fonksiyona geri dönülebilmesidir.

Çalışmamızda ayrıca mikrocerrahide en sık kullanılan vazodilatör ajan papaverin ve lidokain ile BTx-A'nın farklı dozlarda etkinlikleri arasında damar çapı üzerine etkileri karşılaştırılmıştır. Yapılan ölçümlerde 12 ve 18 IU BTx-A dozlarının rutin işlemlerde en sık kullanılan papaverine göre damar çapında belirgin artış etkisinin olduğu saptandı. Ayrıca 6 IU BTx-A'nın yine rutinde sık olarak kullanılan %2 ve %20 lidokaine göre damar çapında artış

etkisinde benzer etkilere sahip olduğu; 12 ve 18 IU BTx-A dozlarının rutin işlemlerde sık kullanılan %2 ve %20 lidokaine göre damar çapında belirgin artış etkisinin olduğu saptandı.

Botulinum toksini ile kasın geçici denervasyonu, kas fiberlerinin çapında azalmaya neden olur. Bu nedenle botulinum toksininin damar düz kaslarında kronik atrofiye yol açıp açmadığına dair uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır. Spektral Doppler flowmetri ile kan akımının kantitatif olarak değerlendirilmesi, çalışmamızdan elde edilen bulguların objektivitesini arttırmakta ve gruplar arası karşılaştırmalarda niceliksel karşılaştırma yapılması mümkün olmaktadır.



## 6-SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Plastik cerrahide serbest doku nakilleri ve replantasyon cerrahisinde intraoperatif olarak sık kullanılan ajanların (papaverin, heparin ve lidokain) kısa süreli etkiye sahip olması göz önünde bulundurularak; Botulinum toksin A'nın uzun süreli etkisinden (3 ay) faydalanılarak vazospazm ve tromboza bağlı komplikasyonlarda düşüş sağlanması amaçlanmıştır. Çalışmamızda mikrocerrahide en sık kullanılan vazodilatatör ajan papaverin ve lidokain ile BTx-A'nın farklı dozlarının etkinlikleri arasındaki fark spektral el doppleri yardımıyla kan akım hızına ve damar çaplarına etkileri karşılaştırılmıştır.

Elde edilen bulgular sonucunda BTx-A'nın vazokontrüksiyon üzerine etkilerinin klasik vazodilatatör ajanlara üstünlüğü gösterilmiş olup; intraoperatif tedavi protokollerinde diğer ajanlara alternatif olabileceği veya birlikte kullanabileceğini düşünmekteyiz. Ancak botulinum toksini ile kasın geçici denervasyonu, kas fiberlerinin çapında azalmaya neden olur. Bu nedenle botulinum toksininin damar düz kaslarında kronik atrofiye yol açıp açmadığına dair uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Clemens MW, Higgins JP, Wilgis EFS. Prevention of anastomotic thrombosis by botulinum toxin A in an animal model. *Plastic and reconstructive surgery*. 2009;123(1):64-70.
2. Murakami E, Iwata H, Imaizumi M, Takemura H. Prevention of arterial graft spasm by botulinum toxin: an in-vitro experiment. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2009;9(3):395-8.
3. Ikuta Y. History of Microsurgery. *Telemicrosurgery*: Springer; 2013. p. 3-14.
4. Nylén C-O. The otomicroscope and microsurgery 1921–1971. *Acta oto-laryngologica*. 1972;73(2-6):453-4.
5. BM OB. *Microvascular Reconstructive Surgery*. 1977;p. 359.
6. Guthrie CC. *Blood vessel surgery and its applications*: Arnold; 1912.
7. K. EN. voprosu o perevyazkie vorotnois veni. *Prevaritelnoye soobshtshjenye*. *Woen Med* J1877:130:1-2.
8. Murphy JB. *Resection of Arteries and Veins Injured in Continuity--End-to-end Suture: Experimental and Clinical Research*: Publisher's Printing Company; 1897.
9. İ. Y. *Türk Plastik Cerrahi Tarihçesi*. 1. Baskı. Nobel Tıp Kitabevi; Ankara.: 2012;p. 21-36.
10. Payr E. Beitrage zur Technik der Blutgefass-und Nervennaht nebst Mittheilungen uber die Verwendung eines resorbirbaren Metalles in der Chirurgie. *Arch Klin Chir*. 1900;62(1):67-93.
11. Carrel A. *Les anastomoses vasculaires et leur technique opératoire (Surgery (Experimental), including transplantations of organs and tissues)*. 1904.
12. Buncke HJ, Schulz WP. Total ear reimplantation in the rabbit utilising microminiature vascular anastomoses. *British journal of plastic surgery*. 1966;19:15-22.
13. Carrel A. *La technique opératoire des anastomoses vasculaires et de la transplantation des viscères*: Association typographique; 1902.
14. Conway H, Griffith BH, Shannon Jr JE, Findley A. Re-examination of the transparent chamber technique as applied to the study of circulation in autografts and homografts of the skin. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1957;20(2):103-16.
15. Conway H, Nickel WF, Smith JW. Homotransplantation of thyroid and parathyroid glands by vascular anastomoses. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1959;23(5):469-79.
16. Gibson T, Medawar PB. The fate of skin homografts in man. *Journal of Anatomy*. 1943;77(Pt 4):299.
17. Green G, Som M. Free grafting and revascularization of intestine. I. Replacement of the cervical esophagus. *Surgery*. 1966;60(5):1012-6.
18. Jacobson JH, Suarez E, editors. *Microsurgery in anastomosis of small vessels*. *Surgical Forum*; 1960.
19. McLean J. The thromboplastic action of cephalin. *American Journal of Physiology--Legacy Content*. 1916;41(2):250-7.
20. Charles A, Scott D. Studies on heparin I. The preparation of heparin. *Journal of Biological Chemistry*. 1933;102(2):425-9.
21. Jacobson 2nd J. The early days of microsurgery in Vermont. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*. 1997;64(3):160.

22. Miller F, Perry Jr J, Thal A, Wangenstein O. Direct suture anastomosis of the coronary arteries in the dog. *Surgery*. 1956;40(6):1023.
23. Goldwyn RM, Lamb DL, White WL. An experimental study of large island flaps in dogs. *Plastic and reconstructive surgery*. 1963;31(6):528-36.
24. Tamai S. History of microsurgery. *Plastic and reconstructive surgery*. 2009;124(6S):e282-e94.
25. Kleinert HE, Kasdan ML, Romero JL. Small blood-vessel anastomosis for salvage of severely injured upper extremity. *J Bone Joint Surg Am*. 1963;45(4):788-96.
26. Malt RA, McKhann CF. Replantation of severed arms. *JAMA*. 1964;189(10):716-22.
27. Donaghy R, Yasargil M. *Microvascular Surgery: Report of the First Micro-Angeional Conference*. October 6–7, 1966. St. Louis, MO: CV Mosby; 1967.
28. Buncke HJ Jr BG, Valauri FA. In: Meyer VE, Black MJM,, eds. *The history of microsurgery*. *Microsurgical Procedures* Edinburgh, Scotland: Churchill Livingstone. 1991:p. 1-8.
29. Tamai SE. *History of Microsurgery*. Springer-Verlag;Tokyo. 2002.
30. Buncke Jr HJ, Schulz WP. Experimental Digital Amputation And Reimplantation. *Plastic And Reconstructive Surgery*. 1965;36(1):62-70.
31. Komatsu S, Tamai S. Successful Replantation Of A Completely Cut-Off Thumb. *Plastic And Reconstructive Surgery*. 1968;42(4):374-7.
32. Cobbett J. Free Digital Transfer. *Bone & Joint Journal*. 1969;51(4):677-9.
33. Chen C, Chien Y, Pao Y, Lin C. Further Experiences In The Restoration Of Amputated Limbs. Report Of Two Cases. *Chinese Medical Journal*. 1965;84:225-31.
34. Chen C, Chien Y, Pao Y, Lin C. Reattachment Of Traumatic Amputations, A Summing Up Of Experience. *Plastic And Reconstructive Surgery*. 1968;42(6):609.
35. O'Brien BM, Morrison W, Ishida H, MacLeod A, Gilbert A. Free flap transfers with microvascular anastomoses. *British journal of plastic surgery*. 1974;27(3):220-30.
36. Simionescu N SM. *The Cardiovascular System*. 1983; *Histology, Cell And Tissue Biology* 372.
37. Kossmann CE, Palade GE. Blood capillaries of the heart and other organs. *Circulation*. 1961;24(2):368-84.
38. Fajardo LF. Special Report The Complexity of Endothelial Cells: A Review. *American journal of clinical pathology*. 1989;92(2):241-50.
39. Strandness DE, Van Breda A. *Vascular diseases: surgical and interventional therapy*: WB Saunders Company; 1994.
40. *Physiology*. GAToM. *Textbook of Medical Physiology*. 7 Edition 1986:199-213.
41. Parish T. D İsma, Giuseppe, D A. *Liposuction Principles and Practice, Pharmacokinetics of Tumescent Anesthesia*, . Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006: s. 54-60.
42. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373-6.
43. Johns R. EDRF/nitric oxide. The endogenous nitrovasodilator and a new cellular messenger. *Anesthesiology*. 1991;75(6):927.
44. Kayaalp SO. *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji: Hacettepe Taş Kitapçılık Limited Şti.*; 2005.

45. Chavanon O, Cracowski J-L, Hacini R, Stanke F, Durand M, Noirclerc M, et al. Effect of topical vasodilators on gastroepiploic artery graft. *The Annals of thoracic surgery*. 1999;67(5):1295-8.
46. Mussa S, Guzik TJ, Black E, Dipp MA, Channon KM, Taggart DP. Comparative efficacies and durations of action of phenoxybenzamine, verapamil/nitroglycerin solution, and papaverine as topical antispasmodics for radial artery coronary bypass grafting. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2003;126(6):1798-805.
47. A. T. Lokal Anestezikler. Keçik Y Temel Anestezi Ankara: Güneş Tıp Kitapeleri. 2012:121-30.
48. SE. Rejyonel Anestezi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 2008: 23-44.
49. SO. K. Tıbbi Farmakoloji Ankara: Hacattepe- Taş 2000:789-803.
50. Shelosky LAIS, B., Sattler GE. History of the clinical use of Botulinum toxin type A. *Botulinum Toxin in Aesthetic Medicine 1st edition*. 2001;Blackwell Science, Berlin-Vienna: 1-7.
51. Soylu EÇ. Pediküllü kas fleplerinin stabilizasyonunda Botulium Toksin-A'nın kullanılması. 2005(T. C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği İstanbul, Doktora tezi).
52. Lam SM. The basic science of botulinum toxin. *Facial plastic surgery clinics of North America*. 2003;11(4):431-8.
53. Huang W, Foster JA, Rogachefsky AS. Pharmacology of botulinum toxin. *Journal of the American academy of dermatology*. 2000;43(2):249-59.
54. Carruthers J, Carruthers, A. . About Botulinum Neurotoxins. In: *Using Botulinum Toxins Cosmetically: A Practical Guide 1st edition* Martin Dunitz: Taylor&FrancisGroup, London. 2003.
55. Scott AB, Suzuki D. Systemic toxicity of botulinum toxin by intramuscular injection in the monkey. *Movement Disorders*. 1988;3(4):333-5.
56. Tsui JK. Botulinum toxin as a therapeutic agent. *Pharmacology & therapeutics*. 1996;72(1):13-24.
57. Lowe NJ. Botulinum toxin type A for facial rejuvenation. *Dermatologic surgery*. 1998;24(11):1216-8.
58. Vartanian AJ, Dayan SH. Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation. *Facial plastic surgery clinics of North America*. 2005;13(1):1-10.
59. Elmas C, Ayhan S, Tuncer S, Erdogan D, Calguner E, Basterzi Y, et al. Effect of fresh and stored botulinum toxin a on muscle and nerve ultrastructure: an electron microscopic study. *Annals of plastic surgery*. 2007;59(3):316-22.
60. Aoki KR. Botulinum neurotoxin serotypes A and B preparations have different safety margins in preclinical models of muscle weakening efficacy and systemic safety. *Toxicon*. 2002;40(7):923-8.
61. Kim TK, Oh EJ, Chung JY, Park JW, Cho BC, Chung HY. The effects of botulinum toxin A on the survival of a random cutaneous flap. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2009;62(7):906-13.
62. Matic DB, Lee TY, Wells RG, Gan BS. The effects of botulinum toxin type A on muscle blood perfusion and metabolism. *Plastic and reconstructive surgery*. 2007;120(7):1823-33.

63. Shelosky LS, B., Sattler, G., (Eds. ). Botulinum toxin type A use in neurology. Botulinum Toxin in Aesthetic Medicine 1st edition Berlin-Vienna: Blackwell Science 2001.:1-7, .
64. Cohen JL, Solish N. Treatment of hyperhidrosis with botulinum toxin. Facial plastic surgery clinics of North America. 2003;11(4):493-502.
65. Guntinas-Lichius O. Management of Frey's syndrome and hypersialorrhea with botulinum toxin. Facial plastic surgery clinics of North America. 2003;11(4):503-13.
66. Stupak HD, Maas CS. New procedures in facial plastic surgery using botulinum toxin A. Facial plastic surgery clinics of North America. 2003;11(4):515-20.
67. Richards A, Ritz M, Donahoe S, Southwick G. Botox for contraction of pectoral muscles. Plastic and reconstructive surgery. 2001;108(1):270-1.
68. Senior MA. Botox and the management of pectoral spasm after subpectoral implant insertion. Plastic and reconstructive surgery. 2000;106(1):224-5.
69. Cattin T, Govender S. Botulinum toxin for tethering of breast implant. Plastic and reconstructive surgery. 2005;116(2):686-8.
70. Venus MR. Use of botulinum toxin type A to prevent widening of facial scars. Plastic and reconstructive surgery. 2007;119(1):423-4.
71. Wilson AM. Use of botulinum toxin type A to prevent widening of facial scars. Plastic and reconstructive surgery. 2006;117(6):1758-66.
72. zhibo X, miaobo Z. Botulinum toxin type A affects cell cycle distribution of fibroblasts derived from hypertrophic scar. Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery. 2008;61(9):1128-9.
73. De Aguiar G, Chait LA, Schultz D, Bleloch S, Theron A, Snijman CN, et al. Chemoprotection of flexor tendon repairs using botulinum toxin. Plastic and reconstructive surgery. 2009;124(1):201-9.
74. Fregene A, Ditmars D, Siddiqui A. Botulinum toxin type A: a treatment option for digital ischemia in patients with Raynaud's phenomenon. The Journal of hand surgery. 2009;34(3):446-52.
75. Neumeister MW, Chambers CB, Herron MS, Webb K, Wietfeldt J, Gillespie JN, et al. Botox therapy for ischemic digits. Plastic and reconstructive surgery. 2009;124(1):191-201.
76. Van Beek AL, Lim PK, Gear AJ, Pritzker MR. Management of vasospastic disorders with botulinum toxin A. Plastic and reconstructive surgery. 2007;119(1):217-26.
77. O'Reilly DJ, Pleat JM, Richards AM. Treatment of hidradenitis suppurativa with botulinum toxin A. Plastic and reconstructive surgery. 2005;116(5):1575-6.
78. Çe'lik E, Tercan M, Uzunismail A, Saglam A. Versatility of botulinum toxin: a use in stabilization of pedicled muscle flaps. Plastic and reconstructive surgery. 2006;117(2):462-7.
79. Arnold PB, Campbell CA, Rodeheaver G, Merritt W, Morgan RF, Drake DB. Modification of blood vessel diameter following perivascular application of botulinum toxin-A. Hand. 2009;4(3):302-7.
80. Arnold PB, Merritt W, Rodeheaver GT, Campbell CA, Morgan RF, Drake DB. Effects of perivascular Botulinum Toxin-A application on vascular smooth muscle and flap viability in the rat. Annals of plastic surgery. 2009;62(5):463-7.
81. Yildirim AM, Okur I, Örtör Z, Uysal A. Nonsurgical delay of dorsal rat cutaneous flap using botulinum toxin type A. Plastic and reconstructive surgery. 2008;122(1):53e-4e.



82. Blitzer A, Binder WJ, Boyd JB, Carruthers A. Management of facial lines and wrinkles: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
83. Lange DJ, Rubin M, Greene PE, Kang UJ, Moskowitz CB, Brin MF, et al. Distant effects of locally injected botulinum toxin: a double-blind study of single fiber EMG changes. *Muscle & nerve*. 1991;14(7):672-5.
84. Pecaro BC, Garehime WJ. The CO2 laser in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1983;41(11):725-8.
85. Miserendino L, Pick R. Lasers in dentistry. Quintessence Pub. Co. Inc, Chicago, Berlin, London, Tokyo. 1995.
86. Leahy M, De Mul F, Nilsson G, Maniewski R. Principles and practice of the laser-Doppler perfusion technique. *Technology and health care*. 1999;7(2-3):143-62.
87. Samraj R, Indira R, Srinivasan M, Kumar A. Recent advances in pulp vitality testing. *Endodontology*. 2003;15(1):14-9.
88. Yeh Y, Cummins H. Localized fluid flow measurements with an He-Ne laser spectrometer. *Applied Physics Letters*. 1964;4(10):176-8.
89. Güngör K. Lazer Doppler Flowmetri (LDF)'nin Dişhekimliğindeki Önemi. *Acta Odontologica Turcica*. 2003;20(3):57.
90. Cummins H, Knable N, Yeh Y. Observation of diffusion broadening of Rayleigh scattered light. *Physical Review Letters*. 1964;12(6):150.
91. Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. 1960.
92. Riva C, Ross B, Benedek GB. Laser Doppler measurements of blood flow in capillary tubes and retinal arteries. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1972;11(11):936-44.
93. Stern M. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature*. 1975;254:56-8.
94. Holloway GA, Watkins DW. Laser Doppler measurement of cutaneous blood flow. *Journal of Investigative Dermatology*. 1977;69(3):306-9.
95. Stern MD, Lappe DL, Bowen PD, Chimosky JE, Holloway G, Keiser H, et al. Continuous measurement of tissue blood flow by laser-Doppler spectroscopy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1977;232(4):H441-H8.
96. Watkins D, Holloway GA. An instrument to measure cutaneous blood flow using the Doppler shift of laser light. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1978(1):28-33.
97. Nilsson GE, Tenland T, Oberg PA. A new instrument for continuous measurement of tissue blood flow by light beating spectroscopy. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1980(1):12-9.
98. Nilsson GE, Tenland T, Oberg PA. Evaluation of a laser Doppler flowmeter for measurement of tissue blood flow. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1980(10):597-604.
99. Bonner R, Nossal R. Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue. *Applied optics*. 1981;20(12):2097-107.
100. Fischer JC, Parker PM, Shaw WW. Comparison of two laser Doppler flowmeters for the monitoring of dermal blood flow. *Microsurgery*. 1983;4(3):164-70.
101. . Transonic Laser doppler Monitors BLF21A Series Operator's Manual, Transonic Systems Inc. 1996.
102. Periflux Systems: System 4000, Perimed. User's Manual. 1991.

103. Oberg PA, Pettersson H, Rohman H, editors. Comparative laser Doppler measurement on tooth pulp blood flow at 632 and 750 nm. *Europto Biomedical Optics' 93*; 1993: International Society for Optics and Photonics.
104. Jenkins S, Sepka R, Barwick WJ. Routine use of laser Doppler flowmetry for monitoring autologous tissue transplants. *Annals of plastic surgery*. 1988;21(5):423-6.
105. Hoffmann U, Schneider E, Bollinger A. Flow motion waves with high and low frequency in severe ischaemia before and after percutaneous transluminal angioplasty. *Cardiovascular research*. 1990;24(9):711-8.
106. Ahn H, Ivarsson L, Johansson K, Lindhagen J, Lundgren O. Assessment of gastric blood flow with laser Doppler flowmetry. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1988;23(10):1203-10.
107. Fazekas A, Olgart L, Gazelius B, Kerezoudis N, Edwall L. Effects of angiotensin II on blood flow in rat submandibular gland. *Acta physiologica scandinavica*. 1991;142(4):503-7.
108. Tooke J, Ostergren J, Lins P, Fagrell B. Skin microvascular blood flow control in long duration diabetics with and without complications. *Diabetes research (Edinburgh, Scotland)*. 1987;5(4):189-92.
109. LIMBIRD TJ. Application of laser Doppler technology to meniscal injuries. *Clinical orthopaedics and related research*. 1990;252:88-91.
110. KHAN A, Schall L, TUR E, Maibach H, Guy R. Blood flow in psoriatic skin lesions: the effect of treatment. *British Journal of Dermatology*. 1987;117(2):193-201.
111. Staberg B, Serup J. Allergic and irritant skin reactions evaluated by laser Doppler flowmetry. *Contact Dermatitis*. 1988;18(1):40-5.
112. Walmsley D, Goodfield M. Evidence for an abnormal peripherally mediated vascular response to temperature in Raynaud's phenomenon. *Rheumatology*. 1990;29(3):181-4.
113. Johansson K, Ahn H, Lindhagen J, Tryselius U. Effect of epidural anaesthesia on intestinal blood flow. *British journal of surgery*. 1988;75(1):73-6.
114. Seçil M. Doppler ultrasonografi fiziği. *TRD temel radyoloji fiziği*. 189-91.
115. E. T. Klinik Radyoloji. *Genisletilmis 2 Baskı, Bursa, Nobel&Günes*; 2008;1015-1020.
116. Seçil M. *Temel Ultrasonografi ve Doppler*. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir. 2008.
117. Rumack CM, Wilson SR, Charboneau JW. *Diagnostic ultrasound vol 1*: London: Mosby, 2005; 2005.
118. Schweizer DF, Schweizer R, Zhang S, Kamat P, Contaldo C, Rieben R, et al. Botulinum toxin A and B raise blood flow and increase survival of critically ischemic skin flaps. *Journal of surgical research*. 2013;184(2):1205-13.
119. Park BY, Kim HK, Kim WS, Bae TH. The effect of botulinum toxin B pretreatment to the blood flow in the microvascular anastomosis. *Annals of plastic surgery*. 2014;72(2):214-9.
120. Wigley FM, Flavahan NA. Raynaud's phenomenon. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(6):556-65.
121. Morris JL, Jobling P, Gibbins IL. Differential inhibition by botulinum neurotoxin A of cotransmitters released from autonomic vasodilator neurons. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2001;281(5):H2124-H32.

122. Morris JL, Jobling P, Gibbins IL. Botulinum neurotoxin A attenuates release of norepinephrine but not NPY from vasoconstrictor neurons. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2002;283(6):H2627-H35.
123. Ellis JL, Burnstock G. Neuropeptide Y neuromodulation of sympathetic co-transmission in the guinea-pig vas deferens. *British journal of pharmacology*. 1990;100(3):457-62.
124. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism: ASBMB; 1993.
125. Roh TS, Jung BK, Yun I, Lew DH, Kim YS. Effect of botulinum toxin A on vasoconstriction and sympathetic neurotransmitters in a murine random pattern skin flap model. *Wound Repair and Regeneration*. 2017.
126. Boyd JB, Markland B, Dorion D, Pang CY, Morris S. Surgical augmentation of skin blood flow and viability in a pig musculocutaneous flap model. *Plastic and reconstructive surgery*. 1990;86(4):731-8.
127. Cutting CB, Bardach J, Finseth F. Haemodynamics of the delayed skin flap: a total blood-flow study. *British journal of plastic surgery*. 1981;34(2):133-5.
128. Jurell G. Adrenergic nerves and the delay phenomenon. *Annals of plastic surgery*. 1986;17(6):493-7.
129. Kayser MR HP. Surgical flaps. *Select Read Plast Surg* 8:1-58, 1995.
130. Jonsson K, Hunt TK, Brennan SS, Mathes SJ. Tissue oxygen measurements in delayed skin flaps: a reconsideration of the mechanisms of the delay phenomenon. *Plastic and reconstructive surgery*. 1988;82(2):328-35.
131. Young CM. The revascularization of pedicle skin flaps in pigs: a functional and morphologic study. *Plastic and reconstructive surgery*. 1982;70(4):455-64.
132. O'Toole G, MacKenzie D, Poole M, Buckley MF, Lindeman R. A review of therapeutic angiogenesis and consideration of its potential applications to plastic and reconstructive surgery. *British journal of plastic surgery*. 2001;54(1):1-7.
133. Park TH, Lee SH, Park YJ, Lee YS, Rah DK, Kim SY. Presurgical botulinum toxin A treatment increases angiogenesis by hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ /vascular endothelial growth factor and subsequent superiorly based transverse rectus abdominis myocutaneous flap survival in a rat model. *Annals of plastic surgery*. 2016;76(6):723-8.
134. Kim SY, Lee SH, Lee B, Park YJ, Park JH, Lee YS, et al. The Protective Effects of Botulinum Toxin A Against Flap Necrosis After Perforator Twisting and Its Underlying Molecular Mechanism in a Rat Model. *Annals of plastic surgery*. 2016;77(2):242-8.
135. Temiz G, Yeşiloğlu N, Şirinoğlu H, Akpınar AC, Sarıcı M, Filinte D, et al. Increasing the survival of transverse rectus abdominis musculocutaneous flaps with a Botulinum toxin-A injection: A comparison of surgical and chemical flap delay methods. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2016;69(7):944-51.
136. Linderoth B, Gunasekera L, Meyerson BA. Effects of sympathectomy on skin and muscle microcirculation during dorsal column stimulation: animal studies. *Neurosurgery*. 1991;29(6):874-9.
137. Banbury J, Siemionow M, Porvasnik S, Petras S, Zins JE. Muscle flaps' triphasic microcirculatory response to sympathectomy and denervation. *Plastic and reconstructive surgery*. 1999;104(3):730-7.
138. Yanagiya Y, Yoshimura R, Kuwahara M, Tsubone H, Sugano S. The influence of chronic sympathectomy on cutaneous blood flow in the rat tail. *Journal of veterinary medical science*. 1999;61(7):795-801.

