

**T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**AKUT VOKAL KORD HASARINDA ANKAFERDİN
HEMOSTAZA VE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

DR.ÖZLEM VURAN

UZMANLIK TEZİ

2011- ANKARA

**T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

ANABİLİM DALI BAŞKANI: PROF.DR.MEHMET GÜNDÜZ

**AKUT VOKAL KORD HASARINDA ANKAFERDİN
HEMOSTAZA VE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

DR.ÖZLEM VURAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: YRD.DOÇ.DR.K.ŞERİFE UĞUR

2011- ANKARA

ÖNSÖZ	I
ÖZETII-III
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT	IV-V
SİMGE VE KISALTMALAR	VI
TABLOLAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
RESİMLER DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. VOKAL KORD YAPISI	3
2.1.1. Vokal kord anatomik yapısı	3
2.1.2. Vokal kord histolojik yapısı	5
2.1.2.1. Epitel tabakası	7
2.1.2.2. Lamina propria	7
2.1.2.3. Kas tabakası	9
2.2. LARENKSİN FONKSİYONLARI	10
2.3. KONUŞMANIN FİZYOLOJİSİ	12
2.4. RAT LARENKSİNİN YAPISI	14
2.4.1. Rat larenksinin anatomisi	14
2.4.2. Rat larenksinin histolojisi	15
2.5. VOKAL KORDDA SKAR OLUŞUMU VE YARA İYİLEŞMESİ	17
2.6. FONOCERRAHİ	19

2.7. HEMOSTAZ MEKANİZMALARI	21
2.8. ANKAFERD BLOOD STOPPER (ABS)	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	37
3.2. VOKAL KORD CERRAHİSİ	39
3.3 . PATOLOJİK İNCELEME.....	42
3.4. İSTATİKSEL ANALİZ	42
4. BULGULAR.....	45
4.1. KANAMA ZAMANLARI.....	45
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	47
4.2.1. Lamina propriada enflamasyon	47
4.2.2. Epitelde enflamasyon	51
4.2.3. Vasküler proliferasyon	53
4.2.4. Keratinizasyon	55
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ	73
7. REFERANSLAR.....	74

ÖNSÖZ

Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı'ndaki ihtisas sürem boyunca hem cerrahi deneyimler hem de insani değerler açısından örnek aldığım, yetişmemde katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Gündüz, Prof. Dr. Davut Aktaş, Prof. Dr. Cemil Mutlu, Doç. Dr. Hanifi Kurtaran, Doç. Dr. Nebil Ark'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum. Çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen tez danışmanım ve hocam Yrd. Doç. Dr. K.Şerife Uğur'a teşekkürler. Kliniğimize sonradan katılan ancak birlikte çalışmaktan mutlu olduğum ve çok desteğini gördüğüm ağabeyim Uzm. Dr. Alper Yüksel'e ayrıca teşekkür ediyorum. Birlikte birçok yükü omuzladığımız yol arkadaşlarım, klinik arkadaşlarım olan Dr. Gültekin Kızılbulut, Dr.Ekrem Sait Kankılıç, Dr.Kenan Kurt, Dr.Akın Altuğ Özboduroğlu'na çıktıkları yolda başarılar diliyorum ve teşekkür ediyorum. KBB hemşirelerimiz, sekreterlerimizden oluşan ekibime, histopatolojik incelemelerde yardımını esirgemeyen ablam Yrd.Doç.Dr.Hacer Haltaş'a ve hayatım boyunca emekle özveriyle yanımda olan canım aileme sonsuz teşekkürler.

ÖZET

AKUT VOKAL KORD HASARINDA ANKAFERDİN HEMOSTAZA VE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİSİ

Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi olgularında kanama en büyük problemlerden biridir. Kanama operasyon süresini uzatmakta, peroperatif ve postoperatif komplikasyon riskini arttırmakta ve yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir. Vokal kord kanamaları özellikle önemlidir. Endolarengeal mikrocerrahiler sırasında yüzeysel kanamalarda rutinde 1:10000 adrenalin emdirilmiş pamuklar kanama kontrolü amacıyla kullanılmaktadır. Hemostaz insan bedeninde gereken yerde ve gereken miktarda fibrin oluşumunu sağlayan süreçtir. Hemostaz oluşturulan bölgedeki iyileşmenin fizyolojik iyileşmeye yakın olması istenir. Hemostatik mekanizmalar, damar duvarındaki yaralanmanın ardından aktive olarak kan kaybını önlerler. Cerrahi sırasında kanayan vasküler alanlara yapılan müdahalelerle koagülasyon sağlanmaya çalışılır.

Ankaferd Blood Stopper (ABS), folklorik olarak geleneksel Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılmış bir bitkisel ekstraktır. İçeriğindeki bitkilerin tümü tek başına endotelyum, kan hücreleri, damar oluşumu (angiogenesis), hücresel üreme, vasküler dinamikler ve mediatörler üzerinde etkilidir. Ancak ABS'un vokal kord kanamalarında etkinliğini ve güvenilirliğini araştıran deneysel bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmanın amacı travmatize vokal kordlarda Ankaferd Blood Stopper'in hemostaz ve yara iyileşmesine etkisini araştırmaktır. Bu çalışmada 30 adet wistar rat kullandık. Üç

adet rat normal vokal kord yapısını göstermek amacıyla kontrol grubu olarak belirlendi. Diğer ratlar kanama kontrolü metoduna göre üç gruba bölündü; Adrenalin, ABS, Sham. Ratlara ketamin ve xylazinle genel anestezi uygulandı. Direk laringoskopi eşliğinde her bir ratın sağ vokal kordu MVR (micro vitreo retinal knife) aletiyle travmatize edildi. Grubuna göre hemostaz amacıyla ABS, adrenalin ve direk bası uygulandı. Kanama süreleri kronometre ile hesaplandı. Ratlar 3, 7 ve 14. günlerde sakrifiye edildi ve larenjektomi yapılarak histopatolojik inceleme yapıldı. Kanama zamanı ABS (3.13 sn) grubunda adrenalin (12.00 sn) ve sham (21.71 sn) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,001$) kısa ölçüldü. Yara iyileşmesini değerlendirmek amacıyla epitelde enflamasyon, lamina propria enflamasyon, vasküler proliferasyon ve keratinizasyon parametreleri değerlendirildi. Yara iyileşmesi parametrelerinin adrenalin ve ABS gruplarında birbirinden çok anlamlı farklı olmadığı, ancak Sham grubuna göre anlamlı ölçüde daha iyi olduğu görüldü sadece üçüncü gün ABS grubunda enflamasyon parametreleri diğer gruplara göre yüksek seyrederken ilerleyen günlerde benzerdi.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre ABS oldukça hızlı ve efektif bir hemostatik ajandır, ayrıca yara iyileşmesi sürecinde adrenaline benzer etkiler göstermiş olup yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilememiştir. Endolarenegal mikrocerrahilerde ABS hemostaz amaçlı adrenaline alternatif olarak kullanılabilir gibi görünmektedir ancak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Vokal kord, Ankaferd Blood Stopper (ABS), hemostaz, yara iyileşmesi

ABSTRACT

EFFECT OF ANKAFERD BLOOD STOPPER TO HEMOSTASIS AND WOUND HEALING OF ACUTE VOCAL CORD INJURY.

Bleeding is one of the biggest problem of Ear Nose Throat and Head and Neck Surgery patients. The success and the duration of the endolaryngeal microsurgery are negatively affected by the bleeding that occurs within the surgical region. Bleeding prolongs the duration of operation, increases the risk of peroperative and postoperative complications, adversely affects wound healing. Especially vocal cord bleeding is of particular importance. 1:10000 adrenaline-soaked cotton is used to control bleeding during routine endolaryngeal microsurgery. Hemostasis is the procedure that develops necessary amount of fibrin within the bleeding regions of the human body. Hemostatic agents prevent loss of blood by becoming active after the vein's wall is wounded. This phase is examined in two ways: primary and secondary. Interventions are used during surgery to initiate coagulation for the bleeding vascular regions. Healing on the region where hemostasis is done is desired to be approximate to physiologic healing.

Ankaferd Blood Stopper (ABS) is an herbal extract which has been used in traditional Turkish medical profession as a hemostatic agent. Its herbal ingredients, on their own, are efficacious on endothelium, blood vessels, vein formation (angiogenesis), cellular reproduction, vascular dynamics, and mediators. However its safety and especially its effect on hemostasis of vocal cord has not been researched in any controlled experimental study. The aim of

this study was to investigate the effects of Ankaferd Blood Stopper (ABS) on the hemostasis and wound healing of traumatized vocal cords. Thirty rats were used in this study. Three rats were determined in the control group to show the structure of the normal vocal cord. The animals were prospectively subdivided into three groups in order to hemostasis method; Adrenalin, ABS, Sham. Rats were anesthetized by ketamine and xylazine. Right vocal cords of each rat were traumatized with MVR (Micro Vitreo Retinal knife) with direct laryngoscopy. ABS, adrenalin and direct pressure were applied to each group for hemostasis. Bleeding time was calculated with a stopwatch. Rats were sacrificed at the 3, 7, 14 days and were analyzed with histopathologic after laryngectomy.

The duration of bleeding measured on vocal cords was statistically significantly ($p < 0,001$) shorter in ABS (3.13 seconds) group as compared to adrenalin (12.00 seconds) and sham (21.71 seconds) groups. To evaluate healing of wounds, four dependent variables, inflammation in the epithelium, inflammation of lamina propria, vascular proliferation, and keratinization were measured. There were no significant differences between ABS and adrenalin groups for the four dependent variables, but ABS and adrenalin groups were statistically better than sham group for wound healing parameters.

Based on the result of this study, ABS is more effective hemostatic agent than adrenalin and its wound healing parameters are similar to adrenalin. Accordingly, this study showed that ABS could be an alternative to adrenalin for hemostasis of endolaryngeal microsurgery, but for this we need advanced study.

Keywords: Ankaferd Blood Stopper (ABS), Vocal cord, hemostasis, wound healing

SİMGE VE KISALTMALAR

ECM.....	Ekstrasellüler matriks
ABS.....	Ankaferd Blood Stopper
MVR.....	Mikro Vitreo Retinal knife
TGF-Beta.....	Transforming growth faktör-beta
tPA.....	Doku plazminojen aktivatörü
tPA-i.....	Doku plazminojen aktivatör inhibitörü

Tablo1:Cerrahi esnasında kanamaya neden olan faktörler	30
Tablo2:Cerrahi esnasında hemostaz yapmanın avantajları.....	30
Tablo3: Ankaferd Blood Stopper (ABS)'in içerikleri	34
Tablo 4: Çalışma grupları ve rat sayıları.....	38
Tablo 5: Deney gruplarına göre kanama zamanları (sn).....	46
Tablo 6: Kanama zamanı post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları	46
Tablo 7: Üçüncü gün lamina propriada gözlenen enflamasyon skorları	48
Tablo 8: Yedinci gün lamina propriada gözlenen enflamasyon skorları	49
Tablo 9: Ondördüncü gün lamina propriada gözlenen enflamasyon skorları.....	50
Tablo 10: Üçüncü gün epitelde gözlenen enflamasyon skorları	51
Tablo 11: Yedinci gün epitelde gözlenen enflamasyon skorları	52
Tablo 12: Ondördüncü gün epitelde gözlenen enflamasyon skorları.....	53
Tablo 13: Üçüncü gün vasküler proliferasyon skorları	53
Tablo 14: Yedinci gün vasküler proliferasyon skorları	54
Tablo 15: Ondördüncü gün vasküler proliferasyon skorları	55
Tablo 16: Üçüncü gün keratinizasyon varlığı	56
Tablo 17: Yedinci gün keratinizasyon varlığı	56
Tablo 18: Ondördüncü gün keratinizasyon varlığı	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA NO

Şekil 1: Larenks kıkırdak ve eklemleri	3
Şekil 2: Vokal kordlar ve rima glottis.....	4
Şekil 3: Larenksin potansiyel boşlukları ve bölümleri	5
Şekil 4: Larenksin mikroskopik anatomisinin görüntüsü	6
Şekil 5: Vokal kord histolojik katmanlı yapısı.....	8
Şekil 6: Fonasyon sırasında kas aktivitesi.....	10
Şekil 7: Rat larenksinin dorsal, ventral ve lateral açılardan görüntüsü	15
Şekil 8: Rat larenksinin internal yapısı (transvers ve sagittal kesitler).....	15
Şekil 9: Rat larenksinin sagittal kesitlerdeki epitelyum örtüsü.....	16
Şekil 10: Normal hemostaz dengesi	22
Şekil 11: Trombosit adezyonu ve tıkaç oluşumu	24
Şekil 12: Trombositlerin adezyonu ve agregasyonu.....	26
Şekil 13: Koagülasyon basamakları.....	28
Şekil 14: Trombosit fibrin pıhtısını sınırlayan dengeli fibrinoliz.....	29
Şekil 15: Lokal olarak uygulanan ABS uygulamasının şema ile gösterilmesi.....	36
Şekil 16: Deney gruplarına göre kanama zamanı ortalaması.....	47

RESİMLER DİZİNİ

SAYFA NO

Resim 1: Çalışmada kullanılan ratlardan biri	38
Resim 2a ve 2b: Operasyon ve anestezi sırasında kullanılan aletler	39
Resim 2c: Operasyon tespit platformuna vertikale yakın pozisyonda yerleştirilen rat.....	40
Resim 2d ve 2e: Rijid endoskopun ilerletilmesi	41
Resim 2f: 30 derece rijid endoskoplara sağlanan vokal kord görüşü	41
Resim 3a: Normal vokal kord histolojisi.....	44
Resim 3b: Lamina propriada orta dereceli enflamasyon.....	44
Resim 3c: Hafif dereceli vaskülarizasyon.....	45

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi olgularında kanama en büyük sorunlardan biridir. Özellikle vokal kord gibi hassas yapılara uygulanacak cerrahilerde kanamadan dolayı cerrahin operasyon sahasını net görememesi sonucu lamina proprianın hasarlanması durumunda skar dokusu oluşmakta ve bu skar sonucu vibrasyon paterni bozulmakta ve ses kalitesi olumsuz yönde etkilenmektedir. Bugüne kadar Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi olgularında kanamanın durdurulması için çok farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerin birbirlerine göre üstünlükleri, herbirinin avantajları olduğu kadar dezavantajları da mevcuttur. Cerrahi sırasında hızlı ve efektif hemostaz operasyon süresini kısaltacak, peroperatif ve postoperatif komplikasyon riskini azaltacak, yara iyileşmesi sürecini olumlu yönde etkileyecektir. Bu amaçla en etkili hemostatik yöntemin ve maddenin bulunması için birçok çalışma yapılmıştır. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi pratiğinde kanama kontrolü açısından tonsillektomi ve epistaksis modellerinde Ankaferd Blood Stopper (ABS) isimli ilacın özellikleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar neticesinde ABS'un hızlı ve efektif bir hemostatik ajan olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak bizim bilgimiz dahilinde daha önce birçok çalışma sonucu kanama durdurucu etkisi kanıtlanmış olan ABS'in literatürde vokal kord mukozal kanamaları üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Biz de bundan yola çıkarak ABS'un vokal kord kanaması sırasında kanama zamanı açısından etkisini araştırmayı planladık. Çalışmamızda 30 adet wistar rat kullandık. Rat ve insan vokal kordu aynı histolojik karakteristikleri gösterdiği , kısa hayat süreleri olan ratların hızlı yara iyileşmesi olduğu için çalışmamızda ratları kullandık. Bilindiği üzere ABS ile ilgili literatürde birçok çalışma yapılmış olup ilacın

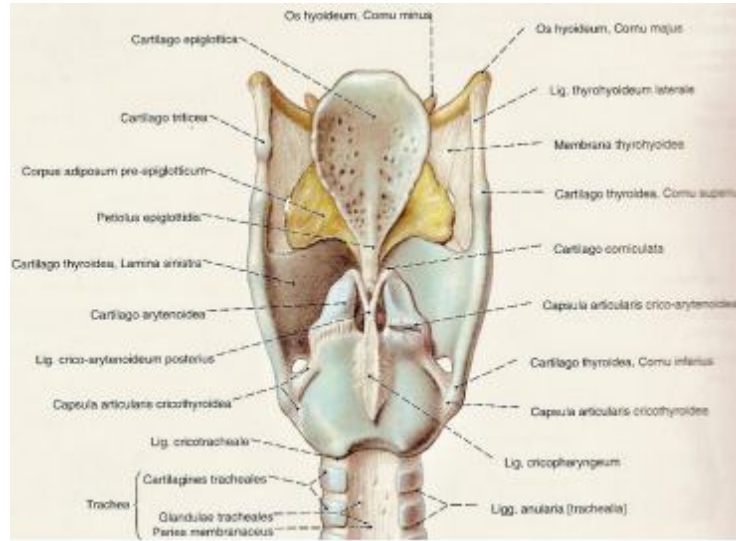
hemostatik, antimikrobyal etkileri gösterilmiştir. Kulak Burun Boğaz pratiğinde de tonsillektomi ve epistaksiste hemostatik etkisini gösteren çalışmalar yapılmış olup vokal kordla ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Biz de bundan yola çıkarak bu tez çalışmasında, ratlarda vokal kord cerrahisinde oluşan akut vokal kord hasarında ABS'in kanama kontrolüne ve vokal kord dokusu üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. VOKAL KORD YAPISI

2.1.1. Vokal kord anatomik yapısı

Larenks; boyunda orta hatta, dil köküyle trakea arasında yer alan, lateralde ise büyük damarlarla komşuluğu olan kıkırdak çatı üzerine membranlar, ligamanlar ve kasların oturmasıyla oluşmuş bir organdır. Larenksin konuşma, solunum ve koruma gibi temel fonksiyonları vardır. Larenks yenidoğanlarda 1-4. servikal vertebralar, erişkinlerde ise 3-6. servikal vertebralar arasındadır (1). Larenksin 3 adet tek (tiroid, epiglottis, krikoid) ve 3 adet çift (aritenoid, kornikulat, kuneiform) olmak üzere toplam 9 adet kıkırdak vardır.



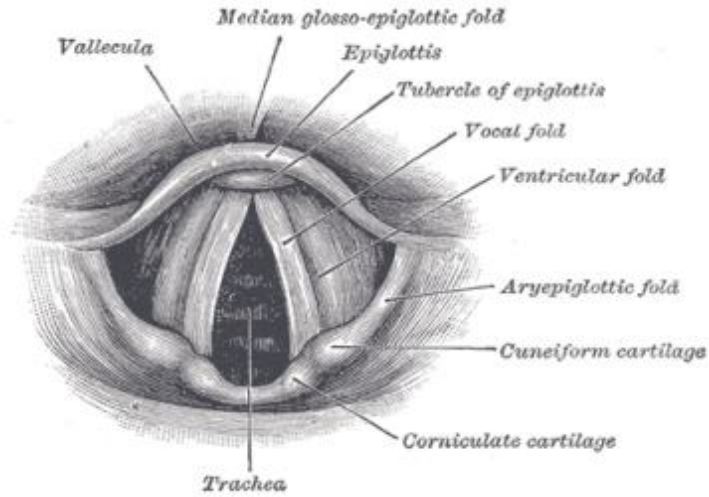
Şekil 1: Larenks kıkırdak ve eklemleri*

*Putz R, Pabst R. Sobotta İnsan Anatomi Atlası. 1. cilt. Çev. Ed. Arıncı K. İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş.1994'den alınmıştır.

Larenks kavitesi, farenksle ilişkili olan larengeal girişten, trakea ile devam eden krikoid kıkırdak inferior kenarına kadar devamlılık gösterir. Larenksin iç yüzeyinde

sağlı sollu ve birbiri üzerinde yerleşmiş iki çift plika yer alır. Süperiordakilere ventriküler bantlar (yalancı vokal kordlar), inferiordakilere ise vokal kord (vokal fold, kord vokal) adı verilir. Bu plikalar larenks boşluğunu 3 bölüme ayırır. Süperior bölüm supraglottik bölge, orta bölüm vokal kordların bulunduğu glottik bölge, inferior bölüm ise vokal kordların altındaki subglottik bölgedir (Şekil 3).

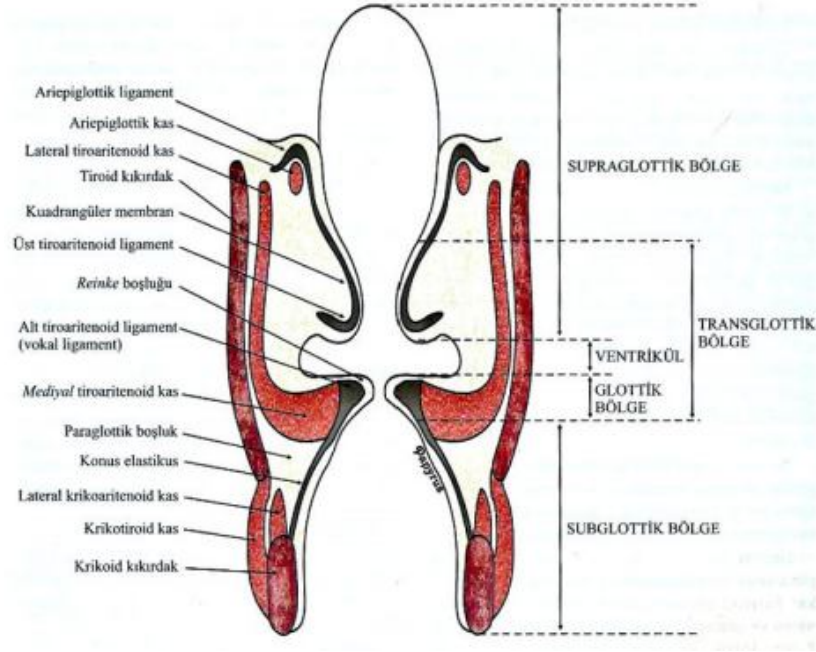
Glottik bölge, vokal kordların bulunduğu bölgedir. Vokal kordlar mukoza ile örtülü elastik dokular olup, tiroid kıkırdak ile aritenoidin vokal çıkıntısı arasında uzanırlar. Anterior komissüre yapıştığı yerde fikse, posterior komissürde ise hareketlidirler. Vokal kordu örten çok katlı yassı epitel, altındaki vokal ligamente sıkıca bağlıdır. Vokal kordlar glottisin anterior 2/3 membranöz kısmını oluştururlar; posterior 1/3 kısım ise aritenoid kıkırdağın vokal prosesi tarafından meydana gelen kartilajinöz glottistir. Anterior 2/3 membranöz kısım fonasyon, posterior 1/3 kartilajinöz kısım respirasyon açısından önemlidir.



Şekil 2: Vokal kordlar ve rima glottis

Vokal kordlar arasındaki açıklığa Rima glottis ya da vokal açıklık denir (2). Rima glottis üst solunum yolunun en dar kısmıdır. Rima glottisin uzunluğu yetişkin erkekte 23 mm, kadında 17 mm'dir. Vokal kordların istirahat halinde iken uzunluğu

erkeklerde 15 mm, kadınlarda 11 mm, gerginken erkekte 20 mm, kadında 15 mm'dir. Vokal kordların ön komissürde birleştikleri noktada abduksiyon durumunda aralarındaki açı 50-70 derecedir. Buna glottik açı denir (Şekil 2).



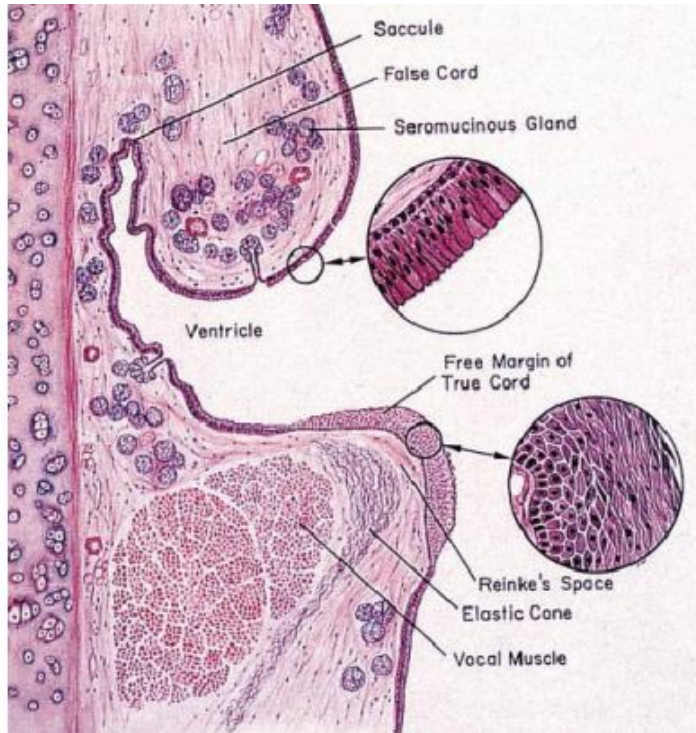
Şekil 3: Larenksin potansiyel boşlukları ve bölümleri

2.1.2. Vokal kord histolojik yapısı

Vokal kordlar mukoza ve kastan oluşur. Mukoza ise epitel ve lamina propriayı içerir. Vokal kordun üst yüzeyini ve vibratuar kenarını nonkeratinize çok katlı yassı epitel örter. Lamina propria 3 tabakadan oluşur; yüzeysel, orta ve derin tabaka. Yüzeysel tabaka hücreler arası matriks ve gevşek bağ dokusundan oluşur ve fibröz elemanları azdır. Orta tabaka da çoğunlukla elastik liflerden oluşurken derin tabaka kollajen liflerden meydana gelir. Epitel ve lamina proprianın yüzeysel tabakası arasındaki mesafe Reinke aralığı olarak adlandırılır. Reinke mesafesi fonasyon sırasında mukozal dalgaların oluşmasına yardımcı olur. Mukozal dalgalar oluşurken epitel reinke boşluğunun üzerinde

kayırmuş gibi görünür. Lamina proprianın altında vokal adeleyi oluşturan tiroaritenoid kas bulunur. Bu kas tiroid kartilajın iç yüzünden uzanarak aritenoidlere yapışır (3). Vokal kordlar aşağıdaki yapılardan meydana gelen katmanlı bir yapıdadır:

- Örtü tabakası: Nonkeratinize çok katlı yassı epitel ve altında lamina proprianın yüzeysel tabakası (Reinke boşluğu, Reinke mesafesi)
- Geçiş tabakası: Lamina proprianın orta ve derin tabakaları (vokal ligaman)
- Gövde tabakası: Kas tabakası; tiroaritenoid kasın medial bölümü (m.vokalis, vokal kas)



Şekil 4: Larenksin mikroskopik anatomisinin görüntüsü*

*Mills SE, Fechner ER. Larynx and Pharynx. In Sternberg SS, editor. Histology for Pathologists. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott – Raven; 1997. p. 391-403'den alınmıştır. (Yalancı vokal kordlarda serömüsinöz glandlar ve silyalı kolumnar epitel yapısı izlenmektedir. Vokal kas, elastik lif ve Reinke boşluğunu içeren gerçek vokal kordda ise çok katlı yassı epitel gözlenmektedir).

2.1.2.1.Epitel Tabakası:

Vokal kordun vibratuar kenarı ve üst tabakası nonkeratinize çok katlı yassı epitel ile, geri kalan kısmı ise psödostratifiye silialı kolumnar epitel ile döşelidir. Epitel tabakasını alttaki lamina proprianın yüzeyel tabakasına bağlayan çok tabakalı ve kompleks yapıda olan bazal membran mevcuttur. Epitel tabakasında yüzeyin nemli ve yumuşak olmasını sağlayan mukus tabakasının akışkanlığından sorumlu plikalar vardır. Serömüköz glandlar kordun kalan diğer tabakalarında bulunurlar. Bunlar tipik asini ve duktuslar içerirler. Kord yüzeyini ıslak tutarak fonasyon sırasında vokal kordun aşınmasını önlerler (4).

2.1.2.2. Lamina propria

Lamina propria sesin oluşması açısından en önemli tabakadır ve genellikle benign vokal kord lezyonları lamina propria içinde oluşur. Lamina propria yüzeyel, orta ve derin olmak üzere 3 tabakadan oluşur. Lamina propria'nın ortalama kalınlığı 1,05 mm'dir.

Yüzeyel tabaka:

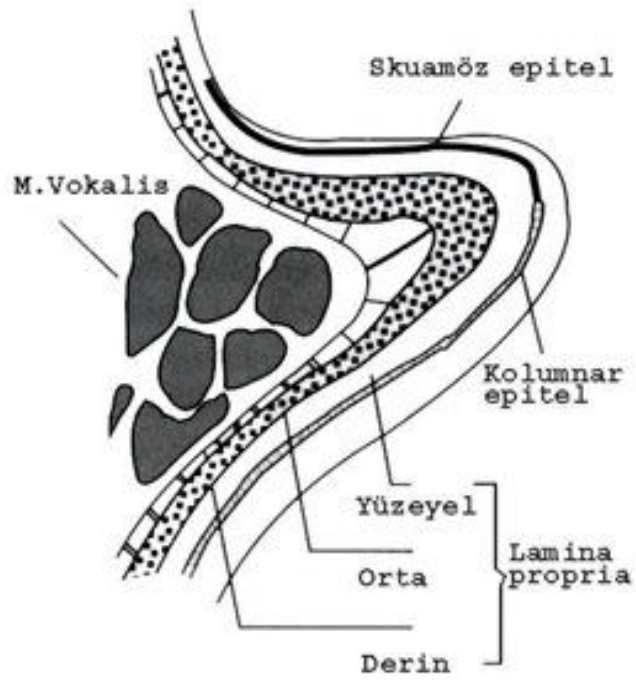
Yüzeyel tabaka ortalama 0,3 mm kalınlığındadır. Vokal kordun serbest kenarından 2 mm uzaktadır. Elastik, kollajen lifler ve esas madde içerir. Ortada en kalın, ön ve arka uçlarda en incedir. Bu boşluk Reinke aralığı ile ilgilidir. Bu boşluğun etrafı kalın fibröz epitelyal doku ile çevrilidir. Bu boşluğun ödemi polipoid dejenerasyon, reinke ödemi, polipoid vokal kord, polipoid hipertrofi olarak adlandırılır.

Orta tabaka:

Orta tabakanın kalınlığı 0,5-1,5 mm'dir. Vokal kord, orta kısmında en ince, ön ve arka kısımlarda en kalındır. Esas olarak elastik lifler bulunur. Derin tabaka ile birlikte vokal ligamanı oluşturur.

Derin tabaka:

Derin tabaka en sert ve an az mobil olan tabakadır. Vokal kasa paralel seyreden kollajen liflerden oluşur. Vokal çıkıntıya yapışma yerinde en kalındır.



Şekil 5: Vokal kord histolojik katmanlı yapısı

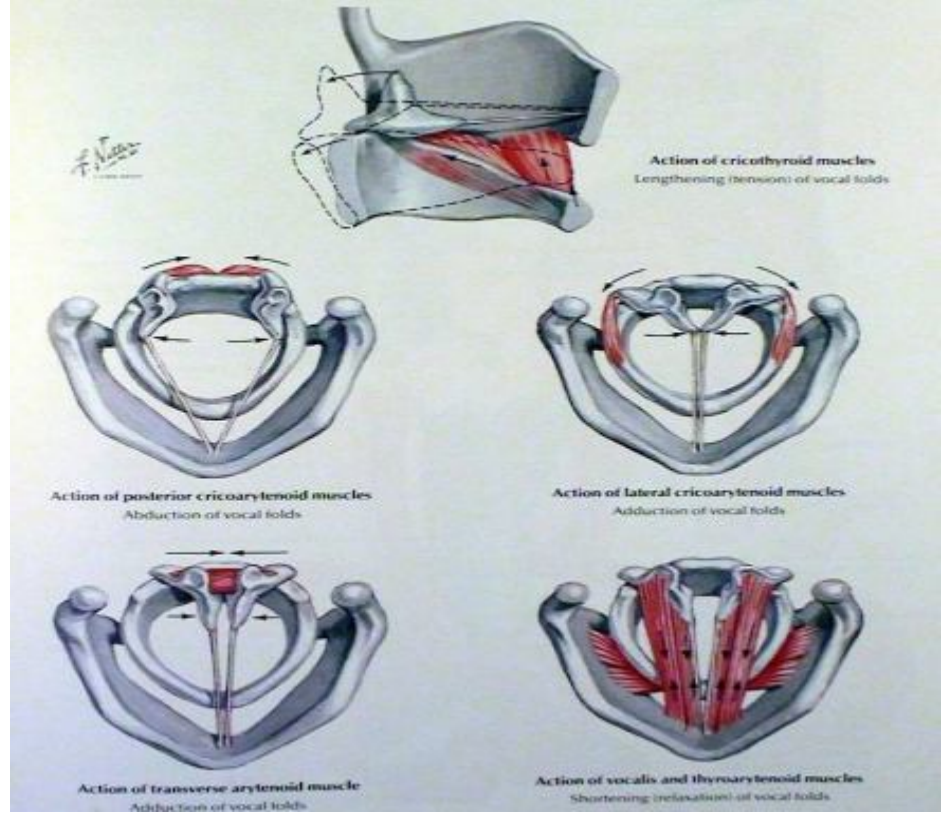
Lamina propria vokal kord vibrasyon performansı ile direk ilişkilidir. Subepitelyal yerleşen lamina propria, ECM (Ekstrasellüler matriks) ve bu matriksin bileşenlerini sentezleyen hücrelerden (fibroblast, myofibroblast, makrofaj) oluşur (4). Vokal kordun biyomekanik özelliklerini belirleyen bu bileşenlerin dengeli dağılımı, ses

oluşumunda korda ideal viskoelastikiyeti kazandırır. Glikoproteinler, proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar, kollajen ve elastin bu matriksin ana bileşenlerini oluşturur (4, 5).

2.1.2.3. Kas Tabakası

Tiroaritenoid kas tiroid kıkırdağın iç yüzünden arkaya uzanarak aritenoidin anterolateral yüzüne yapışır. Üst demetleri ön arka yönde vokal ligamente paralel seyrederek. Aşağıdaki lifleri superior ve posterolateral yönde ilerleyip aritenoid kıkırdağta vokal prosese yapışırlar. Tiroaritenoid kasın medial demetleri vokal kası oluşturur ve ses oluşmasında aktif rol oynar. Vokal kordun hareketi az olan en katı bölgesidir. Vibrasyon sırasında kord vokalin vertikal stabilitesine ve ossilasyon oluşmasına yardım eder. Rekürren sinirin lifleri adele içinde ağ yapar.

Vokal kordun vaskülarizasyonu karmaşıktır. Vibratuar parçada kas ve kord mukozasında üst ve alt yüzeydeki vaskülarizasyon farklıdır. Kordun serbest kenarında damarlar uzun eksene paralel seyrederek. Lamina propriada ise serbest kenardan uzakta olup uzun eksene dik durumdadır. Kas tabakasında damarlar derinden girerler. Ana damar kord ekseninde ilerlerken kasa dallar verir (3).



Şekil 6: Fonasyon sırasında kas aktivitesi

2.2. LARENKSİN FONKSİYONLARI

1) **Sfinkter (Koruma) görevi:** Yutma sırasında larenksin kapanması larenks fiziolojisinin en önemli görevi olup sıvı ve katı gıdaların girişinde akciğerleri korur. Larenksin kapanması, rima glottisin kapanması, larenks vestibülünün kapanması ve epiglotun larenks lümenine doğru eğilmesi olmak üzere üç adımda gerçekleşir. Glottisin sfinkter görevi larenksin primer fonksiyonudur. Yutma sırasında glottis refleksi olarak kapanır. Lokal etkiler ve larenksin kimyasal stimülasyonu ile solunum ve kardiyovasküler sistemde değişiklikler oluşur. Bu değişiklikler apne, bradikardi, hipertansiyon, bronkokonstrüksiyon, öksürük ve periferik vasküler direnç değişiklikleridir.

Genetik olarak larenks, yutma esnasında pulmoner sistemi koruyucu bir sfinkter olarak gelişmiştir. Aşağı solunum yollarının korunması larenksin ana görevidir. Bu nedenle larenks sabit ve dominant glottik kapanma reflekslerine sahiptir. Kapanma refleksi, süperior larengeal sinirin stimülasyonuna cevap olarak tiroaritenoid kasın aniden kapanmasıdır. Larenksteki sfinkter fonksiyonu larenksteki üç bölgenin koruyucu adduksiyonu sonucu olur. Bunlar superiordan inferiora epiglot-ariepiglottik plikalar, ventriküler bantlar ve vokal kordlardır. Larenksin sfinkter görevinin başlaması için iki taraflı süperior larengeal sinirin stimülasyonu gerekir.

2) Solunum fonksiyonu: Larenks solunum yolunun bir parçası olarak görev yapar. Solunum medulladaki merkez ile düzenlenir. Epiglot hayvanlarda daha uzun olup havanın yönlenmesine yardım eder. Ayrıca hayvanda koku duyusunda da rol oynar.

3) Fonasyon: Larenkste sesin meydana gelmesinde çeşitli komponentler rol oynar. Bunlar havanın basıncı, vokal kordların gerilmesi, rima glottisin şekli, solunum yollarının durumu ve genişliğidir. Bu olaya fiziksel etkenler de katılır. Özellikle sinir sisteminin etkisi ile kaslarda uzama ve kısalma meydana gelir. Ses oluşunda işitmenin de önemli rolü vardır.

4) Yutma fonksiyonu: Yutma esnasında kasların sfinkter etkisi ile larenks girişi kapanır. Epiglotun kenarından lokmanın özofagusa kayması sağlanır. Ayrıca yutma sırasında larenksin yükselmesi lokmanın özofagusa girişine yardım eder.

5) Öksürük ve Eksploratif fonksiyonu: İntratorasik basıncın artmasına bağlı olarak bronş ve trakea sekresyonu dışarı atılır. Derin inspiyumla glottis kapanır. Ekspiryum kasları kasılarak intrapulmoner basınç artar. Glottis aniden açılarak hızla çıkan hava aşağı solunum yollarındaki sekresyonu veya yabancı partikülü dışarı atar.

6) Emosyonel fonksiyonu: Larenks kişinin psikolojik durumuna göre heyecan, üzüntü, ağlama ve esneme ses değişiklikleri meydana getirir.

7) Dolaşıma yardımcı fonksiyonu: Trakeobronşial sistemde ve akciğer parankimindeki basınç değişikliklerinin etkisi ile kan dolaşımında pompa gibi etki yapar.

8) Fiksatif fonksiyonu: Rima glottisin kapanması ile toraks içine hava kapatılır. Volanter olarak yapılan bu işlem ağır kaldırma, ıkınma ve zorlama hareketine yardım eder (3).

2.3. KONUŞMANIN FİZYOLOJİSİ

İnsan sesi larenks, akciğerler, diafram, abdominal kaslar, boğaz, boyun kasları, dudaklar, dil, buksinatörler ve damağın koordineli çalışması sonucu ortaya çıkar.

Konuşmanın üç temel komponenti vardır: fonasyon, rezonans ve artikülasyon.

Fonasyon

Ses larenks tarafından ekspiratuar hava akımının aerodinamik ve miyoelastik kuvvetlerin sonucu olarak, vokal kordların serbest kenarlarının titreşmesiyle üretilir. Ses oluşumunda Bernoulli fenomeni, Aerodinamik kuvvetler ve Miyoelastik kuvvetlerin etkisi vardır. Normal bir fonasyon için 5 koşulun sağlanması gereklidir. Bunlar;

1. Vokal kordların uygun kapanması
2. Ekspiratuar gücün yeterli hava akımını sağlaması
3. Vokal kordların yeterli titreşme kapasitesinin olması
4. Vokal kordların uygun şekilde olması
5. Vokal kord uzunluğunun ve gerginliğinin istemli kontrol edilmesidir.

Fonasyondan hemen önce, vokal kordlar orta hatta birleşir. Soluk verme, vokal kordlar abdüksiyona gelene kadar subglottik basıncı artırır. Vokal kordların ayrılması, subglottik basınçta ani bir düşüşe neden olur. Daha sonra vokal kordlar, basınçtaki ani düşüş, kordlar arasındaki **Elastik kuvvetler** ve **Bernoulli etkisine** bağlı olarak tekrar orta hatta geri dönerler. Trakeadaki basınç tekrar oluşur ve siklus tekrar edilir. Vokal kordun yapısı, oluşan vibrasyonun periyodik veya düzensiz olmasını belirler. Modal fonasyon esnasında vokal kord üst kenarı alt kenarından daha yavaş olmak üzere iki ayrı kitle gibi titreşir. Bu, **mukozal dalga** olarak bilinen alttan yukarı doğru hareket eden bir dalgaya sebep olur (6,7).

Fonasyonda vokal kordun pozisyonu kritik bir faktördür. Vokal kordlar gevşek olarak yanaştıklarında mukoza basınçla büyük dalgalanmalar yapacak şekilde kolaylıkla açılabilir. Buna karşın kordlar sıkıca kapanmışsa fonasyon için daha fazla ekspiratuar efor gerektirir. Kordlar arasında boşluk mevcut ise etkinlik belirgin olarak düşer ve vibrasyon oluşturmak için daha fazla hava akımına ihtiyaç duyulur. Çıkan ses nefes verir gibi olur ve fonasyon süresi uzar. Çok geniş bir aralık olduğunda hava akımı ihtiyacı ekspiratuar kapasiteyi aşar ve ses fisıltı şeklinde çıkar. Normal konuşmada fonasyonu sağlayan güç, pasif soluk vermedir. Daha derin inspirasyon daha büyük bir enerji toplar ve daha şiddetli ve uzun bir fonasyon oluşturur. Abdominal ve interkostal kaslar şarkı söyleme veya bağırma gibi daha büyük ses eforlarında ekspiratuar güç sağlar (6).

Vokal kordların periyodik olarak titreşme kapasitesi mukozanın homojenite ve fleksibilitesiyle, lamina proprianın bütünlüğüne bağlıdır. Submukozanın direncini arttıran ödem titreşimi bozar. Travma, enfeksiyon, cerrahi, epiteli altındaki kasa yapıştırarak mukozal dalgalanmaların normal ilerlemesini bozan skleroz oluşturabilirler.

Vokal kordların yüzey şekli, glottal yolun şeklini belirler. Normal fonasyonu sağlamak için vokal kordların titreşen kısımları, medial yüzeyleri kabaca paralel olmalıdır. Vokal kas atrofik ise medial yüzey konveks değil konkav olur ve fonasyon bozulur (7).

2.4. RAT LARENKSİNİN YAPISI

2.4.1. Rat larenksinin anatomisi

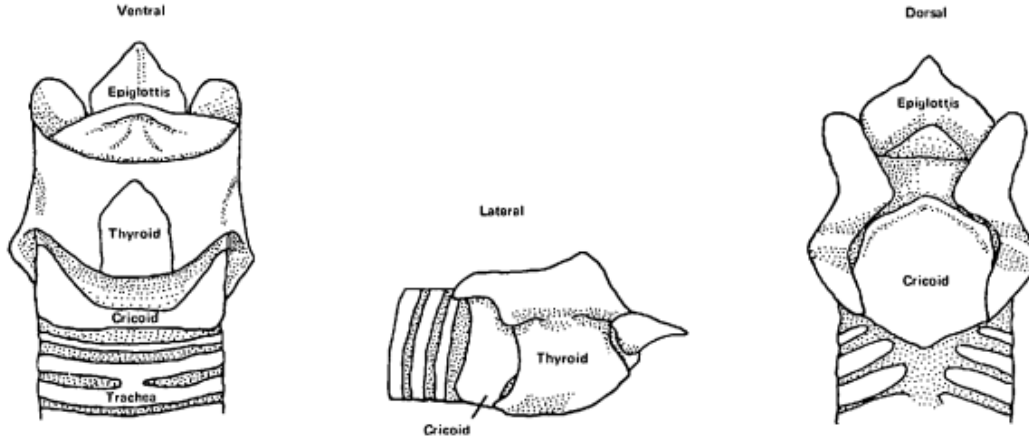
Larenks kıkırdakları, inspirasyon esnasında kollapsı önler ve larenksin şeklini korur.

Altı adet kıkırdaktan oluşmuştur.

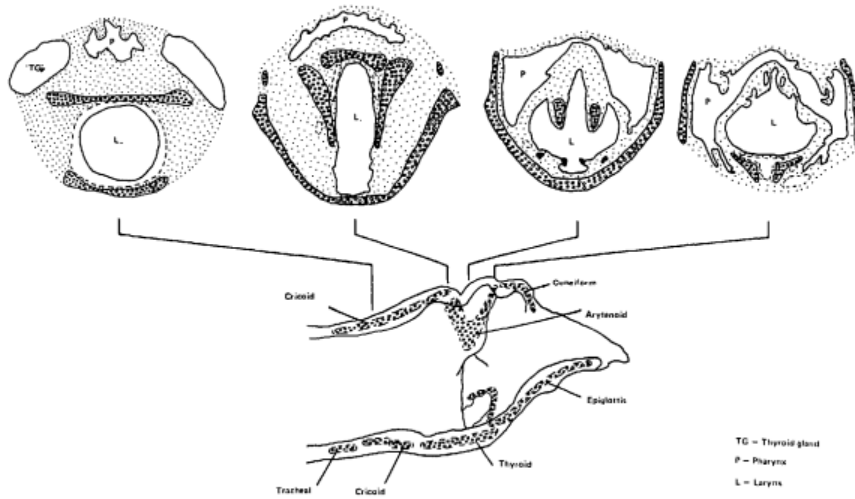
- Epiglot: Triangüler şekildedir.
- Tiroid kıkırdak: Larenksin en büyük kıkırdağıdır. Lateral ve ventral duvarları vardır. Lateral yüzdeki arka boynuzlar krikoid kıkırdak ile eklem yapar. Ön boynuzlar hipofarenksi destekler.
- Krikoid kıkırdak: Lateral ve ventral yüzü dar, arka kısmı geniş halka şeklinde bir kıkırdaktır. Sıklıkla ‘Mühür Yüzüğü’ şeklinde adlandırılır.
- Aritenoid kıkırdaklar: Çift olup, vokal kordu destekleyen ‘V’ şeklinde kıkırdaklardır.
- Kuneiform kıkırdaklar: Vokal kordun önünde, ariepiglottik plikanın arkasında bir çift küçük kıkırdaktır.
- ‘U’ şeklinde kartilaj: Aritenoid kıkırdakların düzeyinde, larengeal lümenin duvarında bir ventral poş vardır. ‘U’ şeklindeki kıkırdak bu poşun girişinde bulunur.

Larengeal lümen 3 bölgeye ayrılır: Farenkse açılan vestibül bölümü, glottis ve infraglottis. Vokal kordlar, önde ventral poşun kaudal bölgesinde, aritenoid kıkırdağın

vokal süreçten tiroid kıkırdak orta hattına uzanım gösterir. Aritenoid kıkırdakın musküler süreci, kıkırdakın önü ile eklem yapar (8).



Şekil 7: Rat larenksinin dorsal, ventral ve lateral açılarından görüntüsü (8).



Şekil 8: Rat larenksinin internal yapısı (transvers ve sagittal kesitler) (8).

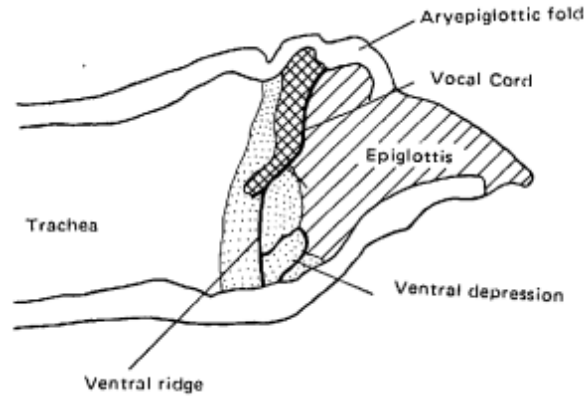
TG: Tiroid gland P: Farenks L: Larenks

2.4.2. Rat larenksinin histolojisi

Larenksin ışık mikroskobu ile incelenmesinde 5 tip epitel görülür. Bunlar; çok katlı skuamöz, skuamoid, yalancı çok katlı solunum ve yalancı çok katlı kübik epitelin 2 formudur. Bu epitel tiplerinin dağılımı karmaşıktır. Epiglotun büyük çoğunluğunda,

aritenoid seviyesinin üzerinde, lateral ventriküllerin içinde ve dorsal bölgede çok katlı skuamöz epitel mevcuttur. Özellikle epiglotun üstünde olmak üzere tat tomurcukları da bulunur. Dorsal bölgede de keratinize küçük alanlar vardır. Vokal kordlar yaklaşık 2 hücre tabakası kalınlığında ince bir skuamöz epitel ile kaplıdır. Epiglot kaudalinin ventrolateral bölgesinde respiratuar epitelten oluşan geniş alanlar mevcuttur. Respiratuar epitel, aritenoid seviyesi iç yüzeyi boyunca ve vokal kordların kaudalinde mevcuttur.

Yalancı çok katlı kübik epitel ise yassı ve solunum epitelinin arasında bir geçiş bölgesinde mevcuttur. Geçiş bölgesinin en geniş olduğu yer aritenoid seviyesinde, ventrolateral bölge ve ventral poşun ventral ve lateralidir. Yalancı çok katlı kübik epitelin çok olduğu epiglot tabanının ventrolateral yüzünde epitel 3-4 hücre tabakası yüksekliğindedir. Bu yükseklik ventral poş etrafı kaudalinde ve vokal kord yakınında 2-3 hücre tabakası yüksekliğine düşmüştür (9). İnsan vokal kordu ile rat vokal kordunun histolojik tabakalı yapısı ve solunum epiteli tipi benzerlik oluşturmaktadır.



Şekil 9: Rat larenksinin sagittal kesitlerdeki epitel örtüsü (9).

2.5. VOKAL KORDDA SKAR OLUŞUMU VE YARA İYİLEŞMESİ

Vokal kord hasarı sonrası oluşan skar formasyonu ses bozukluğunun en önemli sebebidir (4,5). Vokal kord hasarının neden olduğu ses bozukluğu yaşam kalitesini oldukça etkileyen çok önemli bir problemdir. Etiyolojiyle ilişkili olarak vokal kord hasarı lamina proprianın ultrastruktürünü değiştirir ve normal mukozal hareketi bozar (5). Skar oluşumunun nedenleri arasında travma, radyasyon, cerrahi travma, iyatrojenik nedenler, infeksiyonlar sayılabilir.

Vokal kordun biyomekanik özellikleri, ECM (Ekstrasellüler matriks) içinde yer alan komponentlerin densitesi ve dağılımı tarafından belirlenir (10). Vokal kordun biyomekanik özelliklerini belirleyen bu komponentlerin dengeli dağılımı, ses oluşumunda vokal korda ideal viskoelastikiyeti kazandırır. Lamina propriada skar dokusu oluştuğunda değişen bu özellikler fonasyon sırasında mukozal dalga hareketini bozarak ses karakterlerini etkilemektedir. Bu değişiklik hastalarda ses kısıklığı, vokal kontrolün kaybı ve sesde yorulma gibi klinik şikayetler yaratmaktadır (10). Yapılan çalışmalarla yara iyileşme sürecine ilişkin bilgilerimizin artması skar oluşumunu engellemeye ya da azaltmaya yönelik tedavi seçeneklerini gündeme getirmiştir. Yara iyileşmesi süreci enflamatuar, proliferatif ve remodelasyon olarak adlandırdığımız iç içe geçmiş üç fazdan oluşmaktadır (11).

Hasar olur olmaz enflamatuar faz başlar. Bu aşamada trombositler, nötrofiller ve makrofajlar hasar bölgesine migrasyon gösterirler ve transforming growth faktör alfa (TGF-alfa), transforming growth faktör beta (TGF-beta), platellet-derived growth faktör (PDGF) gibi sitokinler salgırlar. Proliferatif faz da hasardan hemen sonra başlar. İlk faza göre daha uzun sürer. Bu fazda epitelizasyon, anjiyogenez ve mezenkimal hücre proliferasyonu meydana gelir (11).

Fibroblastlar ve epitelyal hücreler tarafından kollajen ve fibronektin gibi ECM komponentleri sentezlenir. Yapılan birçok çalışma bu ECM komponentlerinin yara iyileşmesinde anahtar rolü olduğunu ortaya koymuştur. Cilt dokusunda epitelizasyonun trombositlerden salınan epidermal growth faktör aracılığıyla yaralanmadan birkaç saat sonra başladığı gösterilmiştir (12). Normal yara iyileşme sürecinde hasardan dört gün sonra yara boşluğu granülasyon dokusuyla dolar (12). Granülasyon dokusu canlı bir epidermal yüzeye örtüldüğü zaman remodelasyon fazı başlar. Bu faz granülasyon dokusunun matür skar dokusuna dönüşümüyle sonuçlanır. Bu fazda yeni kollajen sentezlenmez; var olan kollajen lifleri organize olarak matür skar dokusunun karakteristiğini oluşturur. Süresi üç hafta ile bir yıl arasında değişebilir.

Vokal kordda yara iyileşmesini inceleyen birçok yayında sürecin enflamatuvar ve proliferatif fazda ciltte görülen ile aynı olduğu ancak remodelasyon fazında farklılık sergilediği ortaya konmuştur. Normalde cilt dokusunda yara iyileşirken kollajen tip III başlangıçta hızla sentezlenir. Kollajen tip I ise hasardan yaklaşık üç gün sonra sentezlenmeye başlar ve yedinci günden başlayarak tip III'ün yerini alır (12).

Tateya ve ark. rat modelinde akut kord vokal hasarına cevabı inceleyen çalışmalarında cilttekine zıt olarak kollajen tip I'in beşinci günden sonra azalmasına karşılık kollajen tip III'ün 3-14. günler arasında değişmeden kaldığını ortaya koymuşlardır (14). Bu bulgu vokal korddaki remodelasyon fazının ciltten farklı sürmekte olduğunu gösterir.

2.6. FONOCERRAHİ

Fonocerrahi, sesin iyileştirilmesine veya vokal foldlar haricinde yeni bir ses kaynağı oluşturulmasına yönelik cerrahi girişimlere verilen genel isimdir. Temel amaç vokal foldların fonksiyonel ve anatomik devamlılığını elde etmektir. Bunun için;

- a) Vokal foldun kenarlarının düzgün olmasını sağlamak ve böylece tam bir glottik kapanma ve mukoza dalgası oluşturmak
- b) Glottik yetmezliği ortadan kaldırmak
- c) Ses oluşması için gerekli olan optimal vokal fold hareketlerini sağlamak gerekir.

Fonocerrahi teknikleri:

Fonocerrahi uygulamaları cerrahi tekniğe, uygulamanın amacına ve uygulama yoluna göre 5 grupta incenir:

1. Endolarengeal mikrolarengocerrahi
2. Larengeal enjeksiyon teknikleri
3. Larenks çatı cerrahisi
4. Nörofonocerrahi
5. Rekonstrüktif fonocerrahi

Endolarengeal mikrolarengocerrahi

Vokal fold veya larenksin lezyonlarını çıkarmak amacıyla direkt veya indirekt larengoskopi yapılarak uygulanan işlemlerdir. İlk olarak 1962'de Hans Von Leden "fonocerrahi" terimini kullanmıştır. Daha sonra 1994 yılında "fonomikrocerrahi" terimi kullanılmaya başlanmıştır.

Mikrolarengocerrahi, vokal foldlardan veya larenks mukozasından doku çıkarmaya ve diseke etmeye yönelik işlemlerin genel adıdır. Direkt veya indirekt larengoskopi ile yapılabilir. Mikrolarengocerrahi terimi, sesi düzeltmeye yönelik açık

transservikal cerrahi işlemleri içermemektedir. Özellikle benign vokal fold lezyonları için uygulanacak mikrolarengocerrahi sırasında vokal ligamanın zarar görmemesine özen gösterilmelidir.

Mikrolarengeal cerrahide:

- Eksizyon mümkün olduğunca üst tabakalarda yapılmalıdır. Derin insizyon geç iyileşme demektir.
- Derin tabakalara yapılan cerrahi müdahaleler deformasyon ve skar oluşumuna zemin hazırlar.
- Vokal fold kenarlarının belirgin retraksiyonuna yol açan müdahaleler ise sesin bozulmasına neden olur.

Mikrolarengocerrahi çok hassas cerrahi aletlerin kullanılmasını gerektirmektedir. Ayrıca cerrahın rahat çalışma ortamı içinde olması gerekir. Mikrolarengocerrahi, Hiranonun tanımladığı vokal foldun hassas ve tabakalı mikroyapısına saygı gösteren bir cerrahi uygulama şeklidir (7). Temel amaç, patolojik yapıyı ortadan kaldırırken, vokal foldun patoloji içermeyen unsurlarına en az hasarı vermektir. Cerrahi girişimin zamanı da önem taşır. Medikal, davranışsal, terapötik tüm yaklaşımlara rağmen düzelmeyen hastalarda cerrahi müdahale endikasyonu doğar. Hastalara ameliyat sonrası sesin normale döneceği konusunda asla garanti vermemek gerekir. Ameliyat öncesi konuşma eğitimi ile hatalı ses kullanımı elimine edilmeli ve bu tedaviye cerrahi sonrası dönemde de devam edilmelidir. Mümkün olduğunca menstrüasyon döneminde ameliyattan kaçınılmalıdır böylece hemoraji riski, vokal fold ödeminde artış ve reinke ödemi olasılığı önlenmiş olur. Özellikle kanamanın görüntüyü bozması ve bu hassas cerrahi uygulamayı engellemesi nedeniyle bazı önlemler alınabilir. Bu amaçla adrenalini pamuklar, vokal foldlara subepitelyal adrenalin enjeksiyonu, elektrokoter veya lazer

gibi uygulamalar yapılabilir. Mikrolarengocerrahi sırasında özellikle yüzeysel glottik uygulamalarda 1:10000 adrenalin emdirilmiş pamukların topikal kullanımıyla hemostaz sağlanır. Daha derin glottik ve supraglottik lezyonlarda lazer veya elektrokoterizasyon uygulanır. Ameliyat sonunda, mevcut pıhtı veya kanama aspire edilir. Kanamaya yol açarak görüntüyü bozabilecek lezyonlarda lazer kullanılmalıdır. Ancak lazer enerjisinin yol açtığı ısı hasarı kullanımını oldukça kısıtlamaktadır. Vokal fold cerrahisinde en sık karbondioksit (CO₂) lazerden yararlanır. Vasküler lezyonlarda ya da larengoskop kullanılarak rezeke edilmek için çok büyük olan patolojilerde CO₂ lazer çok kullanışlıdır. Daha çok 0.3 mm civarında mikrospt, 1.75-3 watt civarında enerji, 0.1 sn süreli pulse mod tercih edilir (7).

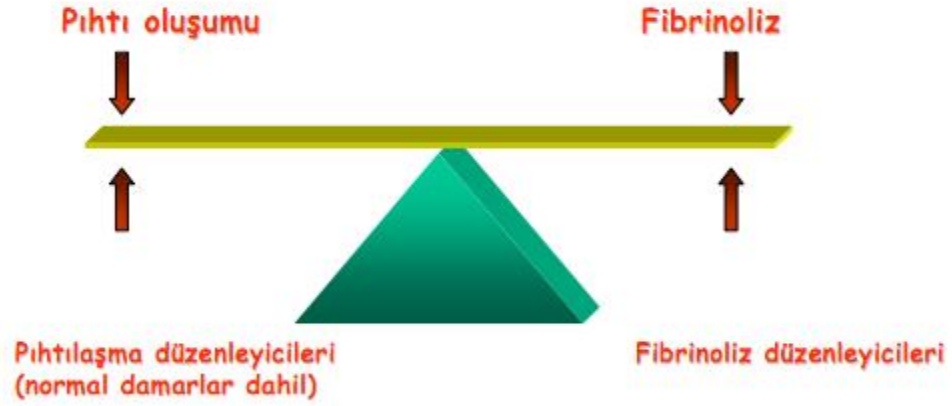
Mikrolarengocerrahi teknikleri mikrofleb veya mini-mikrofleb yaklaşımı olarak tanınır. Vaskülarize olmayan lamina proprianın yüzeysel tabakasında doğal bir cerrahi plan oluşturulur ve bu planda epitel ve vokal ligaman hasarı yapmadan diseksiyon yapılır. Amaç alttaki lamina propria üzerinde intakt bir mukozal örtü bırakmaktır.

Vokal fold kistlerine en iyi lateral mikrofleb tekniği ile müdahale edilir. Lateral mikrofleb tekniğinde vokal folda uzunlamasına bir insizyon yapılır, vokal ligaman tanınır. Süperior lamina propria içinde diseksiyona devam edilir, lezyon vokal ligamandan ve üzerindeki mukozadan dikkatlice ayrılır ve çıkarılır. Korunan mikrofleb eski pozisyonuna tekrar getirilir.

2.7. HEMOSTAZ MEKANİZMALARI

Hemostaz kan kaybının önlenmesi anlamına gelir. Hemostaz, dolaşım sisteminden kan kaybını önlemek için kan damarları, trombositler, plazma proteinleri arasındaki kompleks ilişkilerin bir sonucudur. Bir damar zedelendiğinde ya da yırtıldığında çeşitli

mekanizmalarla hemostaz sağlanır. Hemostazın vazokonstrüksiyon, primer ve sekonder hemostaz ve fibrinolitik sistemden oluşan üç önemli komponenti vardır (15).



Şekil 10: Normal hemostaz dengesi

Vazokonstrüksiyon

Kan damarı travmaya maruz kaldıktan sonra, hasarlanan damar duvarında miyojenik spazm oluşur. Trombositlerden kaynaklanan bölgesel hümorale faktörler ve sinirsel refleksiyle spazm meydana gelir. Küçük damarlarda vazokonstrüksiyonun büyük kısmından tromboksan A_2 oluşumunu sağlayan trombositler sorumludur. Zedelenme ne kadar büyükse spazmın derecesi de o kadar büyük olur ve bu spazm etkisi dakikalar ve saatlerce sürebilir. Bu süre içinde trombosit tıkaçı oluşur ve kan pıhtılaşması gelişir (15).

Primer ve Sekonder Hemostaz

Primer Hemostaz Sistemi

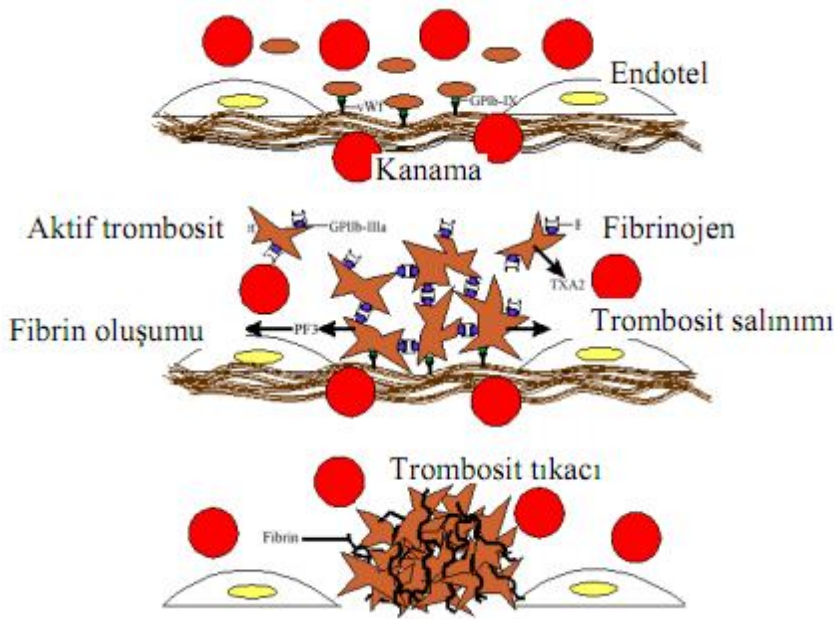
Yaralanma yerlerinde trombosit plak oluşum sürecine primer hemostaz denir, saniyeler içinde meydana gelir ve kapiller kan kaybını durdurmada esas önceliğe sahiptir. Primer hemostazın başlıca bileşenleri vasküler endotel ve trombositlerdir. Trombositler hasarlı bölgeye gelerek yapışma (adezyon), granül içeriklerini ortama salma (sekresyon) ve kümeleşme (agregasyon) fonksiyonlarını yerine getirirler (16).

Trombositlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Trombositler, yuvarlak ya da oval, 1,5- 3 mikronmetre çapında ufak disklerdir. Kemik iliğindeki megakaryositlerden oluşurlar. Yapılarında çekirdekleri olmamasına ve çoğalmamalarına rağmen hücrenin birçok fonksiyonel özelliğini taşırlar. Stoplazmalarında trombositlerin kasılmalarını sağlayan aktin, miyozin, trombastenin molekülleri, enzim sentezleyen ve kalsiyum depolayan endoplazmik retikulum, ATP ve ADP oluşturabilen enzim sistemleri, prostoglandin sentezleyebilen enzim sistemleri, fibrin stabilize edici faktör ve damar endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve fibroblastların çoğalma ve büyümelerini ve hasarlı damar duvarının tamiri için gerekli hücresel büyümeyi sağlayan büyüme faktörü bulunmaktadır. Membran yüzeyini kaplayan glikoprotein örtüsü trombositlerin normal endotele yapışmasını önlerken zedelenen damar çeperlerinin hasarlanan alanlarına ve derinlerde açığa çıkan kollajene yapışmasını sağlar (17).

Adezyon

Trombositlerin yaralı damar bölgesine yığılma işlemidir. Vasküler hasar sonucu açığa çıkan subendotelial bölgedeki kollajene doğrudan glikoprotein Ia / IIa reseptörü aracılığı ile veya glikoprotein Ib-IX / V reseptörü ile endoteldeki von Willebrant Faktör (vWF)'e bağlanarak yapışırlar. Bu bağlanma trombositlerin adezyonuna ve aktivasyonuna yol açar (18, 19).



Şekil 11: Trombosit adezyonu ve tıkaç oluşumu

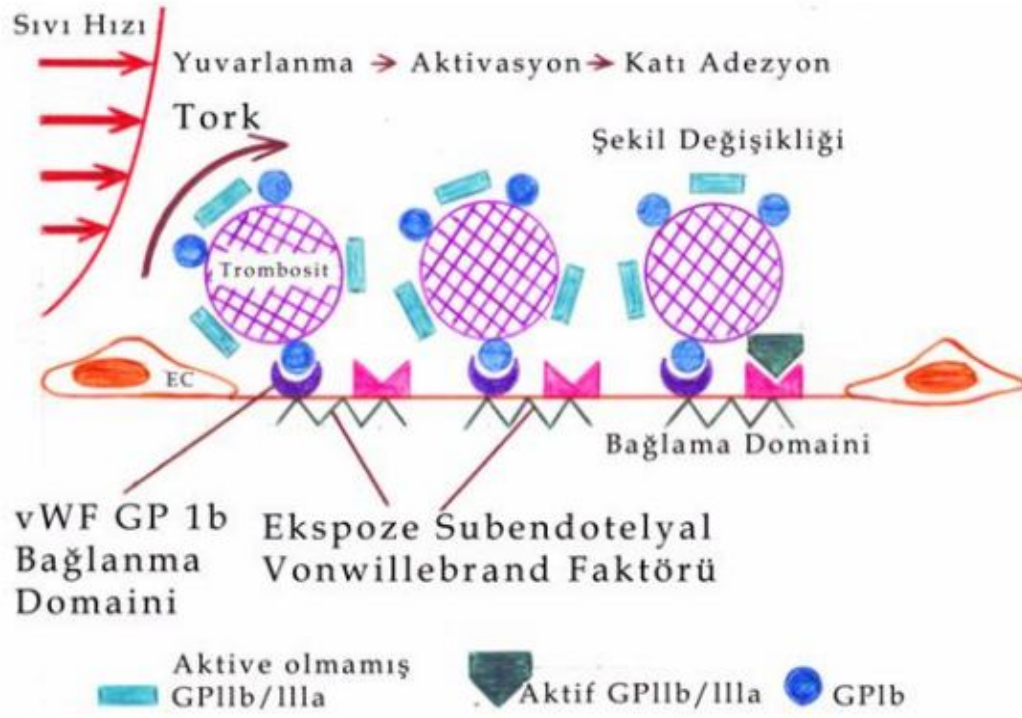
Salınım

Trombositler hasara uğrayan damar yüzeyine, kollajen liflere ve hasarlı endotel hücrelerine dokunduklarında özelliklerini yitirerek düzensiz bir şekil alır ve yüzeylerinden sayısız psödotlar uzatırlar. Kasılabilme özelliğine sahip proteinler kasılarak aktif faktörler içeren granüller serbestlenir, yapışkan hale gelir, plazmadaki hasarlı doku içine sızan von Willebrant Faktör (vWF) isimli proteine tutunurlar. Başta ADP olmak üzere birçok protein (fibrinojen, fibronektin, platelet faktör-4, transforming

growth faktör- β), TA2 (Tromboxan A2) ve koagülasyon sistemi için gerekli olan kalsiyum (Ca ++) salınır. ADP ve TA2 çevredeki diğer trombositleri aktive ederek başlangıçta oluşmuş aktif trombositlere yapışmalarını sağlar. Gittikçe artan sayıda trombositin aktive olması ve aktifleşen trombositlerin de yeni trombositleri aktive etmesiyle gelişen bu kısır döngü, trombosit tıkaçının oluşumunu sağlar. Damardaki hasarın çok küçük olduğu durumlarda kanama odağı kan pıhtısı yerine trombosit tıcağı ile kapatılır (17).

Agregasyon

Trombositlerin bir arada toplanıp küme oluşturması işlemidir. Bu işlem için özellikle trombosit üzerinde bulunan glikoprotein IIb/IIIa reseptörü ve fibrinojen gereklidir. Fibrinojen, glikoprotein IIb/IIIa reseptörlerine bağlanarak trombositler arasında bağ oluşturur (18). Trombositler aracılığıyla oluşan pıhtı zayıftır. Bu pıhtının stabil hale gelmesi için fibrin gereklidir. Fibrin de koagülasyon sistemi sonucu oluşur.



Şekil 12: Trombositlerin adezyon ve agregasyonu

EC: Endotel hücresi vWF: Von willebrant faktör GP: Glikoprotein

Sekonder Hemostaz Sistemi

Trombosit tıkaçının kanamayı durdurmakta yetersiz kaldığı daha büyük yaralanmalarda, koagülasyon proteinlerinin de aktive olmasıyla sekonder hemostaz başlar. Primer ve sekonder hemostaz birbiriyle yakından ilişkili olup, sekonder hemostaz, fibrin oluşumu ile sonuçlanan plazma koagülasyon sistemi reaksiyonlarını içerir. Tamamlanması için birkaç dakikaya ihtiyaç vardır. Fibrin bağları primer hemostatik plağın güçlenmesini sağlar (16). İntrensik yol ve ekstrinsik yol olmak üzere iki ana yolu vardır. Önceleri her iki yolun da koagülasyon sistemi için eşit öneme sahip olduğu kabul edilirken, günümüzde koagülasyonun başlamasında primer yolun ekstrinsik yol olduğu bilinmektedir (18).

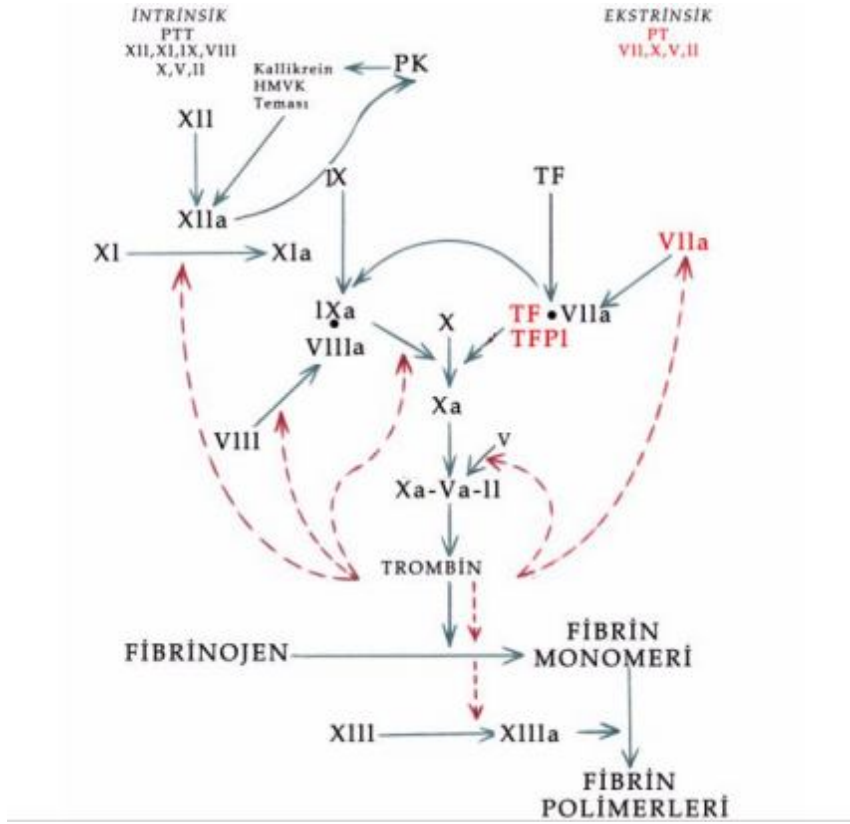
Ekstrinsik Yol

Günümüzde, koagülasyon mekanizmasının, bütünlüğü bozulan endotelden kana salınan doku faktörünün (TF), faktör (F) VII'i aktive ederek başladığı görüşü hakimdir. Başlangıç fazı olarak adlandırılan bu fazda; tromboplastin olarak bilinen TF, Ca⁺⁺ iyonu varlığında FVII'i, FVIIa (aktif FVII)'ya çevirir ve onunla bir kompleks oluşturur. TF -FVIIa kompleksi bir taraftan FIX'u aktive ederken diğer yoldan da direk olarak FX'u FXa'ya dönüştürür. Aktive olan FXa, FVa, FII (protrombin) ile beraber protrombinaz adı verilen kompleksi oluşturur ve protrombinin (FII) trombine (FIIa) dönüşümü sağlanır (şekil 14). Trombin fonksiyonları geniş bir yelpazededir. Primer rolü fibrinojenden fibrin oluşturarak hemostatik plağın inşa edilmesidir. Trombin, fibrinojen molekülünden önce fibrinopeptid A ve B fragmanlarını kopararak fibrin monomerlerini ve daha sonra monomerlerin bir araya gelmesi ile fibrin polimerlerini oluşturur. Aynı zamanda fibrin stabilize eden faktör olan F XIII 'i aktive ederek fibrin polimerlerinin çapraz bağlarının oluşmasını ve güçlü fibrin pıhtısının meydana gelmesini sağlar (16).

İntrinsik Yol

İntrinsik yolun başlangıcı olan FXII herhangi bir proteolitik basamak gerektirmeden kanın herhangi bir yabancı yüzeyle teması ile aktive olmaktadır. İn vitro olarak bu yüzey; cam, silikon veya plastik olabilirken in vivo olarak kollajendir. FXIIa, FXI'i FXIa'ya çevirir. FXIa, FIX'u aktif hale getirir. Kofaktörü olan FVIIIa ile beraber FIXa ve FX tenaz kompleksini oluşturarak FX'u FXa'ya dönüştürür (şekil 14). Bundan sonraki aşamada yine yukarıda belirtilen protrombinaz kompleksi aracılığı ile trombin ve fibrin oluşumu görülür. Pıhtı oluşumunda bu yolun minimal etkisi olduğu, FXII ve

prekallikrein yetmezliği olan hastalarda kanama bozukluğu görülmemesiyle gösterilebilir (19).



Şekil 13: Koagülasyon basamakları. Laboratuvar tanımlı ekstresek ve intrinsek yollar

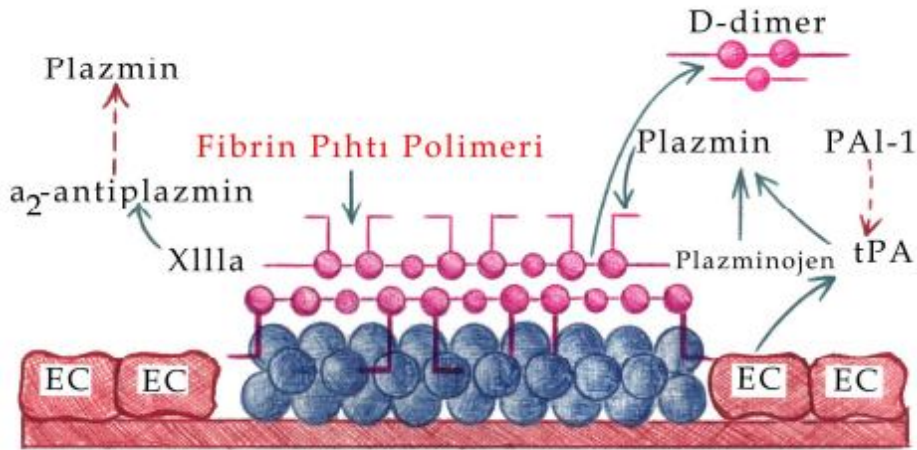
HMWK: Yüksek moleköl ağırlıklı kininojen **PK:** Prekallikrein faktör

TFPI: Doku faktör yolu inhibitörü **TF:** Doku faktörü

Endotel İlişkili Fibrinoliz

Damar içi fibrinolitik aktivite doku plazminojen aktivatörü (t-PA) ve ürokinaz gibi plazminojen aktivatörleri ve Plazminojen aktivatör inhibitörü -1 (PAI-1), a2-antiplazmin gibi inhibitörler arasında bir dengeden kaynaklanır. Fibrinolizin düzenlenmesi endotel yüzeyinde olur. Vasküler endotel hücreleri t-PA ve PAI-1'i sentezleyip salgırlar. Plazmin, fibrin ve matriks bileşenlerinin hücreye yakın

bölgelerde parçalanmalarını kolaylaştırır. Fibrinolizde makrofajlar da kritik role sahiptir. Makrofajlar plazmin gerektirmeyen bir mekanizmayla lizozomal proteoliz ile fibrin pıhtısını parçalar. Dokunun tamiri ve yenilenmesi eninde sonunda fibrin bazlı pıhtının çözünmesini gerektirir. Doku plazminojen aktivatörü ve ürokinaz dolaşımdaki zimojen plazminojen üzerine etki ederek aktif fibrinolitik enzim olan plazmine dönüşmesini sağlar. Ayrıca intrinsik yol aktivatörleri olan kallikrein, XIIa ve XIa'da plazminojenin plazmine dönüştürülmesine yardımcı olurlar (Şekil 15). Plazmin fibrin matriksini çözer ve çözüür, fibrin peptitleri ve D-dimer oluşur. Plazmin aynı zamanda hasarlı dokuyu parçalayan metalloproteinazları etkin hale getirir. Fibroblastlar ve lökositler yara içine göç ederler. Bu hücreler lökositlerden ve aktif hale gelmiş trombositlerden salınan büyüme faktörleri ile uyumlu olarak damarın onarımı ve dokunun yenilenmesi için çalışırlar (18).



Şekil 14: Trombosit fibrin pıhtısını sınırlayan dengeli fibrinoliz

Cerrahide hemostazın önemi

Cerrahi hemostazda başarı dokunun kan akımının kesilmeden kanamanın durdurulması esasına dayanır. Şayet küçük kan sızmaları devam edecek olursa farkedilmeyen kan

kayıpları, operasyon süresinde uzama, fizyolojik komplikasyon riskinde artış ve yara iyileşmesinde gecikme ile sonuçlanacaktır. Cerrahi esnasında kanamaya neden olan faktörler hem hastanın özelliklerine hem de uygulanan cerrahi prosedürlere bağlıdır

Tablo 1: Cerrahi Esnasında Kanamaya Neden Olan Faktörler:

Kırık kemik (spinal rekonstrüktif proçesler vb.)
Diffüz kapiller alanlar (büyük alanlar)
Görülemeyen kanama odakları
Cerrahi insizyon
Sütür atılamayan dokular
Sütür hattındaki basıncın düşüklüğü
Strip adezyonu
Antikoagölan ilaç kullanımı
Koagülopatiler ve trombosit disfonksiyonları

Bu faktörler cerrahın operasyon sırasında hemostaz için uygun teknik kullanması ile azaltılabilir. Hızlı ve efektif hemostaz (Tablo 2) cerrahın operasyon sırasında cerrahi sahayı daha rahat ve iyi görmesini sağlar. Bu da cerrahinin daha rahat yapılmasını, sürenin kısalmasını sağlar. Cerrahi sürenin kısalması ile cerrahi maliyet de düşecektir. Ayrıca uygun hemostaz cerrahiye bağlı morbidite ve mortalite riskini azaltmaktadır.

Tablo 2:Cerrahi esnasında efektif hemostaz yapmanın avantajları

Transfüzyona bağlı komplikasyonlarda azalma
Cerrahi alanın net görülmesi
Cerrahi sürenin kısalması
Mortalite ve morbilitenin azalması

Cerrahide hemostazı sağlamak için uygulanan yöntemler

Başlıca hemostaz teknikleri termal yöntem, mekanik yöntem ve kimyasal yöntemlerden oluşur. Özellikle mekanik yöntem kanama sahasına direk bası şeklinde uygulanan ve birçok cerrah tarafından sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Ancak kompresyon ve diğer mekanik teknikler birçok cerrahi sırasında uygun olmayabilir. Özellikle kanamanın yoğun olması, hastanın koagülopatisinin varlığı ya da hastanın antitrombotik ve antikoagülan ilaç kullanımı mekanik bası ile hemostaz başarısını düşürür (20,21). Diğer mekanik yöntemler stappler, sütür, ligasyon klipsidir. Ancak bu yöntemler ancak cerrahi saha net olarak seçilebiliyorsa uygulanabilir. Otolaringolojik cerrahilerde ve epistaksis kontrolünde mekanik yöntemler sıkça tercih edilir. Ancak mekanik basının baskı ortadan kaldırıldığında tıkaçın kaldırılması ile birlikte kanamanın tekrarlaması gibi bir dezavantajı vardır. Son yıllarda harmonik skalpel ve lazer birçok cerrahın hemostazda kullanmaya başladığı bir yöntemdir. Ancak bu yöntemlerin de kemik dokuda, parankim dokusunda, inflame dokularda ve yoğun kapiller ağ içeren dokularda kullanımı güçtür (22). Kimyasal teknikler özellikle farmakolojik yöntemler çok geniş yüzeyde hemostazı sağlayabilmektedir. Özellikle epinefrin, desmopressin, kokain, topikal hemostatik ajanlar, doku adezinleri bu amaçla kullanılır (22). Bununla birlikte birçok hemostatik materyalin yerinden kaldırıldığında hemostatik tıkaçın oynamasıyla tekrar kanama riski vardır. Bunu önlemek amacıyla doku tarafından emilebilen materyaller geliştirilmiştir (23).

Cerrahide kullanılan topikal hemostatik ajanlar

Birçok topikal hemostatik ajan kullanılmaktadır. Bunlar iki gruba ayrılır: aktif hemostatik ajanlar ve pasif hemostatik ajanlar. Aktif hemostatik ajanlar biyolojik

aktivitesi olan tıkaç kaskat mekanizmasını aktive eden ürünleri içerir. Bunlar **trombin** ve **trombin ürünleridir**. Pasif topikal ajanlar ise trombosit agregasyon ve gelişimini kontakt aktivite ile pasif olarak oluşturanlardır. Bunlar **sellülöz, kollajen ve jelatini** içermektedir.

Pasif topikal hemostatik ajanlar

Ana etki mekanizması trombosit tıkaçının etrafını çevreleyerek fiziksel yapı oluşturmaktır. Spanç, sünger (spongostan) ve okside sellülöz (surgicel) en çok bilinen, cerrahide en çok kullanılan pasif topikal hemostatik ajanlardır. Kollajen bazlı ürünler trombosit agregasyonunu aktive ederek ve kan ile kollajen arasında direk kontakt sağlayarak kanama kontrolü sağlarlar. Hayvansal kollajen bazlı ürünlerin alerjik reaksiyon riski vardır ve bu oran %2 ile %4 arasındadır. Okside sellülözler de kontakt aktivasyonla hemostazı sağlar, cerrahi sırasında küçük parçalar halinde uygulanabilir, cerrahi aletlere ve eldivene yapışmazlar ve diğer ürünler gibi doku tarafından absorbe edilmez. Ancak okside sellüözlü hastalar tekrar cerrahiye alındığında kalan parçaların organize olduğu görülmüştür (23). Bundan dolayı da mümkün olduğunca az kullanılması ve hemostaz sağlandıktan sonra geri çıkarılması önerilir. Jelatin içeren pasif topikal hemostatlar değişik irregüler yapılı geometrik alanlarda kullanılabilir. Kanama alanına sıkıldığında yuvarlak ya da boşluğun şeklini alarak tampon etkisi ile hemostaz sağlar, şişebilen jelatin partikülleri kan akımını kısıtlar ve oluşan tıkaç etrafında matriks oluştururlar. Tıkaç kontakt aktivasyon ile oluşur. Jelatin bazlı ürünler cerrahi aletlere yapışabildiği için kullanımı zordur. İnvitro ortamda pasif topikal hemostatların koagulasyon mekanizması üzerine etki gücü bakıldığında en etkili olanın

mikrofibriller kollajen olduğu sonrasında sırasıyla kollajen sünger, jelatin sünger ve okside sellülöz olduğu görülür (24).

Aktif topikal hemostatik ajanlar

Aktif topikal hemostatik ajanlar biyolojik aktivitede direk olarak kanama tıkaçını sağlayan koagülasyon kaskadının son basamağına etki ederler. Bunlar trombin ve kombine trombin ürünlerini içerirler. Trombin birçok cerrahi alanda kullanılır, trombinin hemostatik etkinliğı için dolaşımda fibrinojenin bulunması gerekir. Çünkü fibrinin hemostatik etki edebilmesi için fibrinojenle trombinin etkileşmesi böylece aktifleşmesi gerekir. Fibrinojen ve trombin birleştiğı zaman trombin fibrinojeni monomerlerine ayrıştırır. Bu monomerler polimerize olarak çözünebilir formdaki fibrini kalıcı pıhtı oluşturacak çözümez fibrine dönüştürür (25, 26).

İdeal topikal hemostatik ajan şu özelliklere sahip olmalı:

1. Hızlı ve efektif olarak kanamayı durdurabilmelidir.
2. Kabul edilebilir ters reaksiyon profili olmalıdır.
3. Kolay uygulanabilmelidir.
4. Farklı kanama türlerinde etkin olabilmelidir
5. Dokudaki aktivasyonu fizyolojik olmalıdır.

2.8. Ankaferd Blood Stopper (ABS-AKD-Ankaferd Kanama Durdurucu)

ABS, hemostatik ajan olarak kullanılan bitkisel bir ekstraktır. Thymus vulgaris (0.05 mg/ml), Glycyrrhiza glabra (0.07 mg/ml), Vitis vinifera (0.08 mg/ml), Alpinia officinarum (0.07 mg/ml) ve Urtica dioica (0.06 mg/ml) bitkilerinin karışımından oluşmaktadır (26-36). Bu bitkilerin çeşitli tıbbi etkileri gösterilmiştir. Thymus vulgaris

(Kekik) antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoan, antioksidan, bronşiyal antispazmotik ve ekspektoran özelliklere sahiptir (27). Glycyrrhiza glabra (Meyan) anti-inflamatuvar, anti-ülser, ekspektoran, antitrombotik, antifungal ve antibakteriyel etkilidir (28). Vitis vinifera (Koruk), antioksidan, anti-aterosklerotik, sitotoksik, kemopreventif ve sitoprotektif etki göstermektedir (30). Alpinia officinarum (Havlıcan), antispazmotik ve antibakteriyel özelliklere sahiptir (27). Urtica dioica (ısırgan), antifungal ve antiviral etki göstermektedir (28, 29).

ABS ticari olarak aşağıdaki formlarda bulunmakta olup bir farmasötik formda bulunan Ankaferd BloodStopper içerikleri tablo3'de gösterilmiştir:

Ankaferd BloodStopper ampül 2 ml

Ankaferd BloodStopper tampon 2.5 cm x 7 cm – 3 ml

5 cm x 7.5 cm – 10 ml

20 cm x 20 cm – 100 ml

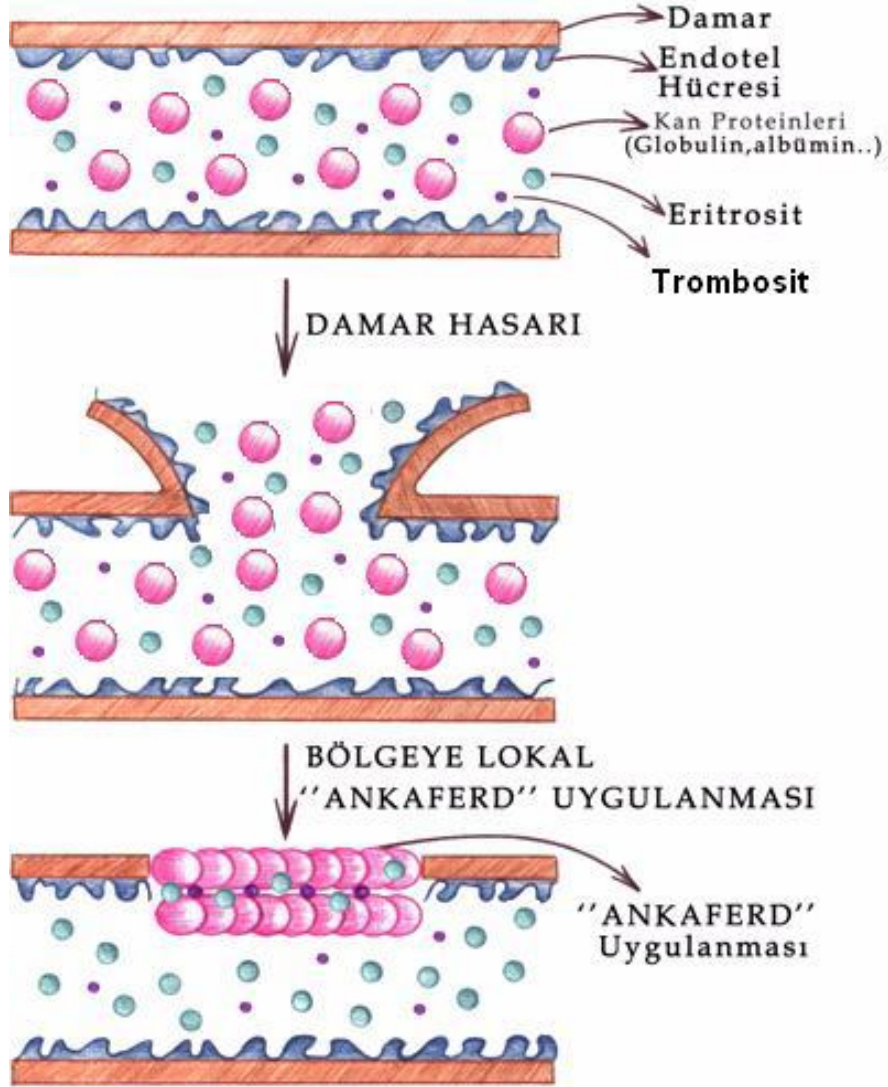
Ankaferd Blood Stopper sprey 5 ml; 10 ml; 25 ml; 50 ml; 200 ml

Etkin madde adı	Etkin madde miktarı (mg)			
	Ampül	Tampon		Sprey
	2 ml	2.5 x 7 cm	5 x 7.5 cm	ml
Urtica dioica	0.12	0.18	0.6	0.06
Vitis vinifera	0.16	0.24	0.8	0.08
Glycyrrhiza glabra	0.18	0.27	0.9	0.09
Alpinia officinarum	0.14	0.21	0.7	0.14
Thymus vulgaris	0.10	0.15	0.5	0.10

Tablo 3: ABS'in içerikleri

ABS'nin en basit etki mekanizması eritrosit aglütinasyonu için belli noktalar içeren en kapsüle protein ağı oluşturmalarıdır. ABS'in seruma eklenmesi ile tıkaç etkisi sağlayan protein ağının oluşum süresinin bir saniyenin altında olduğu görülmüştür (27). Bu tıkaç, muhtemelen daha ileri koagülasyon ve hemostatik reaksiyonlarının tetiklenmesiyle sağlanır. Rutin yapılan hemostatik ve biyokimyasal testlerde görülmüştür ki ABS ile ilişkili tıkaç etkisi sağlayan protein ağı oluşumu, kan proteinleri ve eritrositlerin fonksiyonlarına bağlı olarak oluşur. Burada pıhtılaşma faktörleri, ABS'den etkilenmese de, protein agregasyonu sayesinde anti-hemorajik süreç başlar. ABS pıhtılaşma faktörleri dışında tüm fizyolojik süreci etkiler. Bu yüzden hem sağlıklı insanlarda hem de hemostaz bozukluğu olan insanlarda (faktör eksiklikleri, DIC vb.) etkili olur. Eritrosit agregasyonu, yüksek molekül ağırlıklı plazma proteinlerinin (örneğin; fibrinojen ve immunglobulinler) tespitiyle saptanır. Fibrinojen azaldıkça, agregasyon artar. Yapılan çalışmalarda plazma fibrinojen aktivitesi ve fibrinojen antijen seviyelerinin plazmaya ABS eklenmesi ile belirgin oranda düştüğü gösterilmiştir. Ayrıca bu tıkaç etkisi gösteren protein ağı oluşumu sırasında plazmada; total protein, albumin ve globulin seviyelerinin de anlamlı oranda düştüğü görülmüştür. Bu yüzden ABS, fibrinojen–eritrosit aglütinasyon ilişkisini etkiler ve sonuçta eritrosit agregasyonunu stimüle eden bir protein ağı oluşturur (27, 30, 38, 39). Aynı zamanda yapılan çalışmalarla ABS'in Gram (-) bakteriler için bakteriyostatik etkisinin de olduğu gösterilmiştir (33). Literatürde birçok yerde ABS'in karaciğer, deri, beyin, gastrointestinal doku, oral mukoza, nazal mukoza gibi yerlerde hemostatik etkisi araştırılmış ve dokuların histopatolojik incelemesi yapılmıştır ancak vokal kord üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada hemostatik ajan olarak kullanılan ABS'in vokal kord cerrahisi sırasında uygulanabilirliği, rutinde kanama kontrolü için

kullanılan adrenalin ile kanama süreleri açısından kıyaslandı ve yara iyileşmesi süreci üzerindeki etkileri araştırıldı.



Şekil 15: Lokal olarak ABS uygulanmasının şema ile gösterilmesi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışmamız Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi (FÜTF) Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı bünyesinde Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarının imkanları kullanılarak yürütüldü. Çalışma öncesinde Fatih Üniversitesi Etik Kurulundan çalışma onayı alındı. Çalışma; iki etken madde (ABS ve Adrenalin) ve kontrol

grubunun yer aldığı 14 gün takipli, prospektif, kontrollü, randomize klinik hayvan deneyi olarak planlandı. Etik kurul onayından sonra Fatih Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında deneye başlandı. Çalışmada 30 adet wistar rat kullanıldı, ratların ağırlıkları 275-320 gr arasında idi (resim 1). Çalışmamızın amacı vokal kord travması sırasında ABS'in kanama durdurucu etkisini rutinde sık kullanılan adrenalin ile karşılaştırmak ve ABS'in yara iyileşmesi sürecinde vokal kord dokusundaki histopatolojik etkilerini değerlendirmektir. Çalışmamızda yer alan ratların sedasyonundan sonra rijid endoskop eşliğinde sağ vokal kordları travmatize edilip kanama zamanları hesaplandı. Elde edilem kanama zamanı değerleri kaydedildi. Postoperatif 3, 7, 14. günlerde larenjektomi yapılarak vokal kordlar eksize edildi. Çıkarılan spesimenler FÜTF Patoloji Anabilim dalında incelendi.

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışmamızda kullanılan 30 adet wistar ratlardan 3 tanesi kontrol grubu olarak belirlendi. Toplam üç grup belirlendi: ABS, Adrenalin, Sham. Kalan 27 adet rat bu üç gruba bölündü ve her ratın sağ vokal kordu endoskop eşliğinde Mikro vitreo retinal (MVR) yardımıyla travmatize edildi. Araştırma akut vokal kord hasarı oluşturulmuş; Sham, Adrenalin ve ABS (ABS) gruplarında 3, 7 ve 14. günde değerlendirilmiş her bir grup ve zamanda 3'er rattan oluşan denekler üzerinde yürütüldü (tablo 4). Çalışma başlangıcında ratlar gruplara rastgele, randomize olarak atandı ve tüm ratlara akut vokal kord hasarı oluşturuldu. Akut vokal kord hasarı oluşturulan ratlara gruplarına göre kanama durdurucu yöntem uygulandı.



Resim 1: Çalışmada kullanılan ratlardan biri (genel anestezi yapıldıktan sonra)

Gruplar şu şekilde belirlendi:

1.grup: Sham grubu (travma sonrası kanamayı durdurmak için mekanik bası uygulanan grup)

2.grup: Adrenalin grubu (travma sonrası kanamayı durdurmak amacıyla adrenalin uygulanan grup)

3.grup: Ankaferd grubu (travma sonrası kanama durdurulması amacıyla ankaferd uygulanan grup)

Tablo 4: Çalışma grupları ve rat sayıları

Gruplar	Sham	Adrenalin	Ankaferd	Kontrol
Rat sayısı	9	9	9	3

Travma sonrasında kanamanın durdurulmasına kadar geçen süre kronometre yardımıyla kayıt edildi ve "kanama zamanı" olarak adlandırıldı. Cerrahi uygulaması sonrasında hayvanlar iyileşme dönemine bırakıldılar. Cerrahi sonrası erken dönemde 5

adet ratta hafif düzeyde solunum sıkıntısı meydana geldi. Ancak anestezi etkisinin geçmesiyle bu sıkıntının gerilediği görüldü. Ratlar iyileşme döneminde standart pellet yemler ile beslendi, su ve yeme işlemleri serbest bırakıldı. Her grupta yeralan ratlar 3'er subgruba bölündü ve postoperatif 3, 7, ve 14. günlerde her gruptan 3'er hayvan yüksek doz penthotal (200 mg/kg; intraperitoneal) verilerek sakrifiye edildi. Tüm hayvanlara larenjektomi yapılarak patolojik inceleme için spesimen sağlandı.

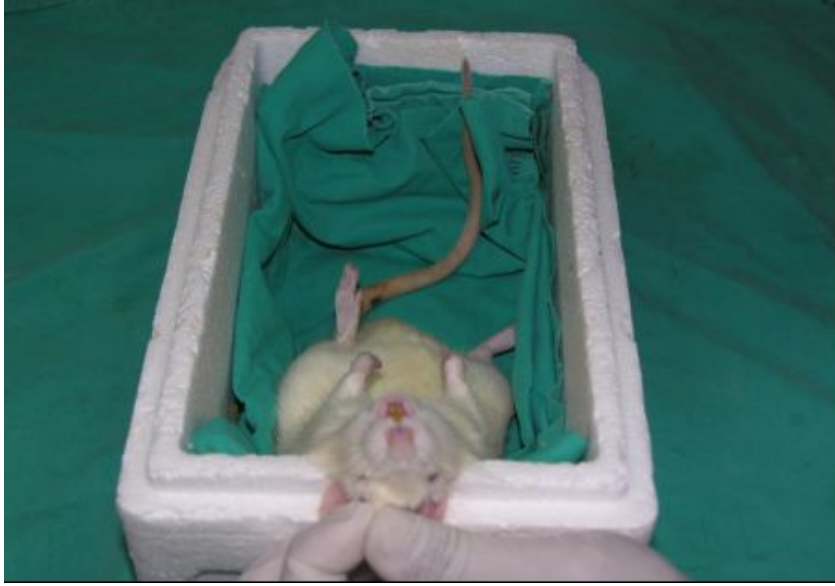
3.2. VOKAL KORD CERRAHİSİ

FÜTF Deneysel Hayvanları Laboratuvarında Wistar ratlara cerrahi işlem planlandı. Standart cerrahi işlemi tüm hayvanlarda aynı özelliklerle gerçekleştirmek amacıyla ratları vertikale yakın oturur pozisyonda tutacak ve başı sabitleyecek bir tespit platformu hazırlandı (Resim 2c). Tüm hayvanlara cerrahi işlem öncesi intraperitoneal olarak 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar ®, Pfizer Warner Lambert, ABD) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun ®, Bayer, Mefar İlaç Sanayi, İstanbul, Türkiye) verilerek anestezileri sağlandı. Takiben hayvanlara 0,05 mg/kg atropin sülfat intraperitoneal olarak verilerek tükürük salgısının ve larengeal lümendeki sekresyonun azaltılması amaçlandı (resim 2a-2b).



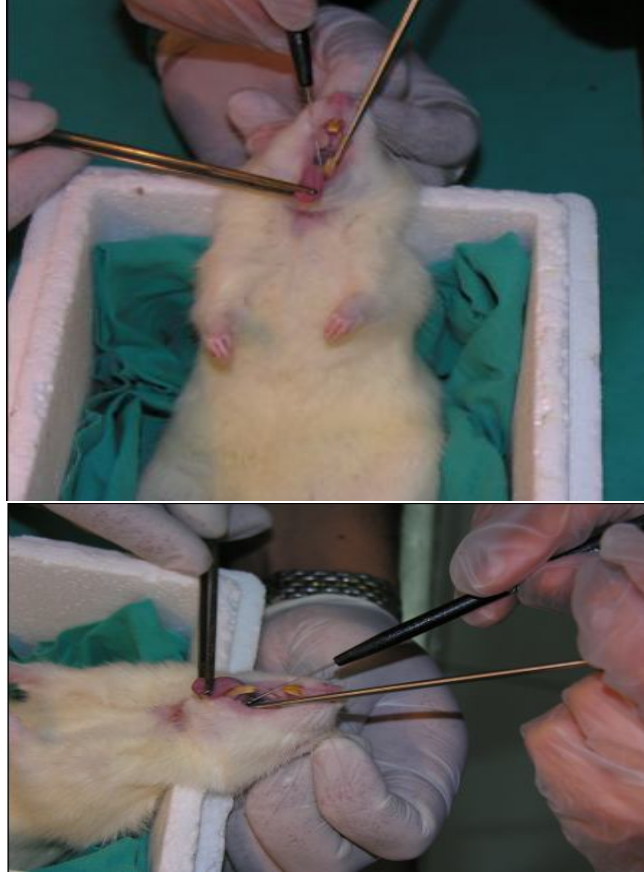
Resim 2a ve 2b: Operasyon ve anestezi sırasında kullanılan aletler

Tüm cerrahi işlemler spontan solunum devam ederken gerçekleştirildi. Ayak çekme refleksleri kontrol edilerek anestezi derinliği belirlendikten sonra ratlar operasyon platformuna alındı ve vertikale yakın bir pozisyonda yerleştirildi (resim 2c).

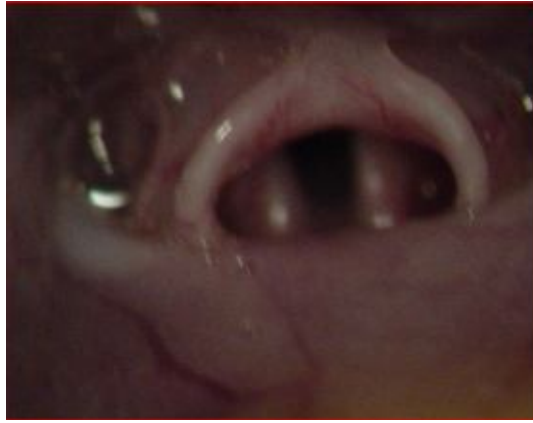


Resim 2c: Operasyon tespit platformuna vertikale yakın pozisyonda yerleştirilen rat

Dil bir penset yardımıyla laterale çekilerek 30 derece pediatrik rijid endoskop, sol el yardımıyla dilin dorsal yüzeyine temas ettirilerek lareangeal düzeye indirildi. Sağ el yardımıyla 20 gauge Mikro Vitreo Retinal (MVR) aleti ile her bir hayvanın sağ vokal kord mukozasına vertikal insizyonlar yapılarak vokal kord travmatize edildi. Cerrahi işlemler her bir ratın sağ vokal korduna uygulandı ve karşı vokal kord intakt bırakıldı.



Resim 2d ve 2e: Dil penset yardımıyla laterale çekilerek sol elle 30 derece rijid pediatrik endoskop dilin dorsal yüzünden ilerletilerek vokal kordlar görüntülendi ve sağ elde bulunan MVR (micro vitreo retinal knife) aletiyle sağ vokal kord travmatize edildi.



Resim 2f: 30 derece rijid endoskoplara sağlanan vokal kord görüşü

3.3 PATOLOJİK İNCELEME

Çalışmanın patolojik hazırlık ve değerlendirme işlemleri aynı patolog tarafından yapıldı. Bu aşamada hayvan laboratuvarında çıkarılmış olan larengeal spesimenler posteriora interaritenoid bölgeden yapılan vertikal bir kesiyle açılarak vokal kordlar ortaya kondu. Spesimen diseksiyon mikroskobu altında anterior komissürden yapılan vertikal kesiyle ikiye bölündü. Sonrasında her iki vokal kordun orta kısmından olacak şekilde bistüri yardımıyla vertikal planda doku örnekleri çıkarıldı. Çıkarılan örnekler %10'luk formalin solüsyonu içinde fikse edildikten sonra, parafin bloklara gömüldü. Alınan 5 µm'lik kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyanarak ışık mikroskobu altında histopatolojik bulgular değerlendirildi (resim 3a). Epitel ve lamina propriada gözlenen enflamasyon ayrı ayrı değerlendirildi ve 0-3 puan arasında bir değer verilerek semikantitatif olarak skorlandı (0 puan: Enflamasyon yok, 1 puan: Hafif enflamasyon, 2 puan: Orta derecede enflamasyon, 3 puan: Şiddetli enflamasyon) (resim 3b). Aynı şekilde vasküler proliferasyon da benzer şekilde semikantitatif olarak skorlandırıldı (0 puan: vaskülarizasyon yok, 1 puan: hafif dereceli vaskülarizasyon, 2 puan: orta dereceli vaskülarizasyon, 3 puan: şiddetli vaskülarizasyon) (resim 3c), nekroz varlığı ise (0 puan: nekroz yok, 1 puan: nekroz var) olarak değerlendirildi.

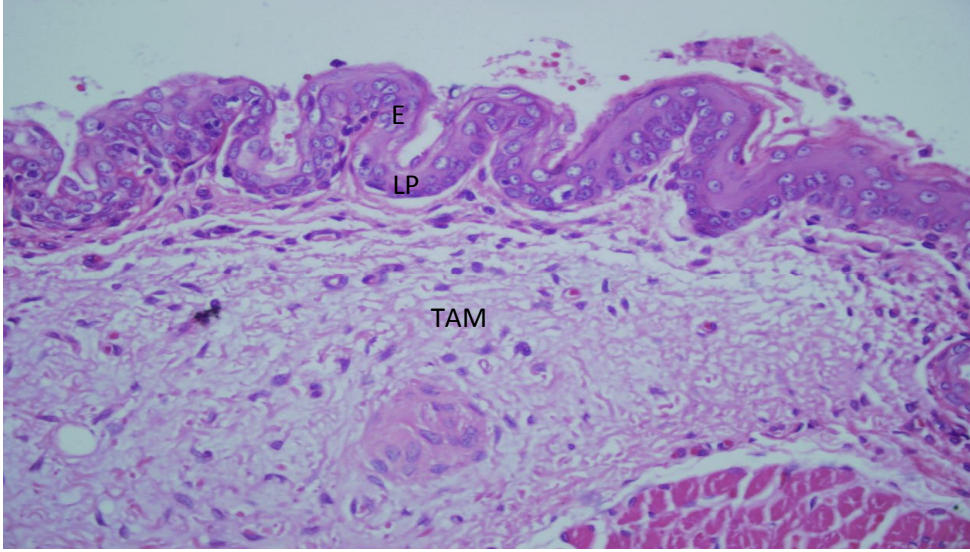
3.4. İSTATİKSEL ANALİZ

Ratlardan elde edilen kanama zamanı değerlerinin normal dağılıma uygunluğu grafiksel olarak ve **Shapiro-Wilk** testi ile incelendi. Kanama zamanının normal dağılıma uyduğu görüldü. Tanımlayıcı istatistiklerin gösteriminde kanama zamanı için ortalama±standart sapma değerleri kullanılırken enflamasyon skorlarının ve keratinizasyon varlığının

gösterilmesinde yeterli denek sayısı olmaması nedeni ile sadece sayılar verildi. Deney gruplarına göre kanama zamanı farklılığını araştırmak için tek yönlü varyans analizi ANOVA uygulandı. Farklı grubu belirleyebilmek amacı ile Bonferroni post-hoc testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı. Enflamasyon skorlarının ve keratinizasyon varlığının deney gruplarına göre dağılımını bulabilmek amacı ile çapraz tablolar oluşturuldu. Tüm hesaplama ve analiz işlemleri için MS-Excel 2003 ve SPSS for Win. Ver. 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL., USA) paket programlarından yararlandı. İstatistiksel kararlarda $p<0.05$ düzeyi anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.

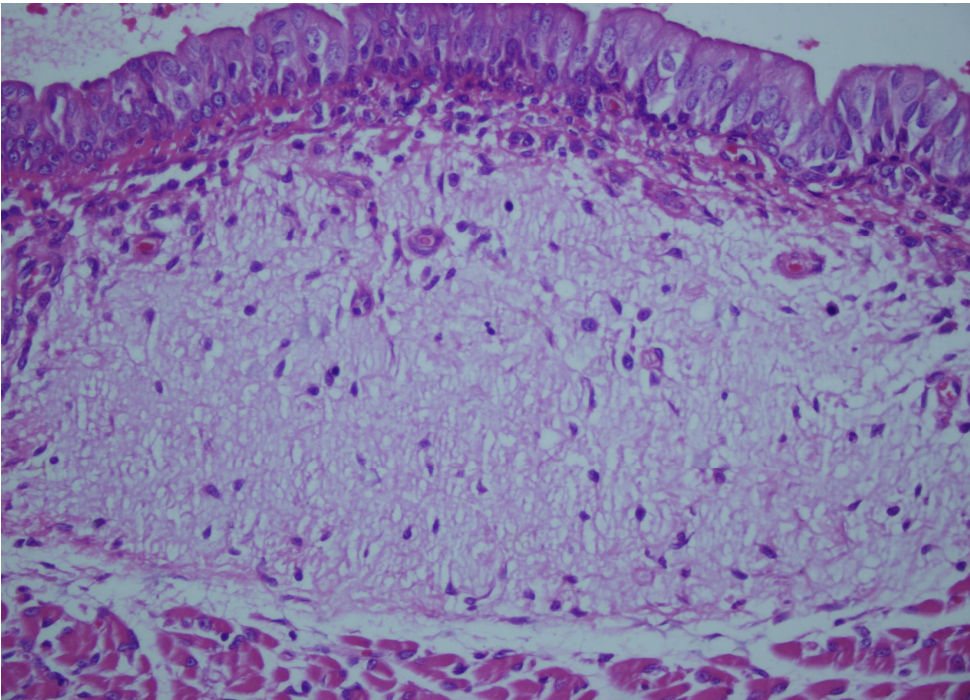
Örneklem Büyüklüğü ve Güç

Çalışmada kullanılacak denek sayılarını belirleyebilmek amacı ile G*Power (G*Power Ver. 3.0.10, Franz Faul, Üniversität Kiel, Germany, <http://www.psych.uni-duesseldorf.de/aap/projects/gpower>) paket programı kullanıldı. Çalışmada ABS, Adrenalin ve Sham (vokal kord travması esnasında hemostaz amaçlı direk bası uygulanan, etkene maruz kalan ancak ilaç kullanılmayan) grupları arasındaki $f=0.30$ 'luk etki farkını %80 güç ile belirleyebilmek için $\alpha=0.05$ tip I hata, $\beta=0.20$ tip II hata oranları ile her bir grupta, her bir ölçüm zamanında en az 3'er rata ihtiyaç olduğu belirlendi. Çalışmada 3 grupta 3 farklı zamanda yapılan deneyler için toplam 27 rat kullanılması gerektiği hesaplandı. Ayrıca 3 rat normal vokal kord yapısını göstermek amacıyla kontrol grubu olarak alınarak toplamda 30 rat ile çalışıldı.

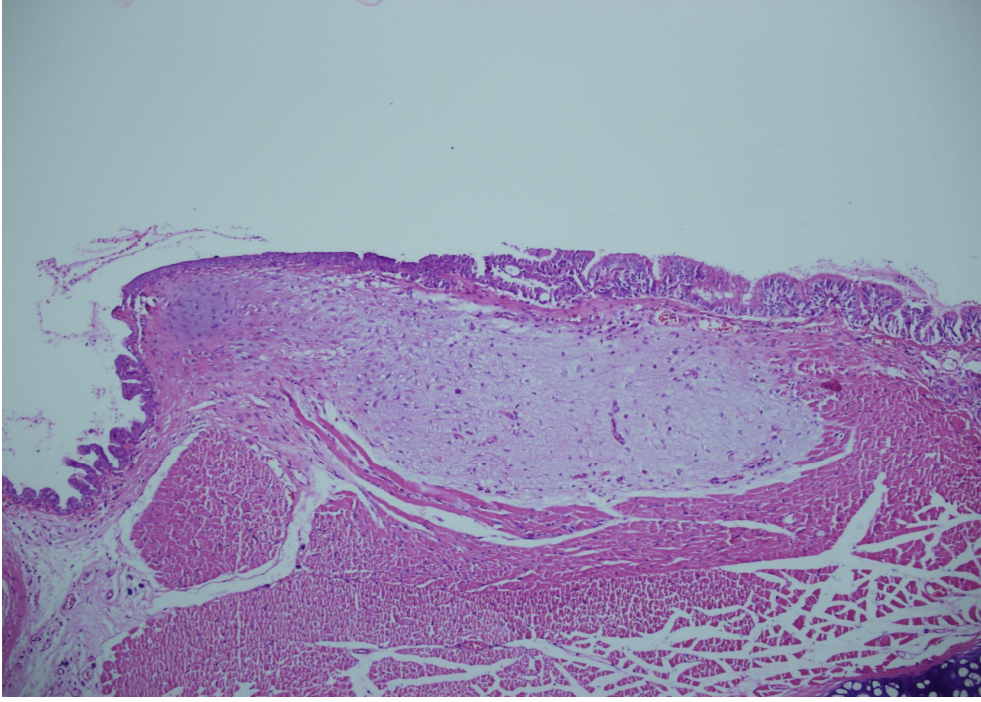


Resim 3a: Normal vokal kord histolojisi

E: Epitelyum LP: Lamina propria TAM: Tiroaritenoid kas



Resim 3b: Lamina propriada orta dereceli inflamasyon



Resim3c: Hafif dereceli vaskülarizasyon

4. BULGULAR

4.1. KANAMA ZAMANLARI

Tedavi sonrasında kanama zamanları (sn) gruplara göre Tablo5’de özetlendi. Sonuçlar değerlendirildiğinde sham grubunda ortalama kanama zamanı 21.71 sn, adrenalin grubunda ortalama kanama zamanı 12.00 sn, ABS grubunda ise ortalama kanama zamanı 3.13 sn’dir. Üç grup arasında kanama zamanlarının birbirinden oldukça farklı olduğu görüldü. Buna göre en kısa kanama zamanının ABS grubunda, en uzun kanama zamanının ise sham grubunda olduğu görülmüştür. Aynı zamanda endolarengeal mikrocerrahiler sırasında rutinde kanama kontrolü için kullanılan Adrenalin ile ABS grupları karşılaştırıldığında ABS grubunun Adrenaline göre anlamlı ölçüde kanama zamanını kısalttığı görülmüştür.

Tablo 5. Deney gruplarına göre kanama zamanı (sn)

Grup	Ortalama	Std.Sapma	F	P
Sham	21.71	1.50		
Adrenalin	12.00	1.80	305808	<0.001
ABS	3.13	0.84		

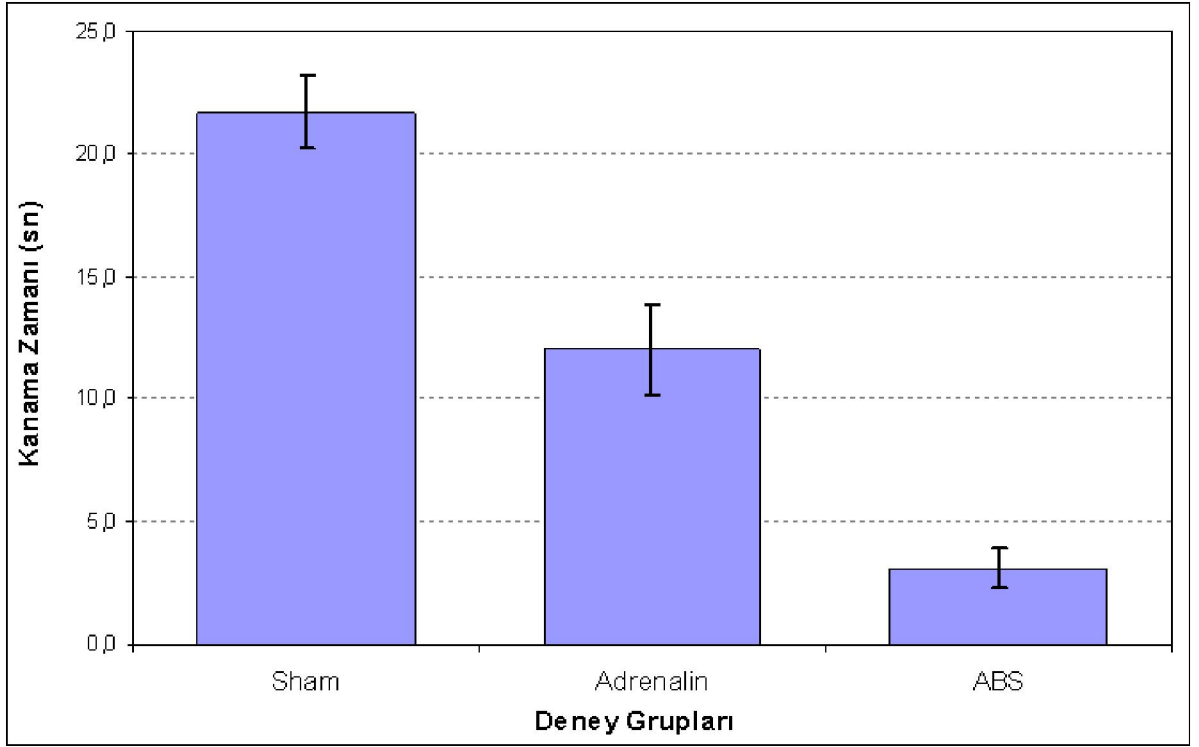
Deney grupları arasında kanama zamanı ortalaması farkı herbir grupta birbirinden farklıdır. (F=305.808; p<0.001). Kanama zamanları arasındaki fark ikili gruplar arasında karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar Tablo 6'da özetlendi.

Tablo 6. Kanama zamanı (sn) post-hoc ikili karşılaştırma sonuçları

Grup	Adrenalin		ABS	
	Ortalama (sn)	Farkı p	Ortalama Farkı (sn)	P
Sham	9.71	<0.001	18.59	<0.001
Adrenalin			8.88	<0.001
ABS				

Grupların birbirlerine göre kanama zamanları arasındaki farklara bakıldığında elde ettiğimiz sonuçlara göre; Adrenalin grubu ile Sham grubu arasındaki farkın 9.71 sn, ABS grubu ile Sham grubu arasındaki farkın ise 18.59 sn olduğu görülmüştür. Yani mekanik basıya göre ABS'un Adrenaline oranla kanama zamanını anlamlı ölçüde kısalttığı görülmüştür. Ayrıca Adrenalin ile ABS kıyaslandığında aralarında ortalama 8.88 sn fark bulunmuştur, yani ABS kanama zamanını adrenaline göre 8.88 sn kısaltmıştır.

Şekil 16. Deney gruplarına göre kanama zamanı ortalaması (standart sapma çubukları ile)



4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

4.2.1. Lamina propriada enflamasyon

4.2.1.1. Üçüncü gün Lamina propriada enflamasyon

Çalışmamızın 3. gününde ilk grup ratlar sakrifiye edildi ve larenjektomi yapılarak patolojik inceleme için spesimen sağlandı. Lamina propriada gözlenen enflamasyon patolojik olarak değerlendirildi. Patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına göre sağ ve sol vokal kord için Tablo 7’de özetlendi.

Tablo 7. Deney gruplarına göre 3. gün Lamina propriada gözlenen enflamasyon skorları*

Gruplar	3. Gün Enflamasyon Skorları							
	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	0	0	2	2	1	1	0	0
Adrenalin	0	0	3	2	0	1	0	0
ABS	0	0	1	1	0	1	1	1

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Üçüncü günde lamina propriada gözlenen enflamasyon skorları incelendiğinde; adrenalin ve sham grubunda "hafif dereceli" ve "orta dereceli" enflamasyon skorunun yüksek olduğu, ABS grubunda ise bir ratta hafif dereceli enflamasyon, diğer bir ratta ise karşı vokal kordda orta dereceli enflamasyon olduğu gözlemlendi. Şiddetli enflamasyonun adrenalin ve Sham grubunda gözlenmediği ancak ABS grubunda bir ratta şiddetli enflamasyon olduğu gözlemlendi. Ortalamalara dikkat ettiğimizde 3.gün lamina propriada gözlenen enflamasyon skorlarının birbirinden anlamlı ölçüde farklı olmadığı izlendi. Adrenalin ve ABS gruplarında birer ratta karşı vokal korda enflamasyon olduğu görüldü, bunun olası nedeninin sağ vokal kord travmatize edilirken karşı vokal kordun da bir miktar travmatize edilmiş olabileceği düşünüldü.

4.2.1.2. Yedinci gün Lamina propriada enflamasyon

Çalışmanın 7. gününde ikinci grup ratlar sakrifiye edildi ve larenjektomi yapılarak patolojik inceleme için spesimen sağlandı. Lamina propriada gözlenen enflamasyon patolojik olarak değerlendirildi. Patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına göre sağ ve sol vokal kord için Tablo 8'de özetlendi.

Tablo 8. Deney gruplarına göre 7. gün lamina propriada gözlenen enflamasyon skorları*

Gruplar	7. Gün Enflamasyon Skorları							
	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	0	0	2	2	0	0	0	0
Adrenalin	1	1	0	1	1	0	0	0
ABS	0	1	1	1	1	1	0	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Yedinci günde lamina propriada gözlenen enflamasyon skorları incelendiğinde; en yüksek skorların sham grubunda görüldüğü ve bunun hafif dereceli enflamasyon düzeyinde olduğu, adrenalin ve ABS gruplarında ise hafif ve orta dereceli enflamasyon düzeyinde kaldığı belirlendi. Her üç grupta da şiddetli enflamasyona rastlanmadı. Ancak dikkat edildiğinde adrenalin grubunda bir adet ratta kontrol olarak belirlenen karşı vokal kordda hafif dereceli enflamasyon, ABS grubunda ise iki adet ratta kontrol olarak belirlenen karşı vokal kordda hafif ve orta dereceli enflamasyon gözlenmiştir.

4.2.1.3. On dördüncü gün Lamina propriada enflamasyon

Çalışmanın sonlandırıldığı 14. gününde üçüncü ve son grup ratlar da sakrifiye edildi ve larenjektomi yapılarak patolojik inceleme için spesmen sağlandı. Lamina propriada gözlenen enflamasyon patolojik olarak değerlendirildi. Patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına göre sağ ve sol vokal kord için Tablo 9’da özetlendi.

Tablo 9. Deney gruplarına göre 14. gün Lamina propriada gözlenen enflamasyon skorları*

14. Gün Enflamasyon Skorları								
Gruplar	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	0	1	0	0	1	0	0	0
Adrenalin	1	1	2	2	0	0	0	0
ABS	0	2	2	0	0	0	0	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Lamina propriada 14. günde gözlenen enflamasyon skorları incelendiğinde; en yüksek skorun “orta enflamasyon” ile sham grubunda görüldüğü, adrenalin ve ABS gruplarında ise en yüksek skorun “hafif enflamasyon” düzeyinde kaldığı belirlendi. Dikkat çeken nokta ise kendi kontrolü olarak bırakılan sol vokal kordda Adrenalin grubunda iki ratta sağ vokal kordla aynı (“1- Hafif enflamasyon”) skorunun görülmesidir. On dördüncü günde Adrenalin ve ABS enflamasyon skorlarının benzer seyrettiği, Sham grubunda ise enflamasyon skorunun daha yüksek düzeyde olduğu görülmüştür.

Elde ettiğimiz verilere göre üçüncü günde Adrenalin ve Sham grubunda enflamasyonun hafif ve orta dereceli olduğu ABS ise bir adet ratta şiddetli enflamasyon olduğu görülmüştür. Yedinci günde elde ettiğimiz sonuçlara göre ise adrenalin ve ABS gruplarında birer adet ratta enflamasyon skoru yüksek bulunmuş ve orta dereceli enflamasyon olduğu sham grubunda ise enflamasyonun hafif dereceli olduğu görülmüştür. Ancak her üç grupta da şiddetli enflamasyon izlenmemiştir. On dördüncü gün elde ettiğimiz verilere göre adrenalin ve ABS gruplarında birer adet ratta hafif dereceli enflamasyon izlenmiş sham grubunda ise bir ratta orta dereceli enflamasyon izlenmiştir aynı şekilde her üç grupta da şiddetli enflamasyona rastlanmamıştır. Erken

dönemde ABS grubunda lamina propriadaki enflamasyon skoru yüksek çıkmış ancak ilerleyen günlerde adrenalinle benzer şekilde seyretmiş ve hafif dereceli enflamasyon izlenmiştir. Adrenalin ve ABS gruplarının on dördüncü günde Sham grubuna göre anlamlı ölçüde hafif derecede enflamasyonla seyrettiği gözlenmiştir.

4.2.2. Epitelde enflamasyon

4.2.2.1. Üçüncü gün epitelde enflamasyon

Üçüncü günde epitelde gözlenen enflamasyon da patolojik olarak değerlendirildi. Epitelin patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına göre sağ ve sol vokal kord için Tablo 10’da özetlendi.

Tablo 10. Deney gruplarına göre 3. günde epitelde gözlenen enflamasyon skorları*

Gruplar	3. Gün Enflamasyon Skorları							
	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	1	2	2	0	0	0	0	1
Adrenalin	2	2	1	1	0	0	0	0
ABS	0	1	1	1	0	1	1	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Üçüncü günde epitelde gözlenen enflamasyon skorları incelendiğinde; cerrahi uygulanan sağ vokal kordda en yüksek skorun (şiddetli enflamasyon) ABS grubunda görüldüğü, sham ve adrenalin gruplarında ise en yüksek skorların “hafif enflamasyon” düzeyinde kaldığı belirlendi.

4.2.2.2. Yedinci gün epitelde enflamasyon

Yedinci günde epitelde gözlenen enflamasyon da patolojik olarak değerlendirildi. Epitelyum patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına göre sağ ve sol vokal kord için Tablo 11’de özetlendi.

Tablo 11. Deney gruplarına göre 7. günde Epitelde gözlenen enflamasyon skorları*

Gruplar	7. Gün Enflamasyon Skorları							
	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	1	2	1	0	0	0	0	0
Adrenalin	2	2	0	0	0	0	0	0
ABS	2	3	0	0	0	0	0	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Yedinci günde epitelde gözlenen enflamasyon skorları incelendiğinde; cerrahi uygulanan sağ vokal kordda Sham grubunda 1 ratta “hafif enflamasyon” görüldü. Adrenalin ve ABS gruplarında ise enflamasyona rastlanmadı. Ratlarda iyileşme mekanizması oldukça hızlı olduğundan 7. günde epitelde enflamasyon nerede ise gözlenmedi.

4.2.2.3. On dördüncü gün epitelde enflamasyon

Epitelde 14. günde gözlenen enflamasyon da patolojik olarak değerlendirildi. Epitelyum patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına göre sağ ve sol vokal kord için Tablo 12’de özetlendi.

Tablo 12. Deney gruplarına göre 14. günde Epitelde gözlenen enflamasyon skorları*

Gruplar	14. Gün Enflamasyon Skorları							
	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	1	1	0	0	0	0	0	0
Adrenalin	3	3	0	0	0	0	0	0
ABS	2	2	0	0	0	0	0	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Epitelde 14. günde gözlenen enflamasyon skorları incelendiğinde; cerrahi uygulanan sağ vokal kordda ve kendi kontrolü olarak bırakılan sol vokal korda; sham, adrenalin ve ABS gruplarının üçünde de enflamasyona rastlanmadı.

4.2.3. Vasküler proliferasyon

4.2.3.1. Üçüncü gün vasküler proliferasyon

Üçüncü günde sağ ve sol vokal kordda gözlenen vasküler proliferasyon patolojik olarak değerlendirildi. Vasküler proliferasyon patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına göre Tablo 13’de özetlendi.

Tablo 13. Deney gruplarına göre 3. gün Vasküler proliferasyon skorları*

Gruplar	3. Gün Vasküler proliferasyon Skorları							
	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	1	2	2	1	0	0	0	0
Adrenalin	2	2	1	1	0	0	0	0
ABS	0	1	0	0	1	0	1	2

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Üçüncü gündeki vasküler proliferasyon skorları incelendiğinde; en yüksek skorun ABS grubunda görüldü. Sham ve adrenalin gruplarında ise en yüksek skorların “hafif enflamasyon” düzeyinde kaldığı belirlendi.

4.2.3.2. Yedinci gün vasküler proliferasyon

Yedinci günde sağ ve sol vokal kordda gözlenen vasküler proliferasyon patolojik olarak değerlendirildi. Vasküler proliferasyon patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına göre Tablo 14’de özetlendi.

Tablo 14. Deney gruplarına göre 7. gün Vasküler proliferasyon skorları*

7. Gün Vasküler proliferasyon Skorları								
Gruplar	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	1	1	0	1	1	0	0	0
Adrenalin	1	2	1	0	0	0	0	0
ABS	1	3	0	0	1	0	0	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Yedinci gündeki vasküler proliferasyon skorları incelendiğinde; sham ve ABS grubunda bire ratta sağ vokal kordda orta dereceli vasküler proliferasyon gözlemlendi. Adrenalin grubunda ise 1 ratta sağ vokal kordda hafif dereceli vasküler proliferasyon gözlemlendi. Her üç grupta da 7. günde şiddetli vasküler proliferasyona rastlanmadı. Buna göre en yüksek skorların ABS ve Sham grubunda olduğu gözlemlendi.

4.2.3.3. On Dördüncü gün vasküler proliferasyon

Sağ ve sol vokal kordda 14. günde gözlenen vasküler proliferasyon patolojik olarak değerlendirildi. Vasküler proliferasyon patolojik inceleme sonuçları deney gruplarına

göre Tablo 15’de verilmiştir. Vasküler proliferasyon 14. gündeki skorları incelendiğinde; ABS grubunda bir ratta sağ vokal kordda hafif dereceli vasküler proliferasyona rastlanmış olup diğer iki grupta herhangi bir düzeyde vasküler proliferasyona rastlanmamıştır. Buna göre en yüksek vasküler proliferasyon skorunun ABS grubunda olduğu ancak bunun da hafif dereceli vasküler proliferasyon olduğu görülmüştür.

Tablo 15. Deney gruplarına göre 14. gün Vasküler proliferasyon skorları*

14. Gün Vasküler proliferasyon Skorları								
Gruplar	0		I		II		III	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	1	1	0	0	0	0	0	0
Adrenalin	3	3	0	0	0	0	0	0
ABS	1	2	1	0	0	0	0	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Elde ettiğimiz verilere göre ABS grubunda vasküler proliferasyonun uzun dönemde diğer gruplara oranla devam ettiği, adrenalin ve sham gruplarının birbiriyle benzer şekilde düşük vasküler proliferasyon skoruna sahip oldukları gözlenmiştir.

4.2.4. Keratinizasyon varlığı

4.2.4.1. Üçüncü gün keratinizasyon

Üçüncü günde sağ ve sol vokal kordda keratinizasyon varlığı incelendi. Keratinizasyon inceleme sonuçları deney gruplarına göre Tablo 16’da özetlendi. Üçüncü gündeki keratinizasyon varlığı incelendiğinde; ABS grubunda sağ ve sol vokal kordlarda keratinizasyon görüldü, sham ve adrenalin gruplarında ise hem sağ hem de sol vokal kordda keratinizasyon varlığına rastlanmadı.

Tablo 16. Deney gruplarına göre 3. gün keratinizasyon varlığı*

Gruplar	3. Gün Keratinizasyon			
	Yok		Var	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	3	3	0	0
Adrenalin	3	3	0	0
ABS	1	2	1	1

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

4.2.4.2. Yedinci gün keratinizasyon

Yedinci günde sağ ve sol vokal kordda keratinizasyon varlığı incelendi. Keratinizasyon inceleme sonuçları deney gruplarına göre Tablo 17’de özetlendi. Yedinci gündeki keratinizasyon varlığı incelendiğinde; sham grubunda sağ vokal kordda keratinizasyon görüldü, adrenalin ve ABS gruplarında ise hem sağ hem de sol vokal kordda keratinizasyon varlığına rastlanmadı.

Tablo 17. Deney gruplarına göre 7. gün keratinizasyon varlığı*

Gruplar	7. Gün Keratinizasyon			
	Yok		Var	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	0	2	2	0
Adrenalin	2	2	0	0
ABS	2	3	0	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

4.2.4.3. On Dördüncü gün keratinizasyon

On dördüncü günde sağ ve sol vokal kordda keratinizasyon varlığı incelendi. Keratinizasyon inceleme sonuçları deney gruplarına göre Tablo 18’de özetlendi. On dördüncü gündeki keratinizasyon varlığı incelendiğinde; sham grubunda sağ vokal

kordda bir ratta keratinizasyon görüldü, adrenalin ve ABS gruplarında ise hem sağ hem de sol vokal kordda keratinizasyon varlığına rastlanmadı.

Tablo 18. Deney gruplarına göre 14. gün keratinizasyon varlığı*

Gruplar	14. Gün Keratinizasyon			
	Yok		Var	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Sham	0	1	1	0
Adrenalin	3	3	0	0
ABS	2	2	0	0

*: İstatistiksel olarak $n < 20$ iken yüzde vermek doğru olmadığından yüzdeler verilmemiştir.

Elde ettiğimiz verilere göre üçüncü gün ABS grubunda bir ratta keratinizasyon izlenirken, yedinci ve on dördüncü günlerde sham grubunda keratinizasyonun olduğu görülmüştür. Adrenalin grubunda her üç zamanda da keratinizasyon izlenmemiştir. Elde edilen tüm bulgular dikkate alındığında kanama zamanı açısından adrenalin ve sham grubuna göre anlamlı ölçüde efektif olan ABS'un yara iyileşmesi üzerine etkisinin adrenaline göre anlamlı ölçüde farklılık göstermediği izlenmiştir. Yara iyileşmesini değerlendirirken göz önünde bulundurduğumuz lamina propriada enflamasyon, epitelde enflamasyon, vasküler proliferasyon, keratinizasyon gibi parametrelerin her birinde farklı sonuçlar çıkmıştır. Enflamasyon parametrelerinde ABS üçüncü günde şiddetli enflamasyon skoru gösterirken, ilerleyen günlerde yani yedinci ve on dördüncü günlerde enflamasyon skoru adrenalinle benzer seyretmiş ve hafif dereceli enflamasyon olarak seyretmiştir. Vasküler proliferasyon skoruna bakıldığında on dördüncü güne değin vasküler proliferasyonun devam ettiği görülmüştür. Keratinizasyon değerlendirildiğinde sadece bir ratta üçüncü günde keratinizasyonun görülmesi ilerleyen günlerde görülmemesi ABS'un yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemediğini göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Ses, ekspiryum sırasında kapanmış olan glottise karşı oluşan subglottik basıncın etkisi ile oluşur. Hava addükte olmuş vokal foldlardan geçerken Bernoulli etkisi ile vokal foldlar titreşir ve meydana gelen dalgalar sesi oluşturur. Mukozanın titreşmesine ya da vokal foldların tam kapanmasına engel olan patolojiler disfoniye neden olurlar (40). Vokal kordlar epitelyum, lamina propria ve kas tabakalarından oluşur. Ses oluşumundan asıl sorumlu olan tabaka lamina propriadır. Fono travma, vokal kord nodülleri, vokal kord polipleri, Reinke ödemi, larengeal kistler, papillomlar ve vokal proses granülomları vokal kordların sık görülen benign lezyonlarıdır, bunun dışında granüler hücreli neoplazmlar, kondromlar, nörojenik tümörler, amiloidoz ve sarkoidoz ise vokal kordların nadir görülen lezyonlarıdır. Larenkste oluşan lezyonlar meydana geldikten sonra ses iki şekilde etkilenir: Birincisi oluşan lezyonlar vokal kordun tam kapanmasını engelleyerek Bernoulli etkisini bozarlar. İkincisi ise lezyonlar mukozal dalgaların yayılımı engeller (41). Vokal kord cerrahileri, travmalar, radyasyon, sesin kötüye kullanımı gibi faktörler vokal kord yapısını bozmakta, lamina propria bütünlüğü kaybolmakta, skar formasyonu sonucu nodül, polip, granülasyon dokusu gibi yapılar oluşmakta böylece ses kalitesi olumsuz yönde etkilenmektedir. Stripping tekniklerinde epitel ve altındaki lamina proprianın hasarlanması kaçınılmazdır. Vokal kordlar hassas yapılar olduğu için bu bölgeye uygulanan cerrahiler sırasında kanama görüş alanını daraltmakta, operasyon süresini uzatmakta, cerrahi sonrası yara iyileşmesi sürecini geciktirmekte ve postoperatif komplikasyon riskinde artışa neden olmaktadır.

Ses kalitesini iyileştirmek, uygun vokal kord anatomik ve yapısal bütünlüğünü sağlamak amacıyla çeşitli cerrahi teknikler geliştirilmiştir. Burada amaç vokal kord

lezyonlarını çıkarırken normal vokal kord yapısına zarar vermemek, vokal kordun mukozal dalga hareketine engel olmamak böylece ses kalitesini olumsuz yönde etkilememektir. Bu cerrahi tekniklerin genel adı fonocerrahidir. Çeşitli fonocerrahi teknikleri mevcuttur. Özellikle vokal kordlar ve larenkse ait lezyonları eksize etmek için uygulanan cerrahlere endolarengeal mikrocerrahi adı verilir. Direk veya indirek larengoskopi eşliğinde yapılır. Endolarengeal mikrocerrahide sıcak ve soğuk aletler kullanılır. Vokal kord cerrahileri hassas, mikrocerrahiler olduğu için cerrahın görüş alanını daraltan bir kanama olması durumunda komplikasyon riskinde artış olabilmekte, sağlam mukoza ve submukozaya yapılan travma sonucu vokal kordun mukozal dalga hareketi bozulmakta, vibrasyon amplitüdünde düşme ve böylece ses kalitesinde kötüleşme olabilmektedir. Dar görüş alanına sahip olan alanlarda kanama kontrolü özellikle önem arz etmektedir.

Normal hemostaz, yaralanmayı takiben dokuda pıhtı oluşumu ve sonrasında doku tamirini içeren süreçleri içerir. İyi bir hemostatik ajan kolay uygulanabilir, az yan etkiye sahip, yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkisi olmayan madde olmalıdır. Herhangi bir cerrahi girişimin başarısı oluşturduğu yaranın iyileşme durumuna bağlıdır. Ne kadar hızlı ve kaliteli bir yara iyileşmesi gerçekleşecek olursa o denli başarılı bir tedavi sağlanmış demektir. Günümüzde Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahilerinde hemostatik amaçlı birçok madde ve yöntem (bipolar koter, surgicel, spongostan, adrenalin, direk bası, fibrin doku yapıştırıcılar) kullanılmaktadır. Bölgenin solunum yollarının girişinde olması daha dikkatli olmayı ve işlemin kısa sürede gerçekleştirilmesi gerekliliğini doğurur. Hemostaz süresinin kısa olması peroperatif ve postoperatif komplikasyon riskini en aza indirir, cerrahi süresini kısaltır, cerrahın operasyon sırasında dikkatini kolaylaştırır. Özellikle mikrocerrahi alanlarında hemostaz

süresi cerrah için önem kazanmakta ve cerrahın kanama lokalizasyonunu görmesi açısından uygun hemostaz önemli olmaktadır. İyi bir hemostatik ajan kolay uygulanabilmeli, doku tarafından rezorbe edilmeli, enfeksiyona neden olmamalı, doku üstünde ekstra bir tabaka oluşturmamalıdır. Mikrolarengocerrahi sırasında küçük yüzeysel kanamaların durdurulması amacıyla rutinde adrenalin emdirilmiş pamuklar kullanılmaktadır. Daha büyük kanamaların durdurulması için lazer kullanılabilir. Lazerin doku hasarı yapıcı yan etkisinden dolayı kullanımı kısıtlıdır. Ancak literatürde adrenalinin vokal kord mukozasında yara iyileşmesi sürecini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Biz bu çalışmamızda birçok kanama sahasında hızlı ve efektif kanama durdurucu etkinliği kanıtlanmış olan ABSin akut vokal kord hasarı sırasında kanama durdurucu etkisini araştırmayı amaçladık. Bunu yaparken ABS ile adrenalin ve mekanik bası yöntemlerini kıyaslayarak kanama durdurulması üzerinde en etkin yöntemi bulmayı ve yara iyileşmesi sürecine olan etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla randomize, prospektif hayvan deneyi yapmayı uygun gördük.

Yaralanma, bir travma sonucu meydana gelebileceği gibi, tedavi amacıyla yapılan cerrahi bir işlem sonrasında da gerçekleşebilir. Herhangi bir cerrahi işlemin başarısı, oluşturduğu yaranın iyileşme durumuna bağlıdır. Ne kadar hızlı ve kaliteli bir yara iyileşmesi gerçekleşecek olursa, o denli başarılı bir tedavi sağlanmış demektir. Yara iyileşmesini iyi yönde hızlandırmak amacıyla kullanılan tedavi yöntemlerindeki ana hedef; yara iyileşmesinde rol alan faktörleri (inflatuar hücreler, trombositler, mediatörler, hücre dışı matriks v.b) etkileyerek , bu fazlara ait süreleri kısaltmak ve ideal bir skar oluşumunu sağlamaktır. Bunun için pek çok topikal ve sistemik ajan kullanılmış ve yara iyileşmesindeki gecikme ve düzensizliğin önüne geçilmeye çalışılmıştır. ABS (ABS) (Ankaferd Kanama Durdurucu-AKD) folklorik olarak

geleneksel Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılmış bitkisel bir ekstrakttır. ABS; *tymus vulgaris*, *glychyrizza glabra*, *vitis vinifera*, *alppinia officinarum* ve *urtica diodica* bitkilerinin belli oranlarda karışımından oluşmaktadır. Bu bitkilerin tümü ayrı ayrı vasküler dinamikler, endotelium, kan hücreleri, damar oluşumu (angiogenezis), hücrel üreme ve mediatörler üzerinde etkilidir. ABS kolay uygulanabilen, antimikrobik özelliği olan, kısa sürede vücut tarafından absorbe edilen, iyi bir hemostatik ajanın sahip olması gereken özellikleri barındıran bir karışımdır. ABS'un hemostatik etkisi birçok çalışma ile kanıtlanmış olup bunun dışında antimikrobik, antifungal, yara iyileşmesini hızlandırıcı etki ve antiseptik özelliklerinin de olduğu bildirilmiştir (42).

Hemostaz genel itibariyle vasküler yaralanmayı takiben endotel hücreleri ve trombositlerden salınan aktivatörler aracılığıyla yaralanma yerinde pıhtı oluşumu sürecidir. Birçok hemostatik ajan bu yolu takip ederek hemostatik etki göstermektedir. ABS ise hemostatik yol üzerindeki pıhtılaşma faktörlerinden bağımsız olarak kan içindeki proteinleri oluşturur ve tıkaç etkisi gösteren protein ağı oluşturur. Göker ve arkadaşlarının (27) yaptıkları invitro bir çalışmada; normal plazma ya da seruma ABS eklenmesi ile tıkaç etkisi gösteren protein ağı oluşumu sırasında plazma fibrinojen aktivitesi ve fibrinojen antijen seviyesinin belirgin oranda düştüğünü, pıhtılaşma faktörleri (II, V, VII, VIII, IX, X, XI ve XIII) seviyesinin normal kaldığını göstermişlerdir. Ayrıca protein ağı oluşumu sırasında plazma protein, albümin ve globulin oranının belirgin oranda düştüğünü göstermişlerdir. Bu durum bize ABS'in fibrinojen-eritrosit aglütinasyonunu etkileyerek eritrosit agregasyonunu stimüle eden protein ağı oluşumunu aktive ettiğini düşündürmektedir. Bundan dolayı ABS hem normal hemostazlı hastalarda hem de primer ve/veya sekonder hemostaz yetersizliği

olan hastalarda etkili olabilir. Kanamalı bir alanda ABS'a maruz kalınması doku oksijenizasyonu ile birlikte herhangi bir bireysel pıhtılaşma faktörünü devreye sokmadan fizyolojik süreci sağlamaktadır. Literatürde ABS'un hemostatik etkinliğini araştıran birçok çalışma mevcuttur. Hızlı ve etkin hemostatik etkisi birçok klinik çalışma ile kanıtlanmış olan ABS'un vokal kord mukozası üzerinde etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu da bize vokal kord cerrahileri sırasında ABS'un kanama durdurulması süresi ve bunun cerrahi süresi üzerindeki etkisi ayrıca postoperatif dönemde oluşan skar dokusunun büyüklüğüne göre yara iyileşmesi üzerine etkisinin araştırılması fikrini doğurmuştur. Biz çalışmamızda ratlarda gerçekleştirilen akut vokal kord hasarı sonrasında kanama durdurulması için ABS ile Adrenalin ve mekanik bası yöntemini kıyaslamayı amaçladık. Literatürde ABS'ın hemostatik etkisini araştıran birçok çalışma mevcuttur. Bizim bilimiz dahilinde ABS'ın vokal kord mukozal kanamalarında hemostatik etkinliğini araştıran bir çalışma yoktur. Çalışmamız randomize, prospektif hayvan deneyidir. Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz verilere göre ortalama kanama zamanı ABS grubunda 3.13 sn, Adrenalin grubunda 12 sn, Sham grubunda 21.71 sn olarak ölçüldü. Buna göre en kısa kanama süresi ABS (3.13 sn) grubunda en uzun kanama süresi ise Sham (21.71 sn) grubunda ölçülmüştür. Ayrıca adrenalinle (12 sn) kıyaslandığında ABS'ın anlamlı ölçüde kanama süresini kısalttığı görülmüştür. Diğer yapılan birçok çalışmada da ABS'ın kanama süresini anlamlı ölçüde kısalttığı görülmüştür. Literatürde bunu destekleyen birçok çalışma mevcuttur. Bilgili ve arkadaşları (43) tarafından yapılan ve ABS ile ilgili ilk invivo çalışma olma niteliğini taşıyan çalışmada ortopedik problemi olan 15 (10 köpek, 5 kedi) hayvana uygun boyutta cilt insizyonu yapılmış ve kanama durdurucu olarak ABS emdirilmiş spanç kullanılmıştır. Sonuçlara bakıldığında kanamanın durdurulma

süresi 1-3 dk arasında değişmiş, operasyon bölgesinde ve insizyon yerinde herhangi bir sorun (allerjik reaksiyon, renk değişikliği, kimyasal reaksiyon) gözlenmemiştir. Sonuç olarak ABS'un kedi ve köpek insizyonel yaralarında kanamanın kontrolü ve durdurulmasında güvenle kullanılabilcek bir madde olduğu kanısına varılmıştır.

Bir hemostatik ajanın kısa sürede kanamayı durdurması çok önemlidir. Çünkü özellikle arteriel kanamalarda ya da hayatı tehdit eden kanamalarda kan kaybı arttıkça pıhtılaşma faktörleri azalmakta, hemodilüsyon olmakta hemostaz cerrah için çok daha büyük bir problem haline gelmektedir. Hemostaz süresinin uzamasıyla cerrahinin süresi de uzamaktadır. Cerrahide kullanılan aktif hemostatik ajanlar hemostatik etkisini 1-5 dk arasında göstermektedir. ABS ise hemostatik etkisini 1 sn'den daha kısa sürede göstermektedir. Dr.Göker ve arkadaşları (27) yaptıkları bir çalışmada normal plazma ve seruma ABS eklenmesi ile protein ağıının 1 sn'den daha kısa sürede oluştuğunu gözlemişlerdir. Cerrahi sırasında uygulanan yöntemlerden mekanik yöntemlerin hemostazı sağlamakta yetersiz kaldığı bilinmektedir. Mekanik yöntemlerin yetersiz kaldığı yaygın kanama, koagülopati ve ilaç kullanımı durumlarında ABS'un belirgin şekilde etkin olduğu görülmüştür.

Fatih Üniversitesi İç hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalında Çipil ve arkadaşlarının ABS'un invivo etkinliğini araştırmak amacıyla yaptıkları deneyde Varfarin verilen ve verilmeyen farelerde dizüstüne yapılan insizyonda ABS'un etkinliği plaseboya karşı araştırılmıştır. Varfarin verilmeyen grupta ABS uygulanan farelerde kanama süresi 2,79 dk iken kontrol grubunda 4,21 dk olarak hesaplanmıştır. Öte yandan Varfarin verilen grupta ABS uygulanan farelerde kanama süresi 6,94 dk iken kontrol grubunda 12,04 dk olarak hesaplanmıştır. Sonuçlara bakıldığında ABS'un heriki grupta da istatistiksel olarak anlamlı derecede kanama süresini kısalttığı görülmüştür (44). Yine

Fatih Üniversitesinde Çipil ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer çalışmada kuyruk kesisi yapılan ratlarda ABS'un etkinliği aspirin, heparin ve kontrol grubu ile karşılaştırılarak araştırılmıştır. Bu çalışmada 42 farenin 14'üne aspirin, 14'üne heparin verilerek kalan 14'üne ise ilaç verilmeksizin kuyrukları distalde 4. cm'den kesilmiş, herbir grubun yarısına ABS, yarısına plasebo verilerek kanama süreleri ve miktarları kıyaslanmıştır. Aspirin verilen grupta ABS ile kanama süresi kontrol grubuna kıyasla 22,97 dk, heparin verilen grupta ise kontrol grubuna kıyasla kanama süresi 19,43 dk kısalmıştır. Aspirin ve/veya heparin verilemeyen grupta ABS ile kanama zamanı kontrol grubuna kıyasla 23,81 dk kısalmıştır. Kanama miktarı açısından kıyaslandığında aspirin verilen grupta kontrol grubuna kıyasla kanama miktarı ABS ile 1,01 ml, heparin verilen grupta kontrol grubuna kıyasla kanama miktarı ABS ile 1,07 ml, aspirin ve/veya heparin verilemeyen grupta ise ABS ile kanama miktarı kontrol grubuna kıyasla 0,98 ml azalmıştır. Bu da bize ABS'un aspirin veya heparin alımı durumunda dahi kanama zamanı ve miktarını anlamlı ölçüde azalttığını göstermektedir (45).

Vücudun diğer yerlerinde ABS'la ilgili çalışmalar yapılmış, travmatik kesiler, diş operasyonları, spontan veya cerrahi sonrası kanamaları, epistaksis, tonsillektomi cerrahisi, endoskopik sinüs cerrahisi, kardiak cerrahi, alt konka rezeksiyonlarında kullanılan hemostatik, yara iyileştirme, anti-enfektif ve anti-inflamatuvar etkileri mevcuttur (27). ABS'in vokal kord travmalarında kanama durdurucu etkisini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Al ve arkadaşlarının (46) insanlarda cilt cilt kesilerinde ABS ile normal steril spancın kanama kontrolü üzerine etkisini inceledikleri çalışmada steril spançla kanama süresinin ABS'a göre 4 kat daha uzun olduğu ve kanama sıklığının ABS'da önemli oranda daha düşük olduğu görülmüştür. ABS kullanılan ilk klinik deneyim Öner ve arkadaşları (47) tarafından sünnet sonrası

kanama kontrolü sağlanamayan 16 yaşındaki hemofili A hastası erkek çocuk üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hasta sünnet sonrası ikinci günde kanama şikayeti ile başvurmuş, yapılan tüm müdahalelere rağmen (F-8, F-7, Siklofosfamid, Prednizolon verilmesi) kanama durdurulamamış ancak ABS'un topikal tatbiki ile kanama birkaç dakika içinde durdurulmuş ve hasta tekrar kanama olmaksızın taburcu edilmiştir. Bunun gibi yapılan birçok çalışmada kanama diatezi, koagülopati, çeşitli kronik hastalıklara eşlik eden kanama diatezleri, edinsel kanama diatezi, DIC olan hastalarda yüzeysel kanamalarda, ilaç kullanımına bağlı koagülopatilerde ABS'un yüzeysel kanamalarda hızlı kanama durdurucu etkisi kanıtlanmıştır. Diş hekimliğinde yapılan ABS uygulamaları sonucu ABS'un lokal kanamayı durdurmaya yönelik etkili bir ajan olduğu sonucuna varılmıştır.

Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi pratiğinde de ABS birkaç çalışmada kullanılmıştır. Kurtaran H ve arkadaşlarının yaptıkları tavşanlarda deneysel epistaksis modelinde ABS ile izotonik salin solüsyonu kanama zamanı açısından kıyaslanmıştır. 6 adet Yeni Zelanda tavşanı üzerinde yaptıkları araştırmada hayvanların nazal septum mukozasına punch yardımıyla iki taraflı tam kat doku travması oluşturulmuştur. Oluşan kanamayı durdurmak için nazal septum mukozasının bir tarafına ABS, diğer tarafına izotonik salin uygulanmıştır. Kanama süreleri hesaplandığında ABS uygulanan tarafta 98 sn, izotonik salin uygulanan tarafta ise 266 sn olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak ABS'un kanama süresini anlamlı ölçüde kısalttığı görülmüştür. Hayvanlar akut ilaç yan etkisi açısından 30 dk gözlemlendiğinde heriki grupta da yan etki oluşmadığı gözlenmiştir (48). Karabulut ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer çalışmada ABS'un nazal cerrahi sırasında ve sonrasında kanama durdurucu etkisi araştırılmıştır. Bilateral parsiyel alt konka rezeksiyonu operasyonu yapılan 20 hastanın nazal kavitelerine rastgele ABS emdirilmiş merocell tampon ve normal(ilaçsız) merocell tampon konularak kanama

durumları takip edilmiştir. ABS emdirilmiş merocell tampon konulan tarafta peroperatif ve postoperatif kanama miktarının daha az olduğu ve tampon çıkarıldıktan sonraki kanama miktarının ABS emdirilen tamponda istatistiksel olarak daha az olduğu görülmüştür. Ayrıca yara iyileşmesinin ABS emdirilen tampon tarafında daha iyi olduğu gözlenmiştir (49).

Meriç A ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada anterior epistaksiste ABS ile fenilefrin kanama durdurulması açısından kıyaslanmıştır. 49 akut anterior epistaksisli hastada kanama durdurulması için ABS (24 hasta) ve fenilefrin (25 hasta) emdirilmiş tamponlar kullanılmış ve sonuçlar tampon uygulama sayısı, kanama miktarı, hemostaz sırasındaki hasta konforu ve komplikasyonlar baz alınarak heriki grup için değerlendirilmiştir. Ayrıca hastanın 1 hafta içinde tekrar kanama şikayeti ile başvurması da bilgilere eklenmiştir. Sonuçta akut anterior epistaksiste ABS'un fenilefrine göre daha efektif hemostatik olduğu, hastaların kanama miktarının ABS grubunda daha az miktarda olduğu, 1 hafta içinde tekrar epistaksisle başvuru oranının ABS grubunda daha az olduğu ve komplikasyon oranının ABS grubunda anlamlı oranda daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda akut anterior epistaksis kontrolünde ABS'un efektif, güvenilir, hızlı ve etkin, kolay uygulanabilir ve fenilefrine alternatif bir yöntem olduğu kanaatine varılmıştır (50). Göker ve arkadaşları allojenik kemik iliği transplantasyonu yaptıkları aplastik anemili bir hastada gelişen epistaksisi konvansiyonel yöntemlerle kontrol altına alamadıkları ancak 2 ml ABS uygulaması sonrasında 1 dakikadan kısa sürede kanamanın durduğunu bildirmişlerdir. Bu transplant hastasındaki deneyim ABS uygulamasının antihemorajik, hemostatik etkinliğinin epistaksis kontrolünde emniyetle kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu

uygulama ABS'un alloKIT olan hastalarda farklı kanama alanlarında da ABS'un kullanımının araştırılması gerektiğini gündeme getirmiştir (51).

Ankara Numune Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları bölümünde takip edilen Kırım Kongo Kanamalı Ateşi olan hastalarda burun, dişeti, hemoroid, IV enjeksiyon alanlarındaki cilt kanamalarında ABS'un kanama durdurucu etkileri ve yan etkileri izlenmiştir. Hastalara uygulanan ABS sonrası kanamaların hızla durduğu ve hastaların hiçbirinde yan etki oluşmadığı gözlenmiştir. Bu uygulama sonrası daha geniş sayıda deneğin kullanılabileceği çalışmaların yapılması gerekliliği gündeme gelmiştir.

ABS'ın antihemorajik etkinliğinin yanında antimikrobiyal etkisi de mevcuttur. Bu etkisinin incelendiği birçok çalışma mevcuttur. Ankaferdin in vitro etkinliği Akkoç ve arkadaşları (52) tarafından araştırılmıştır. Bu da bize kanama kontrolünün yanında maddenin antienfektif özelliğinin de bulunmasının ilacın güvenirliliği açısından üstün olduğunu göstermektedir. Ayrıca ABS'un hastane enfeksiyon etkenlerine (MRSA, Enterococcus, Klebsiella, Psödomonas, Acinetobacter) karşı antibakteriel etkinliği araştırılmış ve kontrol antibiyotiği olarak da Vankomisin ve İmipenem kullanılmıştır. Deney Agar Difüzyon yöntemiyle ekime dayalı yapılmış ve inkübasyon sonrası inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Sonuçlara bakıldığında ABS'un antibakteriel aktivitesinin olduğu görülmüştür (52, 53). Bu çok hızlı hemostaz sağlayan ABS'un ek olarak sahip olduğu antimikrobik etkisinin postoperatif enfeksiyon riskini de azaltacağı ya da en azından ek bir risk getirmeyeceği gündeme gelmiştir. Ancak yapılan bu çalışmalar invitro olduğu için invivo ortamda ABS'un antibakteriel etkinliğini araştırmaya yönelik standardize çalışmaların yapılması gerekmektedir.

ABS'un hemostatik etkinliği yanında yara iyileşmesi üzerine etkisini inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Demircan ve arkadaşları (54) ABS'un erken dönem yeni

kemik oluşumu üzerine etkisini incelemek amacıyla rat tibiaları üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucuna göre ABS uygulanan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük iltihap ve nekroz oranları izlenmiş ayrıca yeni kemik oluşumu ABS grubunda anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. ABS uygulaması erken dönem kemik dokusu iyileşmesini olumlu yönde etkilemektedir.

Biz de çalışmamızda akut vokal kord hasarı sonrasında hemostatik amaçla uygulanan yöntemlerin (ABS, Adrenalin, Mekanik bası) yara iyileşmesi sürecine etkilerini araştırmayı amaçladık. Postoperatif 3, 7, 14.günlerde lamina propriada enflamasyon, epitelde enflamasyon, vasküler proliferasyon ve keratinizasyon parametreleri her bir rat için değerlendirildi. Elde ettiğimiz verilere göre 3.gün enflamasyon skorunun ABS'da daha yüksek olduğu ancak ilerleyen günlerde enflamasyon skorlarının her üç grupta da benzer seyrettiği izlenmiştir. Vasküler proliferasyonun ABS grubunda diğer gurplara oranla daha uzun seyrettiği gözlenmiştir. Keratinizasyonun ABS grubunda sadece bir ratta 3.gün gözlendiği sonraki günlerde ise keratinizasyonun gözlenmediği belirlenmiştir. Her bir parametrenin yara iyileşmesi sürecinde ayrı ayrı etkisi olduğunu düşünürsek sonuçlar bize ABS grubunun yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemediği, epitelizasyonun 14.günde tamamlandığı görülmüştür. Tateya ve arkadaşlarının (14) ratlarda akut vokal kord travmasının histolojik karakteristiğini inceledikleri çalışmada reepitelizasyonun 3. günde görüldüğü, 14.günde tamamlandığı, granülasyon dokusunun ise 3.günde şekillendiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde epitelizasyon 14.günde tamamlanmıştır.

Yara iyileşmesi sürecinde adrenalinle benzer etkilerinin olması bunun yanında ABS'un adrenaline oranla daha hızlı ve efektif hemostatik etkisi ABS'un adrenaline alternatif bir hemostat olabileceği sonucuna varılmıştır. Erken dönemde görülen

enflamasyon skorunun yüksek olması ABS dozunun düşük olması ya da seyreltilmesiyle çözülebilir diye düşünüyoruz ancak bunu değerlendiren ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

ABS, etki mekanizmasının ortaya çıkmasını takiben folklorik kullanımı yanısıra Herbal PDR literatürü ve toksisite, sterilite, stabilite, irriabilite testlerinden başarıyla geçmesi ile T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından eksternal kanamaların kontrolünde kullanılmak üzere ara ürün olarak ruhsatlandırılması uygun görülmüştür. Günümüzde hala dental girişimlerde kanama kontrolü amacıyla kullanılmaktadır. Acil servis ve 112 ilkyardım ambulanslarında da rutin kullanıma girmiştir. Pratikte kullanımının yanında ilaçla ilgili birçok akademik çalışmalar yapılmış ve hala yapılmaya devam edilmektedir.

ABS'in yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olduğunu bildiren çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Erçetin ve ark, diş tedavisi sırasında kanama kontrolü sağlamak amacıyla uygulanan ABS'in, kanama zamanının ortalama 1,8 sn olduğu hastalarda en sık gözlenen yan etkinin ağızda metalik tat hissi olduğunu bildirmişler ayrıca ABS'un bu etkisinin yanında, enfeksiyonu engellediğini ve yara iyileşmesini de olumlu yönde etkilediğini rapor etmişlerdir (54). Arslan ve ark. yaşlı bir hastada, travma sonrası oluşmuş yarada, Ankaferd uygulanması ile hızlı bir iyileşme süreci rapor etmişlerdir. Ekstrenin uygulanmasından 24 saat sonra yara ağzının kapanmaya başladığı bu olgu ile, Ankaferd'in yaşlılarda yara iyileşmesinde yardımcı bir tedavi seçeneği olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür (42).

M.Kurt ve arkadaşlarının yayınladığı bir olgu sunumunda Evre IIB distal Kolanjiyokarsinoma tanısı nedeniyle Whipple operasyonu geçiren bir hastada postoperatif dönemde endoskopi sırasında gastrojejunal anastomoz hattından abondan

kanama görülmüş kanayan damara 3 adet hemoklips konularak hemostaz sağlanmaya çalışılmış. Fakat kanamanın devam etmesi üzerine kanama bölgesine 2 ml epinefrin uygulanmış. Aynı şekilde kanama devamı üzerine kanama bölgesine 12 ml ABS uygulanmış ve 2 sn içinde hemostaz sağlandığı görülmüştür. Endoskopik ve hematolojik takiplerde herhangi bir kanama bulgusuna rastlanmamıştır. Bu da bize ABS'un aktif arteriel kanamalarda da etkin hemostaz sağlayabildiğini göstermektedir (55).

Hemostaz için kullanılan bir başka madde de okside sellüloz (surgicell)dur. Bu madde pasif topikal hemostatik ajandır. Tomizawa ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada bu maddenin emiliminin yeterince gerçekleşmediği ve rezidü parçalar halinde kalarak tekrar organize olduğu rapor edilmiştir (56). Bizim yaptığımız çalışmada rat vokal kordlarının herhangi birinde fibrozis ya da başka bir organize doku saptanmadı.

İnsan hayatında sesin iletişim açısından önemi çok büyüktür. Fonasyon vokal kordların addüksiyon pozisyonunda normal vibrasyonuna bağlı olarak gerçekleşir. Vibratuar özellik gösteren bu yumuşak medial kenarda ya da lamina propria içinde herhangi bir anormallik gelişmesi vibratuar paterni değiştirerek disfoniye neden olur. Polip ve kist gibi benign neoplastik lezyonlar vokal kordların kapanışını etkileyerek ve/veya mukozal dalga hareketini etkileyerek disfoniye neden olurlar. Ancak bu lezyonların cerrahi eksizyonu da disfoniye tamamen ortadan kaldırmaz. Çünkü cerrahi sırasında epitel ve lamina propria hasar gelişmektedir.

Woo, benign vokal kord lezyonları nedeniyle cerrahi geçiren 62 hastadaki fonksiyonel disfoninin en önemli nedeninin vokal kordda gelişen ileri derecedeki skar olduğunu göstermiştir (57). Fonocerrahide mikroflep cerrahisi, lazer uygulamaları gibi gelişmeler olsa da normal yara iyileşmesinin kaçınılmaz sonucu olan skar dokusu hala

karşımızda sorun olarak durmaktadır. Bu konuda yapılan klinik çalışmalar hayvan deneylerine göre oldukça azdır ve daha çok oluşan matür skar dokusunun içine ilaç enjeksiyonu şeklinde yapılarak skar dokusunun oluşumunu önleyici çalışmalar kısıtlıdır. Ayrıca kullanılan biyomateryallerin insanda kullanımı kısıtlıdır. Ancak klinik çalışmalar, doku içinde oluşan histopatolojik değişikliğin fonksiyona nasıl yansıdığını göstermesi bakımından değerlidir. Biz bu çalışmamızda diğer çalışmaların ışığında yan etki profili çok düşük olan ve hızlı, etkin hemostatik etkisi kanıtlanmış ABS'un vokal kord mukozası üzerine etkisini incelemeyi amaçladık. Ancak çalışmamızı sınırlayan faktörler de sözkonusudur. Bunlar; rat sayısının az olması, yara iyileşmesinde etkili diğer maddelerle kıyaslanmamasıdır.

Bjorck ve arkadaşları 4 hasta üzerinde yaptıkları prospektif çalışmada skatrize vokal kord dokusu içine dokuyu yumuşatmak amacıyla kollajen (Zplasty) enjeksiyonu yapmışlardır. Enjeksiyondan 6-17 ay sonra hastalar değerlendirilmiş ve vibrasyon amplitüdünde ve glottal kapanmada iyileşme olduğu görülmüş, ancak sesin akustik incelenmesinde aynı etki görülmemiştir (58).

Neuenschwander ve arkadaşlarının yaptıkları retrospektif çalışmada skar dokusu nedeniyle disfoni şikayeti olan sekiz hastaya uygulanan otolog yağ enjeksiyonu sonuçlarını bildirmişlerdir (59). Vokal kord serbet kenarına yağ enjeksiyonuyla glottik kapanma, mukozal dalga ve kordun katılığında olumlu değişimler gözlenirken skar dokusunun büyüklüğünde değişim olmamıştır. Hertegard ve arkadaşları skar dokusu nedeniyle glottik kapanma sorunu yaşayan hastalarda hylan b jel ve sığır kollajeni enjeksiyonunu karşılaştıran bir çalışma yapmışlardır ve heriki grupta da glottik kapanmanın düzeldiğini görmüşler ancak 1 yılın sonunda vibratuar özellik, amplitü ve maksimum fonasyon zamanı hylan b jel grubunda anlamlı olarak daha yüksek

bulunmuştur (60). Ayrıca hylan b jel vokal kord dokusu içine enjekte edildikten sonra kollajene oranla çok daha az rezorbe olmuştur.

SONUÇ

Bu çalışma, literatürde vokal kord mukozal kanamalarında etkinliği araştırılmamış olan ABS ile ilgili ilk vokal kord çalışması niteliğini taşımaktadır. Daha önce yapılmış çalışmalarla hızlı ve efektif hemostatik etkisi kanıtlanmış olan ABS'un vokal kord mukozal kanamalarında da kanama süresini kısalttığı görülmüştür. Yara iyileşmesinin erken döneminde enflamasyon skorunun adrenaline göre yüksek olması ancak ilerleyen günlerde benzer enflamasyon skorları göstermesi, yara iyileşmesi sürecini olumsuz yönde etkilememesi adrenaline alternatif bir hemostat olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmanın daha ileriki çalışmalara öncülük edeceğini düşünüyoruz.

REFERANSLAR

1. Williams and Warwick.Gray's Anatomy 36th British Edition W.B.Saunders Company Philadelphia Churchill Livingstone.1980.
2. Atilla Yavuzer, Larenksin Benign Lezyonları, in: Çelik O. ed. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi, 1. Baskı, İstanbul, Turgut yayıncılık 2002: 651-659.
3. Sefa Kaya. Larenks Hastalıkları, 1. baskı Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi 2002.
4. Woo P, Casper J, Cotton R, Brewer D. Diagnosis and treatment of persistent dysphonia after laryngeal surgery: a retrospective analysis of 62 patients. Laryngoscope 1994;104:1084-1091.
5. Benninger MS, Alessi D, Archer S, Bastian R et all. Vocal fold scarring: current concepts and management. Otolaryngol Head Neck Surg 1996;115(5):474-482.
6. Cemal Cingi. Kulak Burun Boğazda Semptomlar. 2009 basım. Sf: 303-304.
7. Onur Çelik. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. 2.baskı. Cilt 2. Sf: 757-763.
8. Paparella M, et al: Otolaryngology, vol 3.3 ed. WB. Saunders Comp, Philadelphia 1991,2215.
9. Smith G. Structure of the normal rat larynx. Laboratory Animals 1977; 11:223-8.
10. Lewis DJ, Prentice DE. The ultrastructure of rat laryngeal epithelia. J Anat 1980; 130:617-32.
11. Thibeault SL, Gray SD, Bless DM, Chan RW, Ford CN. Histologic and rheologic characterization of vocal fold scarring. J Voice 2002;16(1):96-104.

12. Stephens P, Thomas DW. The cellular proliferative phase of the wound repair process. *J Wound Care* 2002;11(7):253-261.(In Medline).
13. Singer AJ, Clarck RA Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999; 341:738-746.
14. Tateya T, Tateya I, Sohn JH, Bless DM . Histological study of acute vocal fold injury in a rat model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115(4):285-292.
15. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji* 11. Baskı, Nobel Yayıncılık, 2007, 457-467.
16. Handin RI, Çev: Beyan C, Nevruz O, Kanama Ve Tromboz, Kısım 10, Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL(eds), *Harrison İç Hastalıkları Prensipleri, Nobel Kitabevleri*, 2004, İstanbul 354-360.
17. Parise LV, Smyth SS, Coller BS, Platelet morphology, biochemistry and function Beutler E, Lichtman M, Coller B, Kipps T, Seligsohn U(eds.), *Williams Hematology*. Newyork, Medical publishing division, 2001, 1357-1409.
18. Colman RW, Hırsh J, Moider VJ ve ark. Hemostasis And Trombosis, Basic Principles And Clinical Practice. *Lippincott Williams*, 2004;4:381-400.
19. Ferhanoğlu B. Hemostaz Mekanizması. *Kanama ve Tromboza Eğilim*, 2003;36:9-16.
20. Oz MC, Rondinone JF, Shargill NS. FloSeal Matrix: new generation topical hemostatic sealant. *J Card Surg*.2003;18(6):486-493.
21. Sabel M, Stummer W. The use of local agents: Surgicel and Surgifoam. *Eur Spine J*. 2004;13 (Suppl 1):S97-S101. Epub May 15, 2004.

22. Block JE. Severe blood loss during spinal reconstructive procedures: the potential usefulness of topical hemostatic agents. *Med Hypotheses*. 2005;65(3):617-621.
23. Tomizawa Y. Clinical benefits and risk analysis of topical hemostats: a review. *Artif Organs*. 2005;8(3):137-142.
24. Wagner WR, Pachence JM, Ristich J, Johnson PC. Comparative invitro analysis of topical hemostatic agents, *J surg Res*.1996;66(2):100-108.
25. Morikawa T. Tissue sealing. *Am J Surg*. 2001;182(2 Suppl):29S-35S.
26. Lundblad RL, Bradshaw RA, Gabriel D, Ortel TL, Lawson J, Mann KG. A review of the therapeutic uses of thrombin. *Thromb Haemost*.2004; 91(5):851-860.
27. Göker H, Haznedaroğlu IC, Ercetin S, Kirazlı S, Akman U, Ozturk Y, Fırat HC (2008) Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. *J Int Med Res* 36:163-170.
28. Bombardelli E, Morazzoni P. *Urtica dioica*. *L Fitoterapia* 1997;68:387-402.
29. Lichius JJ, Muth C. The inhibiting effects of *Urtica dioica* root extracts on experimentally induced prostatic hyperplasia in the mouse. *Planta Med* 1997;63:307-310.
30. Akkoç N, Akçelik M, Haznedaroğlu IC, Göker H, Aksu S, Kirazlı S, Fırat HC. InVitro Anti-Bacterial Activities Of Ankaferd Blood Stopper. *Int J Lab Hematol*.2008;30:95.
31. Doğan OF, Ozyurda U, Uymaz OK, Erçetin S, Haznedaroğlu IC. New antikoagulant agent for CABG surgery. *Eur J Clin Invest*. 2008;38:341.

32. Kurt M, Disibeyaz S, Akdoğan M, Şaşmaz N, Aksu S, Haznedaroğlu IC. Endoscopic application of Ankaferd Blood Stopper as a novel experimental treatment modality for upper gastrointestinal bleeding. A case report. *Am J Gastroenterol* 2008;103:2156-2158.
33. Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP: Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. *Int Immunopharmacol* 2006;6:494-498.
34. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T, et al: Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris*) antioxidant properties. *Food Chem* 2007;91:131-137.
35. Barka EA, Belarbi A, Hachet C, et al: Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. *FEMS Microbiol Lett* 2000;186: 91-95.
36. Barka E, Gognies S, Nowak J, et al: Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. *Biol Control* 2002;24:135-142.
37. Healthcare T. *Thymus vulgaris*. PDR for Herbal Medicines. 4. Baskı. Thomson, NJ, 2007:846-847.
38. Morsdorf S, Jung F, Seyfert UI, et al Erythrocyte hyperaggregation and thrombogenic dysfibrinogenemia. *Clin Hemorheol Microcirc*. 1997;17:13-19.
39. Reinhart WH, Nagy C. Albumin affects erythrocyte aggregation and sedimentation. *Eur J Clin Invest*. 1995;25:523-528.
40. Rosen AC, Murray T. Nomenclature of voice disorders and vocal pathology. *Otolaryngol Clin North Am*. 2000;33:1035.

41. Dikkers FG, Nikkels PG. Lamina propria of the mucosa of benign lesions of the vocal cords. *Laryngoscope*.1999;109:1684.
42. Arslan S, Yeşil Y, Ülger Z, ve ark. Yaşlı bir hastada yumuşak doku travmasına bağlı gelişen yara iyileşmesinde Ankaferd. *Akad Geriatri Derg*, 2010;2:58-60.
43. Bilgili H ve Koşar A ve ark.hemostatic efficacy of ankaferd blood stopper in a swine bleeding model. *Medical principles and practice* 2008.
44. Çipil HS, Kosar A, Kaya A, Uz B, Haznedaroglu IC, Goker H, Ozdemir O, Köroglu Ş, Kirazli S, Firat HC . In vivo hemostatic effect of the medicinal plant extract Ankaferd BloodStopper® in rats pretreated with warfarin. *Clin Appl Thromb Hemost*.2009 may-jun;1583):270-6.
45. Çipil H, Koşar A, Haznedaroğlu IC, Uz B, Göker H, Özdemir O, Kirazlı Ş. The efficacy of Ankaferd Blood Stopper in antithrombotic drug induced primary and secondary hemostatic abnormalities of a rat bleeding model.*Blood Coagul fibrinolysis*.2009 Apr;20(3):185-90.
46. Al B, Yildirim C, Cavdar M, Zengin S, Buyukaslan H, Kalender ME. Effectiveness of Ankaferd Bloos Stopper in tthe topical control of active bleeding due to cutaneous-subcutaneous incisions. *Saudi Med.J*.2009 Dec;30812):1520-5
47. Öner AF, Doğan M, Kaya A, Sal E, Bektas MS, Yesilmen O, Ayhan H, Acıkgöz M. New coagulant agent (ankaferd blood stopper) for open hemorrhages in hemophilia with inhibitor. *Clin Appl Thromb Hemost*.2010 Dec;16(6):705-7
48. Kurtaran H, Ark N, Uğur Ş, Sert H, Özboduroğlu A, Koşal a, Gündüz M. Effects of topical hemostatic agent on an epistaxis model in rabbits. *Current therapeutic research*.Volume 71, number 2, april 2010.

49. Karabulut H, Acar B, Babademez MA, Günbey G, Karaşen RM (2008). Alt konka rezeksiyonlarından sonra “Ankaferd BloodStopper”li tampon uygulaması. 30. Ulusal KBB ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi / 4. Türk-Amerikan KBB ve Baş Boyun Cerrahisi Ortak Toplantısı, 8-12 Ekim 2008, İstanbul.
50. Meriç A, Korkut Y, Kahya V, Gedikli O. prospective, randomized, controlled clinical trial of Ankaferd Blood Stopper in patients with acute anterior epistaxis. *Eur Arch otorhinolaryngol* (2010) 267:1377-1381.
51. Göker H, Aksu S, Haznedaroğlu İC, Ateş İK, Alkan A Büyükaşık Y, Avcı G, Özcebe Oİ (2008d). Aplastik anemide allojenik kök hücre transplantasyonu sonrası aplazik dönemde trombosit transfüzyonuna refrakter epistaksis tedavisinde lokal Ankaferd uygulaması. 34. Ulusal Hematoloji Kongresi Bildiri Özet Kitabı, P232 no’lu bildiri, 8-11 Ekim 2008, Çeşme, İzmir.
52. Akkoc N, Akcelik M, Haznedaroglu I, et al. In vitro antibacterial activities of ankaferd blood stopper. *Int J Lab Hematol* 2008;30:9595.
53. Fisgin NT, Cayci YT, Coban AY, et al. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper (R). *Fitoterapia* 2009;80:4850.
54. İşler SC, Demircan S, Cakarer S, Cebi Z, Keskin C, Soluk M, Yüzbaşıoğlu E. Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper on early bone healing. *J Appl Oral Sci.* 2010 Jul-Aug;18(4):409-14.
55. Kurt M, Disibeyaz S, Akdogan M, et al. Endoscopic application of Ankaferd blood stopper as a novel experimental treatment modality for upper gastrointestinal bleeding: A case report. *Am J Gastroenterol* 2008;103:2156-2158.

56. Tomizawa Y. clinical benefits and risk analysis of topical hemostats: a review. *Artif organs*.2005;8(3):137-142.
57. Woo P, Casper J, Cotton R, Brewer D. Diagnosis and treatment of persistent dysphonia after laryngeal surgery: a retrospective analysis of 62 patients. *Laryngoscope* 1994;104:1084-1091.
58. Bjorck G, D'Agata L, Hertegard S. Vibratory capacity and voice outcome in patients with scarred vocal folds treated with collagen injections--case studies. *Logoped Phoniatr Vocol* 2002;27(1):4-11.
59. Neuenschwander MC, Sataloff RT, Abaza MM, Hawkshaw MJ, Reiter D, Spiegel J. Management of vocal fold scar with autologous fat implantation: perceptual results. *J Voice* 2001;15(2):295-304.
60. Hertegard S, Hallen L, Laurent C, Lindstrom E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist A. Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 2002;112(12):2211.