



CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**TAVŞANLARDA BOTULİNÜM TOKSİN A’NIN DOKU
GENİŞLETİCİ İLE ELDE EDİLEN FLEPLERE OLAN ETKİSİ**

[DENEYSEL ÇALIŞMA]

Dr. Kadriye İPEK

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

SİVAS-2017



CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**TAVŞANLARDA BOTULİNÜM TOKSİN A' NIN DOKU
GENİŞLETİCİ İLE ELDE EDİLEN FLEPLERE OLAN ETKİSİ**
[DENEYSEL ÇALIŞMA]

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Neşe KURT ÖZKAYA

Dr. Kadriye İPEK

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

SİVAS-2017

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Prof. Dr. Sarper YILMAZ

Üye: Prof. Dr. Zekeriya TOSUN

Üye: Yrd. Doç. Dr. Neşe KURT ÖZKAYA

Bu tez 13/12/2016 tarih ve 2016/2 Sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İlhan ÇETİN

TIP FAKÜLTESİ DEKANI V.



Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18/02/2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilerek yürürlüğe girmiştir. Bu tez bu yönetmelik hükümlerine göre yazılmıştır.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen, farklı bakış açısı sayesinde eğitimim boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim, her zaman sevgi ve saygı duyacağım çok değerli hocam Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sarper YILMAZ' a;

Hem ablam hem hocam olarak tez çalışmamın oluşturulmasında bana yol gösteren uzmanlık eğitimim sırasında bana olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli Yrd. Doç. Dr. Neşe KURT ÖZKAYA' ya;

Uzmanlık eğitimimiz beraber çalışma şansı bulduğum, bu kısa süre içinde bizleri her zaman yorulmadan dinleyen, yol gösteren, bizlere plastik cerrahide farklı perspektifler kazandıran değerli Yrd. Doç. Dr. Handan DEREBAŞINLIOĞLU' na;

Bu zorlu eğitimi büyük bir keyifle tamamlamamda en büyük etken olan ve uzun süren asistanlık sürecinde her şeyi paylaştığımız asistan arkadaşlarıma;

Beni yetiştiren ve bugünlere getiren anneme, babama ve kardeşlerime;

Her zaman desteğini arkamda hissettiğim ve zor anlarımda hep yanımda olan Aytekin UZUNOĞLU' na;

Çalışmanın deneysel aşamalarının yürütüldüğü Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi veteriner hekimine ve personeline;

Son olarak kliniğimiz tüm servis, poliklinik, ameliyathane hemşire ve personellerine yardımları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kadriye İPEK
2017

ÖZET

TAVŞANLARDA BOTULİNÜM TOKSİN A' NIN DOKU GENİŞLETİCİ İLE ELDE EDİLEN FLEPLERE OLAN ETKİSİ [DENEYSEL ÇALIŞMA]

Dr. Kadriye İPEK

**Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik
Cerrahi AD. Sivas, 2017**

Amaç: Alt ekstremité rekonstrüksiyonu sırasında karşılaşılan etraf lokal doku kısıtlılığını doku genişletici uygulaması ile ortadan kaldırmak ve hızlı ekspansiyon sağlamada doku genişletici uygulama zorluklarının Botulinium toxin A (BTX-A) yardımı ile üstesinden gelerek alt ekstremité rekonstrüksiyonunda kullanımını değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: 8 adet tavşanın her iki arka uylukları aynı anda kullanılarak iki deney grubu oluşturuldu. Deney grubunda tavşanın sağ uyluğunda işaretlenen alana BTX-A toksini yapıldı. BTX-A uygulamasından 5 gün sonra hem deney hem kontrol grubunda uylukta planlanan yere doku genişletici diseke edilen alana yerleştirildi. Deney ve kontrol grubundaki doku genişleticiler eş zamanlı 2-3 er gün arayla şişirilerek 90 cc hacime ulaşıldı. Doku genişlemesi işleminden sonra doku genişletici çıkarılarak elde edilen fasiokutan flepler 3 kenarından kesildi, en ve boyları ölçüldü ve alan hesaplamaları yapıldı. Genişletilen dokudan histopatolojik inceleme amaçlı tam kat biyopsi alındı.

Bulgular: Yapılan genişletme işleminde BTX-A toksin uygulanan grupta yapılan flep ölçümlerinde daha fazla alan kazanıldı. Histolojik ölçümlerde BTX-A uygulanan grupta ilk biyopsideki damar yoğunlukları hafif düzeyde iken; kontrol grubunda damar yoğunluğu yoktu. Doku genişleticiler çıkarıldıktan sonra biyopsi materyalindeki damar yoğunluğu düzeylerine göre gruplar arasında fark yoktu.

Sonuç: Botulinum A toksinin doku genişletme işleminde elde edilecek fasiokutan flep alanlarını anlamlı derecede arttırdığı tespit edilmiştir. Klinikte başka amaçlarla kullanılan bu ajanın doku genişletmeye yardımcı bir ajan olarak klinik uygulamada yer alabilir.

Anahtar Sözcükler: Doku genişletme, Botulinum Toksin A, tavşan

ABSTRACT

The Effect of Botulinum Toxin A Obtained with Tissue Expander on Flaps in Rabbits

Kadriye İPEK

Cumhuriyet University Medical Faculty, Plastic Surgery Department. Sivas, 2017

Aim: The aim of this work is to address the deficit in the surrounding tissue using tissue expanders and evaluate the effect of the application of Botulinum Toxin A (BTX-A) to accelerate the tissue expansion during the reconstruction of lower extremity.

Methods: Two working groups were formed by using two sides of the rear femoral regions in 8 rabbits. In the working group, BTX-A was injected to the right rear femoral region of the rabbits. 5 days after the injection of BTX-A, tissue expanders were implanted in the femoral regions of both working and control groups. In both groups, the expanders were inflated with 2-3 day intervals until obtaining the total volume of 90 cc. After the completion of the tissue expansion, the expanders were removed, fasciocutaneous flaps were elevated. The dimensions of the elevated flaps were measured and these data were used to calculate the area of the flaps. For the histological examination, biopsy from the expanded tissue was taken.

Results: The study indicated that the calculated flap area for the BTX-A applied group was higher than that of control groups. According to the histological observations before the removal of the tissue expanders; while BTX-A-applied groups showed a low blood vessel density, the control group showed no blood vessel density. There was no difference in the blood vessel density in both groups after the removal of the tissue expanders.

Conclusion: It was shown that the application of BTX-A increased the flap area significantly. Our results suggested that BTX-A can be used to enhance tissue expansion besides its other applications in clinical studies.

Key words: Tissue expansion, Botulinum toxin-A, Rabbit

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Doku Genişleticileri.....	4
2.1.1. Doku Genişleticilerin Tarihçesi.....	5
2.1.2. Doku Genişletmenin Dokulara Etkisi.....	5
2.1.3. Doku Genişletmenin Hücresel ve Moleküler Boyutu.....	10
2.1.4. Özellikler	11
2.1.5. Komplikasyonlar	13
2.1.6. Kontrendikasyonlar	14
2.1.7. Doku Genişleticilerle Ekstremitte Rekonstrüksiyonu.....	14
2.2. Botulinum Toksin.....	16
2.2.1. Tarihçe	16
2.2.2. Moleküler Yapı.....	17
2.2.3. İmmünolojik Özellikler	21
2.2.4. Doz Önerileri Ve Saklama Koşulları.....	22
2.2.5. Tavşanlarda Uygulanabilecek Btx-A Dozları Ve Etki Süresi	24

2.2.6. Tedavi Endikasyonları.....	26
2.2.7. İlaç Etkileşimleri	28
2.2.8. Bölgesel Ve Sistemik Yan Etkiler.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Denekler	31
3.2. Botulinum Toksin Tip A'nın Hazırlanışı	33
3.3. Cerrahi Teknik.....	33
4. BULGULAR.....	41
4.1. Cilt Genişletme Sonrası Ölçülen Alanlar	41
4.2. Damar Yoğunluğu	45
4.3. Kollagen Proliferasyonu.....	50
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ.....	63
7. KAYNAKLAR.....	64

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Botulinum toksini alt tipleri ve hedef hücreler.....	21
Tablo 2: Sulandırma sonrası doz hesaplaması	23
Tablo 3: Bakteri toksinlerin lethal dozları	25
Tablo 4: Deney grupları ve sayıları.....	32
Tablo 5: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümleri	42
Tablo 6: Gruplara göre doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümlerinin değerlendirilmesi.....	42
Tablo 7: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümleri	44
Tablo 8: Gruplara göre doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümlerinin değerlendirilmesi.....	44
Tablo 9: Alınan ilk biyopsi materyalindeki damar yoğunluğu	48
Tablo 10: Doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki biyopsi materyalindeki damar yoğunluğu	48
Tablo 11: Gruplara göre damar yoğunluğu düzeylerinin değerlendirmesi	49
Tablo 12: Doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki biyopsi materyalindeki kollagen yoğunluğu.....	53
Tablo 13: Gruplara Göre Kollagen Yoğunluğu Değerlendirmesi.....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1: Doku genişletmenin çevre dokulara etkisi.....	10
Şekil 2. 1: BTx-A'nın moleküler yapısı	18
Şekil 2. 2: BTx-A presinaptik nöron bağlanmış durumda	19
Şekil 2. 3: BTx-A presinaptik nörona endositoz ile girmiş durumda	19
Şekil 2. 4: BTx-A presinaptik nöronda asetilkolin salınımını bloke etmiş durumda	20
Şekil 3. 1: Flep dizaynı. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu.....	32
Şekil 3. 2: Tavşanlarda <i>oto-kanibalizasyonu</i> engellemek amaçlı boyunluk uygulaması ve bölgenin file bandaj ile sabitlenmesi.....	34
Şekil 3. 3: BTx-A uygulaması için enjeksiyon noktaları	35
Şekil 3. 4: Çizim üzerinde uygulama noktalarını gösterilmesi	35
Şekil 3. 5: Flepte sınırları belirlemek için dört köşeden konulan tespit sütürleri .	36
Şekil 3. 6: Doku genişleticinin yerleştirileceği alanın gösterilmesi. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu	36
Şekil 3. 7: Doku genişleticinin konulması ve 15 cc SF ile şişirilmesi. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu	37
Şekil 3. 8: 90 cc SF kullanılarak ile tamamlanmış doku genişlemesi.....	37
Şekil 3. 9: İnsizyon sonrası superior bazlı elde edilen flep. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu.....	38
Şekil 3.10: Kasnak sistemi	38
Şekil 3. 11: Kasnak sistemi ile doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek ölçümleri. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu	39
Şekil 3. 12: Kasnak sistemi ile doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek ölçümleri. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu	39
Şekil 3. 13: Elevasyon sonrası kapsül görünümü. A: BTx-A uygulanan grup. B:	

Kontrol grubu	39
Şekil 4. 1: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümleri. A: Eninin ölçülmesi. B: Boyunun ölçülmesi	41
Şekil 4. 2: Gruplara göre doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümlerinin dağılımı.....	43
Şekil 4. 3: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümleri. A: Eninin ölçülmesi. B: Boyunun ölçülmesi	43
Şekil 4. 4: Gruplara göre doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümlerinin dağılımı.....	45
Şekil 4. 5: BTx-A uygulanmış grupta toksin uygulanmasından 5 gün sonra alınan biyopside görülen ağır konjesyon, yoğun damarlanma artışı (MT; x100)	46
Şekil 4. 6: Kontrol grubunda ilk biyopside normal damarlanmanın görünümü (MT; x100)	46
Şekil 4. 7: BTx-A uygulanmış grupta doku genişletici çıkarıldıktan sonraki görülen ağır konjesyon, yoğun damarlanma artışı (MT; x100)	47
Şekil 4. 8: BTx-A uygulanmış grupta doku genişletici çıkarıldıktan sonraki görülen çizgili kas seviyesindeki ağır konjesyon, yoğun damarlanma artışı, kaslar arası inflamasyon (MT; x40)	47
Şekil 4. 9: Gruplara göre ilk biyopsi materyalindeki damar yoğunluklarının dağılımı	49
Şekil 4. 10: Gruplara göre doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki damar yoğunluklarının dağılımı	50
Şekil 4. 11: BTx-A uygulanmış grupta toksin uygulamasından 5 gün sonra alınan biyopside görülen ağır konjesyon, yoğun damarlanma artışı. Hafif kollagenizasyon mevcut. (HE; x40)	51

Şekil 4. 12: Kontrol grubunda ilk biyopside normal damarlanma ve üst dermiste orta derecede kollagenizasyon. Normal cilt kalınlığı 0,5 cm (HE; x40)	51
Şekil 4. 13: Deney grubunda doku genişletici çıkarıldıktan sonraki damarlanmadaki belirgin artış, dermiste %100 kollagen artışı, yeni damarlardan zengin bağ dokusu (HE; x 40).....	52
Şekil 4. 14: Kontrol grubunda doku genişletici çıkarıldıktan sonraki dermiste %100 kollagen artışı, dermiste panniculus karneusa kadar kollagenizasyon, kas tabakası komşuluğunda fibrozis, genç bağ dokusu gelişimi, yeni damarlanmalar (HE; x40).....	52
Şekil 4. 15: Gruplara göre doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki kollagen yoğunluklarının dağılımı	54

KISALTMALAR DİZİNİ

BTx	: Botulinum toksin
kD	: KiloDalton
Cl. Botulinum	: Clostridium botulinum
Zn	: Çinko
C	: Karbon
N	: Azot
SNARE	: Çözünebilir N-etil maleimid-duyarlı faktörün bağlanma protein reseptörü
SNAP	: Sinoptozomal bağlantılı protein
LD 50	: Test edilen hayvanların %50' sini öldüren doz
MU	: Mouse birimi
°C	: Santigrat derece
°F	: Fahrenayt
FDA	: Food and Drug Administration
Kg	: Kilogram
mg	: Milligram gr : Gram
ml	: Mililitre cc : Santimetre küp
mmHg	: Milimetre civa
HCl	: Hidroklorik asit
H&E	: Hemotoksilen-Eosin
IU	: Uluslararası ünite
SF	: Serum fizyolojik
G	: Gauge
DMSO	: Dimetilsülfoksit
NCSS	: Number Cruncher Statistical System
NE	: Norepinefrin
NPY	: Nöropeptid Y ATP : Adenozin trifosfat
EGF	: Epidermal büyüme faktörü;
TGF-β	: Dönüştürücü büyüme faktörü β
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü

1.GİRİŞ

Doku defektlerinde özellikle cilt defektlerinde defektin boyutu, derinliği veya vücutta oluştuğu yere göre rekonstrüksiyonu pekçok yöntemle yapılabilmesine rağmen birçok zorluğu da beraberinde getirir. Cilt defektlerinde primer kapama fonksiyonel ve estetik açıdan mümkünse ilk tercihtir, fakat primer kapamanın mümkün olmadığı durumlarda deri greftleri, lokal ya da uzak deri flepleri ve serbest flepler bu amaçla kullanılabilir. Rekonstrüksiyonda en önemli kısıtlayıcı faktör etraf yumuşak dokunun yeterli olmamasıdır. En uygun rekonstrüksiyon, defekti benzer dokularla onarmaktır. Doku genişletme uygulaması; renk, doku, kalınlık, kıl paterni ve duysal innervasyon açısından benzerlik gösteren donör ve alıcı dokuları kullanarak ‘benzeri benzeri ile’ onarımını sağlayan bir tedavi alternatifidir [1, 2].

Doku genişletme uygulamaları saçlı deri rekonstrüksiyonunda, tümör veya travmaya bağlı oluşan defektlerde, yanık sonrası oluşan skarın tedavisinde sık tercih edilen bir yöntemdir [3]. Benzer şekilde, mastektomi sonrası meme rekonstrüksiyonunda da uygulanmaktadır. Bir çeşit geciktirme (delay) fenomeni olarak da kabul gören doku genişletici uygulamaları serbest doku transferleri öncesinde uygun flep boyutunun elde edilmesinde kullanılabilir. Cerrahi defektlerde konvansiyonel flep cerrahisine alternatif olabilirler. Cerrah ve hasta açısından avantajlarına örnek olarak benzer renk, doku, duyu ve kalınlıkta olmaları (örn. saçlı deri) verilebilir. Ayrıca donör alan morbiditesi riski azalır. Çok yönlü olan bu teknik; güvenilir, tekrar edilebilir ve vücutta pekçok yerde uygulanabilir.

Alt extremitte cilt ve yumuşak doku defektlerinde lokal fleplerin kullanımı dolaşım problemi, yer kısıtlılığı, doku azlığı gibi nedenlerden dolayı kısıtlıdır. Doku genişletici uygulamalarında extremiteler (özellikle alt extremitte) en yüksek

komplikasyon oranına sahiptir [4]. Doku genişleticilerin ekstremitelerde kullanımı sonrası yüksek komplikasyon oranları bildirilmiş ve bu da rekonstrüktif basamaktaki diğer tekniklere göre daha az tercih edilmelerine yol açmıştır. Ekstremitelerde komplikasyon oranlarını arttıran faktörler arasında; ekstremitelerin sirküler yapısı nedeniyle aksiyal yönde yeterli genişlemenin zor elde edilmesi, genç hastalarda ekstremitelerde ekspansiyona uygun yeterli cilt alanının olmaması, ekstremit vasküler yapısının az sayıda aksiyal damarlanma içeren terminal tipte olması ve subdermal pleksusun yetersizliği sayılabilir. Bu bölgelerde daha çok uygun donör alanlardan alınan serbest doku aktarımları ile onarım önerilir, bu durumda da donör alan morbiditesi, fonksiyonu bozulması, iz kalması nakledilen dokunun aktarılan yer ile uyumluluğu gibi problemler ön plana çıkmaktadır [4].

Son yıllarda hem Botulinum toksin A (BTx-A)'nın, hem de doku genişleticilerin dokulardaki kan dolaşımı, doku toleransı, komplikasyonları ve flepler üzerine olan etkileri ile ilgili olarak birçok araştırma yapılmış ve yapılmaktadır. BTx, Clostridium Botulinum denilen sporlu, anaerob, hareketli gram pozitif bakteri tarafından üretilir. BTx-A, sempatik sinir liflerinin uyarımı için gerekli olan asetilkolin ve norepinefrinin presinaptik kavşaktan salınımını bloke ederek hedef dokuda denervasyon ve kimyasal sempatektomiye neden olurlar [5, 6]. Bu iki etki mekanizması ile damar düz kasında gevşeme ve damarda vazodilatasyona neden olur. Sempatik vazokonstrüksiyon alfa reseptörleri üzerinden kaynaklanır. Alfa reseptörlerinin sinyal iletiminde ise fosfolipaz D aktivitesi önemli rol oynar. BTx, fosfolipaz D aktivitesini azaltarak da sempatektomiye sebep olmaktadır. Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda BTx-A'nın anastomoz yapılan damarlarda trombozu önlediği [7, 8], vazodilatasyon yaptığı [7], kaldırılan flepte pedikülün etrafına uygulanmasının flep yaşayabilirliğini arttırdığı gösterilmiştir [7, 9, 10]. 2009 yılında Chenwang ve ark.ları kas-deri flebi genişletilmesinde BTx-A uygulamasını araştırmış ve flepte direnci azalttığını, şişmeyi hızlandırdığını, genişleyen alanı arttırdığını ve flebin

kontraksiyonunu azalttığı sonucunu elde etmişlerdir [11]. BTx-A, tedavi amacıyla nöroloji ve göz hastalıkları gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Blefarospazm, strabismus, servikal distoni, tortikoliz, akalazya, spazmodik distoni, anal fissür, Parkinson tremoru, hiperhidrozis, migren tipi baş ağrısı, inme, travmatik beyin hasarı, serebral palsy, multiple skleroz, spinal kord yaralanması, terleme bozuklukları, gerilim tipi baş ağrısı, tenisçi dirseği, palatal myoklonus, keloid, kekeleme, pelvi-rektal spazmlar ve nistagmus dahil birçok alanda tedavi amaçlı kullanılmaktadır [12, 13]. Bunlarla birlikte yüzdeki mimik kırışıklıkların giderilmesi amacıyla kozmetik alanında da 1990'dan beri kullanılmaktadır [12].

Literatürde doku genişletme işleminin daha güvenli şekilde yapılabilmesi için çok sayıda ajan kullanılarak bir çok çalışma yapılmıştır. Doku genişletme işlemi mekanik veya farmakolojik olarak daha güvenli bir şekilde yapılmaya çalışılmıştır. Bu nedenle bir çok farmakolojik ajan kullanılmasına rağmen bunlardan hiçbiri rutin klinik kullanıma geçememiştir. Çalışmamızda klinikte de sık olarak kullanılan BTx-A toksininin doku genişlemesi ve cilt dokusu üzerine etkilerini araştırıldı. Ayrıca alt ekstremitte rekonstrüksiyonu sırasında karşılaşılan etraf lokal doku kısıtlılığı doku genişletici uygulaması ile ortadan kaldırılırken; doku genişletici uygulamasının yavaş ekspansiyonu gibi alt ekstremitte oluşan zorluklarının BTx-A yardımı ile üstesinden gelmeye çalışarak alt ekstremitte rekonstrüksiyonunda kullanımına sağlayabileceği katkı araştırıldı. Ayrıca doku genişletici uygulamalarında BTx-A kullanımının, fleplerde güvenli bir şekilde hızlı ekspansiyona katkı sağlayıp sağlamayacağı incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Doku Genişleticileri

Canlı dokuların basınç ve gerilim uyarılarına karşı boylarını uzatarak, yüzey alanlarını genişleterek ve kitlelerini artırarak cevap vermeleri, canlılığın ilk gününden beri var olan fizyolojik bir olaydır. Doku genişlemesi günlük hayatta gebelikte, obezitede, yavaş büyüyen tümörlerde ve sıvı birikimlerinde sıklıkla karşımıza çıkan doğal bir süreçtir [3]. Doku genişletme yöntemi örtücü dokuların, altlarında yavaş olarak büyüyen kitlelere, yüzey alanlarını genişleterek uyum sağlaması prensibine dayanan fizyolojik bir yüzey artışıdır. Vücudun her bölgesinde yöntemin uygulama olanağı vardır [14]. Klinik olarak doku genişletme yöntemi renk, doku, kalınlık, kıl paterni ve duysal innervasyon açısından benzer donör ve alıcı dokuları kullanarak ‘benzerin benzeri ile’ rekonstrüksiyonunu sağlayarak son 30 yılda plastik ve rekonstrüktif cerrahi uygulamalarında bir rekonstrüktif seçenek haline gelmiştir [1, 15]. Doku genişletme yöntemini kullanım alanı cerrahın yeteneği ve deneyimi ölçüsünde artar. Özellikle meme rekonstrüksiyonu, yanık cerrahisi ve pediatrik plastik cerrahi alanlarında oldukça geniş kullanım alanına sahiptir [3].

Doku genişleticiler skalp, alın, yüz, boyun, gövde, ekstremitelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Büyük konjenital nevüsler, vasküler malformasyonlar, skar, alopesi, yanık nedeniyle oluşan doku defektleri, kontür deformitelerinin onarımı başlıca kullanıldığı alanlardır [14]. Geniş tam kat deri grefti elde etmek için greft donör sahasında ve mastektomi sonrasında meme rekonstrüksiyonunda da kullanılmaktadır. Doku genişletme birçok avantaja sahiptir. Deri rengi ve dokusunda mükemmel yakın uyum sağlar, donör sahada minimal iz oluşur [16, 17]. Aynı zamanda vücudun çeşitli bölümlerinde özelleşmiş duyu fonksiyonu veya deri ekleri özelliklerini sağlamak için kullanılır. Örnekler, meme rekonstrüksiyonundaki deri fleplerinin üstün duysunu ve erkek tipi kellik tedavisinde dizayn edilen saç içeren flepleri olabilir [18].

2.1.1. Doku Genişleticilerin Tarihçesi

Tarihte bazı Afrika kabilelerinde her seferinde daha büyük cisimler yardımı ile dudaklarının genişletilmesi ve Burmalı kadınların giderek artan sayıda demir kolyeler takarak boyun uzatma işlemi kompozit ve myokutan doku genişlemesine örnek teşkil eder [19]. Klinikte doku genişletmenin teknik temelleri distraksiyon osteogenezine dayanmaktadır. İlk uygulama, 1905'te Codivilla' in alt ekstremite kemiklerine yaptığı distraksiyondur [20]. 1957'de Neumann klinik olarak ilk defa kontrollü doku genişletmeyi subkutan yerleştirilmiş bir kauçuk balon ve balonu polietilen bir tüp ile cilt dışına bağlayıp buradan hava enjeksiyonu ile şişmesini sağlayarak lokal deri artırımını sağlamıştır. Fakat teknikte balonun cilt dışına bağlantısının oluşu ve yabancı cisim reaksiyonu gibi sorunlarla karşılaşılmış ve dolayısıyla teknik yeterince yaygınlaşmamıştır [21]. 1976'da Radovan, serum fizyolojik (SF) ile şişirilen silikon doku genişleticiyi tarif eder [22]. 1982 yılında, Radovan' ın internal portu olan silikon balonlu bir alet geliştirerek meme rekonstruksiyonunda doku genişletici tanımlamasıyla unutulana doku genişletme tekniği tekrar ilgi görmeye başlar [23]. Bu konvansiyonel teknik, karşılaştığı bazı komplikasyonlara rağmen günümüze kadar geçerliliğini korumuştur ve halen, özellikle plastik cerrahide güvenli bir yumuşak doku kaynağı sağlayan standart bir teknik olarak kullanılmaktadır.

1982'de Austad ve Rose, hipertonic sodyum klorür çözeltisiyle doldurulan geçirgen bir silikon membrandan oluşan, kendiliğinden şişebilen bir genişletici geliştirmişlerdir [16]. 1987'de Becker meme rekonstruksiyonunda başarı ile uygulanan doku genişleticileri, meme büyütme işlemi için modifiye etmiş, şişirilebilir kalıcı meme protezini tanıtımıştır [24].

2.1.2. Doku Genişletmenin Dokulara Etkisi

Doku genişlemesi dinamik bir olaydır. Deriye uygulanan mekanik kuvvete bağlı olarak iki doğal süreç meydana gelir: biyolojik yayılma ve mekanik yayılma.

Uygulanan mekanik strese bağlı olarak hücreler uzar, “Gap junction” larda bozulma, hücrelerde çoğalma olur [25]. Deri ve subkutan dokunun farklı tabakalarının genişletmeye farklı cevaplar verdiği görölmüştür.

Epidermis: Epidermis subkutan doku genişlemesine en üretken tepkiyi verir. Doku genişletici yerleştirilmesini takip eden erken dönemde epidermiste ciddi şekilde kalınlaşma görölmektedir. Normal derideki epidermin yüzeyel keratinize hücreleri sürekli olarak bazal tabakadan gelen hücrelerle yer değiştirirler. Bazal tabakanın mitotik aktivitesi normal aktivite sırasında hücrelerin sabit desteği olduğunu ve doku ekspansiyonuna artmış cevabı gösterir. Kobaylarda subkutan implantın şişirilmesiyle 24 saat içinde epidermal tabakadaki mitotik aktivitenin 3 kat arttığı gösterilmiştir [26]. Bir hafta içinde mitotik aktivite bazal seviyelerine dönmüştür. Küçük domuz modelinde, aralıklı doku genişletme ile epidermin tabakaları arasında histolojik olarak fark görölmemiştir. Bu epidermal kalınlaşma etkisi birkaç ay sürebildiği gibi genellikle 4-6 hafta içinde epidermis kalınlığı başlangıç seviyesine dönmektedir. Fakat bazen bu kalınlık artış aylarca azalmayabilir, “rete ridge” lerin düzleşmesi görölür [26]. Genişleticinin çıkarılmasından iki yıl içinde de yavaşça eski haline döner. Doku genişletme sürecinde melanositik aktivite artmakta, fakat rekonstrüksiyon tamamlandıktan birkaç ay sonra normal seviyesine dönmektedir [3].

Dermis: Çalışmaların çoğunda doku genişlemesine dermin epidermisten daha az toleranslı olduğu ortaya konmuştur [27]. Doku genişlemesi süresince doku genişletici üzerindeki dermis ciddi şekilde incelir. Doku genişletici yerleştirilmesini takip eden birkaç hafta incelme çok daha belirgindir ve genişlemenin tamamlanmasını takip eden en az 36 hafta boyunca dermin inceliği devam eder. Genişletilmiş dokunun derminde kantitatif olarak kollajen sayısında artış görölmesine rağmen dermo-epidermal bileşke ile subkutan-kapsül aralığında işlem sonrasında tip 1 ve tip 3 kollajen oranlarında önemli bir değişiklik görölmemiştir [28]. Kobay modelinde, doku genişlemesinin başlangıcından en

erken bir hafta sonra dermal kalınlıkta azalma meydana geldiği bulunmuştur. Doku genişletme işleminden sonraki süreçte dermal kalınlık insan derisinde belirgin azalmıştır. Genişlemiş insan derisinden alınan biyopsilerde yapılan çalışmada dermisin kontrol grubundaki deriden belirgin olarak daha ince olduğu ortaya konmuştur [16]. Hızlı genişletilen deride dermal değişiklikler kollajen demetlerinin çapraz bağlarının açılarının değiştiği gözlenmiştir [26]. Açık normalde 70 derece civarındadır. Bu açı ekspansiyonun hızıyla orantılı olarak bir miktar azalır. Sonunda kollajen lifleri neredeyse yüzeye paralel olarak uzanırlar. Histolojik değişiklikler papiller dermisten çok retiküler dermiste görülür. Genişletme işlemi sırasında retiküler dermis belirgin olarak inceler; fakat papiller dermisin kalınlığında belirgin değişiklik gözlenmez. Genişletme sırasında hem retiküler hemde papiller dermiste kollajen lifleri kalınlaşır, sıkılaşır ve deri yüzeyine paralel hale gelir. Elastik lifler bozulur ve parçalı hale gelir. Fibroblastların, makrofajların, mast hücrelerinin sayısı ve dağılımı belirgin değişiklik göstermez. Klinik olarak genişleyen deri çoğu zaman pigmentasyon değişiklikleri ile kurur ve ağrı, sıcaklık, basınç, yüzeysel duyu hislerinde azalma olur.

Fibröz Kapsül Formasyonu: Yoğun bir kollajen dokusu ile aralara giren paralel dizilmiş fibroblastlardan oluşan bir yabancı cisim reaksiyonu tarafından oluşturulur. Doku genişletici yabancı cisim olduğu için , kapsül oluşumu yerleştirilmesinden hemen sonra başlar ve implant çevresinde yoğun bir fibröz kapsül oluşur ve zaman içinde daha az selüler hale gelir. Kapsül fibroblastlarındaki mitotik aktivite 96 saat civarında en yüksektir ve bu aşamadan sonra uygulanacak basınç mitotik aktivitede progresif azalmaya neden olacaktır [26]. Kapsül, genişletmenin ikinci ayında en kalın halini alır. Genişletme sürecinin ilk 3 ayında kapsülde kollajen sayısında artış ve dizilimlerinde değişiklikler görülürken hücresel komponentlerinde azalma görülmektedir. Normal hücre matürasyonunda değişiklik veya displastik bulgu saptanmamıştır. Hematom veya seroma oluşumu kapsül kalınlığında artışa neden olur. Kapsül kalınlığındaki bu

artış genişletme işleminin başarısını azaltır. Hematom olursa veya implant tekrarlayan travmalara maruz kalırsa distrofik kalsifikasyon görülebilir [3]. İmplantın çıkarılmasından 1 yıl sonra bile kapsül kalıntıları belirlenebilir [29]. Mini piglerdeki bir çalışmada 1 hafta sonra kapsülün iki tabakası ayırt edilebilir. İç tabaka makrofajlardan dış tabaka fibroblastlardan oluşur. Zamanla iç fibröz tabaka kalın kollajen demetleri içerir ve dış tabaka ise vasküler ağ ve gevşek dağılmış kollajen ağırlıklı hale gelir [27]. Meme implantlarındaki kollajen üzerine yapılan çalışmalarda en çok tip 1 kollajen , daha az olarak tip 3 ve 5 kollajen yoğunluğu bulunmuştur [30].

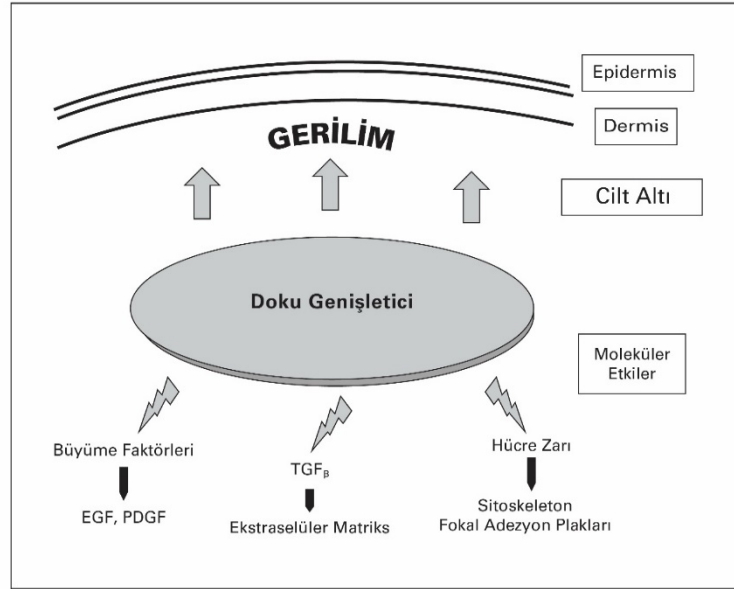
Kas ve yağ dokusu ve deri ekleri: Subkutan yağ ve kas dokusu doku genişlemesine en az toleranslı katmanlardır. Adipoz doku ise %30-50 kalıcı atrofiye gider [27]. Genellikle fibrozis daha küçük hacimdeki kaslarda (örn: yüz) meydana gelir. Kas hasarını belirlemede ekspansiyon süresi, ritmi veya genişleticinin yerleştirildiği alandan çok kasın büyüklüğü daha önemli faktördür. Kasın çizgili paterni kaybolur ve hyalinizasyon ve bunu takiben nekroz olur. Kas liflerinde fokal dejenerasyon ve hafif intersitisyel fibrozis gözlenir. Bazı kas liflerinin sarkomerlerindeki miyofibrillerde düzensizlik görülür [31]. İskelet kasındaki doku genişlemesine bağlı değişiklikleri araştıran hayvan çalışmasında lif başına düşen sarkomer sayısının arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada implant çıkarıldıktan sonra kasın yapısının, fonksiyonunun ve vaskülaritesinin normale döndüğü gösterilmiştir [32]. Klinik çalışmalarla da doku genişletici çıkarıldıktan sonra kas kütlesinin normale döndüğü gösterilmiştir [3, 33]. Kobay, domuz ve köpekteki deneyler, genişlemiş yağ ve kas dokusunda belirgin incelmeyi göstermiştir [17, 34, 35]. Kıl, sebase bezler ve ter bezleri doku genişlemesine aktif olarak cevap vermezler [27]. Dermal eklerin yoğunluğu genişlemeye kazanılmış yüzey alanıyla orantılı olarak azalır. Ter bezleri ve kıl folikülleri dağılır ve dejeneratif değişiklikler gösterir. Fazla hacimli doku genişletmelerde nadiren de olsa arrector pili kasları fibroze gidebilir. Bir deneysel çalışmada doku genişlemesiyle kıl folikülü sayısının arttığı gösterilmiştir [36].

Kemik: Hayvan modelinde doku genişletmenin kraniyal kemiklere etkisini araştıran bir çalışmada, doku genişletici altındaki kraniyal kemiklerin kalınlığında ve hacminde azalma olduğu fakat kemik yoğunluğunun değişmediği gösterilmiştir. Doku genişleticinin çevresinde ise kemiğin kalınlaştığı ve hacminin arttığı gösterilmiştir. Doku genişleticinin altında osteoblastik kemik rezorpsiyonu görülürken, doku genişletici çevresinde periosteal inflamatuvar reaksiyon görülmektedir. Doku genişletici çıkarıldıktan sonra kemiğin yeniden şekillendirilmesi başlar ve bir süre sonra kemik eski haline döner. Uzun kemiklerde doku genişletici çıkarıldıktan 5 gün sonra yeniden şekillendirme başlar ve iki ayın sonunda kemik normale döner. Bu süre kraniyal kemiklerde biraz daha uzundur [37].

Genişletilmiş Dokunun Vaskülaritesi: Vaskülarite artışı, önce klinik olarak fark edilmiş sonrasında deneysel çalışmalarda sayısal verilerle gösterilmiştir. Klinik ve histolojik olarak kapsülün komşuluğunda çok sayıda yeni damar oluştuğu gösterilmiştir. Mevcut damarlardaki kollajen liflerinin içeriği doku genişlemesi sonrasında azalmaya başlar. Mevcut damarlardaki elastik lifler, muhtemelen mekanik strese yanıt olarak, artmaya başlar. Anjiyogenez muhtemelen genişletilmiş dokunun iskemisine sekonder gerçekleşir. Vasküler büyüme faktörü üreten hücrelerin sayısı, genişletilmemiş dokudan belirgin derecede fazladır [38]. Hayvan deneylerinde genişletilmiş dokudan hazırlanan fleplerin, yeni kaldırılan veya geciktirme prosedürü uygulanmış fleplerden daha geniş canlı alana sahip olduğu gösterilmiştir [1]. Yapılan birçok çalışmada genişletilmiş dokuda, genişletilmemiş dokuyla kıyaslandığında kan akımının arttığı, damar sayısı ve çaplarının daha fazla olduğunu ve flep yaşayabilirliğinin arttığı gösterilmiştir [39]. Histolojik bulgular genişletmenin bir çeşit “delay” olduğunu destekler. Protezin etrafında oluşan kapsül de artmış vaskülarite gösterir [1] ve subdermal pleksusta artmış dolaşım gösterilmiştir.

2.1.3. Doku Genişletmenin Hücresel ve Moleküler Boyutu

Mekanik germe kuvvetlerinin canlı hücreler ve dokular üzerindeki etkilerini ve gerçekleşen moleküler olayları daha iyi anlayabilmek için bir takım in vitro germe sistemleri kullanılmıştır [40, 41]. Canlı hücrelere mekanik germe uygulanması bir çok hücresel yapıyı ve sinyal ileti yollarını etkiler (Şekil 1. 1) [40]. Mekanik germe ile vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) [38], dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β), anjiyotensin ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) [42] gibi lokal büyüme faktörlerinin üretiminde artış olur.



Şekil 1. 1: Doku genişletmenin çevre dokulara etkisi

Doku genişletici, komşuluğundaki doku ile birlikte çeşitli hücrelerin de gerilmesine sebep olur. Gerilmenin başlattığı yanıtlar, cilt hücrelerinin proliferasyonunu uyarabilen büyüme faktörlerinin aracılığı ile gerçekleşiyor olabilir. TGF- β gibi diğer faktörler ekstraselüler matriks üretimini etkiliyor olabilirken; protein kinaz, fokal adezin ve sitoskeleton gibi hücre zarında yer alan moleküller, hücre içi sinyal kaskatlarının düzenlenmesinde anahtar rol oynuyor olabilirler [43]. Hücre içi ve hücreler arası etkileşimlerin ekstraselüler matriksin uğradığı mekanik deformasyonla tetiklendiği düşünülmektedir [42]. Hücre zarında

yerleşik integrin gibi adezyon kompleksleri, hücre dışındaki sinyalleri hücre içindeki moleküllere iletir. Ekstraselüler matriksteki deformasyonun integrin ekspresyonunda değişiklikler yaptığı gösterilmiştir [44]. Hücre iskeletini oluşturan mikrotübüller ve mikrofilamentler, hücre dışındaki mekanik kuvvetleri hücre içine iletirler, ayrıca hücre içindeki mekanik gerimi komşu hücreye de iletirler. Hücre içinde gerilim olması inozitol fosfataz, fosfolipaz A2, fosfolipaz D ve diğer ikincil habercileri aktive eder. Bu ikincil haberciler de hücre çekirdeği proteinlerinin sentezinin uyarılmasında kilit rol oynayan protein kinaz C'yi aktive eder. Protein kinaz C enzimi hücre çekirdeği proteinlerinin sentezini artırarak hücre çoğalmasını sağlar [43]. Germe ile uyarılan çeşitli sinyaller, transdüksiyon yollarının birbirini izleyen aktivasyonunu tetikler ve sinyaller uygun hücre zarı reseptörleri veya iyon kanalları vasıtasıyla hücre içine iletilir. Bu sinyallere yanıt olarak hücre içi kaskatlar aktive olur ve takiben enzimler sinyalleri çekirdeğe aktarır [43].

2.1.4. Özellikler

Modern doku genişleticileri aralıklı SF enjeksiyonu ile doldurulan silikon elastomerlerden oluşan bir balon ve şişirme ünitesinden yapılmaktadır. Hacim, şekil, şişirme valvine göre doku genişleticiler değişiklik göstermektedir. Şekline göre beş model mevcuttur:

Dikdörtgen: Gövde ve ekstremitelerde kullanışlıdır ve en fazla oranda gerçek doku kazanımı sağlar (teorik doku kazanımının %40'ı).

Yuvarlak: Genellikle göğüs rekonstrüksiyonunda kullanılır. En az miktarda gerçek doku kazanımı sağlar (teorik doku kazanımının %20'si).

Hilal: Saçlı deri rekonstrüksiyonunda kullanışlıdır. Santral olarak periferden daha fazla doku kazanımı olur. Donör sahada köpek kulağını azaltmak için tasarlanmıştır, fakat kullanımı sınırlıdır.

Anatomik: Farklı olarak ilgili vücut bölümü doğru bir şekilde yeniden yapılandırmak için üstteki yumuşak doku kılıfını genişletir (örn: göz yaşı damla modeli meme rekonstrüksiyonunda kullanılır).

Özel: Düzensiz defektler için tasarlanır. Pahalı olabilir.

En sık kullanılan modeller yuvarlak ve dikdörtgen genişleticilerdir. Hacimlerine göre yuvarlak doku genişleticiler 100-1000 ml, dikdörtgen şekilliler 100-2000 ml arasında değişiklik göstermektedir. İsteğe bağlı olarak daha büyük hacimli doku genişleticiler de bulunmaktadır.

Doku genişleticiler şişme şekillerine göre iki grupta toplanır[15]:

1-Düzenli aralıklarla yapılan serum fizyolojik enjeksiyonu ile şişirilen doku genişleticileri: Günümüzde yaygın olarak kullanılan bu gruptur (uzak doku portluları ve entegre doku portluları).

2-Osmotik basınç farkı sonucu balona dolan hücre dışı sıvı ile şişenler (Self inflating expander): Doku altına konulduktan sonra dışarıdan bir etki olmadan onun etrafındaki yumuşak dokudan 4 ila 8 hafta süren bir zamanda kademeli olarak sıvı absorbe eden ozmotik aktif hipertonic salin veya hidrojel bazlı solüsyona dayanan bir sistem vardır. Doku portu yoktur. Çoğunlukla oral mukozal işlemlerde, diş hekimliği işlemlerinde kullanılır.

Çoğu doku genişletici geçiçi olarak yerleştirilir, daha sonra da ya kalıcı bir salin ya da silikon protez ile değiştirilir ya da genişleyen lokal dokunun yeniden şekillenmesi için tamamen çıkartılır. Tüm doku genişleticilerin ortak özelliği salinin enjeksiyon ile protezin içine verilmesini ve gerekirse sızıntı olmadan geri çekilmesini sağlayan kendi kendine kapanan bir rezervuarının olmasıdır. Valfli port yapısına göre doku genişleticiler 2 temel gruba ayrılmaktadır: Tümleşik (genişletici içine yerleştirilmiş entegre sistem) ve uzaktan silikon tüp (port) bağlantılı olanlar. Tümleşik portlu genişleticilerin avantajı dokuya yerleştirilme sırasında tek bir poş diseksiyonunun yeterli olmasıdır. En önemli dezavantajı;

şışirilme işlemi sırasında, iğnenin yanlış yönde ilerletilmesiyle oluşabilecek doku genişleticinin delinmesidir. Uzak internal portlu doku genişleticilerde bu tür komplikasyonun çok nadir görülmesi avantaj olmasına rağmen portun yerleştirilmesi için ikinci bir poşun diseksiyonu, tüpün kendi etrafında dönmesiyle enjeksiyonun imkansız hale gelmesi ve portun yer değiştirmesi temel dezavantajlarıdır. Oluşan dokunun gerçek miktarı yüzey alanındaki matematiksel olarak beklenenin sadece bir parçasıdır (yaklaşık %35) [45]. Defektin iki katı kadar alanı kaplayacak yeterli yumuşak doku kazanana kadar genişletme devam edilir. Hedef hacime ulaşıldıktan sonra 2-3 hafta beklemek genişletilmiş derinin yumuşaması için alışlagelmiş bir durumdur. Bu, flep transpozisyonu sırasında karşılaşılabilecek olan kontraksiyonun miktarını azaltır. İlginç olarak, genişleticide bir soruna yol açmadan, hedeflenen hacmin 2-3 katı şışirilebilmektedir.

2.1.5. Komplikasyonlar

Dezavantajlar, genişletme süreci sırasındaki geçici kozmetik deformite, genişletmenin uzamış periyodu, birden çok işleme ihtiyaç olması, implant ve yerleşimi ile ilgili komplikasyonları içerir. Doku genişletici kullanımına bağlı olarak görülen komplikasyonlar major ve minor olarak iki gruba ayrılır. Major komplikasyonlar; flepte dolaşım bozukluğu, enfeksiyon ve implantın açığa çıkmasıdır. Minor komplikasyonlar ise seroma, geçici ağrı, cerrahi alanda köpek kulağı gelişmesi ve genişlemiş hipertrofik skarlardır. Bunun dışında implantın uygulandığı alana göre de komplikasyonlar görülebilir [2]. Buna örnek olarak; alın bölgesine uygulandığında gelişen kaş asimetrisi, kaş düşüklüğü, ön saç çizgisinde asimetri; skalpte kullanıldığında kemikte görülen geçici şekil değişikliği gösterilebilir. 2010’ da Huang ve ark.larının [14] yaptığı bir metaanaliz çalışmasında doku genişleticilerinin kullanılmasına bağlı olarak %17.44 oranında major komplikasyon görülmüş, en sık enfeksiyon gözlenmiş, en sık komplikasyon görülen bölge ise alt ekstremité olarak belirtilmiştir. Ekstremité bölgesinin genişletilmiş flepler için elverişsiz olması komplikasyon oranlarını artırmaktadır. Casanova ve ark.larının yaptığı bir çalışmada doku genişleticilerinin

kullanılmasına bağı olarak %15 oranında major komplikasyon görülmüş, ekstremit dış alanlarda implant kullanımıyla görülen tüm komplikasyonların oranı % 23 iken bu oran ekstremitelerde % 47'ye ulaşmıştır [4]. Primer kapatılamayan veya gerginlik olan yumuşak doku defekti tedavisinde doku genişletici uygulanabilir. Fakat bu yöntemde başarılı bir sonuç için en önemli kriter hasta seçimidir. Bu yöntem emosyonel yönden stabil her hastada iyi tolere edilir, ancak implantın şişirildiği dönemde hastanın sosyal aktivitelerinin kısıtlanacağı göz ardı edilmemelidir.

2.1.6. Kontrendikasyonlar

Deri kanlanması yetersiz olması, radyoterapi görmüş olan bir alan olması, protezi örtecek yeterli doku olmaması, uygulama planlanan bölgede sellülit veya enfeksiyon, hastanın psikolojik durumu ve uyumunun yetersiz olması doku genişletici uygulamaları için kontrendikasyon olabilir.

2.1.7. Doku Genişleticilerle Ekstremit Rekonstrüksiyonu

Klasik olarak doku genişletmesinin ekstremitelerde (özellikle alt) kullanımı daha yüksek komplikasyon oranlarını beraber getirir. Ekstremitelerde doku genişletici deri fasyasının üzerine yerleştirilmelidir. Ekstremitelerde segmental innervasyon paterni olmadığından duysal sinir veya damarlara yakın genişletme yapılırken dikkatli olunmalıdır. Nadiren geçici nöropraksi alt ekstremit için bildirilmiştir ancak üst ekstremit böyle bir bilgi yoktur. Eğer nöropraksi gelişirse doku genişletici indirilir ve bir süre beklenip daha yavaş şişirilir. Doku genişletici eklemleri kat etmemeli ve eklem hareketlerine engel olmamalıdır. Eklem ve tendon üzerine çevrilen flep altındaki kapsül yüzeyi yapışmayan esnek bir yüzey sağlar. Tümör, travma, tatuaj, konjenital anomaliye bağı lezyonlar bu yöntemle tedavi edilebilir.

Genişletme sonrasında ekstemitenin kuvvet ve fonksiyonlarında değişiklik olmamakla birlikte kol ve bacak kaslarında ciddi anatomik distorsiyon oluşabilir. Uygulama hastanın ekstremitelerini kullanmasına engel değildir. El ve ayak dorsalindeki defektler, uygulama süreci için çok uygundur. Fakat el volar ve ayak plantar yüz uygulamaları çok ağrılı ve bu bölgeler genişlemeye dirençli olduklarından uygulama önerilmez. Diz st uyluk bölgesi cildi kalın olduğundan doku genişletilme kolaydır. Diz altı bölgede şişirme özellikle geniş defektleri olan travma hastalarında risklidir; temiz izole defektler için ise uygundur. Multiple küçük doku genişleticilerin kullanımı implant kaybını önlemek için kullanılabilir. Eğer sellülit veya dokuda reaksiyon gelişirse protez boşaltılır veya çıkarılabilir.

2001 yılında Casanova ve ark.larının [4] yaptığı çalışma alt ekstremitede internal port ve eksternal portlu 207 doku genişleticinin kullanıldığı seriyi kapsamaktadır (eksternal port daha az sızdırma fakat daha fazla enfeksiyon oranı içerir). Bu çalışmada komplikasyon oranının %15 olduğu ve bunların ise ekspozite olma ve flep elevasyonuna bağlı hasarlanmalar olduğu bildirilmiştir. Transpozisyon flepleri yerine ilerletme flepleri tercih edilmiştir. Yazarlar doku genişletici seçimi ve yerleşimi ile ilgili eklemlerden, skarlardan veya radyoterapi görmüş ciltten kaçınılması gerektiğini, doku genişleticilerin uzunlamasına konulmasını; tercihen birden fazla doku genişletici yerleştirilmesini, fasya üzerinden atravmatik kr diseksiyondan uzak durarak radial insizyonun tercih edilmesini vurgulamışlardır.

2002 yılında Pandya ve ark.larının [46] yaptığı çalışma 88 hastayı içeren 8 yıllık retrospektif bir analizi içerir. Hastalara kısa insizyonla ve ekspansiyon yönüne radial olacak şekilde doku genişleticiler yerleştirip salın ve metilen mavisi ile intraoperatif olarak ekspansiyon yapmışlardır. Ekstremiteler dışı ekspansiyon genellikle meme rekonstruksiyonunda; ekstremiteler ekspansiyonu ise posttravmatik skarlar ve diğer kontur deformitelerde kullanmışlardır. En sık görülen komplikasyon enfeksiyon ve doku genişleticinin ekspozisyonudur. Uzunluklarda

genel komplikasyon oranı %43'tur ve en fazla alt ekstremitededir. Ekspoze ve enfekte olmuş doku genişleticilere sahip hastalar iyileşene kadar hastanede yatırılıp, antibiyotik ve pansumanlarla takip edilmiş ve daha sonra eğer mümkünse tekrar şişirmeye devam edilmiştir. Konservatif tedaviye yanıt vermeyenlerde ise hızlı ekspansiyon ve ekspansiyon olmuş dokunun kullanımından sonra ekspander çıkarılmıştır.

Geçmiş yıllarda doku genişletici kullanımının kan dolaşımı, kapsül oluşumu, doku toleransı, histomorfolojik değişim ve komplikasyonu üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Ayrıca dokunun genişleme kapasitesinin artırılması üzerine de bazı çalışmalarda yapılmıştır. Örneğin Copcu ve ark.ları verapamilin doku genişlemesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Tavşanlar üzerinde yapılan bu çalışmada verapamil enjekte edilen tavşanlarda enjekte edilmeyen tavşanlara göre doku genişleticinin vücuttan çıkarılması ile oluşan retraksiyonun daha az olduğu görülmüştür [47].

2.2. Botulinum Toksin

Botulinum toksin (BTx), sporlu, gram (+), anaerob Clostridium botulinum'un ekzotoksinidir. BTx dünyada bilinen en kuvvetli biyolojik zehirdir. BTx'in A, B, C1, D, E, F ve G olmak üzere yedi farklı serotipi bulunur [13, 48]. Clostridium ailesinin iki ana ögesi, temel yapı ve fonksiyonel özellikleri benzerlik gösteren Clostridium Tetani ve Clostridium botulinum'dur. Cl. Tetani merkezi sinir sistemi üzerine, Cl. Botulinum ise periferik sinir sistemi üzerine etkilidir.

2.2.1. Tarihçe

BTx' in tedavi edici etkisini Dr. Justinus Kerner 1817 yılında klinik olarak ilk tanımlayan kişidir. Kerner "sosis zehiri" adını verdiği ve sosisten kaynaklanan bir yağ asidinin kaslarda felç etkisi yarattığını gözlemiştir ve 1820 yılında

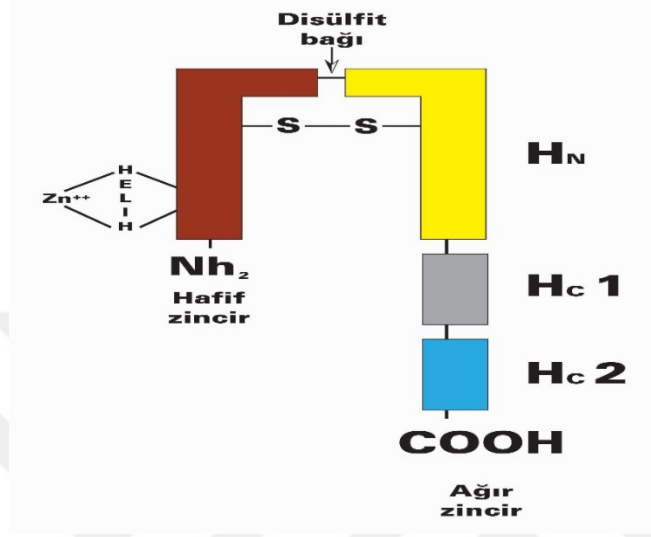
botulinum toksininin klinik olarak ortaya çıkardığı semptomları 76 hastada yaptığı çalışmalar sonucu ortaya koymuştur [49]. Dr. Justinus Kerner 1822 yılında toksinin sempatik ve parasempatik sinir sistemi üzerinden etki ederek felç durumu yarattığını fakat duysal semptomlara yol açmadığını farkına vararak, toksinin tedavi için kullanılabileceğini düşünmüştür. Daha sonra 1895 yılında Ellezelles BTx' in kaslarda paralizi yaparak ölüme sebep olduğunu bildirmiş, toksini ortaya çıkaran bakteriyi ve toksinin kendisini izole ederek anaerobik sporlu olan bakteriye “Bacillus botulinus” adını vermiştir. Latince “botulus” ise sosis anlamına gelmektedir, ilerleyen zaman içinde isim değişerek Cl. botulinum haline gelmiştir ve toksini ise ‘**botulism**’ olarak isimlendirilmiştir [50]. Botulizm için ilk antiserum 1897’de W.Kemper tarafından geliştirilmiştir. BTx-A ise 1920 yılında Dr.Herman Sommer tarafından izole edildi [51]. 1949’da Burgen BTx’ in etki mekanizmasını tanımlamıştır. 1950 yılında Dr. Vernon Brooks BTx’ in, nöromusküler kavşakta asetilkolin salınımını bloke edip hedef kasta felç etkisi yarattığını göstermiştir [52].

2.2.2. Moleküler Yapı

BTx, çinko endopeptidi olup, çinko bağlayıcı endoproteaz içeren ve molekül ağırlığı 100 kD olan ağır ve molekül ağırlığı 50 kD olan hafif zincirden meydana gelir. Ağır ve hafif zincir birbirine disulfid bağı ile bağlanmış olup hafif zincir çinko(Zn) ile ilişkilidir. Bağlanma, translokasyon ve katalitik fonksiyonları sağlayan üç ayrı bölümü vardır [53] (Şekil 2. 1).

Ağır zincirin Karbon(C) ve Azot(N) terminalleri bulunmaktadır. C terminali, kolinerjik sistem terminaline afiniteden ve presinaptik reseptörlerin aracılık ettiği hücreye bağlanmadan sorumludur. N terminali ise toksinin hücre içinde yer değiştirmesini ve hafif zincirin endozomal alana geçişini sağlar. Hafif zincir intraselüler etkili nörotoksin parçasını oluşturmaktadır. Bu parça membranların birleşmesinden sorumlu SNARE (solubl N-ethyl maleimide-sensitiv factor attachment proteine receptor) proteinlerine bağlanır. SNARE proteinlerinin bütünlüğü ekzositoz için mutlaka gereklidir [6, 54]. BTx hedefi,

hücre duvarındaki SNARE proteindir. Klinik kullanımı en sık olan BTx-A preparatı bir SNARE proteini olan synaptosome-associated protein-25(SNAP-25)'e bağlanarak etkisini gösterir [55-59].



Şekil 2. 1: BTx-A'nın moleküler yapısı

Normal fizyolojide, hücre sitoplazmasında yer alan bu proteinlerin bir bölümü endozom membranına, bir bölümü de bunlara karşılık olarak presinaptik hücre membranına yerleşir ve kalsiyum kanalı aracılığı ile hücre içerisine kalsiyum girişi ve sintagmin proteinin katkısıyla membranların füzyonu gerçekleşir. Böylece asetilkolin sinaptik aralığa boşalır. BTX'un hafif zinciri bu proteinlere bağlanır ve SNARE proteinlerinin biri veya birkaçını parçalayarak, sinaptik aralığa asetilkolin salınımını önleyerek kasta geriye dönüşümlü paralizi yapar [60]. Endozom; Klatrin gibi kılıf proteinlerinin membranı çevreleyip çukurcuk ve tomurcuklanarak vezikül oluşturması ile meydana gelir. Asetilkolin içeren sinaptik veziküller endozomdan tomurcuklanarak oluşur ve asetilkolin havuzuna katılır. Bu veziküller daha sonra asetilkolinin sinaptik aralığa boşalması için birleşim ve füzyon aşamalarından geçer.

Botulinum toksininin yol açtığı paralizi üç adımda gerçekleşir;

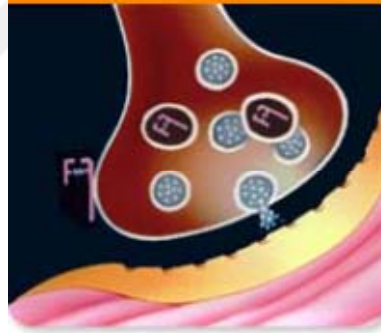
1. Bağlanma: Presinaptik kolinerjik reseptörlere geri dönüşsüz olarak bağlanır (Şekil 2. 2).



Şekil 2. 2: BTx-A presinaptik nöron bağlanmış durumda

(http://www.derm.net/images/my_mode_of_action.jpg)

2. Hücre içine giriş: Nörotoksin reseptör bağımlı endositoz ile hücre içine girdikten sonra ağır ve hafif zinciri bağlayan disülfid bağları bilinmeyen bir mekanizma ile kırılır. Daha sonra ağır zincirin N terminali toksinin hücre içinde yer değiştirmesini ve hafif zincirin endosomal membrana geçişini sağlar (Şekil 2. 3).

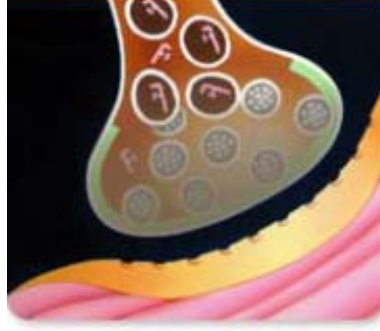


Şekil 2. 3: BTx-A presinaptik nörona endositoz ile girmiş durumda

(http://www.derm.net/images/my_mode_of_action.jpg)

3. Nörotransmitter salınımının inhibisyonu: Asetilkolin taşıyan veziküllerin hücre zarı ile birleşerek, içerdiği asetilkolini nöromüsküler kavşağa veya ekrin bezlerinin otonomik boşluklarına bırakması için hücre içinde aktif SNARE kompleksinin bulunması gereklidir. BTx-A'nın hafif zinciri intrasellüler etkili nörotoksin parçasını oluşturmaktadır. Bu parça, endozom membranı ile presinaptik membranın birleşmesinden sorumlu SNARE proteinlerine bağlanır [61, 62]. Daha sonra çinko bağımlı endopeptidaz aktivitesi ile birkaçını

parçalayarak kalsiyum kanalı aracılığı ile olan membran füzyonunu önler ve böylece asetilkolin salınımı engellenmiş olur [63, 64] (Şekil 2. 4).



Şekil 2. 4: BTx-A presinaptik nöronda asetilkolin salınımını bloke etmiş durumda http://www.derm.net/images/my_mode_of_action.jpg.

Lokal olarak yapılan küçük miktarda BTx enjeksiyon yerinde kolinerjik motor sinir uçları tarafından tutulur ve nöromusküler bloğuna neden olur. Böylece toksin sistemik etki yapmadan lokalize paralizi yapar. Yeni motor sinir dallarının gelişmesi sonucu toksinin etkileri ortadan kalkar [62].

Başlangıçta, nonkollateral aksonal filizlenme oluşur. Bu sinir terminalleri, motor son plak bölgesinin ekspansiyonuna yol açıp yeni bir nöromusküler bileşkenin inşa edilmesini sağlarlar. Bu yeni kollateral aksonlar, 28 günde iyileşir ve bütün nöral iletim yeni filizlenen aksonlar aracılığı ile olur. Orijinal ana terminaller nöral geçişi yeniden kazanır ve yeni oluşan aksonal filizlenmelerin sinaptik fonksiyonlarının kaybı ve eliminasyonları gözlenir. Bu yaklaşık 91 gün sonra tamamlanır ki BTx aktivitesinin klinik kaybı ile bağlantılıdır [65, 66].

Cl. botulinum'a ait 8 tip nörotoksin tanımlanmış; bunlar A, B, C-1, C-2, D, E, F ve G olarak adlandırılmıştır [67, 68]. Bu nörotoksinler yapısal olarak birbirine benzese de antijenite ve serolojileri birbirinden farklıdır. İnsanlarda ortaya çıkan botulinizm tablosu ise A, B, E ve nadir olarak F tipi etkisiyle ortaya çıkmaktadır [12]. C ve E nörotoksinleri ise sadece hayvanlarda etkinlik göstermektedir. BTx-A ve BTx-E, SNAP-25, BTx-B, BTx-D ve BTx-F

synaptobrevin ve BTx-C syntaxin üzerinden etki eder [12]. Nörotoksin tipleri ve reseptörleri tabloda özetlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Botulinum toksini alt tipleri ve hedef hücreler [12, 69].

Serotip	Hedef SNARE Proteini	Etkilenen hücre	Bulan kişi	Hedef lokalizasyon
BTX-A	SNAP-25	Nöron	Landman, 1904	Presinaptik hücre membranı
BTX-B	Synaptobrevin	Nöron	Ermengem, 1897	Sinaptik vezikül
BTX-C	Sintaksin SNAP-25	Nöron Nöron	Bengon, Seldon, 1922	Presinaptik hücre membranı
BTX-D	Synaptobrevin Cellübrein	Nöron Tüm hücreler	Robinson, 1929	Presinaptik hücre membranı Endostoz vezikülleri
BTX-E	SNAP-25	Nöron	Gunnison, 1936	Presinaptik hücre membranı
BTX-F	Synaptobrevin Cellubrevin	Nöron Tüm hücreler	Moller, Scheibel, 1960	Sinaptik vezikül Endostoz vezikülleri
BTX-G	Synaptobrevin	Nöron	Gmenez, Occarelli, 1970	Çoklu mekanizma

Botulinum toksin serotipleri, asetilkolin salınımını SNARE reseptör kompleksinin farklı elemanlarını bloke ederek engeller.

Özet olarak, botulinum toksini presinaptik alanda bulunan veziküller üzerindeki protein yapılı reseptörlere bağlanarak, vezikülün sinaptik membranla olan füzyonunu, dolayısıyla ekzostozu engeller [70]. Sinaptik iletinin engellenmesiyle birlikte inerve edilen kasta zayıflama ve atrofi ortaya çıkar. Etkilenen sinir terminali dejenere olmamakla beraber nörotransmitter blokajı geri dönüşümsüzdür. Fonksiyonun geri dönmesi ancak yeni sinapsların oluşmasına bağlıdır [71].

2.2.3. İmmünolojik Özellikler

BTx'e karşı gelişen antikorlar belirgin olarak 150 kd toksine, nontoksin proteine veya her iki segmente olmak üzere, nörotoksin molekülünün herhangi bir bölgesine bağlanabilirler. Nontoksin bölümüne karşı oluşan antikorlar, klinik

olarak nörotoksin aktivitesini bozmadıklarından **“non-nötralizan antikorlar”** olarak tanımlanırlar. Nörotoksine karşı oluşan ve onun etkinliğini bloke eden antikorlar ise **“nötralizan antikorlar”** olarak isimlendirilir. BTx’in herhangi bir serotipini nötralize edebilen antikorlar, diğer tiplere karşı etkisizdir ve böyle bir immün yanıt oluşması halinde başka bir serotipe geçilmesi uygun olacaktır [72]. Servikal distoni sebebiyle fazla sayıda BTx-A enjeksiyonu yapılan hastaların %3-5’inde tedaviye yanıtsızlık gelişmiştir. Nötralizan antikorların gelişiminde en önemli risk faktörleri; enjeksiyonun sık aralık veya yüksek dozlarda uygulanmasıdır [73]. BTx-A’nın etkili en düşük dozunun kullanımı, enjeksiyonlar arası zamanın en az 8 hafta ya da ideal olarak 12 haftadan fazla olması, kısa sürede bolus enjeksiyonlardan kaçınılması ile immün direnç gelişimi engellenebilir [72, 74].

2.2.4. Doz Önerileri Ve Saklama Koşulları

Serotipler arasında BTx-A en sık kullanılan serotip olup, Avrupa’da Dysport® (Ipsen; Maidenhead, UK), Neuroblock® (Elan Pharmaceuticals) ve Botox® (Allergan; Irvine, Calif.) ticari isimleri ile bulunmaktadır. Sonradan FDA onayı alan BTx-B ise Myobloc® ticari adıyla satışa sunulmuştur. Bir ünite yada mouse unit (MU), periton içerisine enjeksiyon sonrası, 18-22 gr dişi Swiss-Webster farelerinin % 50’sini öldürebilecek doz olarak belirlenmiştir [74]. 70 kg ağırlığındaki bir kişi için LD50 (median lethal dose) 2300-2800 ünite BTx olup, spastisite tedavisi amacıyla kullanılan en yüksek doz ise 400 ünite dir [75].

Tablo 2: Sulandırma sonrası doz hesaplaması

	Flakon	Eklenen sulandırıcı	Doz Eşdeğeri	0.1 cc deki ünite	
BOTOX	A 100 IU	1CC 2CC 2.5CC	1 IU	10 IU 5 IU 4 IU	Allergan Inc. Irvine CA, USA
DYSPO	A 500 IU	2,5 CC	3-5 IU	20 IU	Ipsen Ltd. Maidenhead, Berkshire, UK
MYOBLOC NEUROBLOC	B 2500IU 5000 IU 10000 IU	-	50-100 IU	500 IU	Elan Pharmaceuticals, South San Francisco, CA, USA

BTx-A' nın tedavi edici doz aralığı oldukça geniştir ve sistemik toksisite olasılığı çok düşüktür. Ancak kaza ile zehirlenme ya da yüksek doza maruz kalınması durumunda, 24 saat içinde antitoksin verilmesi gerekmektedir [76]. Yüz bölgesinde BTx-A uygulamalarında, hayatı tehdit eden allerjik ya da ürtikeryal reaksiyonlar bildirilmemiştir. Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında uzun dönemde immunojenik, karsinojenik ve diğer potansiyel zararlı yan etkiler tespit edilmemiştir [76].

Tedavide kullanılan BTx, Cl. Botulinum'un çok miktarda toksin üreten suşlarından kültür yapılarak elde edilir. Elde edilen toksin ayrılır, çöktülür, saflaştırılır ve amonyum sülfatla kristalize edilir. Saflaştırılmış toz halindeki nörotoksin kompleksi 100 IU BTx-A içeren flakonlar halinde ambalajlanır. En sık kullanılan BTx-A preparatlarından Botox® -5 °C, Dysport® + 2-8 °C'de saklanmaktadır. Sulandırıldıktan sonra + 2-8 °C'de aseptik şartlarda korunmalıdır. Botox® sulandırılırken çalkalanıp köpürdüğünde denatüre hale geçtiğinden, oldukça dikkatli ve nazikçe serum fizyolojik solüsyonu flakon iç duvarına doğru verilmelidir. Sulandırılmış bir flakon Botox® 100 IU içerir ve bir kişiye uygulama için yeterli gelir. Botox® 1-10 ml serum fizyolojik ile seyreltilerek kullanılır.

Buna göre 2 ml serum fizyolojik ile seyreltilen Botox®, 0,1 ml’de 5 IU toksin içerir. +4°C’de saklanan sulandırılmış Botox® preparatlarının aktivitesi 1.günün sonunda %90-100, 3. gün % 70-80, 7. gün % 40-50, 14. günde minimal olarak bulunmuştur [77].

Sulandırılmış Botox® flakonlarının tekrar dondurulmasının, toksin aktivitesini korumada bir avantajının olmadığı görülmüş ve +4 °C’de 24 saatten az saklanması en uygun olduğu kabul edilmiştir. 2007 yılında Elmas ve ark. yaptığı çalışmada, iki hafta süre ile +4 °C’de saklanan Botox®’un etkileri, yeni sulandırılmış Botox®’un etkileri ile electron mikroskopik olarak kıyaslanmış ve beklemiş Botox®’un, yeni sulandırılmış Botox® ile aynı etkileri oluşturabildiği, ancak etki süresinin kısaldığı gösterilmiştir [78]. BTx A, enjeksiyon bölgesinde 3 cm kadar etraf cilde yayılabilir. Geniş alana yapılacak uygulamalar için örnek olabilecek uygulama, hiperhidrozis tedavisinde uygulandığı şekilde 1 cm aralıklarla “elek düzeni” şeklinde enjeksiyon uygulamasıdır [79]. BTx-A uygulandıktan sonra hücre içinde aktivitesinin başlaması ile klinik etkilerinin görülmesi 3-5 gün arasında olmaktadır. Maksimum etkisi ise yaklaşık 30. günde görülür [79, 80]. Tek noktaya en fazla 50 IU Botox® yapılabilir. Enjeksiyonlar 3 aydan önce tekrarlanmamalıdır.

BTx içeren şişeler düşük dozlarda toksin içerdiğinden sağlık personelinin botulinum toksoidi ile aşılması gerekmez. Toksin enfeksiyöz, yanıcı veya uçucu değildir. Teoride aerosoller tehlikeli yayılıma neden olurken pratikte ise problem oluşturmamıştır. Üretici firmaların önerisi; eğer işlem sırasında etrafa saçılan toksin olursa % 0.5 sodium hipoklorit ile inaktive edilebileceği şeklindedir [81].

2.2.5. Tavşanlarda Uygulanabilecek Btx-A Dozları Ve Etki Süresi

Tavşanlar üzerinde BTx deneyi ilk olarak 1953 yılında yapılmıştır [82]. Tavşan denekleri üzerinde BTx çalışmaları 1960 ve 1970’lerde BTx serolojisi,

tiplendirmesi ve etki mekanizması üzerine yoğunlaşmıştır. 1980'lerde toksinin klinik uygulamaya girişi ile birlikte duyarlılık çalışmaları, ekstraoküler kaslara ve vitreusa yani göz içi uygulamaları yaygın olarak yapılmıştır [83]. 2003 yılında Jabor ve ark.ları tarafından toksinin tavşan kulağındaki etkisi toksinin hazırlanma ve saklanma koşullarına göre değerlendirilmiş, tavşan kulağında paralitik etki oluşturacak minimum etkin dozunun 2.5 IU olduğu bulunmuştur [84]. Çalışmada değerlendirme için görsel ve elektrofizyolojik parametreler kullanılmıştır. Bir nanogram toksin yaklaşık 20 IU BTx-A eşdeğerindedir [85]. Tavşanlarda letal doz 0,5 ng dır (Tablo 3). Yaklaşık 1000 gr tavşanda uygulanan letal doz 10 IU BTx-A' dır.

Tablo 3: Bakteri toksinlerin letal dozları [86]

Toksin Çeşidi	Kg/Bünye İçin Lethal Miktar					
Cl. botulinum	Toksin Adı	Fare	Domuz	Tavşan	Maymun	İnsan
Tip A	Neurotoksin	1,2 ng i.p.	0,6 ng	0,5 ng	0,5-0,7 ng	Yaklaşık 1 ng
Tip B	Neurotoksin (proteolitik aktivite)	0,5 ng i.p. 1,2 ng i.p. 2 ng i.p.	0,6 ng i.p.			
Tip C1	Neurotoksin (proteolitik aktivite)	1.1 ng i.v.	Yaklaşık 1,1 ng	Yaklaşık 0,15 ng	Yaklaşık 0,4 ng	
Tip C2	Neurotoksin (proteolitik aktivite)	1,2 ng i.p.				
Tip D	Neurotoksin	0,4 ng i.p.	0,1 ng	0,08 ng	40 ng	
Tip E	Neurotoksin	1,1 ng	0,6 ng	1,1 ng	1,1 ng	
Tip F	Neurotoksin (proteolitik aktivite)	2,5 ng i.v.				

2.2.6. Tedavi Endikasyonları

Botulinum toksinin tedavi endikasyonları [12, 68, 87]:

- Fokal distoniler: istemsiz, sürekli veya spazmodik kas aktivitesi
 - Servikal distoni (spazmodik tortikoliz)
 - Blefarospazm
 - Laringeal distoni (spazmodik disfoni), Oromandibuler distoni, Turunkal distoni
 - Orolingual distoni, Ektremite distonisi (yazıcı krambı)
- Spastisite: Agonist veya antagonist kas tonusunda artma
 - İnme, Serebral palsy
 - Travmatik beyin hasarı, Spinal kord yaralanması
 - Multipl skleroz
- İstemsiz kas aktivitesi (Nondistonik Bozukluklar)
 - Hemifasiyal spazm
 - Tremor, Tikler, Myoklonus, Hereditör kas krampları
 - Myokimi ve sinkinezi
- Strabismus (konjuge göz hareketlerinde bozukluk ve nistagmus)
- Lokal kas spazmlı ve ağrılı bozukluklar
 - Kronik bel ağrısı
 - Myofasiyal ağrı sendromu
 - Artmış kas aktivitesi ile birlikte olan Temporomandibuler eklemler bozuklukları
 - Gerilim tipi baş ağrısı, Migren, Servikojenik baş ağrısı
- Düz kasların hiperaktif bozuklukları
 - Detrusor-sfinkter dissinerjisi

Selim prostat hipertrofisi

Akalazya kardiya

Hirschsprung hastalığı

Oddi sfinkteri disfonksiyonu

Kronik anal fissure

- Kozmetik kullanım

Hiperkinetik fasiyal cizgiler

Hipertrofik platizma kas bantları

- Terleme bozuklukları

Aksiller ve palmar hiperhidrozis

Frey sendromu (Aurikulotemporal sendrom)

Parotis cerrahisinden sonra yanaklarda yemek yeme sırasında terleme

2001’de Morris, BTx A’nın nöromuskuler kavşakta norepinefrin veziküllerinin salınımını bloke ederek domuz uterin arterinin düz kas hücrelerinde sempatik vazokonstrüksiyonu engellediğini ve kimyasal sempatektomi yaptığını göstermiştir [5]. Reyno hastalığı ile ilgili yapılan çalışmalarda BTx-A enjeksiyonu sonucunda hastaların ağrılarında belirgin azalma, parmak uçlarındaki ülserlerde iyileşme, atak sıklığında azalma ve parmak dolaşımının arttığını bildirmişlerdir [88, 89]. Hiperhidrozis, hipersiyalore, Frey’s sendromu, fasiyal asimetri, platizmal bantların tedavisinde de kullanılmaktadır [90, 91]. Subpektoral implant yerleştirilmesini takiben pektoral kas spazmını önlemek için BTx-A uygulanmış ve hastaların ameliyat sonrası dönemi ağrısız geçirmesi, elde edilen kozmetik sonucun daha iyi olması, geri dönüşümlü bir denervasyona sebep olmasından dolayı bu yöntemin, nörektomiye tercih edilebileceği ifade edilmiştir [92-94]. Ayrıca BTx-A pektoral adaledaki kasılmaların protez üzerine yaptığı çekintilerin önlenmesi amacıyla kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır [95]. BTx-A

fleksör tendon onarımı yapılmış hastaların kas origolarına uygulanmış ve tendon rüptürü oranlarının azaldığı bildirilmiştir [96]. O'Reilly ve ark.ları 2005 yılında aksiller hidradenit tedavisinde BTx-A kullanımı sonrasında bölgesel lezyonların kaybolduğunu ve 10 aylık süreçte rekürrens görmediklerini bildirmişler [97].

2.2.7. İlaç Etkileşimleri

Sinir-kas kavşağında nörotransmitter geçişini engelleyen ilaçlar BTx-A ile etkileşebilirler. Aminoglikozidler (Gentamisin), siklosporin, D-penisilamin, kas gevşeticiler (kürar tipi non-depolarizan blokörler, süksinilkolin), aminokinolonlar, kinidin, magnezyum sülfat, linkozamid BTx-A'nın etkisini değiştirebilen ilaçlardır. Bunların çoğu nöromüsküler geçiş üzerine intrinsik inhibitör etkiye sahip olduklarından, BTx-A'nın etkinliğini arttırırlar. Aminoglikozidler yüksek dozda sinir-kas kavşağında asetilkolinin salınımını önleyebilirler ve botulizm benzeri klinik bir duruma neden olabilirler. Siklosporin, nöromüsküler blokaja ikincil kas güçsüzlüğünü uyarabilir, literatürde bir olguda solunum yetmezliği görülmüştür[64]. D-penisilamin kullanımına bağlı romatoid artritli hastaların bir kısmında, asetilkoline karşı antikor oluştuğu tespit edilmiştir. Bu hasta grubunda myastenia gravisli olgulara benzer şekilde kas güçsüzlüğü tespit edilmiştir. Bu etkilerin tersine klorokin ve hidroklorokin gibi aminokinolonlar, hücre içinde BTx-A ile etkileşime girerek, aktivitesini inhibe edebilir [76].

2.2.8. Bölgesel Ve Sistemik Yan Etkiler

Enjeksiyon sahasında ağrı, ödem, ekimoz sıklıkla uygulama tekniği ile ilgili olup yan etki olarak değerlendirilemez. BTx-A enjeksiyonlarından sonra, baş ağrıları, kuru ağız, grip benzeri (flu-like) tablo görülebilir [98]. Hastanın uygulama öncesi bu konularda bilgilendirilmesi önemlidir. Aspirin, antikoagülan, NSAİİ, E vitamini, ginseng, ginkgo ve yüksek doz sarımsak gibi bitkisel ilaçlar peteşiyal kanamaların oranını arttırmaktadır. Peteşilerin oluşumu 30 gauge iğne kullanımı, iğnenin sık aralıklarla yenilenmesi, öncesinde ve sonrasında soğuk

uygulanması ve enjeksiyonun intradermal yapılması ile azaltılabilir. Uygulama öncesi topikal anesteziklerin uygulanması enjeksiyonun daha az ağrılı olmasını sağlar.

Uygulama bölgesinde görülebilen geçici hiperestezi, enjeksiyon travması ve/veya BTx-A'nın lokalize antinosiseptif etkisi ile açıklanabilir. Enjeksiyon sonrası ter bezi aktivitesinin de bloke olmasına bağlı deride kuruma ve pullanma da gelişebilir. Nemlendiricilerin kullanımı ile bu belirtiler tedavi edilebilir. Sıklıkla gerilim tipi baş ağrılarında ve migren tedavisinde kullanılmakla birlikte, enjeksiyon sonrası nadiren geçici baş ağrısına neden olabilir. Bu baş ağrısının nedeni enjeksiyon sırasında iğnenin periosta ulaşması, kas enjeksiyonuna bağlı lokalize hematoma, enjeksiyon stresi olarak açıklanmaktadır. Sıklıkla birkaç saat sürer ancak nadiren 2 güne uzayabilir [76].

Yüz bölgesine yapılan uygulamalar sonucunda hayatı tehdit eden allerjik reaksiyonlar bildirilmemiştir. Nadiren erken dönemde enjeksiyon yapılan kaslarda güçsüzlük, blefarospazm ve hemifasiyal spazm tedavisi sonrasında ptozis, vertikal kayma, diplopi, epifora, kuru göz, lagofthalmi, nadiren entropiyon, ektropiyon, keratit, korneal perforasyon bildirilmiştir. Frontal bölgeye enjeksiyon sonrası kaş ptozisi, kaş asimetrisi ve kaşa kontur anomalileri görülebilir. Spazmodik tortikoliz tedavisinde ise disfaji, lokal zayıflık ve semptomatik genel zayıflık bildirilmiştir.

BTx-A'nın etkisinin en yoğun olduğu yer enjeksiyon alanıdır. Bunun yanında bu nörotoksinin küçük miktarları çevre dokulara veya sistemik dolaşıma geçebilir. Bu bölgesel ya da sistemik etkiler sıklıkla, tekrarlayan yüksek doz BTx-A uygulamaları sonucu ortaya çıkmasına karşın, blefarospazm tedavisi için düşük doz BTx-A uygulanan hastalarda da gözlenmiştir [99].

BTx-A hedef dokudan atıldığında ya da yanlışlıkla kan damarına enjekte

edildiğinde sistemik yan etkiler oluşabilir [100]. Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında immunolojik ve karsinojenik yan etkiler tespit edilmemiştir [76, 101]. BTx-A'nın çocuklarda güvenilirlik ve etkinliği kanıtlanamadığından gebelik ve emzirme dönemlerinde kullanımı önerilmemektedir. Botulinum toksinlerin teratojenitesi hakkında kesin bir bilgi yoktur. Ancak C kategorisinde bir ajan olarak kabul edilmektedir [102, 103]. Enjeksiyon sahasından uzaktaki kas dokusundaki etkiler, tek lif EMG çalışmaları ile gösterilebilir [104]. BTx-A'ya karşı antikor gelişmesi durumunda etki azalır ki bu immün cevap ilk birkaç yıl içinde görülür. Uygulamadan sonraki dört yıl içinde immün yanıt gelişmemesi halinde daha sonradan böyle bir cevap oluşma olasılığı çok düşüktür [104].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya T.C. Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 03.02.2016 tarih 65202830-050,04,04-30 sayılı izni ile onay verilmiştir. Çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje no: T-676) desteği alınarak Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

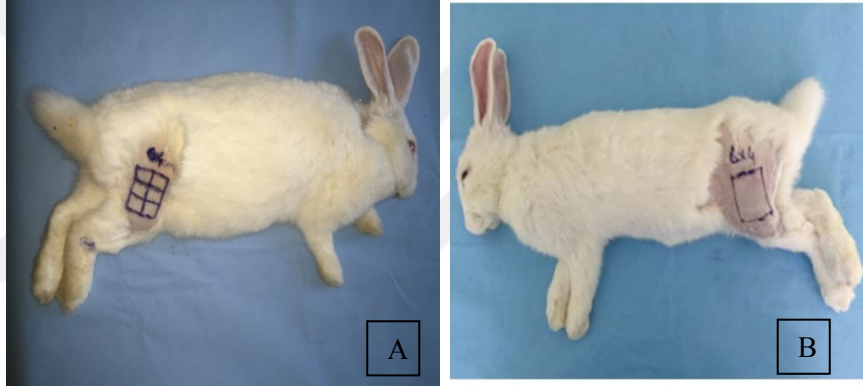
3.1.Denekler

Çalışmada ağırlıkları 2000-2300 gr arasında değişen 8 adet yetişkin erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Deneklerin arka bacaklarında diz superioru dış kısımları kullanıldı. Tavşanın bir arka bacağı deney grubu olarak, diğer arka bacağı kontrol grubu olarak kullanıldı. Literatürde BTx-A toksinin tavşanlarda kutanöz doku genişletme uygulaması üzerine bildirilmiş olan kesinleşmiş herhangi bir doz şekli yoktur. Bir nanogram toksin yaklaşık 20 IU BTx-A eşdeğerindedir [85]. Tavşanlarda letal doz 0,5 ng/kg' dır [86]. Yani 1000 gr' lık bir tavşanda letal doz 10 IU BTx-A dir. Çalışmamızda 10 IU/kg dozu referans alınarak tavşanlara uygulanacak doz hesaplandı. Bu dozu da 6x4 cm lik alan içinde 6 adet birbirine eşit uzaklıkta nokta (2' şer cm) [105] belirlenip her noktaya 3 IU BTx-A olacak şekilde her bir tavşanın arka bacaklarında diz superioruna subkutan olarak enjekte edildi.

I. Grup (Kontrol grubu): Tavşanın sol arka bacaklarında diz superiorunda 6x4 cm² lik alan planlandı (Şekil 3. 1). Cilt altı doku genişletici olarak 18 nolu silikon kaplı latex sonda(foley sonda) tercih edildi. Doku genişletici yerleştirilerek toplam 15 günlük sürede 3 gün aralarla toplam 90 cc serum fizyolojik ile doku genişletici şişirilerek cilt genişletildi.

II. Grup (BTX-A grubu): Tavşanın sağ arka bacaklarında diz

superiorunda 6x4 cm² lik alan planlandı (Şekil 3. 1). Bu alana doku genişleticiler (18 nolu silikon kaplı latex sonda) yerleştirilmeden bir hafta önce 2 cm aralıklarla hesaplanan BTx-A, 26 gauge (G) iğne uçlu enjektör ile subkutan olarak uygulandı. Beş gün etki süresi beklendikten sonra cilt altına doku genişletici yerleştirilerek 15 günlük sürede 2-3 er gün aralarla toplam 90 cc serum fizyolojik ile cilt genişletildi. 2013 yılında Altun ve ark.ların [106] yaptığı çalışmada BTx-A'nın preoperatif 5 gün önce yapılmasının flep viabilitesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Beş gün önce yapılmasının flep viabilitesine katkıda bulunduğunu gösteren bu çalışma baz alınarak çalışmamızda da aynı yöntem uygulandı.



Şekil 3. 1: Flep dizaynı. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu

Tablo 4: Deney grupları ve sayıları

Gruplar	Grup hayvan sayısı
1.Yalnız doku genişletici uygulanan grup(kontrol grubu)	8 (sol arka bacak diz superior)
2.Botulinum Toksin A uygulanıp doku genişletici uygulanan grup (deney grubu)	8 (sağ arka bacak diz superior)
Kullanılan toplam hayvan sayısı	8

3.2. Botulinum Toksin Tip A'nın Hazırlanışı

Botox® (Allergan, INC) flakonu, steril liyofilize formda 100 IU Cl. botulinum toksini tip A-hemaglutinin kompleksi 0.5 mg insan albumini ve 0.9 mg sodyum klorür içerir. 100 IU botulinum toksini içeren flakon, 5 ml serum fizyolojik ile sulandırılarak 2 IU/0,1 ml olarak formüle edilmiştir. Kontrollü enjeksiyon yapmak ve tavşan dozuna uygun bir uygulama yapmak için bu şekilde bir yol izlendi.

3.3.Cerrahi Teknik

Denekler çalışma süresince uygun kafeslerde, ısı, ışık ve hava akımının dengeli olduğu bir odada, $22\pm2^{\circ}\text{C}$ ısıda ve 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık döngüsünün sağlandığı koşullarda barındırıldı. Deneklerin beslenme ihtiyaçları standart laboratuvar yemi ve suyu verilerek düzenli olarak karşılandı. Tüm cerrahi işlemler % 10'luk ketamin HCL (50mg/kg- Alfamine® - IM) ve ksilazin HCL (2,5mg/kg- Rompun® - IM) anestezisi altında, kornea refleksi ve ekstremitte çekme yanıtı kaybolduktan sonra uyluk bölgesindeki tüyleri elektrikli traş makinesi ile traş edilerek temizlendi. Her tavşanın uyluk bölgesi ameliyat öncesi traş edilip ardından povidin iyodin ile preoperatif hazırlık yapıldı. İşlemler steril koşullarda gerçekleştirildi. Cerrahi işlem sonrası oto-kanibalizasyonu engellemek amacıyla file pansuman yöntemi ve plastik malzemedan yapılan koruyucu boyunluk kullanıldı (Şekil 3. 2) ve hayvanlar ayrı ayrı kafeslere konuldu. Denek kaybı sebebi ile çalışma dışı bırakılan deneklerin yerine aynı standartlara uygun yeni denekler eklenerek grupların sayısal eşitliği sağlandı. Çalışmada alınması planlanan 35 cc lik doku genişleticiler temin edilemediği için doku genişletici olarak 18 nolu foley sonda kullanıldı.



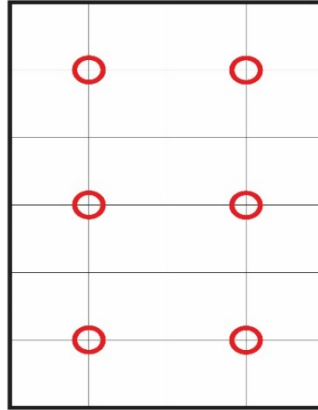
Şekil 3. 2: Tavşanlarda *oto-kanibalizasyonu* engellemek amaçlı boyunluk uygulaması ve bölgenin file bandaj ile sabitlenmesi

Tavşanların her iki alt ekstremitesi de aynı anda kullanılacağı için yan yatar olacak şekilde lateral dekübit pozisyonda yatırılarak sabitlendi. Kıl traşı ve povidon iyot ile ameliyat bölgesinin hazırlanmasından sonra, bu pozisyonda her iki uylukta olacak şekilde $6 \times 4 \text{ cm}^2$ lik alan işaretlendi (Şekil 3. 1). Soğuk zincirde korunarak laboratuara ulaştırılan 100 IU BTx-A içeren Botox® (Allergan, INC) flakonu steril şartlarda oda ısısında 5.0 cc serum fizyolojik ile sulandırıldı ve 0.1 ml'sinde 2 IU BTx-A olacak şekilde hazırlandı. BTx-A enjeksiyon yapılacak zamana kadar $+4^\circ\text{C}$ 'de bekletildi.

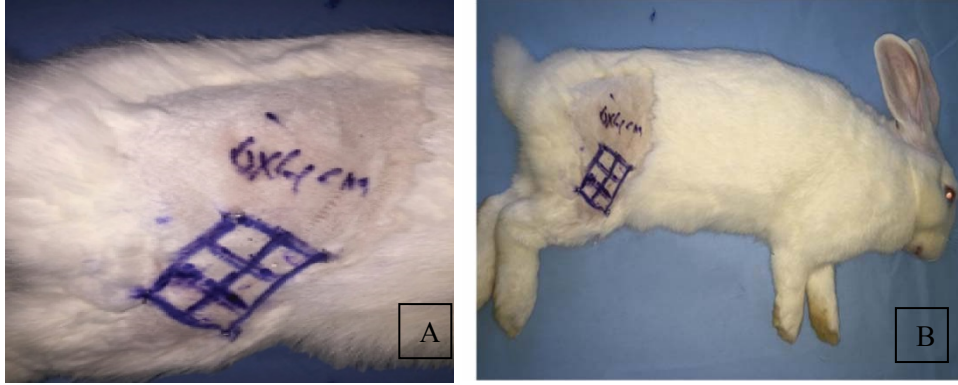
Deney grubundaki tavşanın sağ uyluğunda işaretlenen $6 \times 4 \text{ cm}^2$ lik alanda birbirine eşit uzaklıkta (2 cm) olacak şekilde 6 adet kare belirlendi ve bu karelerin orta kısımlarına (Şekil 3. 3) tavşanın ağırlığına göre hesaplanan toplam doz altıya eşit olarak bölünerek 26 G enjektör ucu ile BTx-A toksini subkutan olarak uygulandı. Sağ uyluktaki BTx-A uygulanmış alan sınırları kalıcı sütürlerle işaretlendi (Şekil 3. 5). Sınır belirleme işlemi ile hem BTx-A yapılan alanın belirlenmesi, hem de ikinci biyopsilerin şişirilme sonrası aynı anatomik lokalizasyondan alınarak standardizasyonun sağlanması için yapıldı.



Şekil 3. 3: BTx-A uygulaması için enjeksiyon noktaları

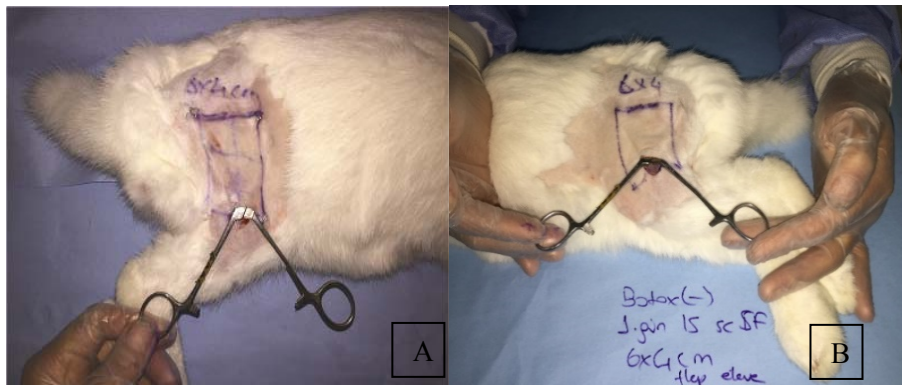


Şekil 3. 4: Çizim üzerinde uygulama noktalarını gösterilmesi



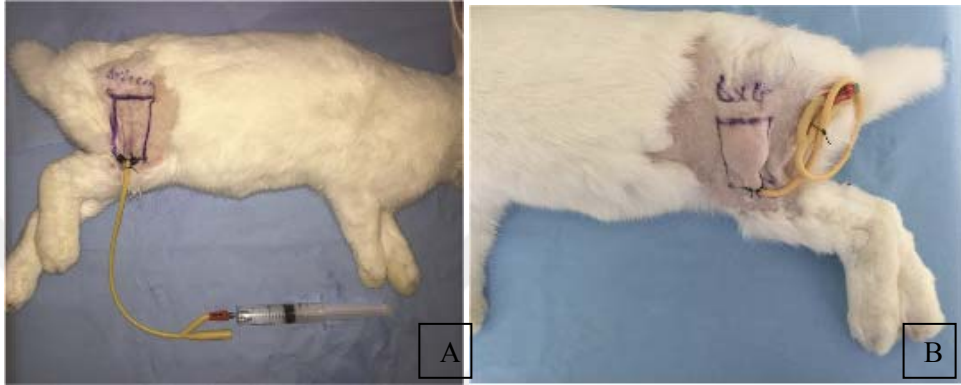
Şekil 3. 5: Flepte sınırları belirlemek için dört köşeden konulan tespit sütürleri

BTx-A uygulamasından 5 gün sonra, hem deney hem de kontrol grubunda uylukta planlanan 6x4 cm² lik alanın distal kısım orta noktasından 2 cm' lik insizyon yapılarak cilt ve pannikulus karnozusun altına ulaşıldı. Yapılan insizyon hattından histopatolojik inceleme amaçlı cilt ciltaltı ve pannikulus karnozusu içerecek şekilde tam kat biyopsi alındı. Biyopsi amaçlı alınan doku örnekleri %10'luk formol ile sabitlendi. Hem deney hem de kontrol grubunda biyopsi alındıktan sonra diseksiyon makasıyla yapılan künt disekyonla 6x4 cm²lik cilt adasının altı ve sondanın yerleştirileceği alan serbestleştirildi, hemostaz sağlandı (Şekil 3. 6).



Şekil 3. 6: Doku genişleticinin yerleştirileceği alanın gösterilmesi. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu

18 nolu silikon kaplı lateks sondadan oluşan doku genişletici diseke edilen alana yerleştirildi. Sistemin çalıştığı ve kaçak olup olmadığı kontrol edildi. Genişleticinin balonu ilk şişirmede 15 cc serum fizyolojik ile şişirildi. İnsizyon 2/0 ipek suture ile primer suture edildi (Şekil 3. 7).



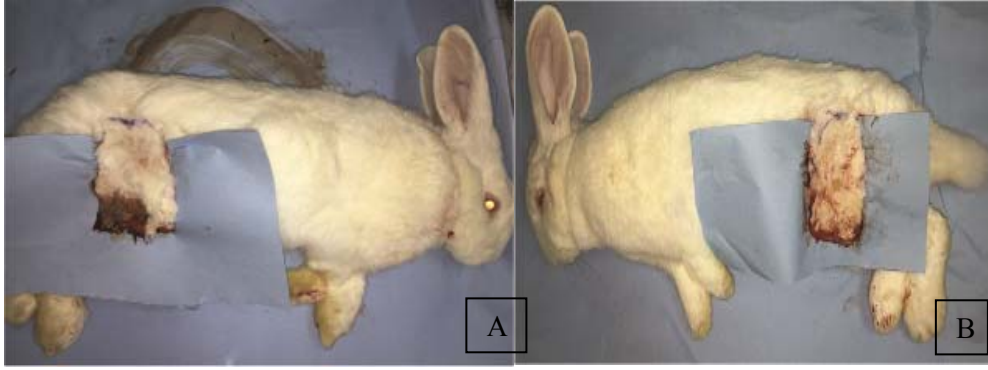
Şekil 3. 7: Doku genişleticinin konulması ve 15 cc SF ile şişirilmesi. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu

Deney ve kontrol grubundaki doku genişleticiler eş zamanlı olarak 2-3 er gün arayla her defasında yaklaşık 15 er cc serum fizyolojik ile şişirilerek hedeflenen son hacim olan 90 cc ye ulaşıldı (Şekil 3. 8).

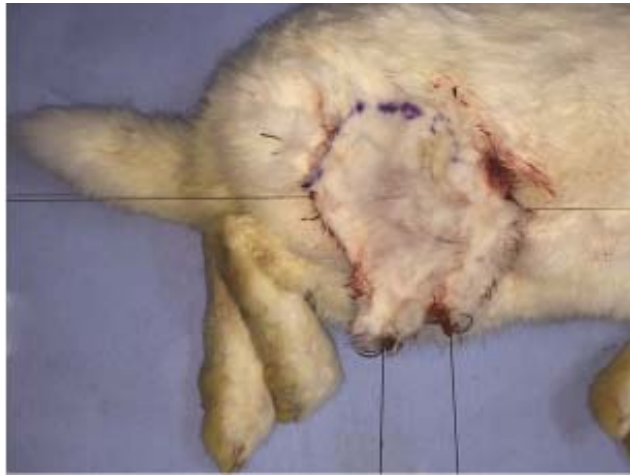


Şekil 3. 8: 90 cc SF kullanılarak ile tamamlanmış doku genişlemesi

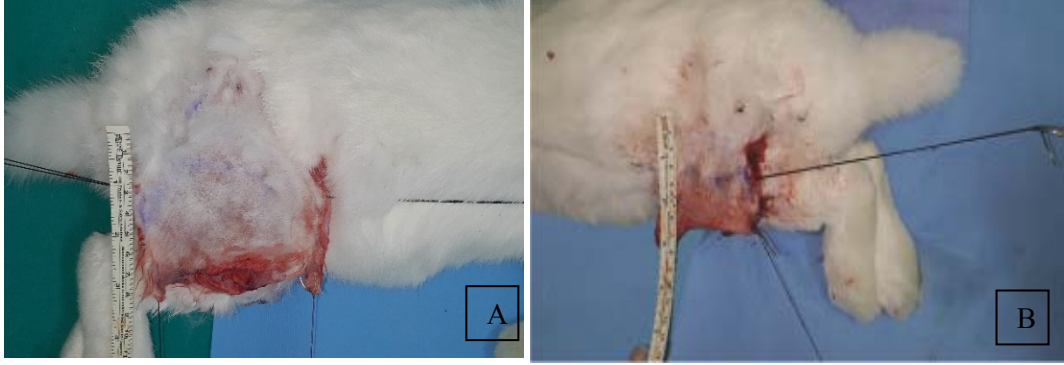
Daha sonra doku genişleticiler çıkarılarak expande olmuş derinin tamamını içerecek şekilde hazırlanan flepler superior bazlı olarak eleve edildi (Şekil 3. 9). Fleplerin distal uç ve yanlarına her yere eşit oranda basınç sağlamak için bir kasnak sistemi kuruldu (Şekil 3. 10). 2003 yılında Copcu ve ark.larının [47] yaptığı çalışmadan yararlanılarak kasnak düzeneği kurulmuştur. Kasnak sisteminin ucuna 1 newton ağırlığında bir ağırlık takıldı ve bu sistem flep uçlarına distalden iki köşe noktadan ve yan kenarlarında orta noktadan adapte edilerek her iki düzlemde flebin en (Şekil 3. 11) ve boy (Şekil 3. 12) uzunlukları ölçüldü ve hesaplamalar yapıldı. Ölçümler sonrasında her iki gruptaki kapsül görünümüne de bakıldı (Şekil 3. 13).



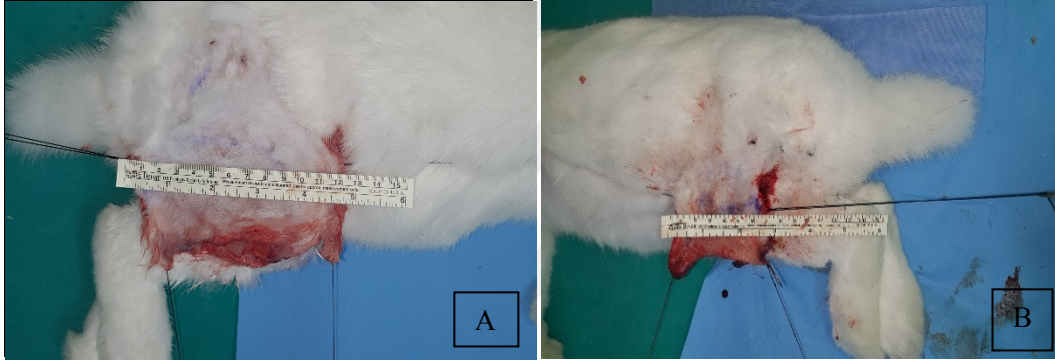
Şekil 3. 9: İnsizyon sonrası superior bazlı elde edilen flep. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu



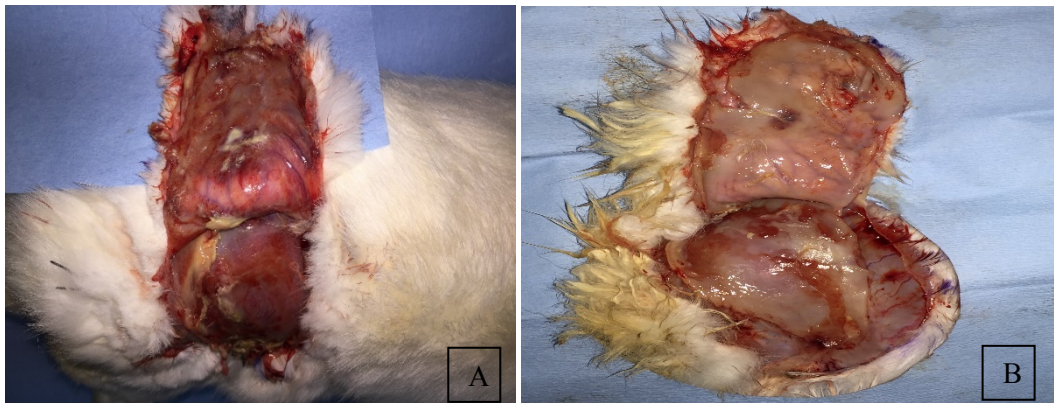
Şekil 3.10: Kasnak sistemi



Şekil 3. 11: Kasnak sistemi ile doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek ölçümleri. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu



Şekil 3. 12: Kasnak sistemi ile doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek ölçümleri. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu



Şekil 3. 13: Elevasyon sonrası kapsül görünümü. A: BTx-A uygulanan grup. B: Kontrol grubu

Genişletilen dokudan histopatolojik inceleme yapılması için cilt ciltaltı dokuları ve kapsülünü içerecek şekilde flepten ilk alınan biyopsi lokalizasyona uygun olacak şekilde aynı lokalizasyondan tam kat biyopsi alındı. Alınan biyopsi örnekleri %10'luk formol ile sabitlendi.

Çalışma sonunda denekler intrakardiyak Pentotal Na enjeksiyonu ile sakrifiye edildi.



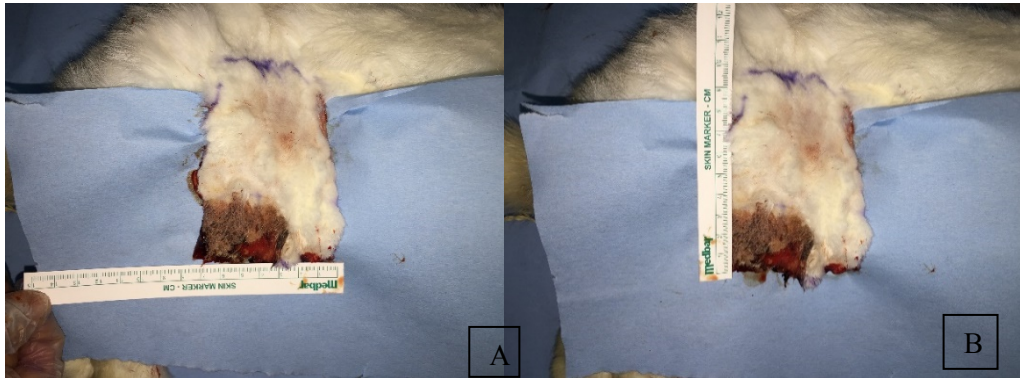
4. BULGULAR

İstatistiksel İncelemeler

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart Sapma, Medyan, Frekans, Oran, Minimum, Maksimum) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup karşılaştırmalarında uygulanan Wilcoxon Signed Ranks testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher-Freeman-Halton testi, Wilcoxon Signed Ranks Test ve Fisher's Exact test kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4.1. Cilt Genişletme Sonrası Ölçülen Alanlar

Başlangıçta her iki grupta birbirine eşit olacak şekilde 6x4 cm lik alanlar planlandı. Doku genişletmesi işleminden sonra doku genişletici çıkarılarak elde edilen flepler 3 kenarından kesildi, en ve boyları ölçüldü (Şekil 4. 1). ' $en(x)boy=alan$ ' formülünden yararlanılarak alanlar hesaplandı.



Şekil 4. 1: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümleri. A: Eninin ölçülmesi. B: Boyunun ölçülmesi

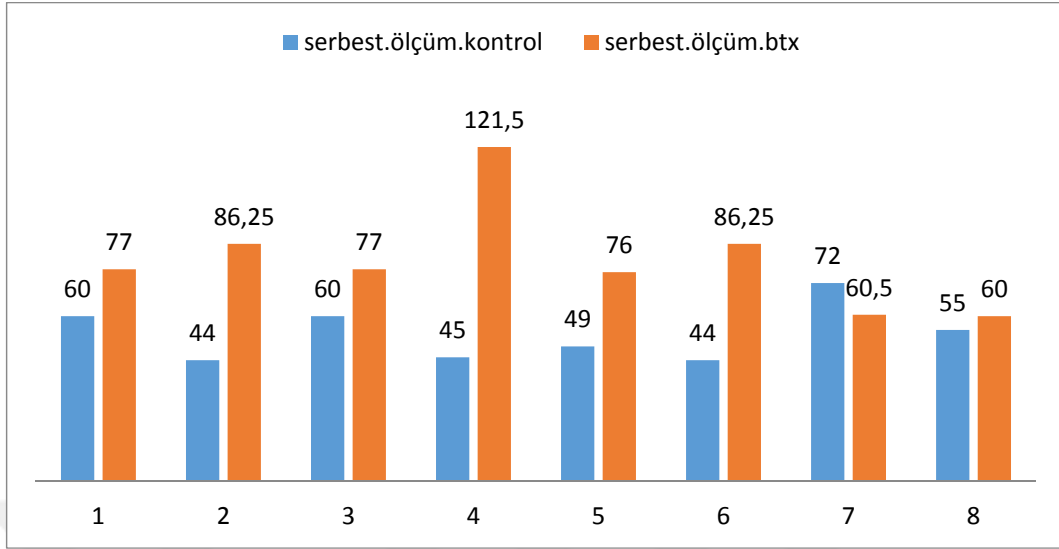
Tablo 5: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümleri

Denek sayısı	BTx-A uygulanmış grup enxboy cm ²	Kontrol grubu enxboy cm ²
1	7X11 (77)	6x10 (60)
2	7,5X11,5 (86,25)	4x11 (44)
3	7x11 (77)	6x10 (60)
4	9x13,5 (121,5)	5x9 (45)
5	8x9,5 (76)	7x7 (49)
6	7,5x11,5 (86,25)	4x11 (44)
7	5,5x11 (60,5)	6x12 (72)
8	6x10 (60)	5x11 (55)

Tablo 6: Gruplara göre doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümlerinin değerlendirilmesi

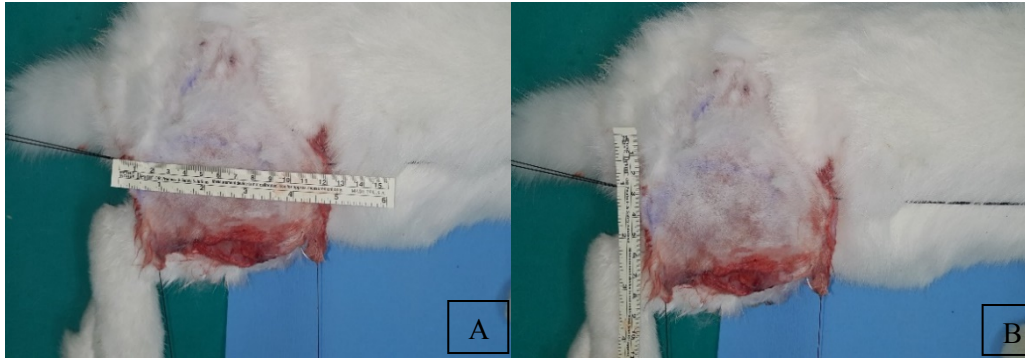
		Grup		p
		Botoks (+) (n=8)	Botoks (-) (n=8)	0,025
A	<i>Min-Mak</i>			
	<i>(Medyan)</i>	60-121.5 (77)	44-72 (52)	
	<i>Ort±Ss</i>	80.56±19.32	53.63±10.01	

*A: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümü^a Wilcoxon Signed Ranks Testi***



Şekil 4. 2: Gruplara göre doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümlerinin dağılımı

Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest (kontrakte) haldeki ölçümleri botokslu grupta istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.



Şekil 4. 3: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümleri. A: Eninin ölçülmesi. B: Boyunun ölçülmesi

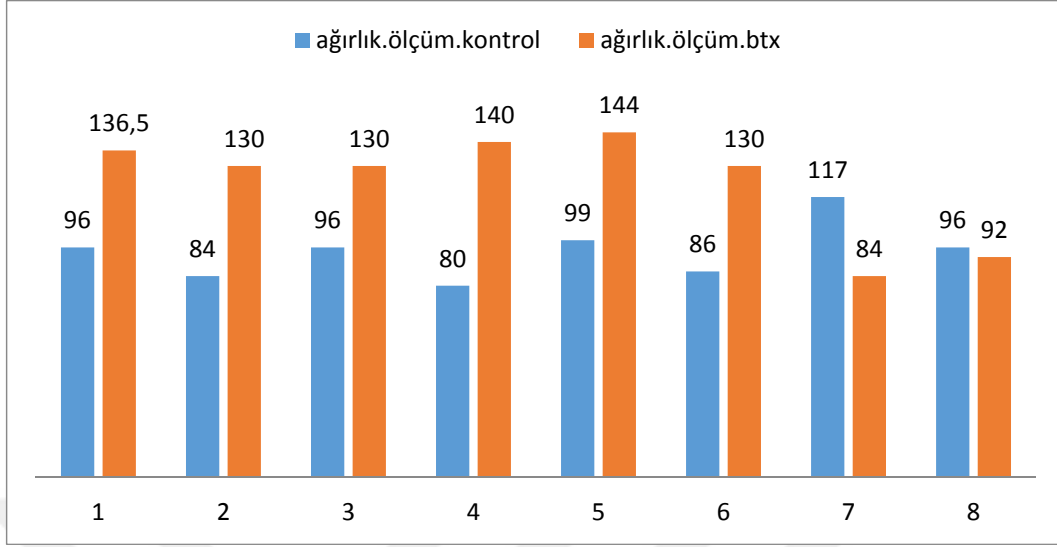
Tablo 7: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümleri

Denek sayısı	BTX-A uygulanmış grup enxboy cm ²	Kontrol grubu enxboy cm ²
1	10,5X14 (136,5)	8x12 (96)
2	10X13 (130)	7x12 (84)
3	10x13 (130)	8x12 (96)
4	10x14 (140)	8x10 (80)
5	12x12 (144)	9x11 (99)
6	10x13 (130)	7x12 (84)
7	7x12 (84)	9x13 (117)
8	8x11,5 (92)	8x12 (96)

Tablo 8: Gruplara göre doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümlerinin değerlendirilmesi

		Grup		p
		Botoks (n=8)	(+) Botoks (n=8)	(-) 0,036
B	<i>Min-Mak</i>			
	<i>(Medyan)</i>	84-144 (130)	80-117 (96)	
	<i>Ort±Ss</i>	123.31±22.49	94.00±11.72	

B: Doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek ölçümü
*Wilcoxon Signed Ranks Testi**

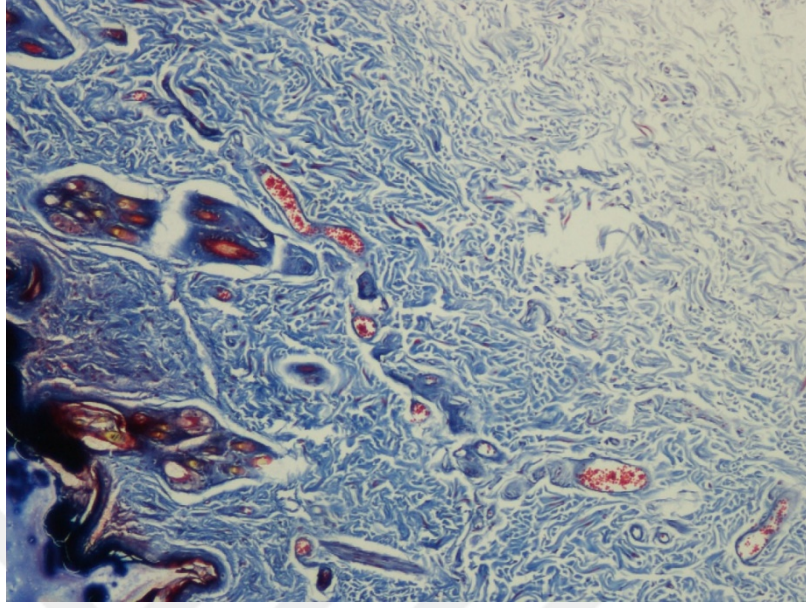


Şekil 4. 4: Gruplara göre doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümlerinin dağılımı

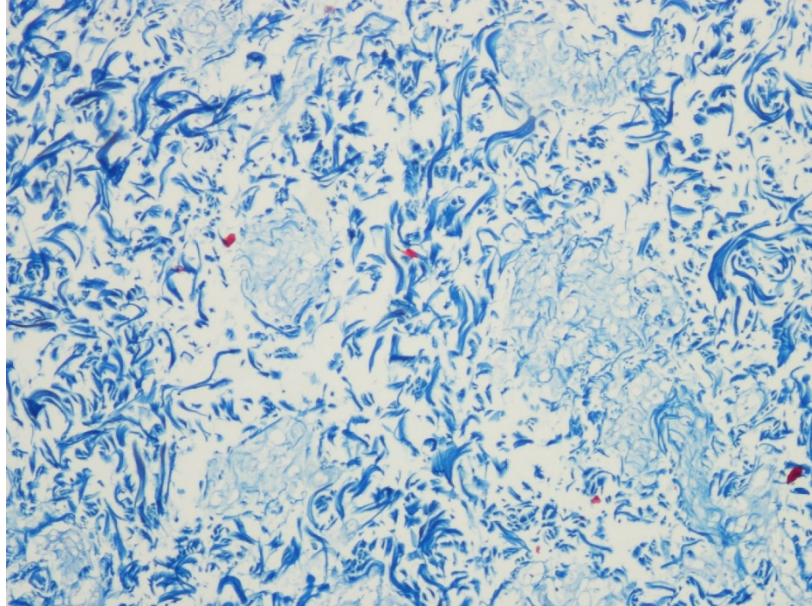
Doku genişletici çıkarılıp fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümleri karşılaştırıldığında botokslu grupta istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

4.3. Damar Yoğunluğu

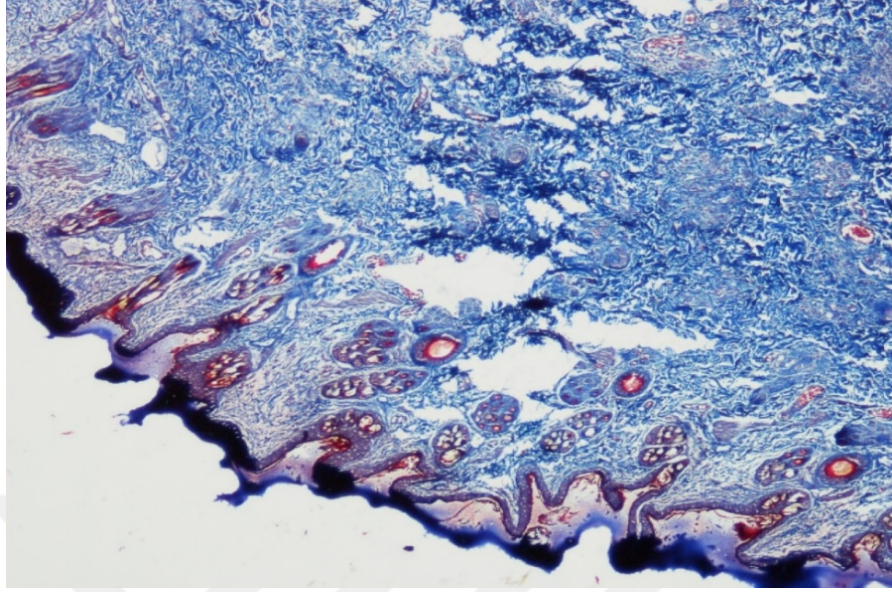
Masson trikrom ve **Hematoksilen-eozin boyası** ile boyalı kesitlerin değerlendirilmesinde deney ve kontrol grubundaki damar proliferasyonu 40x ve 100x büyütmede incelendi (Şekil 4. 5- 4. 6- 4. 7- 4. 8). Proliferasyon dereceleri, yeni oluşmuş olan kapiller damarlar göz önüne alınarak semi-kantitatif olarak yapıldı. Bu değerlendirmeye göre elde edilen skorlar tablo 6 ve 7'deki gibidir.



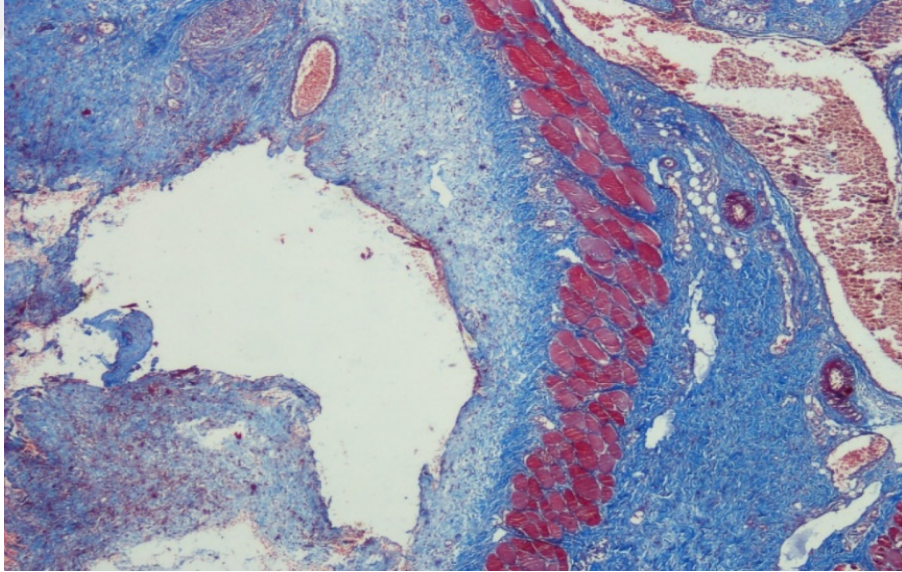
Şekil 4. 5: BTx-A uygulanmış grupta toksin uygulanmasından 5 gün sonra alınan biyopside görülen ağır konjesyon, yoğun damarlanma artışı (MT; x100)



Şekil 4. 6: Kontrol grubunda ilk biyopside normal damarlanmanın görünümü (MT; x100)



Şekil 4. 7: BTx-A uygulanmış grupta doku genişletici çıkarıldıktan sonraki görülen ağır konjesyon, yoğun damarlanma artışı (MT; x100)



Şekil 4. 8: BTx-A uygulanmış grupta doku genişletici çıkarıldıktan sonraki görülen çizgili kas seviyesindeki ağır konjesyon, yoğun damarlanma artışı, kaslar arası inflamasyon (MT; x40)

Tablo 9: Alınan ilk biyopsi materyalindeki damar yoğunluğu

DENEK	BTx-A uygulanmış grup	Kontrol grubu
1	+1	0
2	+1	0
3	+1	0
4	+1	0
5	+1	0
6	+1	0
7	+1	0
8	+1	0

0:YOK +1:AZ +2:ORTA +3:YOĞUN

Tablo 10: Doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki biyopsi materyalindeki damar yoğunluğu

Denek sayısı	BTx-A uygulanmış grup	Kontrol grubu
1	+3	+3
2	+3	+2
3	+3	+2
4	+3	+1
5	+3	+3
6	+3	+2
7	+2	+3
8	+3	+3

0:YOK +1:AZ +2:ORTA +3:YOĞUN

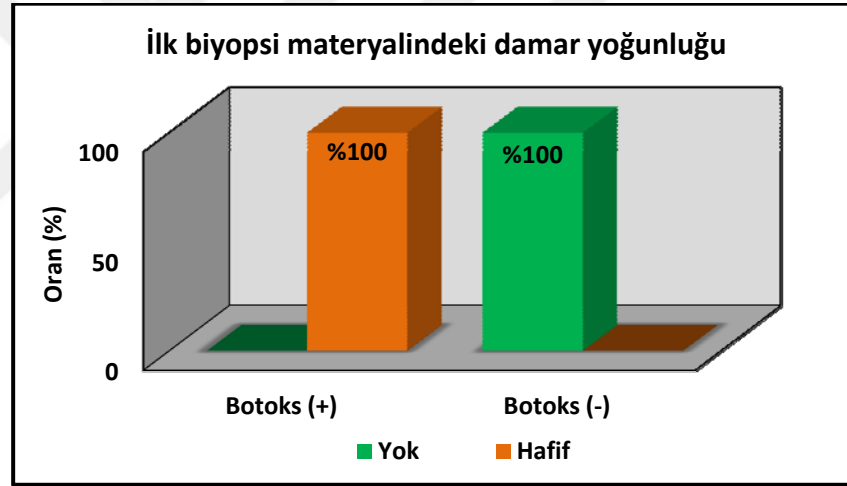
Tablo 11: Gruplara göre damar yoğunluğu düzeylerinin değeriendirilmesi

		Grup		P
		Botoks (+) (n=8)	Botoks (-) (n=8)	
İlk biyopsi materyalindeki damar yoğunluğu	Yok	0 (0)	8 (100)	^b 0.001**
	Hafif	8 (100)	0 (0)	
Doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki damar yoğunluğu	Hafif	0 (0)	1 (12.5)	^c 0.278
	Orta	1 (12.5)	3 (37.5)	
	Ağır	7 (87.5)	4 (50.0)	

^bFisher's Exact Test

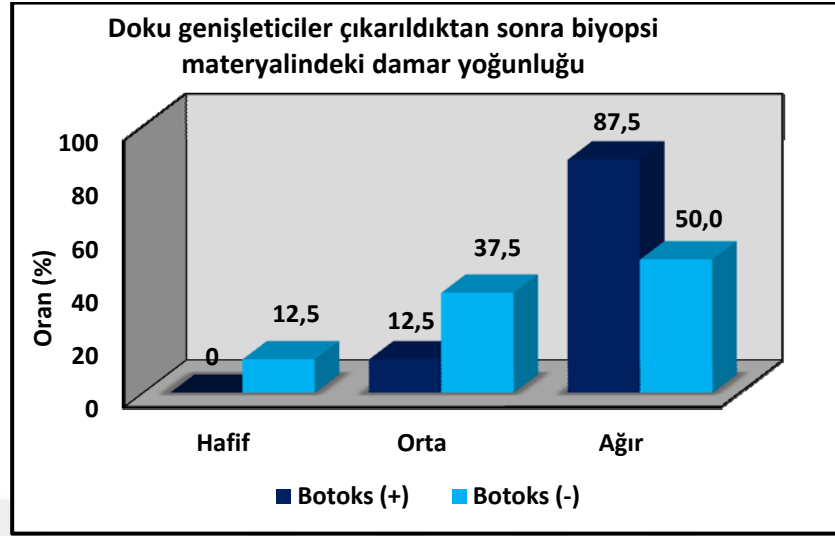
^cFisher Freeman Halton Test

** $p < 0,01$



Şekil 4. 9: Gruplara göre ilk biyopsi materyalindeki damar yoğunluklarının dağılımı

Botokslu gruptaki tüm ratlarda (n=8) ilk biyopsi damar yoğunlukları hafif düzeyde iken; botoksuz gruptaki ratlarda (n=8) damar yoğunluğu gözlenmemektedir. Bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,001$; $p<0,01$).

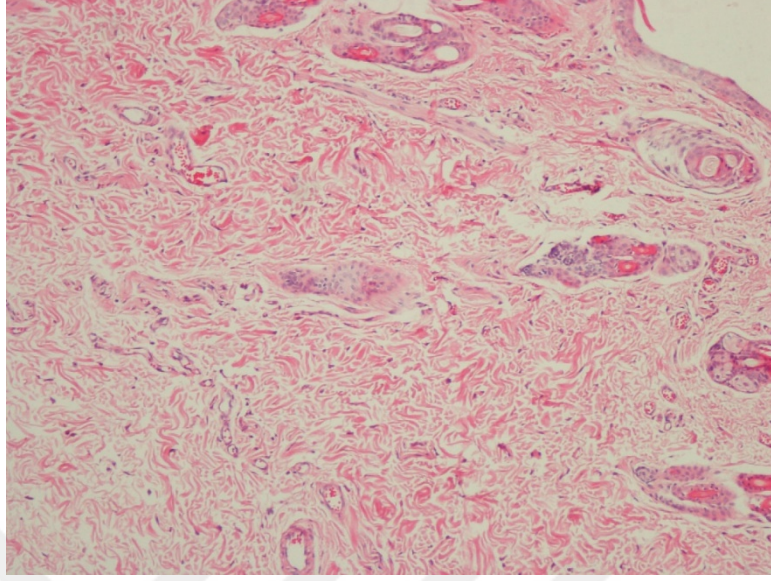


Şekil 4. 10: Gruplara göre doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki damar yoğunluklarının dağılımı

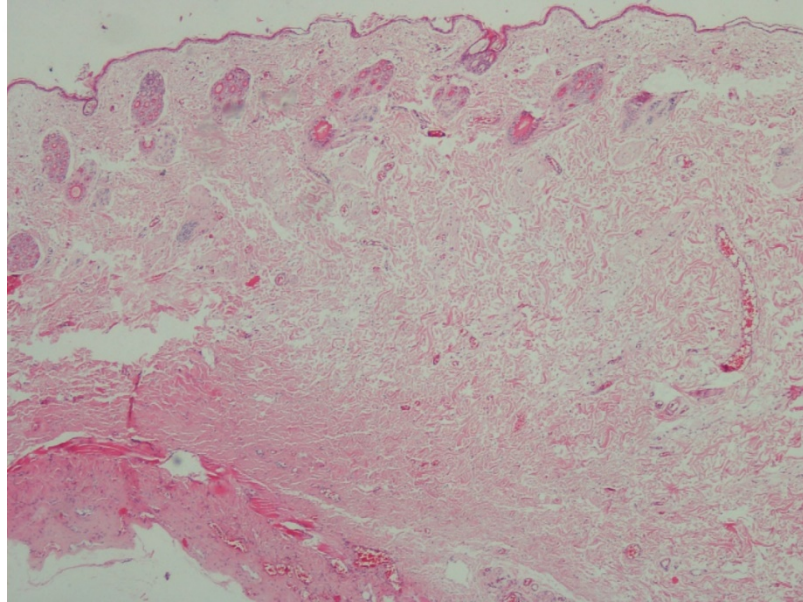
Doku genişleticiler çıkarıldıktan sonra biyopsi materyalindeki damar yoğunluğu düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.4. Kollagen Proliferasyonu

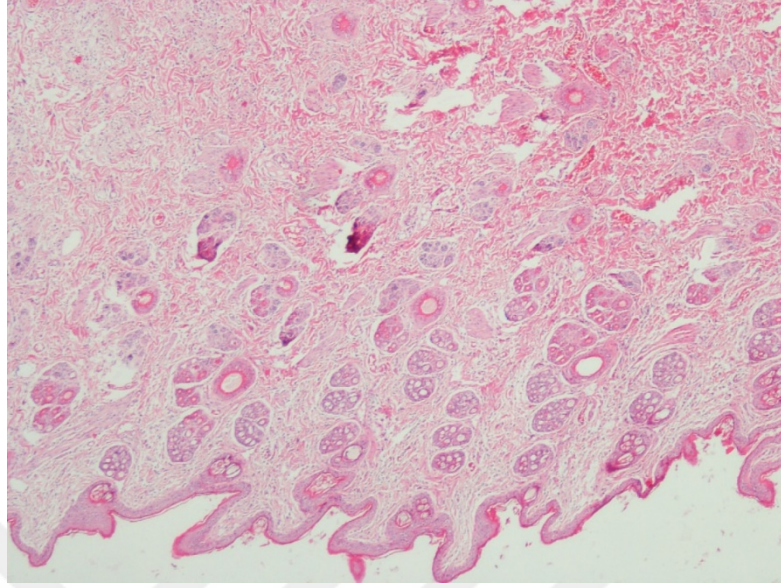
Hematoksilen-eozin boyası ile boyalı kesitlerin değerlendirilmesinde deney ve kontrol grubundaki kollagen proliferasyonu 40x ve 100x büyütmede incelendi (Şekil 4. 11- 4. 12- 4. 13- 4. 14). Proliferasyon dereceleri semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Yapılan semi-kantitatif değerlendirmeye göre elde edilen skorlar tablo 8'deki gibidir.



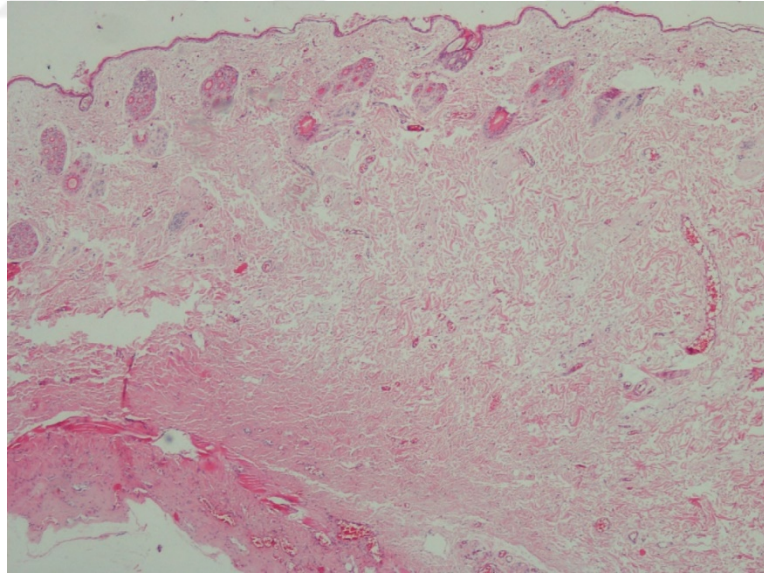
Şekil 4. 11: BTx-A uygulanmış grupta toksin uygulamasından 5 gün sonra alınan biyopside görülen ağır konjesyon, yoğun damarlanma artışı. Hafif kollagenizasyon mevcut. (HE; x40)



Şekil 4. 12: Kontrol grubunda ilk biyopside normal damarlanma ve üst dermiste orta derecede kollagenizasyon. Normal cilt kalınlığı 0,5 cm (HE; x40)



Şekil 4. 13: Deney grubunda doku genişletici çıkarıldıktan sonraki damarlanmadaki belirgin artış, dermiste %100 kollagen artışı, yeni damarlardan zengin bağ dokusu (HE; x 40)



Şekil 4. 14: Kontrol grubunda doku genişletici çıkarıldıktan sonraki dermiste %100 kollagen artışı, dermiste panniculus karneusa kadar kollagenisyon, kas tabakası komşuluğunda fibrozis, genç bağ dokusu gelişimi, yeni damarlanmalar (HE; x40)

Tablo 12: Doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki biyopsi materyalindeki kollagen yoğunluğu

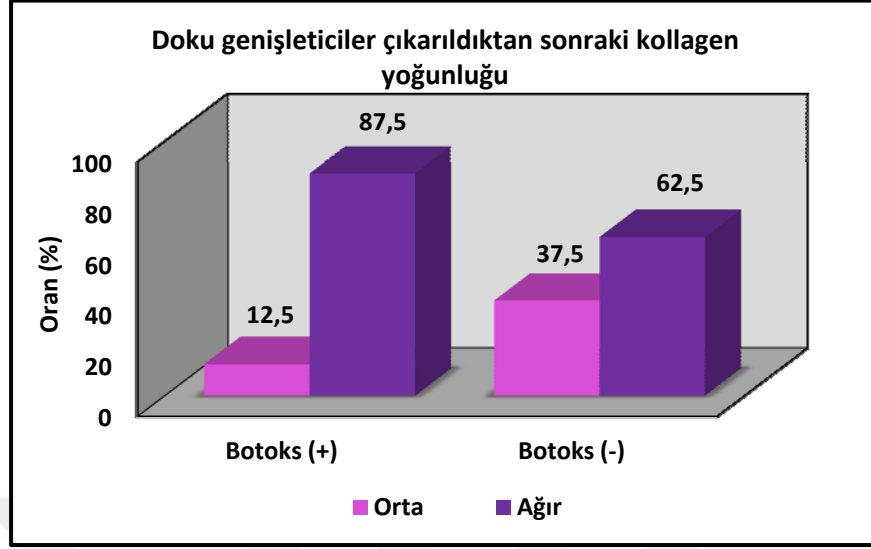
Denek sayısı	BTx-A uygulanmış grup	Kontrol grubu
1	+3	+3
2	+3	+2
3	+3	+3
4	+3	+3
5	+3	+3
6	+3	+1
7	+2	+2
8	+3	+3

0:YOK +1:AZ +2:ORTA +3:YOĞUN

Tablo 13: Gruplara göre kollagen yoğunluğu değerlendirmesi

		Grup			P
		Botoks (n=8)	(+) Botoks (n=8)	(-) Botoks (n=8)	
Doku genişleticiler	Orta	1 (12.5)	3 (37.5)	5 (62.5)	^b 0.569
çıkarıldıktan sonraki kollagen yoğunluğu	Ağır	7 (87.5)	5 (62.5)	3 (37.5)	

^bFisher's Exact Test



Şekil 4. 15: Gruplara göre doku genişleticiler çıkarıldıktan sonraki kollagen yoğunluklarının dağılımı

Doku genişleticiler çıkarıldıktan sonra biyopsi materyalindeki kollagen yoğunluk düzeylerine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Doku genişletme tekniği 1976 yılında Radovan' ın yöntemini başarı ile uygulayarak tıp dünyasına tanıtmasından bu yana rekonstrüksiyon seçenekleri arasında yerini almıştır. Başlangıçta yoğun bir ilgi gören bu yöntem zaman içinde bazı dezavantajlarının gözlenmesi nedeniyle eskisi kadar sık kullanılmamaktadır. Dokunun genişletilmesinin en çok korkulan komplikasyon doku genişleticinin ekspoze olmasıdır. Bu komplikasyon doku genişletmesinin başarısını önemli oranda azaltır. Doku genişletmenin başarısını azaltan önemli bir diğer faktör de doku genişleticiye vücudun verdiği yabancı cisim reaksiyonu ve kapsül oluşmasıdır. Kapsül oluşması sadece doku genişletme işlemini zorlaştırmaz, aynı zamanda genişletme sonrası elde edilen fleplerin boyutunu da azaltır. Doku genişletme işlemini daha güvenli bir hale getirmek için birçok farmakolojik ajan kullanılarak çok sayıda deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır.

2012 yılında yayınlanan Zhaoyu ve ark.larının yaptıkları çalışmada tavşanlarda hızlı doku genişlemesinde hiperbarik oksijen terapisinin (HBOT) etkisini araştırmışlardır. Tavşanların sırtlarına yerleştirilen doku genişleticiler toplam 7 günde nihai hacmine gelecek şekilde her gün şişirilmiş ve bu esnada deney grubuna her gün infiltrasyondan sonra hiperbarik oksijen terapisi uygulanmıştır. Sonuç olarak HBOT sonrası flep kanlamasının arttığı, flep gerginliğinin daha az olduğu, cilt altı dokuda damarlanmanın fazla olduğu bulunmuştur [107].

2003 yılında Copcu [47] ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada yüksek volümlü doku genişleticileri tavşan sırtına yerleştirerek verapamil'in (kalsiyum kanal blokerleri) doku genişlemesi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Deney sonunda genişletilen alan ve retraksiyon oranları ölçülmüştür. Deney grubunda daha fazla genişletilen alanın daha fazla olduğu ve retraksiyon oranlarının daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak topikal verapamil uygulamasının

doku genişleme kapasitesini artırdığı ve komplikasyon görülme sıklığını azalttığı bulunmuştur. Botulinum toksinle karşılaştırıldığında yarılanma ömrünün (16 saat) oldukça az olduğunu görülmektedir. Hipotansif etkisinin olması yaşlı hastalarda kullanımı ayrı dikkat gerektirmektedir.

Bir kollajenolitik olan insektisidler, fungusid ve herbisidler gibi çeşitli kimyasallarda çözücü olarak kullanılan bir ajan olan dimetilsülfoksidin (DMSO) topikal olarak doku genişletici uygulamalarında kullanımı ile ilgili literatürde birçok çalışma mevcuttur. Liang ve ark. DMSO' nun ratlarda doku genişletme üzerine olan etkisini test etmek her şişirme işleminden önce topikal olarak deriye uygulanmış ve genişletme basınçlarında belirgin azalma sağladığını bildirmiştir. 1991 yılında Vinninck ve ark.larının yaptığı 7 vakalık klinik çalışmada [108] topikal ve intravenöz DMSO kullanılarak ile doku genişletici ile meme rekonstrüksiyonu, geniş lezyon eksizyonları ve abdominoplasti sırasında intraoperatif doku genişlemesinin belirgin olarak arttığı bildirilmiştir. Raposio ve ark. [109] topikal DMSO'yu tek taraflı radikal mastektomi ve eş zamanlı doku genişletici ile rekonstrüksiyon yapılan hastalarda uygulamışlar ve genişletme zamanında ve intraluminal basınçta istatistiksel olarak anlamlı azalma saptadıklarını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada DMSO salin solusyonu her şişirmeden 30 dakika önce derinin üzerine cerrahi spançlara emdirilerek uygulanmıştır. DMSO uygulamasının 30 dakika sürmesi, intraoperatif uygulamada cerrahi süresini uzatması ve hastadan kötü kokular gelmesi nedeniyle doku genişletmede ideal bir ajan olarak yer almasını engellemiştir.

Zimman ve ark. larının [110] 2007 yılında yayınlanan çalışmasında, meme implantları etrafındaki fibröz kapsül üzerine bir anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olan enalapril etkisini ratlarda içme suyuna enalapril (20 mg/l) karıştırılarak, denek ve kontrol grubu üzerinde incelemişler. Ratlarda yapılan bu çalışmada enalapril verilen gruplarda kapsül kalınlığının daha az olduğu ve implantlar etrafında daha az inflamatuvar cevap geliştiği izlenmiştir. Ayrıca düz ve

pürtüklü gruplar kendi aralarında incelendiğinde pürtüklü gruplarda daha az inflamatuvar cevap ve kapsül kalınlığının düz implant grubuna göre daha az olduğu görülmüştür. Fakat bu çalışmada deney grubundaki ratlara verilen enalapril dozunda standardizasyonu sağlamak oldukça zordur. Çünkü ratlara içebildikleri kadar su verilmiş (enalaprilli veya enalapriksiz). Ayrıca deney gruplarına bu ajanı cerrahiden 2 ay önce vermeye başlamışlar. Verapamil deneyindeki gibi bu ajanın kullanımı hipotansiyona yol açabilmektedir ve yine yarılanma ömrü (11 saat) oldukça düşüktür.

Yukarıda bahsedilen farmakolojik ajanların uygulama zorlukları ve yan etkileri mevcut olduğundan dolayı doku genişletmede kullanım için yan etkisi az olan ve uygulaması daha pratik olan ajanlara ihtiyaç vardır. BTx-A'nın güçlü kas felci yapan ajanlardan biri olduğu bilinmektedir. Subkutan veya intramusküler uygulanan bu ajanın ortalama yarı ömrü 14 haftadır. Toksin'in moleküler yapısı ve etki mekanizmasının anlaşılmasıyla toksinin sadece motor nöronlar üzerinden değil, otonom sinir sistemi üzerinden de etki edebileceği deneysel olarak gösterilmiştir. BTx-A toksinin cildin otonom sempatik sinir sistemini etkileyerek vasodilatasyona neden olduğu düşünülmektedir. Adrenarjik sinir uçlarından Norepinefrin (NE) ile birlikte salınan en önemli ko-transmitterler Nöropeptid Y (NPY) ve Adenozin trifosfattır (ATP) [111, 112]. Damarın sempatik uyarılması başlangıçta $\beta 1$ reseptörleri üzerinden NE etkisiyle vazodilatasyona $\alpha 2$ reseptörlerin aktive olmasıyla vazokonstriksiyonun oluşturmaktadır. Uyarının devamı ile birlikte NPY salınımını artırır. BTx-A ile NE kaynaklı vazokonstriksiyonda azalma olduğu gösterilmiştir [113]. BTx-A toksinin perivasküler uygulamasıyla damar çapının ve doku kan akımını arttırdığı görülmüştür [10].

Çelik' e göre BTX-A toksini geçici denervasyon etkisiyle kas flebi cerrahisi sonrası erken kas kontraksiyonunu ve spazmı önleyerek erken yapılanmaya bağlı olarak flep sağ kalımını artırmaktadır [114]. 2013 yılında

yayınlanan Schweizer ve ark.larının yaptığı çalışmada BTx-A ve B' nin flep sağ kalımına etkisi kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Aksiyel cilt fleplerine preoperatif ve intraoperatif ayrı ayrı gruplarda BTx-A ve B toksini subkutan uygulayarak 1, 3 ve 5. günlerde kan akımı; 1, 2 ve 5. günlerde doku oksijenasyonu; postoperatif birinci günde doku metabolizması ve flep nekroz oranları değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda flep cerrahisi sonrası birinci günde kan akımında %53 oranında ciddi bir azalma görünürken BTx-A ve B toksini uygulanan grupta % 103 ve %129 oranında artış olmuştur. Beşinci günde botulinum toksini uygulanan tüm grupların flep kan akımında %166-187 gibi önemsenecek derecede bir artış tespit edilmiştir. Aynı çalışmada tüm botulinum grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında flep dokusunda glikoz arttığı, laktat pürüvat oranı ve gliserolün seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BTx uygulanmış gruplarda doku yaşayabilirliğini artmıştır [115].

2008 yılında Yıldırım ve ark.ları sıçanlarda cerrahi geciktirme yapılan random paterni deri fleplerinde BTx-A' nin flep yaşayabilirliğine etkisini araştırmışlardır. Fleplere geciktirme işlemi yapmadan iki hafta önce BTx-A uygulanmış ve çalışma sonucunda flep yaşayabilirliğinin arttığı gösterilmiştir. BTx-A' nin kullanımının pratik olduğunu ve klinikte kullanılabileceğini ancak BTx-A nın bu etkisinin mekanizmasının daha ileri çalışmalarla araştırılması gerektiğini vurgulamışlardır [116]. Young ve ark.nın 2009 yılında yayınlanan çalışmalarında ratlarda BTx-A toksininin random paternli cilt flebinin yaşayabilirliği üzerinde etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak BTx-A toksini uygulanan fleplerde sağ kalımın oranlarının arttığını bulmuşlardır [117]. BTx-A toksininin cilt fleplerinde yaşayabilirliği artırması ve dokunun hipoksiye olan dirençini de artırması nedeniye hızlı doku genişletmede kullanılabilir bir ajan olabilir.

2009 yılında yayınlanan Taek ve ark.larının ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada flep sağ kalımı BTx-A toksini uygulanan fleplerde daha yüksek

bulunmuştur. Histopatolojik incelemelerde BTx-A uygulanan grupta damar çapının daha büyük olduğu ve immatür damarlanmanın daha fazla olduğu görülürken yapılan PCR çalışmalarında VEGF, PECAM1 ve İNOS ekspresyonunun artmış olduğu görülmüş olup bu parametrelerin artışı, endotel proliferasyonu ve vasodilatasyonla ilişkilendirilmiştir [118].

2013 yılında Altun ve ark.larının [106] yaptığı çalışmada BTx-A'nın random paternli rat deri flebinin yaşayabilirliğini arttırmadaki etkisi araştırılmıştır. BTx-A otonom sistem üzerinden sempatik vazokonstriktör etkiyi azaltılmaktadır ve nöral blok etkisi enjeksiyondan yaklaşık 3–4 gün sonra tam olarak başlamaktadır. BTx-A'nın preoperatif 5 gün önce yapılmasının flep viabilitesine katkıda bulunduğu ortaya çıkmıştır.

Çalışmamızda BTx-A uygulanan gruptaki toksin enjeksiyonunda 5 gün sonra alına biyopsilerde tespit edilen damar yoğunluğundaki artma kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

2009'da Kim ve ark.nın yaptığı çalışmada, random paternli deri fleplerinde BTx-A'nın sempatik nöronları baskılamasına bağlı vazodilatasyon yaptığı, böylece flep kan akımını ve yaşayabilirliğini arttırdığını gösterilmiştir. BTx-A'nın endotelyal proliferasyonu ve kan akımını, dolayısıyla da VEGF, CD31 gibi mediatörlerin salınımını arttırarak flep yaşayabilirliğini arttırabileceğini savunulmuştur [118].

2009 yılında Arnold ve ark.larının yaptığı çalışmada, sıçan deri fleplerinde BTx-A uygulamasının flep sağ kalımını arttırdığını belirtmiştir. Ayrıca perivasküler uygulanan 5 ünite BTx-A sonrası 1, 14 ve 28. günlerde damar çaplarını ölçmüş ve tüm ölçümlerde arter ile ven çaplarının anlamlı şekilde arttığını, bu artışın 14. günde maksimum seviyede olduğunu bildirmiştir [9, 10].

2009 yılında Chenwang ve ark.ları domuzlarda kas-deri flebi genişletilmesinde BTx-A uygulamasının etkilerini araştırmıştır. Çalışmada yedi domuzun dorsolumbal bölgesinde 10x14 cm lik planlanan alana 2 cm aralıklarla BTx-A uygulanmış, diğer grubu salin enjekte edilmiş. BTx-A enjeksiyonunda 3 gün sonra expander yerleştirilmiş. Şişirmeden iki hafta sonra genişleyen alan ölçülmüştür. Genişleyen alandan 10x6 cmlik myokutanöz flep kaldırılmış ve yerine yeniden suture edilmiş. Ve bu flepteki kontraksiyon 1, 4, 12 ve 20. haftalarda gözlenmiş. BTx-A nın flepte direnci azalttığını, şişmeyi hızlandırdığını, genişleyen alanı arttırdığını ve flebin kontraksiyonunu azalttığı sonucunu elde etmişlerdir [11].

Yaptığımız çalışmada BTx-A nın doku genişletici ile elde edilen fasiokutan fleplerin boyutlarında sağladığı artış, hızlı doku genişletilmesine BTx-A nın hücresel düzeyde değişimleri incelemeyi amaçladık. Genişletme işleminde literatürdeki çalışmalar [119-121] baz alınarak foley kateter direk doku genişletici olarak kullanıldı. BTx-A' nın yapılacağı noktaların arasındaki mesafe, Hsu ve ark. larının yaptığı çalışma referans alınarak 2 cm olarak belirlenmiştir [105].

Çalışmamızda doku genişletici çıkarıldıktan sonra fleplerin serbest haldeki ölçümleri ve fleplerin gerdirilerek elde edilen ölçümleri botokslu grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak botokslu grupta anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Literatürde cilt genişletmede BTx-A toksinin uygulaması ile ilgili kesin doz belirten çalışmaya rastlanmamıştır. BTx-A toksininin mikrosirkülasyon ve kollagen metabolizması üzerindeki etkilere dair çalışmalar mevcut olmasına rağmen doku genişlemesi üzerindeki etkileri kesin olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda BTx-A toksinin fleplerin genişletilmesi üzerine olumlu etkileri tespit edilmiştir.

BTx-A kollagen metabolizmasındaki etkileri çok açık değildir. Ancak BTx-A toksinin hipertrofik nedbelerde ve kelloidlerin tedavisine yönelik çalışmalar mevcuttur. 2012 yılında Xiao ve ark.ları [122] BTx-A' nın hipertrofik skarlarda kollagen depolanmasına yönelik yaptıkları araştırmada tavşanların kulaklarında oluşturulan hipertrofik skarlara BTx-A yapmışlar. Kontrol grubu ile histolojik olarak kollagen yapılanmasını karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak kontrol grubu ile tedavi grubu karşılaştırıldığında kontrol grubunda kollagen liflerin daha kalın ve diziliminin daha düzensiz olduğu görülmüştür. Çalışmamızda doku genişletici sonrasında alınan biyopsilerde değerlendirilen kollagen miktarı deney ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilememiştir. Bu durum BTx-A nın doku genişleme mekanizmasında kollagen metabolizmasına bir etkisinin olmadığını düşündürebilir.

Vücutta yabancı cisim reaksiyonuna bağlı, implant ve doku genişleticiler etrafında, kapsül oluşumu ve kapsül kontraktürü gelişimi yaygındır. İmpant çevresinde oluşan kapsül histolojik olarak kelloid ve hipertrofik skara benzemektedir. İrokoran ve ark. larının 2015' de yaptığı çalışmada [123] tavşanların sırtında latissimus dorsi kasının altına düz yüzeyli koheziv jel implantlar yerleştirilmiş ve implantın etrafına BTx-A enjeksiyonu yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda BTx-A uygulanan grupta, kontrol grubuna göre inflamatuvar hücrelerin daha az olduğu, histopatolojik olarak kapsül her yerde daha ince ve kollagen diziliminin daha düzgün olduğu tespit edilmiştir.

2015 yılında Kim ve ark.ların yaptığı çalışmada [124] sıçanlarda subpaniküler cep hazırlanarak silikon implant yerleştirilmiş ve BTx-A panniculus karnosa tabakasına enjekte edilmiştir. 6 hafta sonra implant etrafındaki kapsülü eksize edilerek histopatolojik olarak incelenmiş; BTx-A uygulanan grupta kontrol grubuna göre kapsül kalınlığı daha ince; inflamatuvar hücre sayısı ve TGF beta ekspirasyonu daha düşük bulunmuştur. Kollagen dizilimi, BTx-A uygulanan

grupta daha gevşek ve iyi organize olarak tespit edilmiştir. Total myofibroblast içeriği kontrol grubundan daha düşük olsa da istatistiksel olarak aralarında bir fark bulunamamıştır.

Çalışmamızdaki tablolar incelendiğinde BTx-A uygulanan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında doku genişletici çıkarıldıktan sonra elde edilen fasiokutan flep boyutlarında anlamlı derecede daha fazla genişleme sağlanmıştır. Bu aynı zamanda aynı miktar hacim sıvı ile yapılan genişletmede daha fazla alan kazanmak, daha fazla alana daha kısa zamanda ulaşılması demek olabilir. Aynı zamanda 2009 yılında Chenwang ve ark.larının [11] yaptığı çalışmada da bahsedildiği gibi bu durum BTx-A toksininin doku genişletme işlemini hızlandırdığı şeklinde de yorumlanabilir. Bulunan sonuçlar muhtemel olarak BTx-A toksininin kapsül formasyonu ve kapsül kontraktürü oluşmasındaki koruyucu etkisine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Sonuçta diğer ajanlara göre tek doz kullanımı yeterli olan, vücutta çoğu bölgeye uygulanabilen, yan etkileri az olan ve ağrı giderici özelliği de olan BTx-A, rekonstrüktif cerrahide klinik uygulama doku genişletici ile birlikte kullanımında daha fazla alan kazancı ve daha hızlı doku genişlemesi sağlayarak yapılan işleme yardımcı ve hasta konforunu artıran bir ajan olabilir.

Histopatolojik incelemede doku genişletme sonrasında alınan biyopsiler incelendiğinde hem damarlanmada hem de kollagenizasyonda herhangi bir fark bulunamamıştır. Bu bilgiler altında BTx-A'nın doku genişletme işleminde olumlu etkisi vardır.

KAYNAKLAR

- [1] G. W. Cherry, E. Austad, K. Pasyk, K. McClatchey, and R. J. Rohrich, "Increased survival and vascularity of random-pattern skin flaps elevated in controlled, expanded skin," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 72, no. 5, pp. 680-685, 1983.
- [2] E. Karagergou, A. Papas, P. Foroglou, and E. Demiri, "Management of the complications of tissue expansion during a 5-year period (2005-2010)," *Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery*, vol. 46, no. 3-4, pp. 167-171, 2012.
- [3] S. J. Mathes, V.R., and Hentz, Saunders, Ed. *Plastic surgery*. 2006.
- [4] D. Casanova, D. Bali, J. Bardot, R. Legre, and G. Magalon, "Tissue expansion of the lower limb: complications in a cohort of 103 cases," *British Journal of Plastic Surgery*, vol. 54, no. 4, pp. 310-316, Jun 2001.
- [5] J. L. Morris, P. Jobling, and I. L. Gibbins, "Differential inhibition by botulinum neurotoxin A of cotransmitters released from autonomic vasodilator neurons," *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol. 281, no. 5, pp. H2124-H2132, Nov 2001.
- [6] I. Matak, Z. Lackovic, and M. Relja, "Botulinum toxin type A in motor nervous system: unexplained observations and new challenges," *Journal of Neural Transmission*, vol. 123, no. 12, pp. 1415-1421, Dec 2016.
- [7] M. W. Clemens, J. P. Higgins, and E. F. S. Wilgis, "Prevention of Anastomotic Thrombosis by Botulinum Toxin A in an Animal Model," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 123, no. 1, pp. 64-70, Jan 2009.
- [8] M. Fathi *et al.*, "Preventive effect of botulinum toxin A in microanastomotic thrombosis: A rabbit model," *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, vol. 63, no. 10, pp. E720-E724, Oct 2010.
- [9] P. B. Arnold, C. A. Campbell, G. Rodeheaver, W. Merritt, R. F. Morgan, and D. B. Drake, "Modification of blood vessel diameter following perivascular application of botulinum toxin-A," (in eng), *Hand (N Y)*, vol. 4, no. 3, pp. 302-7, Sep 2009.
- [10] P. B. Arnold, W. Merritt, G. T. Rodeheaver, C. A. Campbell, R. F. Morgan, and D. B. Drake, "Effects of Perivascular Botulinum Toxin-A Application

- on Vascular Smooth Muscle and Flap Viability in the Rat," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 62, no. 5, pp. 463-467, May 2009.
- [11] C. W. Duan *et al.*, "Application of Botulinum Toxin Type A in Myocutaneous Flap Expansion," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 124, no. 5, pp. 1450-1457, Nov 2009.
- [12] F. A. Savrun, "Botulinum Toksini: Tarihce, Etki Mekanizmasi, Uygulama, Teropatik Kullanım," *Noropisikiyatri*, vol. 48, no. 3, pp. 1-1, 2011.
- [13] E. Forbat, F. R. Ali, and F. Al-Niaimi, "Non-cosmetic dermatological uses of botulinum neurotoxin," *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, vol. 30, no. 12, pp. 2023-2029, Dec 2016.
- [14] X. L. Huang, X. H. Qu, and Q. F. Li, "Risk Factors for Complications of Tissue Expansion: A 20-Year Systematic Review and Meta-Analysis," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 128, no. 3, pp. 787-797, Sep 2011.
- [15] Grabb and Smith. Plastik Cerrahi., Y. B. e. A. G. Tıp, and Kitapevi, *Doku genişletme*. p., pp. 87-93, 2016.
- [16] E. D. Austad and G. L. Rose, "A self-inflating tissue expander," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 70, no. 5, pp. 588-593, 1982.
- [17] K. A. Pasyk, E. D. Austad, K. D. McClatchey, and G. W. Cherry, "Electron-microscopic evaluation of guinea-pig skin and soft-tissues expanded with a self-inflating silicone implant," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 70, no. 1, pp. 37-45, 1982.
- [18] Adson. MH, Anderson. RD, and Argenta. LC, "Scalp expansion in the treatment of male pattern baldness.," ed: *Plast Reconstr Surg*;79(6), pp. 906-14, 1987.
- [19] T. D. Reest, *Aesthetic Plastic Surgery*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1980.
- [20] A. Codivilla, "On the means of lengthening, in the lower-limbs, the muscles and tissues which are shortened through deformity," *Clinical Orthopaedics and Related Research*, no. 301, pp. 4-9, Apr 1994.
- [21] C. G. Neumann, "The expansion of an area of skin by progressive distention of a subcutaneous balloon; use of the method for securing skin for subtotal reconstruction of the ear," (in eng), *Plast Reconstr Surg (1946)*, vol. 19, no. 2, pp. 124-30, Feb 1957.

- [22] C. Radovan, "Adjacent flap development using expandable silastic implant.," in *Annual Meeting of the American Society of Plastic and Reconstructive Surgeons*, Boston, Mass., 1976.
- [23] C. Radovan, "Breast reconstruction after mastectomy using the temporary expander," (in eng), *Plast Reconstr Surg*, vol. 69, no. 2, pp. 195-208, Feb 1982.
- [24] H. Becker, "Breast reconstruction using an inflatable breast implant with detachable reservoir," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 73, no. 4, pp. 678-683, 1984.
- [25] R. E. De Filippo and A. Atala, "Stretch and growth: The molecular and physiologic influences of tissue expansion," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 109, no. 7, pp. 2450-2462, Jun 2002.
- [26] E. D. Austad, S. B. Thomas, and K. Pasyk, "Tissue expansion - dividend or loan," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 78, no. 1, pp. 63-67, Jul 1986.
- [27] K. A. Pasyk, L. C. Argenta, and C. Hassett, "Quantitative-analysis of the thickness of human-skin and subcutaneous tissue following controlled expansion with a silicone implant," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 81, no. 4, pp. 516-523, Apr 1988.
- [28] K. R. Knight, J. J. McCann, C. A. Vanderkolk, S. A. Coe, and B. M. O'Brien, "The redistribution of collagen in expanded pig skin," *British Journal of Plastic Surgery*, vol. 43, no. 5, pp. 565-570, Sep 1990.
- [29] H. I. Friedman, A. C. Friedman, and K. Carson, "The fate of the fibrous capsule after saline implant removal," (in eng), *Ann Plast Surg*, vol. 46, no. 3, pp. 215-21, Mar 2001.
- [30] P. Lee, C. A. Squier, and J. Bardach, "Enhancement of tissue expansion by anticontractile agents," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 76, no. 4, pp. 604-610, 1985.
- [31] E. Gur, W. Hanna, L. Andrichetti, and J. L. Semple, "Light and electron microscopic evaluation of the pectoralis major muscle following tissue expansion for breast reconstruction," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 102, no. 4, pp. 1046-1051, Sep 1998.
- [32] K. H. A. Kim, C. Hong, and J. W. Futrell, "Histomorphologic changes in expanded skeletal-muscle in rats," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 92, no. 4, pp. 710-716, Sep 1993.

- [33] P. E. Johnson, D. A. Kernahan, and B. S. Bauer, "Dermal and epidermal response to soft-tissue expansion in the pig," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 81, no. 3, pp. 390-395, Mar 1988.
- [34] T. A. Mustoe, T. H. Bartell, and W. L. Garner, "Physical, biomechanical, histologic, and biochemical effects of rapid versus conventional tissue expansion," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 83, no. 4, pp. 687-691, Apr 1989.
- [35] J. H. van Rappard, G. J. Sonneveld, and J. M. Borghouts, "Histologic changes in soft tissues due to tissue expansion (in animal studies and humans)," (in eng), *Facial Plast Surg*, vol. 5, no. 4, pp. 280-6, Jul 1988.
- [36] P. J. Simon, L. S. Anderson, and M. E. Manstein, "Increased hair-growth and density following controlled expansion of guinea-pig skin and soft-tissue," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 19, no. 6, pp. 519-523, Dec 1987.
- [37] B. R. Moelleken, S. J. Mathes, C. E. Cann, D. J. Simmons, and G. Ghafoori, "Long-term effects of tissue expansion on cranial and skeletal bone development in neonatal miniature swine: clinical findings and histomorphometric correlates," (in eng), *Plast Reconstr Surg*, vol. 86, no. 5, pp. 825-34, Nov 1990.
- [38] L. A. Lantieri, N. Martin-Garcia, J. Wechsler, M. Mitrofanoff, Y. Raulo, and J. P. Baruch, "Vascular endothelial growth factor expression in expanded tissue: a possible mechanism of angiogenesis in tissue expansion," (in eng), *Plast Reconstr Surg*, vol. 101, no. 2, pp. 392-8, Feb 1998.
- [39] G. H. Sasaki and C. Y. Pang, "Pathophysiology of skin flaps raised on expanded pig skin," (in eng), *Plast Reconstr Surg*, vol. 74, no. 1, pp. 59-67, Jul 1984.
- [40] T. Takei *et al.*, "Effect of strain on human keratinocytes in vitro," (in eng), *J Cell Physiol*, vol. 173, no. 1, pp. 64-72, Oct 1997.
- [41] G. Osol, "Mechanotransduction by vascular smooth muscle," (in eng), *J Vasc Res*, vol. 32, no. 5, pp. 275-92, Sep-Oct 1995.
- [42] E. Wilson, Q. Mai, K. Sudhir, R. H. Weiss, and H. E. Ives, "Mechanical strain induces growth of vascular smooth-muscle cells via autocrine action of PDGF," *Journal of Cell Biology*, vol. 123, no. 3, pp. 741-747, Nov 1993.
- [43] T. Takei, I. Mills, K. Arai, and B. E. Sumpio, "Molecular basis for tissue expansion: clinical implications for the surgeon," (in eng), *Plast Reconstr Surg*, vol. 102, no. 1, pp. 247-58, Jul 1998.
- [44] Y. Yano, J. Geibel, and B. E. Sumpio, "Cyclic strain induces reorganization of integrin alpha 5 beta 1 and alpha 2 beta 1 in human umbilical vein

- endothelial cells," in *J Cell Biochem*, vol. 64no. 3) United States, pp. 505-1,1987.
- [45] J. H. van Rappard, J. Molenaar, K. van Doorn, G. J. Sonneveld, and J. M. Borghouts, "Surface-area increase in tissue expansion," (in eng), *Plast Reconstr Surg*, vol. 82, no. 5, pp. 833-9, Nov 1988.
 - [46] A. N. Pandya, S. Vadodaria, and D. J. Coleman, "Tissue expansion in the limbs: a comparative analysis of limb and non-limb sites," *British Journal of Plastic Surgery*, vol. 55, no. 4, pp. 302-306, Jun 2002.
 - [47] Copcu E . , Sivrioglu N. , Sisman N. , Aktas A. , and O. Y. . "Enhancement of Tissue Expansion by Calcium Channel Blocker: A preliminary study.," ed, 2003, p. 9; 1 (1): 19.
 - [48] R. Eleopra, V. Tugnoli, R. Quatralo, O. Rossetto, and C. Montecucco, "Different types of botulinum toxin in humans," *Movement Disorders*, vol. 19, pp. S53-S59, Mar 2004.
 - [49] J. Jankovic and K. Schwartz, "Response and immunoresistance to botulinum toxin injections," *Neurology*, vol. 45, no. 9, pp. 1743-1746, Sep 1995.
 - [50] H. Goschel, K. Wohlfarth, J. Frevert, R. Dengler, and H. Bigalke, "Botulinum A toxin therapy: neutralizing and nonneutralizing antibodies: therapeutic consequences. ," vol. 147, ed, pp. 96–102, 1997.
 - [51] J. Rosenberg, J. Middlerook, and M. Atassi, "Localization of the regions on the C-terminal domain of the heavy chain of botulinum toxin A recognized by T lymphocytes and by antibodies after immunization of mice with pentavalent toxoid," vol. 26, ed, pp. 491-504 1997.
 - [52] M. G. Gartlan and H. T. Hoffman, "Crystalline preparation of botulinum toxin type-a (botox) - degradatiron in potency with storage," *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, vol. 108, no. 2, pp. 135-140, Feb 1993.
 - [53] A. Pickett and R. L. Rosales, "New trends in the science of botulinum toxin-A as applied in dystonia," (in eng), *Int J Neurosci*, vol. 121 Suppl 1, pp. 22-34, 2011.
 - [54] I. Matak and Z. Lackovic, "Botulinum toxin A, brain and pain," *Progress in Neurobiology*, vol. 119, pp. 39-59, Aug-Sep 2014.
 - [55] C. M. White, L. Greensmith, and G. Vrbova, "Repeated stimuli for axonal growth causes motoneuron death in adult rats: The effect of botulinum toxin followed by partial denervation," *Neuroscience*, vol. 95, no. 4, pp. 1101-1109, 2000.

- [56] J. Herreros, E. Marti, B. Ruiz-Montasell, A. Casanova, H. Niemann, and J. Blasi, "Localization of putative receptors for tetanus toxin and botulinum neurotoxin type a in rat central nervous system," *European Journal of Neuroscience*, vol. 9, no. 12, pp. 2677-2686, Dec 1997.
- [57] K. Inagi, A. A. Rodriguez, C. N. Ford, and D. M. Heisey, "Transoral electromyographic recordings in botulinum toxin-injected rat larynges," *Annals of Otology Rhinology and Laryngology*, vol. 106, no. 11, pp. 956-964, Nov 1997.
- [58] L. Lu, A. Atchabahian, S. E. Mackinnon, and D. A. Hunter, "Nerve injection injury with botulinum toxin," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 101, no. 7, pp. 1875-1880, Jun 1998.
- [59] B. J. Freund and M. Schwartz, "Relief of tension-type headache symptoms in subjects with temporomandibular disorders treated with botulinum toxin-A," in *Headache*, vol. 42no. 10) United States, pp. 1033-7, 2002.
- [60] J. Blasi *et al.*, "Botulinum neurotoxin-a selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25," *Nature*, vol. 365, no. 6442, pp. 160-163, Sep 1993.
- [61] W. Levinson, *Temel Bacterioloji*, 5. Baski ed. (Tibbi Mikrobiyoloji ve Immunoloji). Baris Kitapevi, 1999.
- [62] S. J. Aston, R. W. Beasley, and C. H. Thorne, *Botulinum Toxin*, 6 th ed. (Grabb and Smith's Plastic Surgery). Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 1997.
- [63] L. Baumann and L. Black, "Botulinum toxin type B (Myobloc)," *Dermatologic Surgery*, vol. 29, no. 5, pp. 496-500, May 2003.
- [64] J. J. Dutton and A. M. Fowler, "Botulinum toxin in ophthalmology," *Survey of Ophthalmology*, vol. 52, no. 1, pp. 13-31, Jan-Feb 2007.
- [65] L. Shelosky, B. Sommer, and G. Sattler, "History of the clinical use of Botulinum toxin type A. In (Eds.), Botulinum Toxin in Aesthetic Medicine," ed, pp. 1-7, 2001.
- [66] S. M. Lam, "The basic science of botulinum toxin," in *Facial Plast Surg Clin North Am*, vol. 11no. 4) United States, pp. 431-8, 2003.
- [67] K. R. Aoki, "Pharmacology and immunology of botulinum toxin serotypes," *Journal of Neurology*, vol. 248, pp. S3-S10, Apr 2001.
- [68] S. Patil *et al.*, "Botulinum Toxin: Pharmacology and Therapeutic Roles in Pain States," *Current Pain and Headache Reports*, vol. 20, no. 3, Art. no. 15, Mar 2016.

- [69] A. T. Soydan, "Random paternli dorsal deri fleplerinin yaşam oranlarının artırılmasında yeni bir yöntem: Botulinum toksini," *Plastic Surgery*, Istanbul Üniversitesi, Istanbul, 2008.
- [70] R. Chen, B. I. Karp, and M. Hallett, "Botulinum toxin type F for treatment of dystonia: Long-term experience," *Neurology*, vol. 51, no. 5, pp. 1494-1496, Nov 1998.
- [71] A. Munchau and K. P. Bhatia, "Regular review - Uses of botulinum toxin injection in medicine today," *British Medical Journal*, vol. 320, no. 7228, pp. 161-165, Jan 2000.
- [72] M. Naumann, L. M. Boo, A. H. Ackerman, and C. J. Gallagher, "Immunogenicity of botulinum toxins," *Journal of Neural Transmission*, vol. 120, no. 2, pp. 275-290, Feb 2013.
- [73] M. Fabbri *et al.*, "Neutralizing Antibody and Botulinum Toxin Therapy: A Systematic Review and Meta-analysis," *Neurotoxicity Research*, vol. 29, no. 1, pp. 105-117, Jan 2016.
- [74] L. Shelosky, *Pharmacology and Toxicology*, 1st ed. (Botulinum Toxin in Aesthetic Surgery). Berlin-Vienne: Blackwell Science, pp. 1-7, 2001.
- [75] U. Nuanthaisong, N. Abraham, and H. B. Goldman, "Incidence of Adverse Events After High Doses of OnabotulinumtoxinA for Multiple Indications," *Urology*, vol. 84, no. 5, pp. 1044-1048, Nov 2014.
- [76] A. J. Vartanian and S. H. Dayan, "Complications of botulinum toxin A use in facial rejuvenation," (in eng), *Facial Plast Surg Clin North Am*, vol. 13, no. 1, pp. 1-10, Feb 2005.
- [77] N. J. Lowe, "Botulinum toxin type A for facial rejuvenation - United States and United Kingdom perspectives," *Dermatologic Surgery*, vol. 24, no. 11, pp. 1216-1218, Nov 1998.
- [78] C. Elmas *et al.*, "Effect of fresh and stored botulinum toxin A on muscle and nerve ultrastructure - An electron microscopic study," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 59, no. 3, pp. 316-322, Sep 2007.
- [79] R. J. Rohrich, J. E. Janis, S. Fagien, and J. M. Stuzin, "The cosmetic use of botulinum toxin," (in eng), *Plast Reconstr Surg*, vol. 112, no. 5 Suppl, pp. 177S-88S; quiz 188S, 192S; discussion 189S-191S, Oct 2003.
- [80] M. A. C. Kane, "Nonsurgical treatment of platysmal bands with injection of botulinum toxin A," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 103, no. 2, pp. 656-663, Feb 1999.

- [81] P. Moore and M. Naumann, *Handbook of Botulinum Toxin Treatment*, 2nd ed. (no. 76). USA: Blackwell Science Ltd., pp. 343-359, 2003.
- [82] J. R. Davies, R. S. Morgan, E. A. Wright, and G. P. Wright, "The results of direct injections of botulinum toxin into the central nervous system of rabbits," (in eng), *J Physiol*, vol. 120, no. 4, pp. 618-23, Jun 29 1953.
- [83] K. Wienkers, E. M. Helveston, F. D. Ellis, and W. Cadera, "Botulinum toxin injection into rabbit vitreous," *Ophthalmic Surgery and Lasers*, vol. 15, no. 4, pp. 310-314, 1984.
- [84] M. A. Jabor *et al.*, "Efficacy of reconstituted and stored botulinum toxin type A: An electrophysiologic and visual study in the auricular muscle of the rabbit," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 111, no. 7, pp. 2419-2426, Jun 2003.
- [85] T. Odergren *et al.*, "A double blind, randomised, parallel group study to investigate the dose equivalence of Dysport (R) and Botox (R) in the treatment of cervical dystonia," *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, vol. 64, no. 1, pp. 6-12, Jan 1998.
- [86] D. M. Gill, "Bacterial toxins: a table of lethal amounts," (in eng), *Microbiol Rev*, vol. 46, no. 1, pp. 86-94, Mar 1982.
- [87] K. Dashtipour and F. Pedouim, "Botulinum Toxin: Preparations for Clinical Use, Immunogenicity, Side Effects, and Safety Profile," *Seminars in Neurology*, vol. 36, no. 1, pp. 29-33, Feb 2016.
- [88] A. L. Van Beek, P. K. Lim, A. J. L. Gear, and M. R. Pritzker, "Management of vasospastic disorders with botulinum toxin A," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 119, no. 1, pp. 217-226, Jan 2007.
- [89] A. Fregene, D. Ditmars, and A. Siddiqui, "Botulinum Toxin Type A: A Treatment Option for Digital Ischemia in Patients With Raynaud's Phenomenon," *Journal of Hand Surgery-American Volume*, vol. 34A, no. 3, pp. 446-452, Mar 2009.
- [90] R. G. Glogau, "Treatment of hyperhidrosis with botulinum toxin," *Dermatologic Clinics*, vol. 22, no. 2, pp. 177-+, Apr 2004.
- [91] H. D. Stupak and C. S. Maas, "New procedures in facial plastic surgery using botulinum toxin A," in *Facial Plast Surg Clin North Am*, vol. 11no. 4) United States, pp. 515-20, 2003.
- [92] M. A. Senior, "Botox and the management of pectoral spasm after subpectoral implant insertion," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 106, no. 1, pp. 224-225, Jul 2000.

- [93] A. Richards, M. Ritz, S. Donahoe, and G. Southwick, "Botox for contraction of pectoral muscles," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 108, no. 1, pp. 270-271, Jul 2001.
- [94] A. Figus, M. Mazzocchi, L. A. Dessy, G. Curinga, and N. Scuderi, "Treatment of muscular contraction deformities with botulinum toxin type A after latissimus dorsi flap and sub-pectoral implant breast reconstruction," *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, vol. 62, no. 7, pp. 869-875, Jul 2009.
- [95] T. Cattin and S. Govender, "Botulinum toxin for tethering of breast implant," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 116, no. 2, pp. 686-688, Aug 2005.
- [96] G. De Aguiar *et al.*, "Chemoprotection of Flexor Tendon Repairs Using Botulinum Toxin," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 124, no. 1, pp. 201-209, Jul 2009.
- [97] D. J. O'Reilly, J. M. Pleat, and A. M. Richards, "Treatment of hidradenitis suppurativa with botulinum toxin A," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 116, no. 5, pp. 1575-1576, Oct 2005.
- [98] J. F. Baizabal-Carvallo, J. Jankovic, and E. Pappert, "Flu-like symptoms following botulinum toxin therapy," *Toxicon*, vol. 58, no. 1, pp. 1-7, Jul 2011.
- [99] A. Blitzer, W. J. Binder, and J. B. Boyd, *Management of facial lines and wrinkles*. Philadelphia: Williams&Wilkins, 2000.
- [100] A. W. Klein, "Complications with the use of botulinum toxin," *Dermatologic Clinics*, vol. 22, no. 2, pp. 197-+, Apr 2004.
- [101] J. D. Carruthers, N. J. Lowe, M. A. Menter, J. Gibson, N. Eadie, and I. I. S. G. Botox Glabellar Lines, "Double-blind, placebo-controlled study of the safety and efficacy of botulinum toxin type a for patients with glabellar lines," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 112, no. 4, pp. 1089-1098, Sep 2003.
- [102] K. R. Aoki, "Preclinical update on BOTOX (R) (botulinum toxin type A)-purified neurotoxin complex relative to other botulinum neurotoxin preparations," *European Journal of Neurology*, vol. 6, pp. S3-S10, Nov 1999.
- [103] J. J. G. Rath, D. L. J. Tavy, A. Wertenbroek, T. van Woerkom, and S. de Bruijn, "Botulinum toxin type A in simple motor tics: Short-term and long-term treatment effects," *Parkinsonism & Related Disorders*, vol. 16, no. 7, pp. 478-481, Aug 2010.

- [104] D. J. Lange, M. F. Brin, P. Greene, R. E. Lovelace, and S. Fahn, "Distant effects of locally injected botulinum toxin - a double-blind-study of single-fiber EMG changes - a reply," *Muscle & Nerve*, vol. 16, no. 6, pp. 677-677, Jun 1993.
- [105] T. S. J. Hsu, J. S. Dover, and K. A. Arndt, "Effect of volume and concentration on the diffusion of botulinum exotoxin A," *Archives of Dermatology*, vol. 140, no. 11, pp. 1351-1354, Nov 2004.
- [106] S. Altun and Y. A. Altun, "Random Paternli Rat Deri Flebinin Yaşayabilirliğini Arttırmada Botulinum Toksin-A'nın Etkisi: Deneysel Çalışma," *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg*, vol. 27, no. 3, pp. 111 - 116, 2013.
- [107] Z. Y. Ju, J. H. Wei, H. Guan, J. R. Zhang, Y. P. Liu, and X. H. Feng, "Effects of hyperbaric oxygen therapy on rapid tissue expansion in rabbits," *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, vol. 65, no. 9, pp. 1252-1258, Sep 2012.
- [108] C. A. Vinnik and S. W. Jacob, "Dimethylsulfoxide (DMSO) for human single-stage intraoperative tissue expansion and circulatory enhancement," *Aesthetic Plastic Surgery*, vol. 15, no. 4, pp. 327-337, Fal 1991.
- [109] E. Raposio and P. L. Santi, "Topical application of DMSO as an adjunct to tissue expansion for breast reconstruction," *British Journal of Plastic Surgery*, vol. 52, no. 3, pp. 194-197, Apr 1999.
- [110] O. A. Zimman, J. Tobli, L. Stella, M. Ferder, L. Ferder, and F. Inserra, "The effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the fibrous envelope around mammary implants," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 120, no. 7, pp. 2025-2033, Dec 2007.
- [111] M. Morris, V. Kapoor, and J. Chalmers, "Plasma neuropeptide-y concentration is increased after hemorrhage in conscious rats - relative contributions of sympathetic-nerves and the adrenal-medulla," *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, vol. 9, no. 5, pp. 541-545, May 1987.
- [112] M. J. Morris, J. M. Elliott, M. D. Cain, V. Kapoor, M. J. West, and J. P. Chalmers, "Plasma neuropeptide-y levels rise in patients undergoing exercise tests for the investigation of chest pain," *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 13, no. 5, pp. 437-440, May 1986.
- [113] J. L. Morris, P. Jobling, and I. L. Gibbins, "Botulinum neurotoxin A attenuates release of norepinephrine but not NPY from vasoconstrictor neurons," *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol. 283, no. 6, pp. H2627-H2635, Dec 2002.

- [114] E. Celik, M. Tercan, A. Uzunismail, and A. Saglam, "Versatility of botulinum toxin: A use in stabilization of pedicled muscle flaps," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 117, no. 2, pp. 462-467, Feb 2006.
- [115] D. F. Schweizer *et al.*, "Botulinum toxin A and B raise blood flow and increase survival of critically ischemic skin flaps," *Journal of Surgical Research*, vol. 184, no. 2, pp. 1205-1213, Oct 2013.
- [116] A. M. Yildirim, I. Okur, Z. Orter, and A. Uysal, "Nonsurgical Delay of Dorsal Rat Cutaneous Flap Using Botulinum Toxin Type A," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 122, no. 1, pp. 53E-54E, Jul 2008.
- [117] Y. S. Kim, T. S. Roh, W. J. Lee, W. M. Yoo, and K. C. Tark, "The effect of botulinum toxin A on skin flap survival in rats," *Wound Repair and Regeneration*, vol. 17, no. 3, pp. 411-417, May-Jun 2009.
- [118] T. K. Kim, E. J. Oh, J. Y. Chung, J. W. Park, B. C. Cho, and H. Y. Chung, "The effects of botulinum toxin A on the survival of a random cutaneous flap," *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, vol. 62, no. 7, pp. 906-913, Jul 2009.
- [119] M. Cakmak, G. Gollu, G. Kucuk, and B. Bahadir, "Rapid intraoperative tissue expansion with Foley catheter in a challenging cripple Hypospadias," *International Braz J Urol*, vol. 41, no. 3, pp. 591-595, May-Jun 2015.
- [120] J. A. Foster, A. J. Scheiner, A. E. Wulc, I. B. Wallace, and S. S. Greenbaum, "Intraoperative tissue expansion in eyelid reconstruction," *Ophthalmology*, vol. 105, no. 1, pp. 170-175, Jan 1998.
- [121] T. Simsek, M. Keskin, and L. Eroglu, "The extended uses of Foley catheter in Plastic Surgery " *Indian J Plast Surg*, vol. 39, no. 1, pp. 111-112, 2006.
- [122] Z. B. Xiao and G. F. Qu, "Effects of Botulinum Toxin Type A on Collagen Deposition in Hypertrophic Scars," *Molecules*, vol. 17, no. 2, pp. 2169-2177, Feb 2012.
- [123] S. Irkoren, H. S. Ozkan, E. Ceylan, N. Sivrioglu, C. Tataroglu, and Y. Durum, "The Effect of Botox on the Implant Stabilization and Capsular Formation An Experimental Study," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 75, no. 1, pp. 91-97, Jul 2015.
- [124] Y. S. Kim, J. W. Hong, J. H. Yoon, Y. S. Hwang, T. S. Roh, and D. K. Rah, "Botulinum Toxin A Affects Early Capsule Formation Around Silicone Implants in a Rat Model," *Annals of Plastic Surgery*, vol. 74, no. 4, pp. 488-495, Apr 2015.

