**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**
**TIP FAKÜLTESİ**

# BOTİLİNUM A TOKSİNİN CİLT DOKUSU GENİŞLETİLMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

**Dr. Hüseyin SAĞLAM**

**PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ**
**ANABİLİM DALI**
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**
**Prof. Dr. Zeki CAN**

**ANKARA**
**2008**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**
**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**
**TIP FAKÜLTESİ**

# BOTİLİNUM A TOKSİNİN CİLT DOKUSU GENİŞLETİLMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

**Dr. Hüseyin SAĞLAM**

**PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ**
**ANABİLİM DALI**
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**
**Prof. Dr. Zeki CAN**

**ANKARA**
**2008**

# ÖNSÖZ

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi' yi sevdiren ve değerli bilgi, beceri ve görgülerini sürekli bana aktaran sayın hocalarım Prof. Erdem Yormuk, Prof. Dr. Mustafa Özbek, Prof. Kutlu Sevin, Prof. Dr. Serdar Mehmet Gültan, Prof. Murat Emiroğlu, Prof. Dr. Zeki Can' a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu tezin oluşmasında büyük yardım ve emeği olan Ankara üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Aylin Okçu Heper'e ayrıca teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER


| | Sayfa |
|---|---|
| Önsöz | i |
| İçindekiler | ii |
| Kısaltmalar Dizini | v |
| Sekiller Dizini | vi |
| Tablolar Dizini | vii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 2 |
| 2. 1. DOKU GENİŞLETME TEKNİĞİ | 2 |
| 2.2. BOTULİNUM TOKSİN A | 5 |
| 2.2.1. Botulinum toksin | 5 |
| 2.2.2. Yapısal özellikleri ve etki mekanizması | 5 |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM | 8 |
| 3. 1. Denekler | 8 |
| 3. 2. Cerrahi Teknik | 8 |
| 3. 2. 1. Preoperatif hazırlık | 8 |
| 3. 2. 2. Cerrahi araç-gereç | 8 |
| 3. 2. 3. Deney | 9 |
| 3. 2.4. Histopatoloji | 14 |
| 4. BULGULAR | 15 |
| 4. 1. Cilt dokusu genişletme sonrası kazanılan alan | 15 |
| 4. 1. 1. Cilt dokusu genişletme sonrası kontrol grubunda kazanılan alan | 16 |
| 4. 1. 2. Cilt dokusu genişletme sonrası deney grubunda kazanılan alan | 16 |
| 4. 1. 3. Cilt dokusu genişletme sonrası kontrol ve deney grubunda kazanılan alanların karşılaştırılması | 17 |
| 4.1. 3.1. Kazanılan alanların cm2 cinsinden karşılaştırılması | 17 |
| 4. 1. 3.2. Kazanılan alanların yüzde (%) cinsinden karşılaştırılması | 17 |
| 4.2. İntraluminal basınç | 17 |
| 4. 2. 1. Kontrol grubunda ölçülen intraluminal basınçlar | 18 |
| 4. 2. 2. Deney grubunda ölçülen intraluminal basınçlar | 19 |
| 4. 2. 3. Kontrol ve deney grubunda ölçülen intraluminal basınçların karşılaştırılması | 19 |

4. 3. Doku genişletici etrafındaki kapsül kalınlıkları 19
4. 3. 1. Kontrol grubunun kapsül kalınlıkları 21
4. 3. 2. Deney grubunun kapsül kalınlıkları 21
4. 3. 3. Kontrol grubu ile deney grubunun kapsül kalınlıklarının karşılaştırılması 22
4. 4. Panniculus carneosus kalınlığı 22
4. 4. 1. Kontrol grubundaki Panniculus carneosus kalınlıkları 22
4. 4. 2. Deney grubundaki Panniculus carneosus kalınlıkları 23
4. 4. 3. Kontrol grubundaki ve deney grubundaki Panniculus carneosus kalınlıklarını karşılaştırılması 23
4. 5. Arrector pilorum kaslarının çapları 23
4. 5. 1. Kontrol grubu arrector pilorum kaslarının çapları 23
4. 5. 2. Deney grubu arrector pilorum kaslarının çapları 24
4. 5. 3. Kontrol ve deney grubu arrector pilorum kaslarının çaplarının karşılaştırılması 24
5. TARTIŞMA 27
6. SONUÇLAR 36
ÖZET 37
*SUMMARY* 38
KAYNAKLAR 39

## KISALTMALAR DİZİNİ

**BTX:** Botulinum toksin

**kD:** kiloDalton

**SNARE:** Çözünebilir N-etil maleimid-duyarlı faktörün bağlanma protein reseptörü

**SNAP:** Sinoptozomal bağlantılı protein

**LD 50**: Test edilen hayvanların %50 sini öldüren doz

**MU:** Fare birimi

**VAMP:** Vezikül bağlantılı membran proteini

**MLA:** Fare ölüm tahlili

**ELİSA** Enzim bağlı immunemici tahlil

**FTA-T:** Frontalis A testi

**Ab:** Antikor

**DMSO:** Dimetilsülfoksit

**TGF:** Dönüştürücü büyüme faktörü

**NO:** Nitrik oksit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1.** Genişletilecek alanın planlaması

**Şekil 2.** Genişleticinin yerleştirileceği planın diseksiyonu

**Şekil 3.** Yerleştirilecek olan genişletici sistemi

**Şekil 4.** Genişleticinin intraoperatif şişirilmesi

**Şekil 5.** İlk hafta görünüm (10 cc)

**Şekil 6.** 2. hafta görünüm (20 cc)

**Şekil 7.** 3. hafta görünüm (30 cc)

**Şekil 8**. 4. hafta görünüm (40 cc)

**Şekil 9.** Deney grubunun planlaması

**Şekil 10.** Genişletilen alanın eninin ölçülmesi

**Şekil 11.** Genişletilen alanın boyunun ölçülmesi

**Şekil 12.** İntraluminal basınç ölçen sistem

**Şekil 13.** İntraluminal basıncın ölçülmesi

**Şekil 14.** Kontrol grubuna ait kapsül ve panniculus carneosus HEx40

**Şekil 15.** Deney grubuna ait incelmiş kapsül ve panniculus carneosus HEx40

**Şekil 16.** Kontrol grubuna ait kapsül ve panniculus carneosus HEx200

**Şekil 17.** Deney grubuna ait incelmiş kapsül ve panniculus carneosus HEx200

**Şekil 18.** Kontrol grubu piloerektör kası HEx100

**Şekil 19.** Kontrol grubu piloerektör kası HEx100

**Şekil 20.** Deney grubu piloerektör kası HEx200.

**Şekil 21.** Deney grubu piloerektör kası HEx200.

## TABLOLAR DİZİNİ

**Tablo 1**: Botulinum toksini serotipleri ve etkileşimi olan SNARE proteinleri

**Tablo 2.** Kontrol grubunda kazanılan alanlar

**Tablo 3**. Deney grubunda kazanılan alanlar

**Tablo 4**. Kazanılan alanların cm2 cinsinden karşılaştırılması

**Tablo 5.** Kazanılan alanların % cinsinden karşılaştırılması

**Tablo 6.** Kontrol grubunda ölçülen intraluminal basınçlar

**Tablo 7.** Deney grubunda ölçülen intraluminal basınçlar

**Tablo 8.** İntraluminal basınçların karşılaştırılması

**Tablo 9**. Kontrol grubunun kapsül kalınlıkları

**Tablo10.** Deney grubunun kapsül kalınlıkları

**Tablo11.** Kapsül kalınlıklarının karşılaştırılması

**Tablo12**. Kontrol grubundaki Panniculus carneosus kalınlıkları

**Tablo13.** Deney grubundaki Panniculus carneosus kalınlıkları

**Tablo 14.** Panniculus carneosus kalınlıklarını karşılaştırılması

**Tablo 15.** Kontrol grubu arrector pilorum kaslarının çapları

**Tablo 16.** Deney grubu arrector pilorum kaslarının çapları

**Tablo 17.** Arrector pilorum kaslarının çaplarının karşılaştırılması

# 1. GİRİŞ

Doku genişletilmesi, doku defektlerinin kapatılması için fazladan doku kazanımını sağlamak amacıyla geliştirilmiş bir tekniktir. İlk doku genişleticisi, 1957'de Neuman tarafından kulak rekonstrüksiyonu için uygulanmıştır (1). Daha sonraları yapılan klinik ve histolojik çalışmalar sonrasında doku genişleticiler; yeni, güvenli ve etkili bir seçenek olarak plastik ve rekonstrüktif cerrahi teknikleri arasına girmiştir (2).

Doku defektlerinin rekonstrüksiyonlarında, doku genişletici kullanımının, lokal ve uzak fleple kıyasla donor morbiditesinin azlığı ve doku uyumunun daha iyi olması gibi avantajları vardır. Dezavantajları ekspansiyon süreci sırasındaki geçici kozmetik deformite, ekspansiyonun uzamış peryodu, birden çok işleme ihtiyaç olması, implant ve yerleşimi ile ilgili komplikasyonları içerir. Genişletilen dokunun eni defektin eninin en az 2 katına ulaşana kadar devam eder. İşlem ortalama 8-12 hafta sürer. Bu dönemde en çok korkulan komplikasyon implantın açığa çıkmasıdır. Bu komplikasyon doku genişletmesinin başarısını önemli oranda azaltır. Doku genişletmenin başarısını azaltan önemli bir faktör de doku genişletici etrafındaki kapsülün kalınlığının artmasıdır. Kapsül kalınlığının artması sadece doku genişletme işlemini zorlaştırmaz, genişletme sonrası sağlanan fleplerin boyutununu da azaltır. (3).

Bu nedenle doku genişletme işleminin daha güvenli şekilde daha kısa zaman zarfında yapılabilmesi için bir çok araştırma yapılmıştır. Doku genişletme işlemi mekanik ve farmakolojik olarak güvenli bir şekilde hızlandırmaya çalışılmıştır. Bu amaçla bir çok farmakolojik ajan kullanılmasına rağmen rutin klinik kullanımda henüz yerini alan bir ajan yoktur.

Literatürü gözden geçirdiğimizde farmakolojik ajanlardan özellikle antikontraktil ajanlar kullanılmıştır. Bu çalışmada da antikontraktil bir ajan olan hem de klinikte sık olarak kullanılan Botulinum A toksininin cilt dokusu üzerine etkilerini araştırdık.

Günümüzde kas kontraksiyonlarını gidermek için Botulinum toksin, özellikle nöroloji ve plastik cerrahi alanında oldukça yaygın kullanılmakta ve bu etkisini sinir-kas kavşağının presinaptik terminallerinden asetilkolin serbestleştirilmesini geri dönüşümlü olarak bloke ederek yapmaktadır .

# 2. GENEL BİLGİLER

## 2.1. DOKU GENİŞLETME TEKNİĞİ

Doku genişletme son 30 yıldır major bir rekonstrüktif seçenek haline gelmiştir. Özellikle meme rekonstrüksiyonu, yanık cerrahisi ve pediatrik plastik cerrahi alanlarında oldukça geniş kullanım alanına sahiptir.

Yeteri kadar kullanılacak dokunun olmaması rekonstrüktif cerrahın sıklıkla karşılaştığı bir problemdir. Deri ve altındaki yumuşak dokuların doku genişleme fenomeni hamilelikte, yavaş büyüyen tümörlerde ve sıvı birikimlerinde sıklıkla gözlenir. (Kitlenin artan hacmi tarafından oluşturulan gerginliğe cevap olarak lokal dokunun genişlediği durumlarda) Bu cevap ekspande derinin artmış mitotik aktivitesine ve vaskülaritesi oluşan metabolik olarak aktif işlemdir ve klinik olarak rekonstrüktif cerrahi de önemli bir tedavi aracı olarak kullanılır (2).

1957 de Neumann ilk defa kontrollü doku genişletmeyi subkutan yerleştirilmiş bir kauçuk balon kullanarak lokal deri artırımıyla yapılan kulak defektini rekonstrüksiyonunda kullandı. Buna rağmen 30 yıl geçene kadar, Radovanın 1982 yılında meme rekonstrüksiyonunda doku genişletici tanımlamasıyla başlayan doku genişletmeye ilgi tekrar rağbet kazandı (4). Günümüzde güvenli ve arttırılabilir yumuşak doku kaynağı sağlayan standart bir teknik olarak kabul edildi.

Doku genişletme bir çok avantaja sahiptir. Deri rengi ve dokusunda mükemmele yakın uyum sağlarken, minimal donor saha ve iz oluşur (5,6). Aynı zamanda vücudun çeşitli bölümlerinde özelleşmiş duyu fonksiyonu veya deri ekleri özelliklerini sağlamak için kullanılır. Örnekler, meme rekonstrüksiyonundaki deri fleplerinin üstün duyusunu ve erkek tipi kellik tedavisinde dizayn edilen saç içeren flepleri içerir (7). Dezavantajları, genişletme süreci sırasındaki geçici kozmetik deformite, genişletmenin uzamış peryodu, birden çok işleme ihtiyaç olması, implant ve yerleşimi ile ilgili komplikasyonları içerir.

Doku genişletme içeren deride hücresel aktivite ve vasküler değişikliklere neden olur. Mikrosirkülasyondaki değişikler ekspande ile non-ekspande deri karşılaştırıldığında daha dayanıklı fleplerin oluşturulduğunu göstermiştir. Histolojik bulgular genişletmeyi bir çeşit "delay" olduğunu destekler. Cherry ve diğerleri bir hayvan modelinde, ekspande deri mikroanjiografide artmış vaskülarite göstermiştir.

(2). Protezin etrafında oluşan kapsül de artmış vaskülarite gösterir ve subdermal pleksusda artmış dolaşım gösterilmiştir (8). Bu kapsülün kaldırılması ekspande dokunun bütünlüğünü tehlikeye atar. Bu yüzden bu işlem gereksizdir ve bazen risklidir.

Modern implantlar aralıklı salin enjeksiyonu ile doldurulan silikon elastomerlerden yapılmaktadır. İmplantlar vücudun spesifik bir noktasına veya defektin şekli için geliştirilmiş maksimal yüzey alanı sağlamak ve flep yönünü belirlemek için çeşitli hacim ve şekillere sahiptir. (Örn. ay çöreği şeklinde, dikdörtgen, yuvarlak). Oluşan dokunun gerçek miktarı yüzey alanındaki matematiksel olarak beklenenin sadece bir parçasıdır. (yaklaşık %35) (9). Defektin iki katı kadar alanı kaplayacak yeterli yumuşak doku kazanana kadar genişletme devam edilir. Hedef hacme ulaşıldıktan sonra 2-3 hafta beklemek genişletilmiş derinin yumuşaması için alışılagelmiş bir durumdur. Bu, flep transpozisyonu sırasında karşılaşılacak olan kontraksiyonun miktarını azaltır. İlginç olarak genişleticiye ters etki yapmadan hedeflenen hacmin 2-3 katı şişirilebilir.

Deri ve subkutan dokunun farklı tabakaları genişletmeye farklı cevap verdiği görülmüştür. Epidermis subkutan ekspansiyona en üretken tepkiyi verir. Histolojik çalışmalarda epidermis yüzey alanını artmasına rağmen en azından kalınlığını korumuş ve sıklıkla da kalınlığını artırmıştır (10,11). Normal derideki epidermisin 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 aktivite 3 kat artığı gösterilmiştir (12). 1 hafta içinde mitotik aktivite bazal seviyelerine dönmüştür. Küçük domuz modelinde, aralıklı ekspansiyonla epidermisin tabakaları arasında histolojik olarak fark görülmemiştir. Epidermal kalınlık 4-6 hafta içinde eski kalınlığına geri döner. Fakat bazen bu kalınlık artış aylarca azalmayabilir. “rete ridge” lerin düzleşmesi görülür (12). Genişleticinin çıkarılmasından 2 yıl içinde de yavaşça eski haline döner(13).

Çalışmaların çoğunda doku ekspansiyonuna dermisin epidermisten daha az toleranslı olduğu ortaya koyulmuştur (10,12). Kobay modelinde, ekspansiyonun başlangıcından 1 haftalık bir zaman (en erken) sonra dermal kalınlıkta azalma

meydana geldiği bulunmuştur (5). Dermal kalınlık ekspansiyon başladığından 5 hafta ila 5 ay sonra insan derisinde belirgin azalmıştır (10). Ekspande insan derisinden alınan biyopsilerde yapılan çalışmada dermisin kontrol deriden belirgin olarak daha ince olduğu ortaya konmuştur (10). Hızlı ekspande edilen deride dermal değişikler kollajen demetlerinin çapraz bağlarının açılarının değiştiği gözlenmiştir (12). Açı normalde 70 derece civarındadır. Bu açı ekspansiyonun hızıyla orantılı olarak bir miktar azalır. Sonunda kollajen lifleri neredeyse yüzeye paralel olarak uzanırlar.

Histolojik değişiklikler daha sık ve daha kalıcı olarak papiller dermisten çok retiküler dermiste görülür. Genişletme işlemi sırasında retiküler dermis belirgin olarak incelir; 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 .

Subkutan yağ ve kas dokusu ekspansiyona en az toleranslı katmanlardır. Kobay, domuz, ve köpekteki deneyler, ekspande yağ ve kas dokusunda belirgin incelmeyi göstermiştir (6,11,14). Adipoz doku ise %30-50 kalıcı atrofiye gider (10). Yağ tabakasına benzer olarak iskelet kasları kompresyon hasarına dayanıksızdır ve atrofiye giderler. Genellikle büyük kaslardan (gövde , ekstremite) çok küçük kaslarda ( yüz) fibrozis 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 nekroza gider.

Genişletilmiş iskelet kası protez çıkarıldıktan sonra normal kas mimarisini, vaskülaritesini ve fonksiyonunu onarır (15). Genişleticinin çıkarılmasından sonra kas kütlesi normale döner.

Doku genişletici yabancı cisim olduğu için , kapsül oluşumu yerleştirilmesinden hemen sonra başlar. Mini piglerdeki bir çalışmada 1 hafta sonra kapsülün iki tabakası ayırt edilebilir (10). İç tabaka makrofajlardan oluşur, 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. Meme

implantlarındaki kollajen üzerine çalışmalarda Tip1, daha az olarak ve azalan sırayla tip 3 ve 5 ağırlıklıdır (16). Bu kapsüllerdeki kollajen tiplerinin paternleri subkutan dokudaki skar dokusuyla benzerdir. Kapsül genişletmenin ilk iki ayında en kalın haldedir. Hematom veya seroma oluşumu kapsül kalınlığında artışa neden olur. Kapsül kalınlığındaki bu artış genişletme işleminin başarısını azaltır. Protezin çıkarılmasından 1 yıl sonra bile kapsül kalıntıları belirlenebilir (17).

Kıl, sebase bezler ve ter bezleri doku ekspansiyonuna aktif olarak cevap vermezler (10). Dermal eklerin yoğunluğu ekspansiyonla kazanılmış yüzey alanına orantılı olarak azalır. Fazla hacimli doku genişletmelerde nadiren de olsa arrector pili kasları fibrozise gidebilir.

## 2.2. BOTULİNUM TOKSİN A

### *2.2.1. Botulinum Toksin*

Botulinum toksin (BTX), sporlu, gram (+), anaerob Clostridium botulinum'un ekzotoksinidir. Botulinum toksinleri bilinen dünyada bilinenen kuvvetli biyolojik zehirlerdir. BTX'in A, B, C1, D, E, F ve G olmak üzere yedi farklı serotipi bulunur (18,19).

### *2.2.2. Yapısal Özellikleri ve Etki Mekanizması*

Toksin 150 kD molekül ağırlığında olup, birbirine disülfid bağı ile bağlı çift zincirden oluşur. BTX çinko endopeptidi olup, çinko bağlayıcı metalloendoproteaz içeren molekül ağırlığı 100.000 kD olan ağır ve molekül ağırlığı 50.000 kD olan hafif zincirden oluşmaktadır. Bu iki zincir arasındaki disülfit bağı ısıya duyarlıdır. Bu bağın bozulması toksini inaktive eder. Bu nedenle toksinin uygun sıcaklık koşullarında saklanması gerekir. Ağır zincir bölümü , toksinin mide asiditesine dayanıklılığını sağlar. Hemaglütinasyondan sorumludur. Hafif zincir bölümü ise bir nörotoksindir (20). Ağır zincirde C ve 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 zinciri endozomal membrana geçişini sağlar. Hafif zincir ise intrasellüler etkili nörotoksin parçasını oluşturmaktadır. Bu parça membranların birleşmesinden sorumlu SNARE (soluble N-ethyl maleimide-sensitive factor attachement proteine receptor) proteinlerine bağlanır. BTX'un hedefi hücre

duvarındaki SNARE proteinleridir. SNARE proteinlerinin bütünlüğü ekzositoz için mutlaka gereklidir (21,22). Klinik kullanımı en sık olan BTX-A preparatı SNAP-25'e bağlanarak etkisini gösterir. BTX'un hafif zinciri bu proteinlere bağlanır ve SNARE proteinlerinin biri veya birkaçını parçalayarak, sinaptik aralığa asetilkolin salınımını önleyerek kasta geriye dönüşümlü paralizi yapar (23).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de BTX-A serotipi en sık kullanımı olan BTX türü olup ve BTX-A serotipi Botox® ve Dysport® isimli preparat adlarıyla bilinmektedir. Botox® ABD'de, Dysport® İngiltere'de üretilmektedir (24,25). BTX aktivitesini ölçebilmek için "mouse unit "(MU,LD50, U) birimi kullanılmaktadır. 1 MU aktivitesi 18-20 gr'lık dişi İsviçre Webster türü fare grubuna yapılan intraperitoneal botox enjeksiyonu ile farelerin % 50' sini öldürebilen doz olarak tanımlanmaktadır. 70 kg ağırlığındaki bir kişi için LD50 (median lethal dose) 2500-3000 U Botox olup spastisite tedavisi amacıyla kullanınlan en yüksek doz ise 400 U'dir (26,27). Botox® ilk 3 ay için 400 MU dan fazla kullanılmamalıdır (28,29,30,31). Bu iki ürünün potensleri birbirinden farklıdır. Dysport®'un bir flakonunda 500MU (12,5 ng), Botox®'da 100 ünite (5ng) toksin bulunmaktadır. Klinik olarak gözlenen aktivite bakımından 1 U Botox® kabaca 3-4 U Dysport®'a eşdeğerdir (24,25). Botoxu 2,5 ml (4 botox ünitesi), disport 3 ml (16,6 disport ünitesi) ile sulandırıldığında her bir ml de eşit klinik etki gösterecek ünite toksin içerir. Ülkemizde bulunmayan BTX-B serotipi, ABD'de Neuroblok®, Avrupada da Myoblok® adı altında piyasada bulunmaktadır. Eşit konsantrasyonlarda 1 U botox 50 ünite NeuroBloc ile eşdeğerdir (32). BTX-F serotipinin BTX-A ya dirençli vakalarda kullanıldığı bilinmekle beraber yapılan çalışmalar deneysel ve klinik aşamada olup F serotipi ile ilgili preparatı mevcut değildir (33).

Botulinum toksinlerinin etkisi 1-4 günler içinde başlar. Bu süre toksinin uygulandığı kastan yavaş difüzyonunu ya da enjeksiyondan sonra toksinin presinaptik terminale ulaşması için gereken zamanı yansıtmaktadır (34). Buna rağmen "neurobloc" un etkisi 6 hafta, botox ve disportun etkisi ortalama 14 hafta sürer.

Nöromüsküler kavşakta ve otonomik gangliyonlardaki sinir uçlarında BTX etkileri bağlanma, içeri alma ve blokaj olmak üzere 3 aşamada gerçekleşir. Toksin ilk

basamakta nöron spesifik ağır zincir parçası ile kolinerjik sinir terminallerine bağlanır. Her bir BTX serotipi için ayrı bağlanma bölgeleri mevcuttur (35).

**Tablo 1. Botulinum toksini serotipleri ve etkileşimi olan SNARE proteinleri**

| Serotip | Hedef SNARE proteini |
|---|---|
| **SerotipA** | SNAP 25 |
| **Serotip B** | VAMP |
| **Serotip C** | Sintaksin/SNAP 25 |
| **Serotip D** | VAMP |
| **Serotip E** | SNAP 25 |
| **Serotip F** | VAMP |
| **SerotipG** | VAMP |

Haşmet A. Hanağası. Botulinum Toksini'nin Yapısı ve Etki Mekanizması, Nöropsikiyatri Arşivi, 2006; 43(1-4): 15-19 (33)

İkinci basamak olan içeri alınmada, BTX reseptörlerin aracılık ettiği endositoz ile sinir terminali içine alınır ve vezikül içinde toksin formasyonu oluşur. Son basamak olan blokaj evresinde toksinin hafif zincir parçası vezikül membranını geçerek nöronal sitoplazmaya salınır ve SNARE proteinlerine bağlanarak asetilkolin salınımını yani ekzositozu bloke eder. Böylelikle nöromüsküler kavşakta botulinum toksini sadece motor nöronlardaki asetilkolin salınımını inhibe etmez (21,22), aynı zamanda otonomik ganliyonlardakini de inhibe eder (36). Bu otonomik gangliyonlar ter bezleri, tükrük bezleri gibi ekzokrin bezleri ve gastrointestinal ve ürogenital sifinkterleri de içeren düz kasları innerve eden eferent nöronları içerir. Bu da botulinum toksininin fokal hiperhidrozda, hipersalivasyonda, hiperlakrimasyonda (37), akalazyada (38), Oddi sifinkteri disfonksiyonunda, detrüsör-sifinkter dissinerjisinde , anal fissurlerde (37) , ve spastik konstipasyonda (39) kullanılmasına gerekçe sağlamıştır.

Ancak 4-12 hafta sonunda aksonal filizlenme (nevre sprouting) ile yeni sinir terminalleri oluşur ve sinir iletisi tekrar başlar. BTX-A preparatı için nöromüsküler iletinin tekrar başlaması ve asetilkolin salınımı için tekrar geçen süre 3 ay olarak bulunmuştur (21). C serotipi de A serotipine benzer, ancak diğer serotipler daha kısa süre etkilidir. Tedaviye başlarken direnç gelişimini önlemek amacıyla mümkün olan en düşük doz seçilmelidir. Enjeksiyonların arası en az 3 ay olması ve 3 aydan kısa süren güçlendirici enjeksiyonlardan kaçınılması gereklidir.

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM

## 3. 1. DENEKLER

Çalışmada ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, 30 adet yetişkin dişi Wistar sıçan kullanılmıştır. Denekler, her biri 10'ar adetten oluşan kontrol ve botulinum toksin A (BTX-A) grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

**I. Grup (Kontrol grubu :** Rat sırtında 6x6 cm2 lik cilt altına doku genişletici yerleştirilerek 1 aylık süreç içinde 40 cc serum fizyolojik ile cilt genişletildi.

**II. Grup (BTX-A grubu):** Genişletilecek alana 9 IU (0.45 ng) BTX 30 "gauge" enjektör ile subkutan olarak uygulandıktan 2 gün sonra 1. gruptaki işlem gerçekleştirildi.

## 3. 2. Cerrahi Teknik

### *3. 2. 1. Preoperatif hazırlık*

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuarında gerçekleştirildi. Denekler, ısı, ışık ve hava akımının dengeli olduğu bir odada, ayrı kafeslerde barındırılıp, standart rat diyeti ile beslendiler. Her sıçanın sırt bölgesi ameliyat öncesi traş edilip ardından povidin iyodin ile preoperatif hazırlık yapıldı. Anestezi için Ketamin (100 mg/kg, intraperitoneal) ve Xylazine (3 mg/kg, intraperitoneal) kullanıldı. Çalışmanın tümü aynı araştırmacı tarafından yürütüldü.

### *3. 2. 2. Cerrahi araç-gereç*

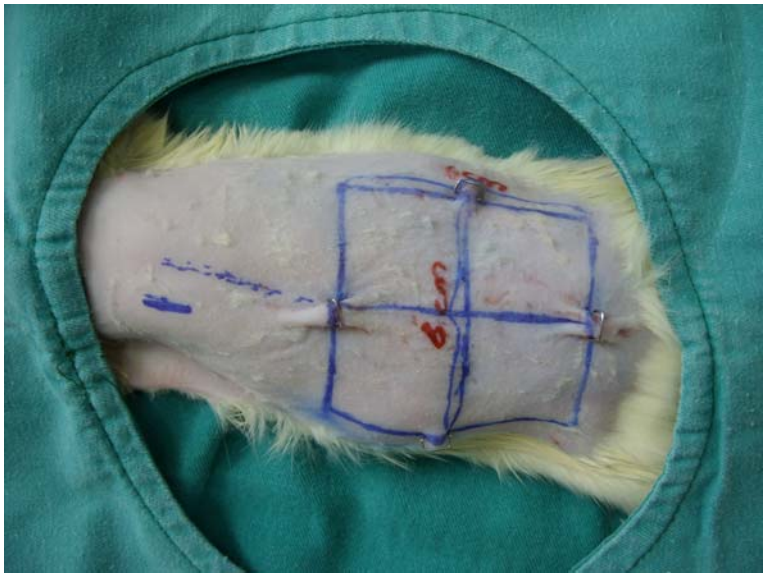
Cerrahi işlem sırasında, portegü, Adson penset, diseksiyon makası, küçük boy pensler, 15 no'lu bistüri ve 3 no'lu bistüri sapı, 4.5 büyütmeli loop, steril gazlı bez, steril cerrahi eldiven, serum fizyolojik, formol, 3/0 U.S.P. keskin ipek, 30 gauge enjektör, 18 nolu silikon kaplı latex sonda, doku genişletici portu ve ara bağlantısı, 21 numara kelebek set, sifingomanometre, 3 yollu musluk,20 cclik enjektör, 9U (0.45 ng) BTX-A, (BOTOX®) kullanılmıştır. Cerrahi set otoklav ile sterilize edilmiştir.

*3. 2. 3. Deney:*

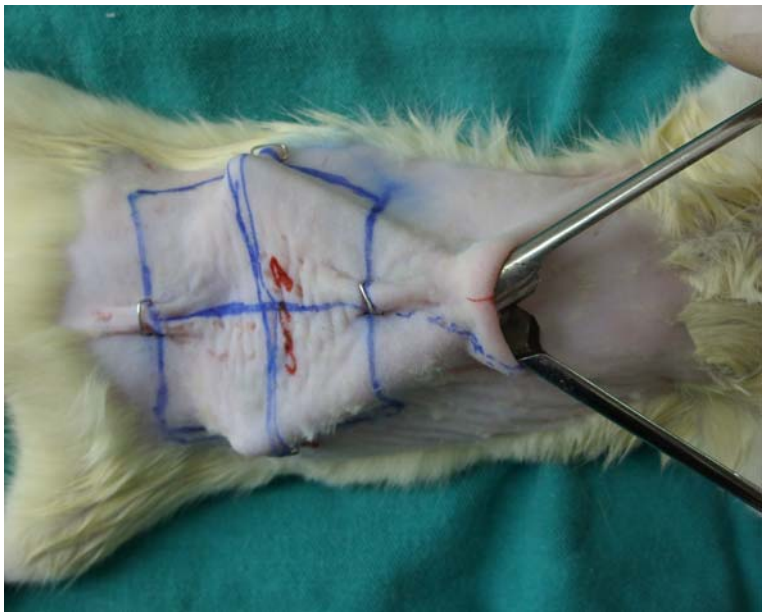
Sıçanlar her iki üst ve alt ekstremitesi 120° abduksiyonda olacak şekilde pron pozisyonda yatırılarak sabitlendi. Kürk traşı ve povidon iyot ile ameliyat bölgesinin hazırlanmasından sonra, bu pozisyonda tabanı her iki kalça ekleminden geçen hat üzerine gelecek şekilde 6x6 cm lik alan işaretlendi. Sol torakal bölgede vertebraya parelel 2 cmlik insizyon yapılarak cilt ve paniculus karneosusun altına ulaşıldı. Diseksiyon makasıyla yapılan künt disekyonla 6x6 cmlik cilt adasının altı ve portun yerleştirileceği alan serbestleştirildi. Hemostaz sağlandı. 18 no.lu silikon kaplı lateks sonda ile doku genişletici portlarından oluşan doku genişletici sistemi diseke edilen alana yerleştirildi. Sistemin çalıştığı ve kaçak olmadığı kontrol edildi. Genişleticinin balonu 10 cc şişirildi. İnsizyon 3/0 ipek ile onarılarak operasyona son verildi.

II. grupta ise rat sırtında işaretlenen 6x6 cmlik alandaki birbirine eşit uzaklıkta( 2 cm) 9 nokta belirlendi ve bu noktalara 1 er U botulinum a toksini subkutan olarak yapıldı. Böylece rat sırt derisine toplam 9 U botulinum a toksini enjekte edilmiş oldu. 2 gün sonra 1 gruptaki gibi rat sırtına doku genişletici sistem yerleştirildi.

Deney ve kontrol grubundaki genişletici balon 1 er hafta arayla her defasında 10 ar cc şişirilerek hedeflenen son hacim olan 40 cc ye ulaşıldı. 4 hafta sonunda Toplam 4 hafta sonunda işaretli bölgenin yüzey alanı tekrar ölçüldü ve kazanılan alan hesaplandı. Sfingomanometre üç yollu musluk ve yeşil kelebek setiyle porta bağlanarak intraluminal basınç mmHg cinsinden ölçüldü. Ekspande edilen dokudan histopatolojik inceleme yapılması için örnek alınacak. kapsül kalınlığı, panniculus karneosus kalınlığı ve arrector pililerin çapları ölçüldü.



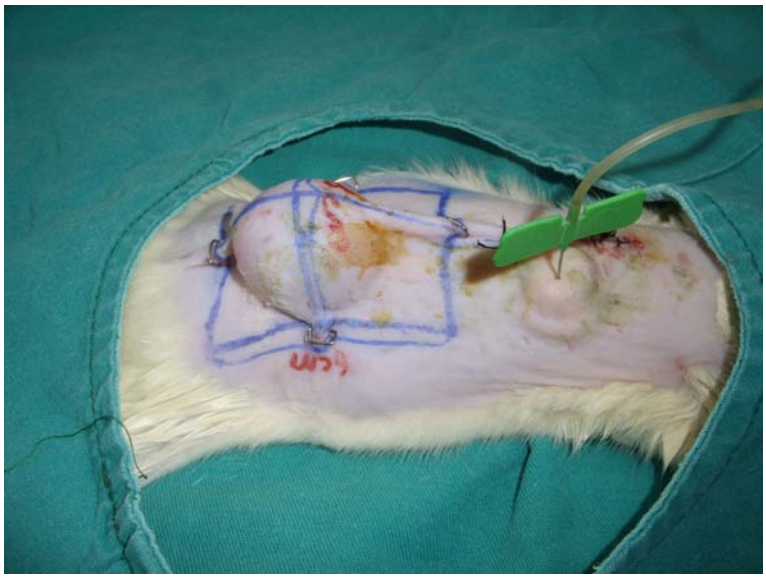
Şekil 1.  Genişletilecek alanın planlaması



Şekil 2. Genişleticinin yerleştirleceği planın diseksiyonu



Şekil 3. Yerleştirilecek olan genişletici sistemi



Şekil 4. Genişleticinin intraoperatif şişirilmesi



Şekil 5. İlk hafta  görünüm (10 cc)



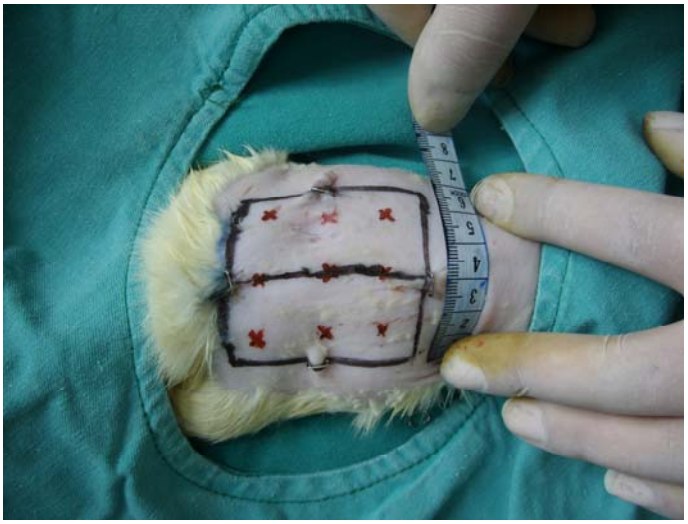
Şekil 6. 2. hafta  görünüm (20 cc)



Şekil 7. 3. hafta görünüm (30 cc)



Şekil 8. 4. hafta  görünüm (40 cc)



Şekil 9. Deney grubunun planlaması

*3. 2. 4. Histopatoloji*

Çıkarılmış olan deri ve deri altı doku örnekleri %10'lık formol takibi sonrasında tam kat kesitler alınarak örneklenmiştir. Bu örneklerden rutin parafin takibi sonrasında 5 mikrometrelik kesitler alınarak hematoksilen-eozin boyası uygulanmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir. Tüm örneklerde, yüzeyden derine doğru sırası ile epidermis, dermis, subkutan doku, çizgili kas dokusu ve en altta fibroblastik, damardan zengin kapsül dokusu saptanmıştır. Ölçümler mikrometre olarak, kapsülün ve kas dokusunun en ince olduğu noktalarda mikroskobik grid kullanılarak, Olympus BX50 ışık mikroskobunda yapılmıştır.

Tüm deneklere Helsinki Nihai Senedi Kurallarına göre davranıldı. Çalışma sonunda denekler intrakardiyak potasyum enjeksiyonu ile sakrifiye edildi.

# 4. BULGULAR

## 4. 1. CİLT DOKUSU GENİŞLETME SONRASI KAZANILAN ALAN

İki nokta arasındaki mesafe ölçülüp alan= boy (x) en formülünden hesaplandı. Başlangıçta genişletilmesi planlanan alan her iki grupta da eşit idi. 6 cmx6cm =36 cm2 idi. Genişletme işlemi sonundaki alan her iki grupta yine iki nokta arasındaki uzunluklar ölçülerek alan= boy (x) en formülünden hesaplandı. Son alandan 36 cm2 çıkarılarak. kazanılan alanı bulundu.



**Şekil 10.** Genişletilen alanın eninin ölçülmesi



**Şekil 11.** Genişletilen alanın boyunun ölçülmesi

***4. 1. 1.*** *Cilt dokusu genişletme sonrası kontrol grubunda kazanılan alan*

**Tablo 2. Kontrol grubunda kazanılan alanlar**

| Olgu no | Kazanılan alan(cm2) |
|---|---|
| 1 | 81,30 |
| 2 | 88,63 |
| 3 | 93,47 |
| 4 | 79,54 |
| 5 | 81,72 |
| 6 | 89,60 |
| 7 | 70,50 |
| 8 | 86,10 |
| 9 | 95,04 |
| 10 | 90,36 |

*4. 1. 2. Cilt dokusu genişletme sonrası deney grubunda kazanılan alan*

**Tablo 3. Deney grubunda kazanılan alanlar**

| Olgu no | Kazanılan alan(cm2) |
|---|---|
| 1 | 77,2 |
| 2 | 98,52 |
| 3 | 102,4 |
| 4 | 84,99 |
| 5 | 105,48 |
| 6 | 104,80 |
| 7 | 100,74 |
| 8 | 91,20 |
| 9 | 93,95 |
| 10 | 102,0 |

***4. 1. 3.*** *Cilt dokusu genişletme sonrası kontrol ve deney grubunda kazanılan alanların karşılaştırılması*

*4. 1. 3.1. Kazanılan alanların cm2 cinsinden karşılaştırılması*

Botox uygulanan grupta (96 ±9,27), kontrol grubuna (85,62± 7,43) göre daha fazla alan kazanıldı ve bu sonuç istatiksel olarak da anlamlıydı.($p<0.05$)

**Tablo 4. Kazanılan alanların cm2 cinsinden karşılaştırılması**

| Grup | n | ortalama | Std. Dev | ortanca | min | maks |
|---|---|---|---|---|---|---|
| botox | 10 | 96.12 | 9.27 | 99.63 | 77.20 | 105,48 |
| kontrol | 10 | 85.62 | 7.43 | 87.36 | 70.50 | 95.04 |

*4. 1. 3. 2. Kazanılan alanların yüzde(%) cinsinden karşılaştırılması*

Botox uygulanan grupla (267.02 ± 25.77), kontrol grubu (237.85± 20.65) arasında kazanılan alanın % leri arasında fark mevcuttu.($p<0.05$)

**Tablo 5. Kazanılan alanların % cinsinden karşılaştırılması**

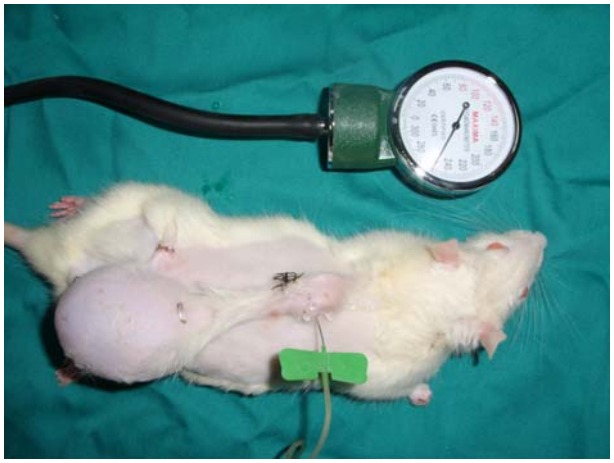
| Grup | n | ortalama | Std. Dev | ortanca | min | maks |
|---|---|---|---|---|---|---|
| botox | 10 | 267.02 | 25.77 | 276.75 | 214.44 | 293.00 |
| kontrol | 10 | 237.85 | 20.65 | 242.68 | 195.83 | 264.00 |

## 4.2. İNTRALUMİNAL BASINÇ

Sfingomanometre ile mmHg cinsinden ölçüldü.



Şekil 12. İntraluminal basınç ölçen sistem



Şekil 13. İntraluminal basıncın ölçülmesi

*4.2. 1. Kontrol grubunda ölçülen intraluminal basınçlar*

**Tablo 6. Kontrol grubunda ölçülen intraluminal basınçlar**

| Olgu no | İntraluminal basınç(mmHg) |
|---|---|
| 1 | 208 |
| 2 | 181 |
| 3 | 158 |
| 4 | 179 |
| 5 | 142 |
| 6 | 156 |
| 7 | 198 |
| 8 | 144 |
| 9 | 188 |
| 10 | 201 |

*4.2. 2. Deney grubunda ölçülen intraluminal basınçlar*

**Tablo 7. Deney grubunda ölçülen intraluminal basınçlar**

| Olgu no | İntraluminal basınç(mmHg) |
|---|---|
| 1 | 148 |
| 2 | 188 |
| 3 | 162 |
| 4 | 152 |
| 5 | 160 |
| 6 | 126 |
| 7 | 188 |
| 8 | 156 |
| 9 | 158 |
| 10 | 160 |

*4.2. 3. Kontrol Deney grubunda ölçülen intraluminal basınçların karşılaştırılması*

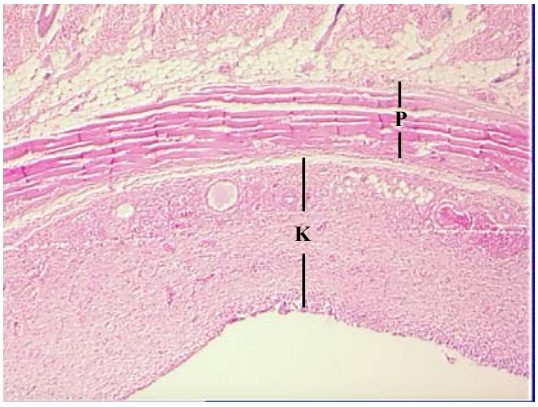
Botoks grubu (159.80 ± 18.12) ile kontrol grubunda (175.50 ± 24.06) yapılan intraluminal basınç ölçümleri arasında anlamlı fark oluşmadı.($p<0.05$)

**Tablo 8. İntraluminal basınçların karşılaştırılması**

| Grup | n | ortalama | Std. Dev | ortanca | min | maks |
|---|---|---|---|---|---|---|
| botox | 10 | 159.80 | 18.12 | 159.00 | 126.00 | 188.00 |
| kontrol | 10 | 175.50 | 24.06 | 180.00 | 142.00 | 208.00 |

## 4. 3. DOKU GENİŞLETİCİ ETRAFINDAKİ KAPSÜL KALINLIKLARI

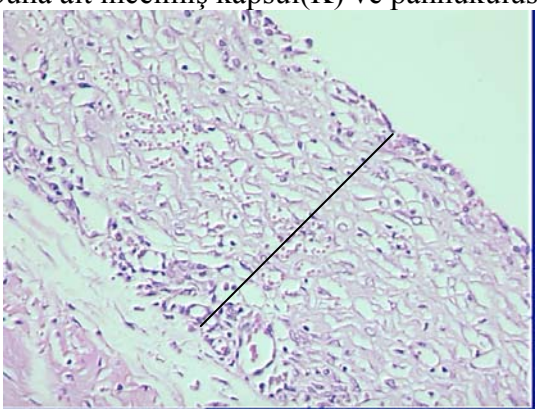
Tüm örneklerde, yüzeyden derine doğru sırası ile epidermis, dermis, subkutan doku, çizgili kas dokusu ve en altta fibroblastik, damardan zengin kapsül dokusu saptanmıştır. 5B, 6, 9B ve 10 no.lu olgularda kapsül tabanında, nötrofil lökositler ile karakterli akut süpüratif iltihap saptanmıştır.



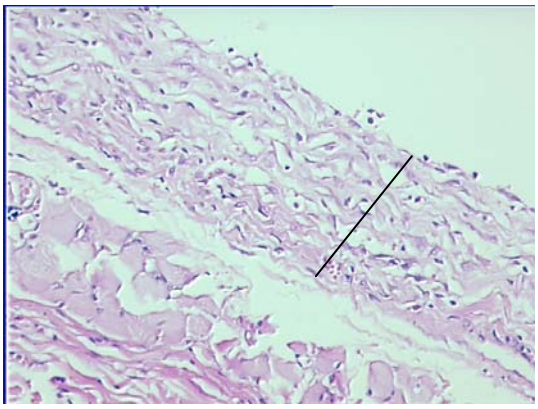

**Şekil 14.** Kontrol grubuna ait kapsül (K) ve pannikulus karnosus(P).HEx40




**Şekil 15.** Deney grubuna ait incelmiş kapsül(K) ve pannükulus karnosus(P).HEx40.



**Şekil16**. Kontrol grubuna ait kapsül HEX200



**Şekil 17**. Deney grubuna ait incelmiş kapsül HEX200

*4. 3. 1. Kontrol grubunun kapsül kalınlıkları*

**Tablo 9. Kontrol grubunun kapsül kalınlıkları**

| Olgu no | Kapsül kalınlığı (mikrometre) |
|---|---|
| 1 | 120 |
| 2 | 160 |
| 3 | 180 |
| 4 | 100 |
| 5 | 270 |
| 6 | 740 |
| 7 | 150 |
| 8 | 180 |
| 9 | 160 |
| 10 | 120 |

*4. 3. 2. Deney grubunun kapsül kalınlıkları*

**Tablo10. Deney grubunun kapsül kalınlıkları**

| Olgu no | Kapsül kalınlığı (mikrometre) |
|---|---|
| 1 | 80 |
| 2 | 130 |
| 3 | 40 |
| 4 | 50 |
| 5 | 140 |
| 6 | 60 |
| 7 | 30 |
| 8 | 250 |
| 9 | 60 |
| 10 | 110 |

*4. 3. 3. Kontrol grubu ile deney grubunun kapsül kalınlıklarının karşılaştırılması*

Botoks (95.00 ± 66.20) grubu ile kontrol grubunda (218.00±189.31 ) ölçülen kapsül kalınlığı değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark mevcuttu..($p<0.01$)

**Tablo11. Kapsül kalınlıklarının karşılaştırılması**

| Grup | n | ortalama | Std. Dev | ortanca | min | maks |
|---|---|---|---|---|---|---|
| botox | 10 | 95.00 | 66.20 | 70.00 | 30.00 | 250.00 |
| kontrol | 10 | 218.00 | 189.31 | 160.00 | 100.00 | 740.00 |

## 4. 4. PANNİCULUS CARNEOSUS KALINLIĞI

Mikroskobik grid kullanılarak, Olympus BX50 ışık mikroskobunda mikrometre cinsinden yapılmıştır.

*4. 4. 1. Kontrol grubundaki Panniculus carneosus kalınlıkları*

**Tablo12. Kontrol grubundaki Panniculus carneosus kalınlıkları**

| Olgu no | Kalınlık (mikrometre) |
|---|---|
| 1 | 150 |
| 2 | 230 |
| 3 | 210 |
| 4 | 80 |
| 5 | 160 |
| 6 | 190 |
| 7 | 350 |
| 8 | 100 |
| 9 | 120 |
| 10 | 200 |

*4. 4. 2. Deney grubundaki Panniculus carneosus kalınlıkları*

**Tablo13. Deney grubundaki Panniculus carneosus kalınlıkları**

| Olgu no | Kalınlık(mikrometre) |
|---|---|
| 1 | 90 |
| 2 | 120 |
| 3 | 60 |
| 4 | 110 |
| 5 | 100 |
| 6 | 60 |
| 7 | 70 |
| 8 | 110 |
| 9 | 50 |
| 10 | 80 |

*4. 4. 3. Kontrol grubundaki ve deney grubundaki Panniculus carneosus kalınlıklarını karşılaştırılması*

Botoks grubu (85.00± 24.60) ile kontrol grubunda (179.00± 7,52) ölçülen panniculus carneosus kalınlığı değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark mevcuttu.($p<0.01$)

**Tablo 14. Panniculus carneosus kalınlıklarını karşılaştırılması**

| Grup | n | ortalama | Std. Dev | ortanca | min | maks |
|---|---|---|---|---|---|---|
| botox | 10 | 85.00 | 24.60 | 85.00 | 50.00 | 120.00 |
| kontrol | 10 | 179.00 | 77,52 | 175.00 | 80.00 | 350.00 |

## 4. 5. ARRECTOR PİLORUM KASLARININ ÇAPLARI

4. 5. 1. Kontrol grubu arrector pilorum kaslarının çapları

**Tablo 15. Kontrol grubu arrector pilorum kaslarının çapları**

| Olgu no | arrector pilorum kas çapları (mikrometre) |
|---|---|
| 1 | 11.4705 |
| 2 | 6.3461 |
| 3 | 10.2777 |
| 4 | 9,0000 |
| 5 | 10.0000 |
| 6 | 12.1875 |
| 7 | 9.4827 |
| 8 | 11.1538 |
| 9 | 12.5000 |
| 10 | 12.6923 |

*4. 5. 2. Deney grubu arrector pilorum kaslarının çapları*

**Tablo 16. Deney grubu arrector pilorum kaslarının çapları**

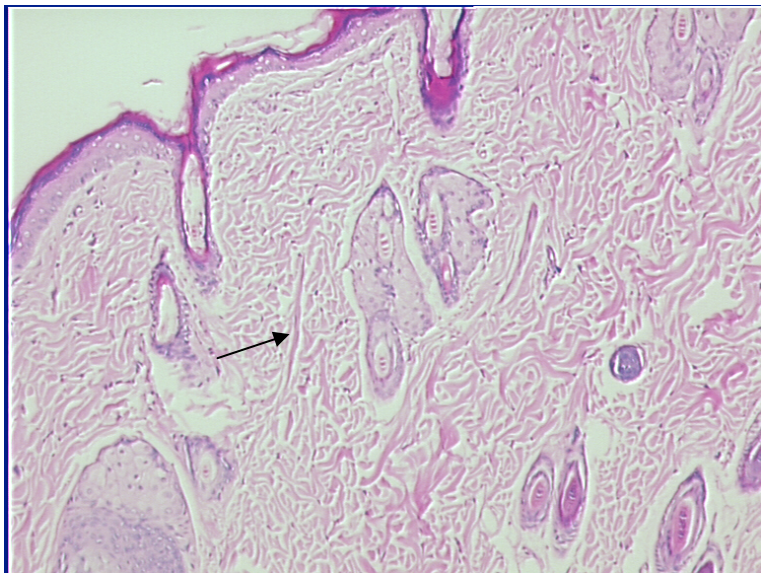
| Olgu no | arrector pilorum kas çapları (mikrometre) |
|---|---|
| 1 | 11,6666 |
| 2 | 13,0000 |
| 3 | 13,7500 |
| 4 | 14.0000 |
| 5 | 10,0000 |
| 6 | 9.5000 |
| 7 | 15.0000 |
| 8 | 14,0475 |
| 9 | 13,6363 |
| 10 | 15.0000 |

*4. 5. 3. Kontrol ve Deney grubu arrector pilorum kaslarının çaplarının karşılaştırılması*

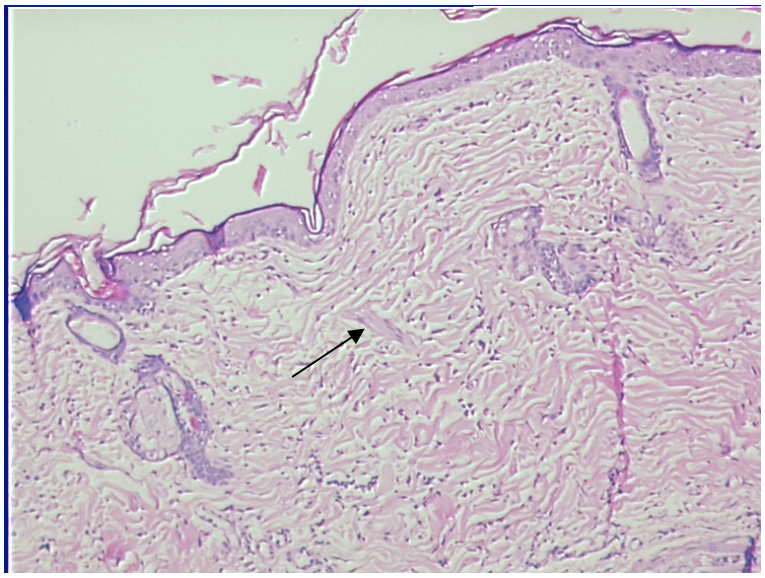
Botoks grubu (12.96± 1.94) ile kontrol grubunda (10.51± 1.93) ölçülen arrector pili kas çap değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark mevcuttu..($p<0.01$)

**Tablo 17. Arrector pilorum kaslarının çaplarının karşılaştırılması**

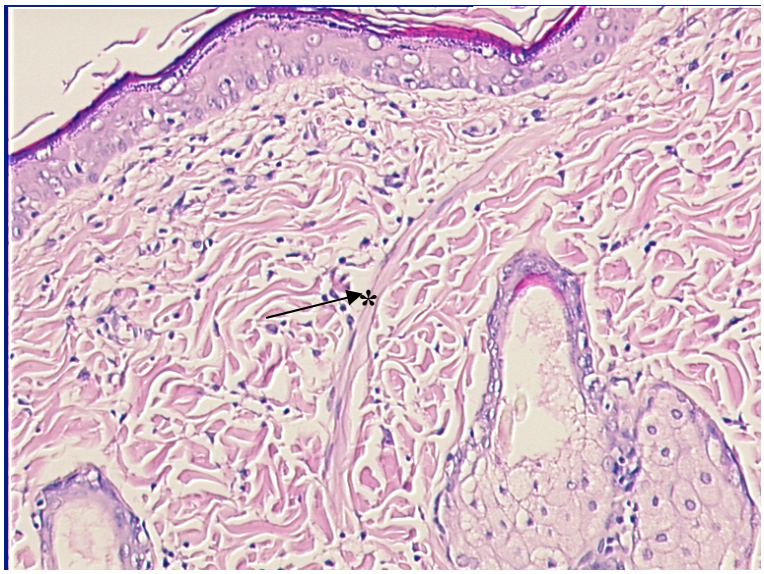
| Grup | n | ortalama | Std. Dev | ortanca | min | maks |
|---|---|---|---|---|---|---|
| botox | 10 | 12.96 | 1.94 | 13.69 | 9.50 | 15.00 |
| kontrol | 10 | 10.51 | 1.93 | 10.71 | 6.35 | 12.69 |



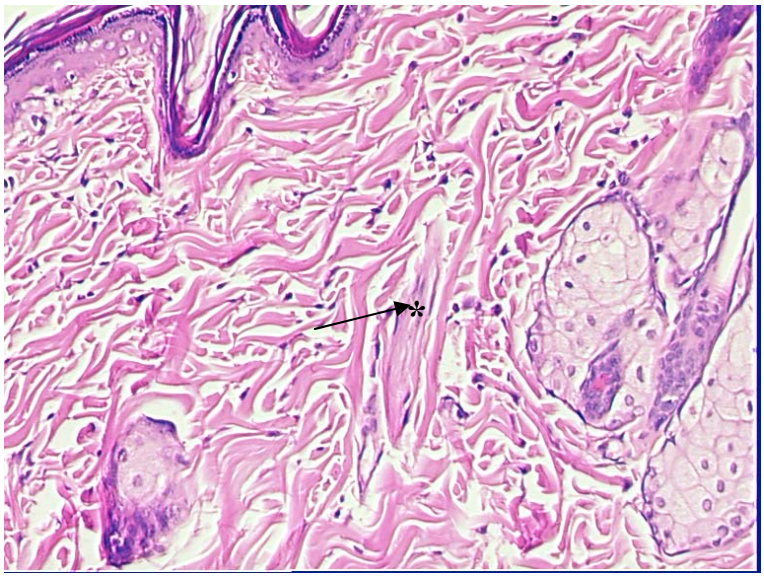
**Şekil 18.** Kontrol grubu piloerektör kası HEx100



**Şekil 19.** Deney grubu piloerektör kası HEx100.



**Şekil 20.** Kontrol grubu piloerektör kası (*) HEx200



**Şekil 21.** Deney grubu piloerektör kası (*) HEx200.

# 5. TARTIŞMA

Doku genişletme tekniği son 30 yılda önemli bir rekonstrüktif seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. Vucudun hemen hemen her yerinde fazla doku oluşturmak üzere kullanılabilir. Özellikle meme, yanık ve pediatrik cerrahide oldukça geniş kullanım alanı bulmuştur. Mükemmele yakın renk uyumu , azalmış donor saha morbiditesi ve azalmış skar en önemli avantajlarıdır. (5,6) Fakat işlemin iki aşamalı olması ve genişletme sürecinde kozmetik deformite oluşması en önemli dezavantajlarıdır. Genişletilen dokunun eni defektin eninin 2,5-3 katına ulaşana kadar devam eder (13). İşlem ortalama 8-12 hafta sürer (40). Bu dönemde en çok korkulan komplikasyon implantın açığa çıkmasıdır. Bu komplikasyon doku genişletmesinin başarısını önemli oranda azaltır. Doku genişletmenin başarısını azaltan önemli bir faktör de doku genişletici etrafındaki kapsülün kalınlığının artmasıdır. Kapsül kalınlığının artması sadece doku genişletme işlemini zorlaştırmaz, genişletme sonrası sağlanan fleplerin boyutununu da azaltır (41).

Bu nedenle doku genişletme işleminin daha güvenli şekilde daha kısa zaman zarfında yapılabilmesi için bir çok araştırma yapılmıştır.

Doku genişletme işlemini geliştirmek için farmakolojik ajanlar kullanıldı. 1985 yılında Lee ve ark. (42), papaverin ve sitokalazin D gibi antikontraktil ajanların kobaylarda ayrı bir kateterle genişleticinin bulunduğu alana verildiğinde kutanöz doku genişletme boyutlarını ve hızını artırdığı bulunmuştur. Bu çalışmada papaverin 19,5 mg/ml ve sitokalazin 50 mikrog /ml konsantrasyonlarında infüzyon şeklinde uygulandı. Deney gruplarının kontrol grubuna göre daha fazla genişletme boyutlarını artırdığı fakat bu iki ajan arasında alan açısından istatiksel bir fark bulunamadı. Canady ve ark. (43), kobaylarda antikontraktil ajanların kan akımım üzerine etkilerini araştırmış. Bu araştırmada daha önce doku genişletmeyi artırdığı bildirilmiş olan ve yan etkilerinin azlığı nedeniyle. papaverin kullanmışlar. Ayrı bir kateterle genişleticinin etrafına 1,5 cc (20 mg/ml ) papaverin her şişirme işleminin öncesinde verilmiş. Genişletme işlemi sonunda deney grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek kan akımı olduğunu gözlemlemişler. Fakat bu özellik papaverinin myofibroblast gevşetici etkisi haricinde vazodilatatör etkisinede bağlı olabilir.

Antikontraktil ajanların kullanımı genişletmeye karşı direnç gösteren kapsüldeki kontraktil fibroblastların azalmasıyla sonuçlandı. Bu ayrı kateter sistemi

kompleks ve zahmetli olduğu için ve efektif ilaç konsantrasyonuna uzun bir süre ulaşılamadığı için topikal ilaç uygulamaları yapıldı. Tang ve ark. (44), topikal papaverini, günde iki kez minyatür domuzların derisine uygulayarak, ayrı bir kateter sistemiyle genişleticinin bulunduğu alana verilen papaverin ile karşılaştırmışlar. Topikal papaverinin de doku genişletme işlemini hızlandırdığı ve hatta kapsüle direkt olarak verilen papaverinden daha fazla genişletme hızınını arttırdığını gözlemlemişlerdir. Topikal papaverin uygulamasının daha az sistemik dolaşıma katılımının olduğu ve efektif dozun daha uzun süre sağlayabildiğini tespit etmişlerdir. Sistemik uygulanan papaverinin yan etkileri oldukça fazladır. Atrioventriküler blok yapabilir. Damar dışına sızdığında irritasyon ve tromboz yapabilir. Topikal uygulama ile bu yan etkilerin görülme riski azalmasına rağmen kutanöz erüpsiyon yapma riski mevcuttur. Botulinum toksin A'ya göre hem sistemik hem de lokal yan etkilerin daha fazla olduğu açıkça görülmektedir.

Liang ve ark.(45), bir kollajenolitik olan topikal dimetilsülfoksidi (DMSO) ratlarda kullanarak doku genişletmeyi artırmak için test etmişler. 2 ml DMSO her şişirme işleminden 30 dakika önce topikal olarak genişletici üzerindeki deriye uygulanmış ve genişletme basınçlarında belirgin azalma sağlamışlar. Vinninck ve Jacob (46), topikal ve intravenöz DMSO klinik kullanımı ile doku genişletici ile meme rekonstrüksiyonu, geniş lezyon eksizyonları ve abdominoplasti sırasında intraoperatif doku ekspansiyonunu belirgin artırdığını bildirmişlerdir. 7 vakalık bu seride DMSO topikal olarak %70 lik konsantrasyonda spançlara emdirilerek 10 dakikadan 3 saate kadar değişen sürelerle ve iv olarak 2mg/kg dozunda intraoperatif infüzyonlar halinde kullanılmıştır. Raposio ve Santi (47) %60'lık topikal DMSO'yu tek taraflı radikal mastektomi ve eş zamanlı doku genişletici ile rekonstrüksiyon yapılan hastalarda uygulamışlar ve genişletme zamanında ve intraluminal basınçta istatiksel olarak anlamlı azalma bulmuşlar. Bu çalışma da %60'lık DMSO salin solusyonu her şişirmeden 30 dakika önce derinin üzerine cerrahi spançlara emdirilerek uygulanmıştır. Sıklıkla yan etki olarak hastanın nefesindeki sarımsak benzeri koku tedavi sırasında oluşur. Bu koku DMSO nun % 3 oranında akciğerlerden dimetilsulfid şeklinde atılmasına bağlıdır. DMSO temelde, insektisidler, fungisid ve herbisidler gibi çeşitli kimyasallarda çözücü olarak kullanılan bir ajandır. Hematopoietik kök hücre dondurulmasnda en yaygın

kullanılan kriyopotektan yapmıştır. Serumdaki ortalama yarı ömrü 20 saat kadardır ve temelde renal yolla uzaklaştırılmaktadır (48). 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.

Netscher, Spira, and Peterson (49), rat modelinde üç kimyasal ajanın (prostaglandin E2, hiyaluronidaz, and kolşisin) doku genişletme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Her bir ajanın birden çok fizyolojik etkisinin olduğu bilinmektedir. Prostoglandin E2 vazodilatatör etkili, hiyaluronidaz mukoppolisakkaritler üzerine enzimatik aktiviteye sahip, kolşisin ise doku kollajenazını uyaran ve mitozu inhibe eden bir ajan olduğu için bu çalışmada kullanılmıştır. Prostoglandin E2 jel günde 2 kez topikal, kolşisin intramüsküler, hyalurinidaz ise genişletici etrafına adapte edilmiş bir kateterden verilmiş. Prostoglandin E2 nin genişletme hızına etkisinin olmadığı şişirmeden hemen sonra genişletilmiş dokudaki oksijen basıncını artırdığı gözlenmiş. Hiyaluronidaz, and kolşisin doku genişletmeyi hızlandırdığı ortaya çıkmış. Her üç ajanında kapsül kalınlıklarına etkisinin olmadığı görülmüş.

Matt ve ark. (50) kobaylarda teofilin vererek daha fazla doku genişletme sağlamışlardır. Her şişirme işleminden önce 30 mg teofilin 3 cc serum fizyolojik içinde genişletici etrafına ayrı bir lümenden verilerek eşit basınçta toplam son hacmin anlamlı derecede daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Teofilinin terapötik indeksinin düşük olması nedeniyle doz ayarlamasında plazmadaki düzeyinin izlenmesi gerekir. Teofilinin yarı ömrürünün 10-15 saat arasındadır. Botulinum toksin A'yı kullanımının monitorizasyon gerektirmemesi ve yarı ömrünün 14 hafta olması nedeniyle, teofilinle kıyaslandığında oldukça üstün kılmaktadır.

Landsman ve Mandy (51), yaptıkları bir klinik çalışmada intraoperatif genişletme ve lokal anestezilere hyalurinidaz eklenmesi alopesi cerrahisine yardımcı olduğunu bildirmişlerdir. Sedasyon ve lokal anestezi(1/100000 lik epinefrin içeren %2 lik lidokain, 1/200000lik epinefrin içeren % 0,25lik bupivakain,1 IU/ml oranında hyalurinidaz solusyonu ile) altında, alopesik 20 hastada, önce doku elastikiyetinden ve dokunun altının serbestleştirilmesinden yaralanarak maksimal eksizyon yapılmış. Sonra altı serbestleştirilmiş deriye intraoperatif doku genişletme işlemi uygulanmış ve %20-30 oranında ek olarak saçsız deri çıkardıklarını iddia etmişlerdir. Bu çalışmada hyalurinidazsız intraoperatif genişletme yapılan bir grup yoktur. İddia

edilen %20-30 ek kazanımın neye göre hesaplandığı da belli değildir. Hyalurinidazın genişletmeye etkisinin olup olduğu şüphelidir.Bu yöntemle makalede belirtildiği gibi haylurinidazlı lokal anestezik kullanıması sadece diseksiyon kolaylığı yaratmış olabilir.

Stark ve ark. (52) ratlarda yaptığı bir araştırmada, şişirilebilir meme implantını (70/90 cm3) 150 mg siklosporin ile 20 cc şişirmişler. Siklosporin güçlü bir T lenfosit spesifik immunsupresandır ve organ transplantlarında kullanılır. Şişirme işlemi bir defa da yapılmış. Şişirme işlemi genişletme amaçlı değil de implantın bulunduğu cebe siklosporinin diffüze olması için verilmiş. 3 ay sonra intraluminal siklosporin ölçülmüş ve %20 sinin kaldığı saptanmış ve %80'inin implant yatağına diffüze olduğunu düşünmüşler. 3 ayın sonunda ölçülen kapsül kalınlığında belirgin azalma gözlenmiş. Ajanın immunsupresif yan etkisinden dolayı meme tümörlerinin lokal nüks riskini artırabilir.

Tercan ve ark. (53) ratlarda yaptığı deneysel çalışmada topikal estriolün doku genişletme işlemini kolaylaştırdığını bildirmişlerdir. Hergün bir kez saf vazelin, estriol krem, hyalurinidaz pomad uygulanan üç grupta intraluminal basınç ve kopma direnci ölçülmüş. Deney sonunda intraluminal basıncın, hyalurinidaz ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az olduğu görülmüş. Hyalurinidaz grubundaki intraluminal basıncın da kontrol grubuna göre daha az olduğu gözlemlenmiş. Histopatolojik olarak kollajen liflerinin kalınlaşmasına rağmen kopma direnci ise estriol grubunda kontrol grubuna göre daha az olduğu bulunmuş. Bunu da kollajen üretiminin "turn-over"inin artmasına ve olgun kollajenin eksikliğine bağlamışlar. Hyalurinidaz grubunda yama şeklinde nekroz geliştiği için kopma direnci ölçülmemiş. Doku genişletme işlemi uzun süreli bir işlem olduğu için, topikal uygulansa da estriolün yan etkilerinin görülme riski yüksektir. Özellikle tedavinin başlangıç kısmında memelerde hassasiyet, mastalji, bulantı, kusma ve artmış vajinal ifrazat görülebilir. Bu yan etkilerin kadın hastaların konforunu azaltacağı aşikardır.

Aynı yıl yayınlanan bir başka deneysel çalışmada silikon implantlar etrafındaki kapsül formasyonunu azaltmak amacıyla Mitomisin-C kullanılmış. Mitomisin antineoplastik ajan olarak İV ve glokom cerrahisinde özelikle fibroblast proliferasyonunu önlemek için topikal olarak kullanılmaktadır. Farelerde yapılan bu

çalışma implant için hazırlanan cepler 0.5 ml(0,4 mg/ml) mitomisin-C solüsyonuyla yıkanmış ve postoperatif 1.,2., ve 4. aylardaki kapsül oluşumu incelenmiş. Sonuç olarak kapsül kalınlığında, fibroblast ve kollajen liflerin sayısında belirgin azalma meydana gelmiş (54). Kas, kemik gibi çabuk çoğalma kapasiteleri düşük olan yapılara etkisinin olmadığı gözlenmiş. Henüz klinik uygulama sonuçları mevcut değil.

Copcu ve ark. (41) Yeni Zelanda tavşanlarında yaptıkları deneysel çalışmada, bir kalsiyum kanal blokörü olan verapamilin doku genişletmeyi artırdığını bildirmişlerdir. Doku genişletici yerleştirildikten hemen sonra ve 3 günde bir 2,5 ml Verapamil (5 mg/2ml Isoptin®, Knoll Inc.) 1 cc NaCl ile karıştırarak ayrı bir kateterle doku genişleticinin bulunduğu alan verilmiş. Deney sonunda genişletilen alan ve retraksiyon oranları ölçülmüş. Deney grubunda daha fazla genişletilen alanın daha fazla olduğu ve retraksiyon oranlarının daha düşük olduğu gözlemlenmiş. Botulinum toksinle karşılaştırıldığında yarılanma ömrünün (16 saat) oldukça az olduğunu görmekteyiz. Hipotansif etkisinin olması yaşlı hastalarda kullanımı ayrı dikkat gerektirir.

Zimman ve ark.(55) yayınladığı bir çalışmada , meme implantları etrafındaki fibröz kapsül üzerine bir anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü olan enalapril etkisini incelemişler. Enalapril renal ve kardiyovasküler hastalıklarda kullanılır ve TGF-B1, anti- kollajen III gibi fibrotik mediatörlerin salınımını engeller. Ratlarda yapılan bu çalışma da postoperatif 3. ayda enalapril verilen verilmeyen düz ve pürtüklü implantlara etrafındaki kapsüller incelenmiş. Enalapril (20 mg/l) deney grubunu içme suyuna karıştırılarak, diğer gruba da saf su verilmiş. Enalapril verilen gruplarda kapsül kalınlığının daha az olduğu ve implanlar etrafında daha az inflamatuar cevap geliştiği gözlenmiş. Ayrıca düz ve pürtüklü gruplar kendi aralarında incelendiğinde pürtüklü gruplarda daha az inflamatuar cevap ve kapsül kalınlığının düz implant grubuna göre daha az olduğu görülmüş. Fakat bu çalışmada deney grubundaki ratlara verilen enalapril dozunda standardizasyonu sağlamak oldukça zor. Çünkü ratlara içebildikleri kadar su verilmiş (enalaprilli veya enalaprilsiz). 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.

Cafee (56), antienflamatuar ajan olan vitamin E'yi tavşan modelinde kullanmış. Tavşan modeline şişirilebilir silikon implantlar yerleştirilmiş ve haftada 3 kez 500U/kg dozundan intramuskuler E vitamini verilmiş. Deney grubunda tonometre ile ölçülen kapsülün daha yumuşak olduğu bulunmuştur fakat kapsül kalınlıkları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Sonuç olarak istatiksel olarak kapsül kontraktürünü azaltmasına rağmen bu etkisi oldukça küçüktür. Bu yüzden vitamin E profilaksisinin kapsüler kontraktür üzerine major bir etkisi yoktur.

Son yıllarda astım tedavisinde kullanılan bir lökotrien reseptör antagonisti olan zafirlukastın kapsüler kontraktürü azalttığına dair klinik ve deneysel çalışmalar mevcuttur. En az bir memesinde orta veya şiddetli kapsüler kontraktür bulunan 10 bayanda, Scuderi ve ark.nın yaptığı klinik bir araştırmada günde 2 kez 6 ay boyunca 20 mg zafirlukast verilmiş ve meme kompliansında düzelme görülmüş (57). D'Andrea ve ark. kapsüler kontraktür nedeniyle opere olan hastalardan aldıkları hastalarda lökotrien reseptörlerinin arttığını bildirmişlerdir (58). Hem Spano ve ark. hem de Bastos ve ark yaptıkları deneysel çalışmalarda günlük oral ve intraperitoneal verilen zafirlukastın ratlarda kapsül kalınlığını azalttığı gözlenmiş (59,60). Zafirlukastın en önemli dezavantajı hepatik yetmezliğe kadar gidebilen hepatotoksisitedir. İlacın kullanımı hepatik monitorizasyon gerektirmektedir.

Hetrick ve ark (61) rat modelinde, nitrikoksit salan subkutan implantlara doku cavabı araştırılmış. Model implantlar NO salan diazeniumdiolat modifiye zerojel polimerlerle kaplı silikon elastomerden oluşurlar. 6 hafta süren araştırmada etrafındaki kapsül kalınlığını ve inflamatuar cevabı azalttığı ve vaslülariteyi artırdığı gözlenmiş. NO'un %50si ilk 5 saat, %99 u ilk 72 saatte salındığı ve küçük miktarda NO da 1 haftaya kadar salınabildiği kaydedilmiş. Henüz rutin kullanımda olmayan bu model implantın NO'nun yarılanma süresinin oldukça düşük olması ve salınımının homojen olmaması klinik kullanımda yer almasını zorlaştırmaktadır.

Steroidlerin kapsül oluşumun etkileri tartışmalıdır. İmplantın bulunduğu cebe konulan steroidlerin kapsüler kontraktürü azalttıkları ilk defa Peterson ve Burt (62) tarafından ortaya atıldı. Bu metod sınırlı bir başarıya sahipti ve kontraksiyonun başladığı zaman zarfında ilacın yeterli konsantrasyonu sağlayamaması önemli bir problem olarak ortay açıkmaktaydı. Sonra Perrin (63), serum fizyolojik doldurulan implantların içine steroid konulmasının kapsül oluşumunu azalttığını iddia etti. Fakat

bu metodda da ilaç çok yavaş salındığı için uygun gereken zamanda efektif doza ulaşması oldukça zordu ve bu yüzden de etkisi çok uzun sürüyordu . Bu nedenle ilacı uzun dönem yan etkilerinin görülme riskini artırmaktaydı. Cafee (64) tavşan modelinde yaptığı bir araştırmada intraoperatif verilen steroidin (20 mg) değil de 4 ve 8 haftalarda verilen intrakapsüler steroidin (20 mg) kapsüler kontraktürü azalttığını gözlemlemiş. Bu bildiriden bir yıl sonra yayınlanan klinik çalışmasında kapsüler kontraktürlü 20 hastaya intrakapsüler steroid uygulaması yapılıp 12' sinde başarılı olmuş. Fakat bu işlem ciddi komplikasyonlara sahipti. Bir vakada implant delinmesi ve 3 hastada major atrofi meydana geldi. Bunlardan ilkinde deri perforasyonu gelişip implant çıkartılmış. Diğerinde deri atrofisinden dolayı latissimus dorsi flebi yapılması gerekmiş. Üçüncü hastaya da mastopeksi yapılarak komplikasyon düzeltilmiş. 1999 yılında Liu klinik steroid uygulamasının doku genişletme üzerine etkisini artırdığını bildirmiştir (65). Yayın Çince olduğu için hakkında yeterli bilgiye ulaşılamamıştır, sadece özetine ulaşılabilmiştir.

Yukarıda da belirtildiği gibi doku genişletme işleminin hızını ve güvenilirliğini artırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların çoğu kontraktil fibroblastlar (myofibroblast) üzerine yoğunlaşmıştır. Kontraktil fibroblastlar doku genişleticiler ve statik implantların etrafındaki kapsül oluşumunun içinde bulunur. Düz kas hücrelerine yapısal ve fonksiyonel benzerliklerinden dolayı myofibroblast olarak adlandırılırlar (66). Mekanik gerilime cevap olarak bağ dokuda ortaya çıkarlar ve uygulanan kuvvete karşı koyma eğilimindedirler. Bu nedenle antikontraktil ajanlarla doku genişletici etrafındaki dokuyu tedavi etmek myofibroblastların varlığına müdahale eder ve fibröz kapsülün etkisini veya gelişimini engeller. Böylece genişletme daha hızlı ve verimli olarak ilerler (16). Aynı perspektiften bakarak bizde bu çalışmamızda bir antikontraktil ajan olan Botulinum A toksininin doku genişletme işlemi üzerine etkisini araştırdık. Botulinum A toksini esas olarak çizgili kaslar üzerine etkilidir. Fakat düz kaslar üzerine de etkili olduğu bilinmektedir (67). Bu ajan günümüzde distoni ve diğer istemsiz hareketler , uygunsuz kas kontraksiyonları , akalazya , anal fissur gibi gastrointestinal hastalıklar ve özellikle de kozmetik amaçlı olarak rutin klinik kullanımda yerini almıştır. Subkutan veya intramusküler uygulanan bu ajanın ortalama yarı ömrü 14 haftadır.

Yaptığımız çalışmada botulinum toksininin genişletme alanı, intraluminal basınç, kapsül kalınlığı, panniculus carneosus ve arrector pililer üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla rat modelinde belirlenen 6x6 cmlik dorsal yerleşimli alan genişletildi. Genişletme işlemi Eroğlu ve ark.nın metoduyla foley katetere port bağlanarak hazırlanan sistem ile yapıldı (68). Botulinum A toksininin yapılacağı noktaların arasındaki mesafe, Hsu ve ark. nın yaptığı çalışma referans alınarak 2 cm olarak belirlenmiştir. Hsu ve ark toksinin ortalama dağılım alanı 4.12 cm2 olarak bildirmişlerdir (69). Literatürde Botulinum A toksinin kutanöz doku genişletme uygulaması üzerine bildirilmiş olan herhangi bir doz şekli yoktur. Minglei ve ark.larının ratlarda ağrı üzerine yaptığı çalışmada 3.5, 7, 15, 30 U/kg dozlarından Botulinum A toksinini subkutan yolla uygulamıştır (70). Biz de 30 U/kg dozunu referans aldığımızda 250-300 g. lık rata verilecek dozu yaklaşık 9 U toksin olarak hesapladık. Bu dozuda 6x6 cmlik alan içinde 9 adet birbirine eşit uzaklıkta (2 cm) belirleyip her bir ratın dorsal yüzeyine subkutan olarak enjekte edildi. 40 cc lik genişletme hacmine ulaşıldıktan sonra toksinin etki değerlendirildi.

Botulinum A toksini uyguladığımız grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha fazla genişletme yapılmıştır. Eşit zamanda eşit miktar hacim sıvı ile yapılan genişletmede daha fazla alan kazanmak , daha fazla alana daha kısa zamanda ulaşılması demektir. Aynı zamanda bu durum botulinum A toksininin doku genişletme işlemini hızlandırdığı şeklinde de yorumlanabilir. Diğer antikontraktil ajanlar gibi myofibroblastlar üzerinden bu etkisini gösterdiğini düşünmekteyiz. Kapsül kalınlığındaki anlamlı azalma da bizim düşüncemizi desteklemektedir. Düz kas yapısında olan arrektor pililer üzerine de toksinin anlamlı etkisi olduğunu gözlemledik. Arrector pililer kontrol grubuna kıyasla daha fazla hipertrofik bulundu. Bu durumu toksinin denervasyon etkisine etkisine bağladık. Sadece arrector pililerde değil çizgili kas içeren panniculus carneosus'ta da atrofi mevcut idi. Bu yapı insanlarda platismaya eşdeğerdir ve insan dışında birçok hayvanda varlığını ve işlevini sürdürür. Bu nedenle çalışmamızda genişletmeden kazanılan alanın ne kadarının çizgili kas gevşemesine bağlı olduğu belli değildir. Literatürde diğer antikontraktil ajanlarla yapılan doku genişletme çalışmalarında da implant panniculus carneosusun altına yerleştirilmiştir (42,4349,50).

Deney ve kontrol gruplarında ölçülen intraluminal basınçlar arasında anlamlı fark yoktur. Bu bulguyu deney modelimizde kullanılan doku genişleticinin özelliklerine bağlamaktayız. Silikon kaplı lateks idrar sondasıyla oluşturulan sistemde büyük bir negatif basınç oluşmakta ve basınç 208 mmHg ye çıkmaktadır. Doku kompartman basıncını 0-8 mmHg civarında olduğunu düşünürsek etraf dokunun genişletici balona olan etkisinin ne kadar olacağı açık değildir (71). Bu nedenle bu bulgunun sağlıklı olmadığı görüşündeyiz. Toksinin intraluminal basınca etkisi başka bir çalışma da standart doku genişleticiler kullanılarak ölçülebilir.

Rat modeli doku genişletme için mükemmel bir model olmasa da kapsül ve doku genişletme hızına belirgin etkisi olduğu saptanmıştır. Diğer ajanlara göre tek doz kullanımının yeterli olması, yan etkilerinin az olması ve ağrı giderici özelliğinin de olması klinik kullanım açısından cazip olan özellikleridir. Bu bilgiler, bizde botulinum toksin A'nın doku genişletme işlemine yardımcı ve hasta konforunu artıran ajan olarak kullanımının olabileceği kanısını oluşturmuştur.

# 6. SONUÇLAR

Bu çalışmada botulinum toksin A'nın doku genişletme işlemi üzerine olan etkileri üç farklı yöntemle incelenmiştir.

**1.** Rat modelinde yapılan genişletme işleminde botulinum A toksinin birim zamanda daha fazla alan kazanılmasını sağladığı ve işlemi hızlandırdığı belirlenmiştir.

**2.** Rat modelinde yapılan genişletme işleminde intraluminal basınç üzerine anlamlı etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

**3.** Rat modelinde yapılan genişletme işlemi incelendiğinde botulinum toksin A verilen grupta kapsül kalınlığının azaldığı ve arrektor pililerin hipertrofiye uğradığı saptanmıştır.

Bu veriler ışığında botulinum A toksinin doku genişletme işlemine olumlu katkılarının olduğu ve bu işlemi hızlandırdığı tespit edilmiştir. Klinikte başka amaçlarla kullanılan bu ajanın ek bir seçenek olarak doku genişletmeye yardımcı olacağı düşünülmektedir. Doku genişletme işleminin süresinin azalmasıyla oluşturulan iyatrojenik kozmetik deformite süreci ve implanta bağlı komplikasyonlarla karşılaşılma ihtimali de azalacaktır.

# ÖZET


## Botulinum Toksin A' nın Cilt Dokusu Genişletilmesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi

**Amaç:** Doku genişletme donor morbiditesinin azlığı ve doku uyumunun daha iyi olmasına rağmen genişletmenin uzamış süreci önemli sorundur. Bu çalışmada bu süreç üzerine antikontraktil bir ajan olan Botulinum toksin A'nın etkileri incelenmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** Ağırlıkları 250-300 gram olan toplam 20 adet rat kullanıldı ve hayvanlar iki gruba ayrıldı. Tüm hayvanların dorsumunda 6x6 cm lik alan işaretlendi Kontrol grubunda (n=10) uzak insizyonla paniculus karneosusun altına ulaşıldı. Künt disekyonla 6x6 cmlik cilt adasının doku genişletici sistemi diseke edilen alana yerleştirildi. Deney grubunda (n=10) ise rat sırtında işaretlenen 6x6 cmlik alandaki birbirine 2 cm uzaklıkta 9 nokta belirlendi ve bu noktalara 1 er üniteden toplam 9 U botulinum a toksini subkutan olarak yapıldı. 2 gün sonra 1 gruptaki gibi rat sırtına doku genişletici sistem yerleştirildi.

Deney ve kontrol grubundaki genişletici balon 1 er hafta arayla her defasında 10 ar cc şişirilerek hedeflenen son hacim olan 40 cc ye ulaşıldı. Toplam 4 hafta sonunda işaretli bölgenin yüzey alanı tekrar ölçüldü ve kazanılan alan hesaplandı. Sfingo- manometre üç yollu musluk ve yeşil kelebek setiyle porta bağlanarak intraluminal basınç mmHg cinsinden ölçüldü. Ekspande edilen dokudan histopatolojik inceleme yapılması için örnek alınacak. kapsül kalınlığı, panniculus karneosus kalınlığı ve arrector pililerin çapları ölçüldü..

**Bulgular:** Yapılan genişletme işleminde botulinum A toksin uygulanan grupta daha fazla alan kazanıldı.. Yapılan genişletme işleminde botulinum A uygulanan grupla kontrol grubu arasında ölçülen intraluminal basınçlar arasında fark yoktu. Histolojik ölçümlerde botulinum toksin A verilen grupta kontrol grubuna göre kapsül kalınlığının azaldığı panniculus carneosus'un daha atrofik olduğu, arrektor pililerin daha hipertrofik olduğu gözlendi.

**Sonuç:** Botulinum A toksinin doku genişletme işlemini kolaylaştırdığı ve hızlandırdığı tespit edilmiştir. Klinikte başka amaçlarla kullanılan bu ajanın doku genişletmeye yardımcı bir ajan olarak klinik uygulamada yerini alacağı düşünülmektedir.



**Anahtar Sözcükler:** Doku genişletme, antikontraktil ajan, Botulinum Toksin A, rat, hızlandırma

# SUMMARY

## Effects of botulinum A toxin on skin expansion

**Aim:** Tissue expansion is a well-established technique that offers satisfactory results with minimal patient morbidity. The traditional period of expansion, however , continues to be a significant source of patient inconvenience and dissatifaction. This study was planned to evaluate the effects of botulinum toxin A, an anticontractile agent, on tissue expansion in rats.

**Methods:** 20 male Wistar Albino rats weighing 250-300 g were used and they were divided into two groups. All animals were marked a standart area of 6x6 cm on the dorsum. İn control grup (n = 10) , tissue expanders were placed below marked area on dorsum under the panniculus carneosus layer by remote incision. İn the botulinum A group, 9 points , each one 2 cm far each other, were marked on the dorsal marked area and injected 1 U botulinum A in each one subdermally toksin , total of 9 U, two days before the expansion. Then the same operation to control group was done in this group.

Tissue expanders were inflated 10 cc each session to 40 cc totally in all groups one in a week. At the end of the experiment , final surface area, intraluminal presure were measured. Histologic examination also performed on the expanded samples.

**Results:** Area gained in tissue expansion in botulinum toksin group was significantly higher than in the control group. İntraluminal pressures in all groups weren't demonstrated significant differences. On histologic examination capsule formation, panniculus carneosus in botulinum toksin A group were thinner than in the control group. Arrector pili muscles in botulinum toxin A group were more hypertrofic than in the control group.

**Conclusion:** Botulinum toxin A facilitated tissue expansion. We suggest that botulinum A toxin can be used as an adjunctive agent in enhancement of tissue expansion



**Key Words:** Tissue expansion, antikontractile agent, botulinum toxin A, rat, facilitate

## KAYNAKLAR


1. Neumann CG. The expansion of an area of skin by progressive distension of a subcutaneous balloon. Plast Reconstr Surg. 1957;19:124.
2. Cherry GW, Austad E, Pasyk K. Increased survival and vascularity of random-pattern skin flaps elevated in controlled, expanded skin. Plast Reconstr Surg. 1983;72(5):680-7.
3. Heitmann C, Levin LS. Tissue expansion. Techniques in Hand and Upper Extremity Surgery 2003; 7(1):7-11
4. Radovan C. Breast reconstruction after mastectomy using the temporary expander. Plast Reconstr Surg. 1982;69(2):195-208.
5. Austad ED, Rose GL. A self-inflating tissue expander. Plast Reconstr Surg. 1982;70(5):588-94.
6. Pasyk KA, Austad ED, McClatchey KD. Electron microscopic evaluation of guinea pig skin and soft tissues "expanded" with a self-inflating silicone implant. Plast Reconstr Surg. 1982;70(1):37-45.
7. Adson MH, Anderson RD, Argenta LC. Scalp expansion in the treatment of male pattern baldness. Plast Reconstr Surg. 1987;79(6):906-14.
8. Manders EK, Schenden MJ, Furrey JA. Soft-tissue expansion: concepts and complications. Plast Reconstr Surg. 1984;74(4):493-507.
9. van Rappard JH, Molenaar J, van Doorn K. Surface-area increase in tissue expansion. Plast Reconstr Surg. 1988;82(5):833-9.
10. Pasyk KA, Argenta LC, Hassett C. Quantitative analysis of the thickness of human skin and subcutaneous tissue following controlled expansion with a silicone implant. Plast Reconstr Surg. 1988;81(4):516-23.
11. Van Rappard JH, Sonneveld GJ, Borghouts JM. Histologic changes in soft tissues due to tissue expansion (in animal studies and humans). Facial Plast Surg. 988 ;5(4):280-6.
12. Austad ED, Thomas SB, Pasyk K. Tissue expansion: dividend or loan?. Plast Reconstr Surg. 1986;78(1):63-7.
13. Gordon H. Sasaki. Tissue Expansion in Reconstructive and Aesthetic Surgery, Canada, Mosby, Inc., 2004

14. Mustoe TA; Bartell TH, Garner WL. Physical, biomechanical, histologic, and biochemical effects of rapid versus conventional tissue expansion. Plast Reconstr Surg. 1989;83(4):687-91
15. Johnson PE, Kernahan DA, Bauer BS. Dermal and epidermal response to soft-tissue expansion in the pig. Plast Reconstr Surg. 1988; 81(3):390-7.
16. Lee P, Squier CA, Bardach J. Enhancement of tissue expansion by anticontractile agents. Plast Reconstr Surg. 1985 ;76(4):604-10.
17. Friedman HI, Friedman AC, Carson K. The fate of the fibrouscapsule after saline implant removal. Ann Plast Surg. 2001; 46(3): 215-21.
18. Tunger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Anaerob, Gram Pozitif, Sporlu Basiller (Clostridium'lar). Mikrobioloji 2000. Asya Tıp Yayıncılık, 156-171.
19. Akbulut A. Ösefagus, Mide ve barsak infeksiyonları. (Ed): Felek S. Sistemik İnfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 1997, 150-194.
20. Hong CZ, Hsueh TC. Difference in pain relief after trigger point injections in myofascial pain patients with and without fibromyalgia. Arch Phys Med Rehabil 1996;77:1161-1166.
21. Aoki KR. Pharmacology and immunology of botulinum toxin serotypes. J Neurol 2001; 248(Suppl 1): 3-10.
22. Coffeild J, Considine RV, Simpson LL. The site and mechanism of action of botulinum neurotoxin. In: Jankovic J, Hallett M (eds). Therapy with botulinum toxin. Marcel Dekker:1994:3-13
23. Blasl J, Chapman ER, Link E, Binz T, Yamasaki S. Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25. Nature 1993; 365: 160-3.
24. First ER, Pearce LB, Borodic G. Dose standartzation of botulinum toxin.Lancet1994; 343: 1035.
25. Odergen T, Hjaltason H, Kaakola S, Solders G, Hanko J, Fehling C. A double blind randomized parallel group study to investigate the dose equivalance of Dysport and Botox in the treatment of cervical dystonia. JNNP 1998; 64: 6-12.
26. Scott AB, Suzuki D. Systemic toxicity of botulinum toxin by intramuscular injection in the monkey. Mov. Disord. 3: 333-335, 1998.
27. Tsui, J.K. Botulinum toxin as a therapeutic agent. Pharmacol. Ther. 72:13-24, 1996

28. Munchau A, Bhatia KP. Uses of botulinum toxin injection in medicine today. Clinical review. British Medical Journal, 2000: 320:161-165.
29. Tan EK, Jankovic J. Treating severe bruxism with botulinum toxin. J Am Dent Assoc, 2000: 131: 211-216.
30. Quinn N, Hallet M. Dose standardisation of botulinum toxin. The Lancet, 1989: 1: 964.
31. Schantz EJ, Jonson EA. Dose standardisation of botulinum toxin. The Lancet, 1990: 335-421.
32. Kate Coleman Moriarty . Botulinum Toxin in Facial Rejuvenation, NewYork, Mosby, 2003
33. Haşmet A. Hanağası. Botulinum Toksini'nin Yapısı ve Etki Mekanizması, Nöropsikiyatri Arşivi, 2006; 43(1-4): 15-19
34. Özkiriş S. Miyofasyal ağrı sendromunda kuru iğneleme, botulinum toksin-A enjeksiyonu ve fizik tedavinin etkinliğinin klinik ve elektrofizyolojik olarak karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul 2004
35. Montecucco C, Schiavo G, Tugnoli V, de Grandis D. Botulinum neurotoxins: mechanism of action and therapeutic applications. Mol Med Today 1996;2:418-24
36. MacKenzie I, Burnstock G, Dolly JO. The effects of purified botulinum neurotoxin type A on cholinergic, adrenergic and non-adrenergic, atropine-resistant autonomic neuromuscular transmission. Neuroscience. 1982;7(4):997-1006.
37. Dressler D, Saberi FA, Barbosa ER. Botulinum toxin: mechanisms of action. Arq Neuropsiquiatr. 2005 ;63(1):180-5. 2005 13.
38. Annese V, Basotti G, Coccia G, Dineli M, D'Onofrio V. A multicentre randomised study of intrasphincteric botulinum toxin in patients with oesophageal achalasia. Gut. 2000 ;46(5):597-600.
39. Ron Y, Avni Y, Lukovetski A, Wardi J, Geva D, Birkenfeld S. Botulinum toxin type-A in therapy of patients with anismus. Dis Colon Rectum 2001;44(12):821-6.
40. Grabb and Smith's Plastic Surgery. Charles H. Philadelphia ThorneLippincott Williams&Wilkins 2007.

41. Eray Copcu**,** Nazan Sivrioglu**,** Nejdet Sisman**,** Alper Aktas , Yucel Oztan. Enhancement of Tissue Expansion by Calcium Channel Blocker: A preliminary study. World Journal of Surgical Onkology 2003 ;1(1):19.
42. Lee P, Squier, CA, and Bardach J. Enhancement of tissue expansion by anticontractile agents. Plastic Reconstructive Surgery. 76: 604, 1985.
43. Canady JW, Squier CA, Kelly KM, Bardach J. Blood flow in expanded tissue treated with an anticontractile agent Ann Otol Rhinol Laryngol. 1991;100(12):962-5.
44. Tang Y, Luan J., Zhang X. Accelerating tissue expansion by application of topical papaverine cream. Plast Reconstr Surg. 2004;114(5):1166-9.
45. Liang MD, Dick GO, Narayanan K. Enhancement of tissue expansion using DMSO. Surg Forum 1987;38: 593-594.
46. Vinnick CA ve Jacob SW. Dimethylsulfoxide(DMSO) for human single-stage intraoperative tissue expansion and circulatory enhancement. Aesthetic Plastic Surgery. 1991; 15(4):327-37.
47. Raposio E and Santi PL. Topical application of DMSO as an adjunct to tissue expansion for breast reconstruction. British Journal of Plastic Surgery. 1999; 52(3):194-7.
48. Kan ve ilik işlenmesi, Kriyopreservasyonu, Depolanması ve Transportasyonu, Levent ÜNDAR Turk Hematoloji Derneği Kan ve Kemik iliği Transplantasyonu Kursu.
49. Netscher DT, Spira M, Peterson R. Adjunctive agents to facilitate rapid tissue expansion. Ann Plast Surg. 1989;23(5):412-6.
50. Matt BH, Squier CA,Kelly KM, Bardach J. Enhancement of expansion of guinea pig skin by local delivery of an anticontractile agent using a new bilumen expander. Ann Plast Surg. 1990;24(4):335-41.
51. Landsman L, Mandy SH. Adjuncts to scalp reduction surgery. Intraoperative tissue expanders and hyaluronidase. Dermatol Surg Oncol. 1991;17(8):670-2.
52. Stark GB, Göbel M, Jaeger K. İntraluminal cyclosporine A reduces capsular thickness around silicone implants in rats. Ann Plast Surg. 1990 ;24(2): 156-61.
53. Tercan M, Cokkeser Y, Ozyazgan I, Bekerecioğlu M, Sarı I. Facilitated tissue expansion with topical estriol. Ann Plast Surg. 2001 Jun;46(6):617-620.

54. Frangou J ve Kanellaki M. The effect of local application of mitomycin-C on the development of capsule around silicone implants in the breast: an experimental study in mice. Aesthetic Plast Surg. 2001 Mar-Apr;25(2):118-28.

55. Zimman OA, Toblli J, Stella I, Ferder M, Ferder L, Inserra F. The effects of angiotensin-converting-enzyme inhibitors on the fibrous envelope around mammary implants . Plast Reconstr Surg. 2007 ;120(7):2025-33.

56. Caffee HH. Vitamin E and capsular contracture. Ann Plast Surg. 1987;19(6): 512-4.

57. Scuderi N, Mazzocchi M, Rubino C. Effects of zafirlukast on capsular contracture: controlled study measuring the mammary compliance. Int J Immunopathol Pharmacol. 2007;20(3):577-84.

58. D'Andrea F, Nicoletti GF, Grella E, Grella R, Siniscalco D, Fuccio C, Rossi F, Maione S, De Novellis V. Modification of cysteinyl leukotriene receptor expression in capsular contracture: Preliminary results. Ann Plast Surg. 2007;58(2):212-4.

59. Spano A, Palmieri B, Taidelli TP, Nava MB. Reduction of capsular thickness around silicone breast implants by zafirlukast in rats. Eur Surg Res. 2008;41(1):8-14.

60. Bastos EM, Neto MS, Alves MT, Garcia EB, Santos RA, Heink T, Pereira JB, Ferreira LM. Histologic analysis of zafirlukast's effect on capsule formation around silicone implants. Aesthetic Plast Surg. 2007;31(5):559-65.

61. Hetrick EM, Prichard HL, Klitzman B, Schoenfisch MH. Reduced foreign, body response at nitric oxide-releasing subcutaneous implants. Biomaterials. 2007;28(31):4571-80.

62.Peterson HD ve Burt GB. The role of steroids in prevention of circumferential capsular scarring in augmentation mammaplasty. Plast Reconstr Surg. 54;28,1974.

63. Perin ER. The use of solublesteroids within inflatable breast protheses. Plast Reconstr Surg. 57;163,1976.

64. Caffee HH. Intracapsular injection of triamcinolone for intractable capsule contracture. Plast Reconstr Surg. 1994;94(6):824-8.

65. Liu W, Ji Y, Yang P. The clinical application of triamcinolone to accelerate soft tissue expansion. Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi. 1999;15(1):41-2.

66. Coleman DJ, Sharpe DT, Naylor IL, Chander CL, Cross SE. The role of the contractile fibroblast in the capsules around tissue expanders and implants. Br J Plast Surg. 1993;46(7):547-56.

67. Sand J, Nordback I, Arvola P, Pörsti I, Kalloo A, Pasricha P. Effects of botulinum toxin A on the sphincter of Oddi: an in vivo and in vitro study. Gut. 1998; 42(4):507-10.

68. Eroğlu L, Karacaoğlan N, Uysal A, Kobak O. A practical method of experimental tissue expansion. Plast Reconstr Surg. 1999;103(3):1097-8.

69. Hsu TS, Dover JS, Arndt KA. Effect of volume and concentration on the diffusion of botulinum exotoxin A. Arch Dermatol. 2004;140(11):1351-4.

70. Cui M, Khanijou S, Rubino J, Aoki KR. Subcutaneous administration of botulinum toxin A reduces formalin-induced pain. Pain. 2004;107(1-2):125-33.

71. Ademoğlu Y, Kayalar M, Kaplan İ, Bal E. Bacakta egzersiz sonrası gelişmiş akut kompartman sendromu. Artroplasti Artroskopik Cerrahi. 2000;11(2):184-187