T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL KİMYASAL ÖZOFAGUS YANIK MODELİNDE DEKSPANTENOL VE BİR RHO-KİNAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜ OLAN Y-27632 İLE TEDAVİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sefa YAPICI
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Haluk CEYLAN

ARALIK-2008

T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL KİMYASAL ÖZOFAGUS YANIK MODELİNDE DEKSPANTENOL VE BİR RHO-KİNAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜ OLAN Y-27632 İLE TEDAVİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sefa YAPICI
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Haluk CEYLAN

ÖNSÖZ

Çocuk Cerrahisi eğitimim süresince bilgi deneyimleriyle bana destek olan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Haluk Ceylan'a, değerli hocam Sayın Doç. Dr. Bülent Hayri Özokutan'a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım. Uzmanlık eğitimimiz boyunca hayatı paylaştığımız araştırma görevlisi arkadaşlarım Dr. Sedat Sımsık'a, Dr. Ahmet Gözen'e ve Dr. Filiz Gündüz'e sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım süresince biyokimyasal değerlendirmede destek ve yardımları için Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı araştırma görevlisi Sayın Dr. Nurdan Özlü Ceylan'a, histopatolojik değerlendirmede yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Ediz Tutar'a, tezimin istatistik analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Tuncay Demiryürek'e teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesindeki maddi desteği için TÜBİTAK Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu'na teşekkür ederim.

Desteğiyle her zaman yanımda olan sevgili eşim Elif Yapıcı'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Sefa Yapıcı

Gaziantep-2008

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ…… I
İÇİNDEKİLER……. II
ÖZET…… IV
ABSTRACT…….. V
KISALTMALAR…….. VI
TABLOLAR LİSTESİ…….. VII
ŞEKİLLER LİSTESİ…… VIII
RESİMLER LİSTESİ……... IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ……. 1
2. GENEL BİLGİLER…….. 3
2.1. ÖZOFAGUSUN EMBRİYOLOJİSİ……. 3
2.2. ÖZOFAGUSUN ANATOMİSİ…….. 4
2.2.1. Servikal özofagus…….. 5
2.2.2. Torakal özofagus……... 5
2.2.3. Abdominal özofagus……. 5
2.2.4. Özofagusun damar ve sinirleri…….. 7
2.3. ÖZOFAGUSUN HİSTOLOJİSİ…… 7
2.3.1. Tunika Adventisya…… 8
2.3.2. Tunika Muskülaris…… 8
2.3.3. Tela Submukoza…… 8
2.3.4. Tunika mukoza…….. 8
2.4. ÖZOFAGUSUN FİZYOLOJİSİ……. 10
2.5.KİMYASAL ÖZOFAGUS YANIKLARI……... 10
2.5.1.PATOFİZYOLOJİ……. 10
2.5.2. KLİNİK……. 14
2.5.3. TANI……. 15
2.5.4. TEDAVİ…… 16
2.5.4.1. Akut faz..... 16
2.5.4.2. Kronik faz..... 19
2.5.4.2.1. Özofagus dilatasyonu..... 19
2.5.4.2.2. İntralezyonel steroid injeksiyonu…….. 21
2.5.4.2.3. İntralüminal stent…….. 21
2.5.4.2.4. Ekstralüminal skarektomi……. 22
2.5.4.2.5. Radikal operasyonlar……. 22
2.6. DEKSPANTENOL……. 24
2.7. Y-27632…….. 26
3. GEREÇ VE YÖNTEM……. 29
3.1. DENEY HAYVANLARI……... 29
3.2. DENEY PROTOKOLÜ…….. 29
3.2.1. KİMYASAL ÖZOFAGUS YANIĞI MODELİ OLUŞTURULMASI……. 29
3.2.2. DENEY GRUPLARI…… 32
3.3. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER……... 32

3.4. BİYOKİMYASAL İNCELEMELER……. 34
3.4.1. Doku MDA Düzeyi Tayini……... 34
3.4.2. Doku Hidroksiprolin Düzeyi Tayini……. 35
3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME……. 35
4. BULGULAR……. 37
4.1. AĞIRLIK ÖLÇÜMÜ…….. 37
4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR……. 38
4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR……... 43
4.3.1. MDA……. 43
4.3.2. HİDROKSİPROLİN……. 44
5. TARTIŞMA…….. 45
5.1. DEKSPANTENOL……. 48
5.2. Y-27632…….. 51
6. SONUÇLAR……. 54
7. KAYNAKLAR……. 55

ÖZET

DENEYSEL KİMYASAL ÖZOFAGUS YANIK MODELİNDE DEKSPANTENOL VE BİR RHO-KİNAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜ OLAN Y-27632 İLE TEDAVİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Dr. Sefa YAPICI
Uzmanlık Tezi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı
Tez danışmanı: Doç. Dr. Haluk CEYLAN
Aralık-2008, 63 sayfa

Asit ya da alkali madde içilmesi sonucunda ortaya çıkan kimyasal özofagus yanıklarının iyileşmesi sırasında oluşan nedbe dokusu nedeniyle gelişen özofagus darlığı çocukluk çağının sık karşılaşılan bir hastalığıdır. Darlık yanıktan genellikle 3 hafta sonra gelişir ve yutma güçlüğüne neden olabilir. Özofagus darlığı tedaviye dirençli, süregen bir problemdir. Günümüzde yanık sonrası erken dönemde uygulanan tıbbi tedavi yöntemleri darlık gelişmesini önleme konusunda başarısız olmaktadır. Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan kimyasal özofagus yanığı sonrasında özofagusta darlık oluşması üzerinde dekspantenol ve Y-27632'nin etkileri araştırıldı.

Çalışma Wistar-albino türü sıçanlar üzerinde gerçekleştirildi. Özofagusun distal kısmındaki 2 cm uzunluktaki abdominal parçası içine ağız ve mide yoluyla iki adet kanül yerleştirildi. Distal özofagusun lümeni ağızdan yerleştirilen kanül aracılığıyla 90 saniye süreyle verilen %50 NaOH ile temas ettirildi. NaOH midedeki kanül ile dışarı alındı. Her birinde 10 adet denek bulunan 6 grup oluşturuldu. İlaç tedavisi her grupta 21 gün sürdürüldü. Grup 1'de (Sham grubu) yalnızca kanül yerleştirme işlemleri yapıldı, Grup 2'de (kontrol grubu) %50 NaOH ile yanık oluşturuldu ve ardından her gün intraperitoneal (İP) %0.9 NaCl verildi, Grup 3 ve 4'deki deneklere oluşturulan yanık sonrasında her gün sırasıyla 50 mg/kg/gün ve 500 mg/kg/gün dozda dekspantenol İP verildi, Grup 5 ve 6'da sıçanlara yanık sonrasında her gün sırasıyla 0.3 mg/kg/gün ve 3 mg/kg/gün dozunda Y-27632 İP verildi. Sıçanlar deneyin 22. gününde öldürüldü. Çıkarılan distal özofagus parçasında histopatolojik olarak stenoz indeksi (Sİ) ve kollajen oluşumu, biyokimyasal olarak doku malonildialdehit (MDA) ve hidroksipirolin düzeyleri araştırıldı.

Grup 1'de yer alan sıçanlardan alınan dokularda patolojik bulgu saptanmadı. Grup 2'deki hayvanların tümünde özofagusta darlık geliştiği gözlendi. Bu grupta Sİ ve kollajen oluşumu Grup 1'e göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Sİ ve kollajen birikimi Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'da Grup 2'ye göre anlamlı olarak düşük bulundu. Grup 2'de saptanan MDA ve hidroksiprolin düzeyleri Grup 1'e göre anlamlı olarak yüksek bulunurken, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'da ise Grup 2'ye göre anlamlı olarak düşük bulundu.

Bu deneysel çalışmada dekspantenol ve Y-27632'nin sıçanlarda alkali özofagus yanığı sonrası ortaya çıkan özofagus darlığı gelişmesini azalttığı histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerle gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: Dekspantenol, Y-27632, kimyasal özofagus yanığı

ABSTRACT

THE ROLE OF DEXPANTHENOL AND A RHO-KINASE INHIBITOR Y-27632 TREATMENT IN WOUND HEALING IN AN EXPERIMENTAL CHEMICAL ESOPHAGEAL BURN MODEL

Dr. Sefa YAPICI
Resident thesis, Department of Pediatric Surgery
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Haluk CEYLAN
December-2008, 63 pages

Esophageal strictures that develop as a result of scar formation during healing of esophageal injury which is caused by ingestion of acid or alkaline caustic substances are common during childhood. Esophageal stricture generally develops 3 weeks after the initial caustic injury and may lead to nutritional deficiency. The esophageal strictures are chronic problems, and usually do not respond to the therapeutic interventions. Recent medical treatment protocols to prevent esophageal stricture formation are not successful. In this study, the effects of dexpanthenol and Y-27632 on esophageal stricture formation after chemical esophageal burns in rats were investigated.

The study was performed on Wistar-albino rats. Two canulas, the first through the mouth and the second through the stomach, were introduced into a 2 cm long abdominal segment of the esophagus. The distal esophageal lumen was exposed to 50% NaOH for 90 seconds using the first canula which was inserted through mouth. The caustic agent was drained by the second canula. Sixty rats were divided into 6 equal groups. Medical treatment was commenced on the first day of the injury and continued for 21 days. In Group 1 (Sham) only the canulas were introduced into the esophageal lumen and no treatment was given. Group 2 (controls) caustic injury was done as described above and intraperitoneal (IP) 0,9% NaCl was administered daily for 21 days. In Group 3 and 4, the rats were treated with 50 mg/kg/day and 500 mg/kg/day IP dexpanthenol, respectively. In Group 5 and 6, the animals were treated with 0,3 mg/kg/day and 3 mg/kg/day IP Y-27632, respectively. The rats were killed on the 22^{nd} day of the experiment and distal esophageal segment was obtained from each animal for examination of esophageal stenosis index (SI) and collagen deposition histopathologically, and for the measurment of tissue malonyldialdehyde (MDA) and hidroxypyroline levels biochemically.

Esophageal histology was normal in Group 1 while severe stricture formation was observed in all animals in Group 2. SI and collagen deposition were significantly higher in Group 2 when compared to Group 1. When compared to Group 2, SI and collagen depositon were significantly lower in Group 3, 4, 5 and 6, respectively. MDA and hydroxypyroline levels were significantly higher in Group 2 when compared to Group 1, and significantly lower in comparision with Group 3, 4, 5 and 6 respectively, when compared to Group 2.

This experimental study showed that dexapanthenol and Y-27632 treatment protocols reduced the esophageal stricture formation in rats following alkaline esophageal burn.

Key words: Dexpanthenol, Y-27632, Chemical esophageal burn

KISALTMALAR

ATP : Adenozin trifosfat

GİS : Gastrointestinal sistem

GÖR : Gastroözofageal reflü

GTP : Guanozin tri fosfat

HE : Hematoksilen-eozin

İLS : İntralüminal stent

İP : İntraperitoneal

MDA : Malonildialdehid

MLCK : Miyozin fosfataz formları

MT : Masson-trikrom

NMPI : N-metil-2-fenilindol

Sİ : Stenoz indeksi

TBA : Tiobarbitürik asit

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Kimyasal yanık oluşturan maddeler ve ticari şekilleri…….. 11

Tablo 2. Dekspantenolün kullanım endikasyonları…… 25

Tablo 3. Kollajen oluşumunun derecelendirildiği kriterler…… 34

Tablo 4. Tüm gruplarda deney öncesi ve sonrası tartı ortalaması, gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonuçları …...…… 37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Dekspantenolün yapısal formülü…… 24

Şekil 2. Y-27632 yapısal formülü…… 27

Şekil 3. Kateterlerin yerleşimi……. 31

Şekil 4. Histopatolojik skorlama ve gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonuçları…….. 40

Şekil 5. Histopatolojik skorlama ve gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonuçları ..…… 41

Şekil 6. MDA düzeyi ve istatistiksel değerlendirme sonuçları…… 43

Şekil 7. Hidroksiprolin sonuçları ve istatistiksel değerlendirme sonuçları. 44

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Ön barsağın solunum divertikülü ve özofagus şeklinde ikiye bölünmesi……. 4
Resim 2. Özofagusun kalp ve kalbe yakın damarlar, torasik aorta ve diyaframa göre durumunun arkadan görünüşü…….. 6
Resim 3. Özofagusun histolojik yapısı……..…….. 9
Resim 4. Deney için hazırlanan sıçan…….. 30
Resim 5. Orta hat kesi…….. 30
Resim 6. Abdominal özofagusun hazırlanışı……... 30
Resim 7. Orogastrik tüp yerleştirilmesi……... 30
Resim 8. Yanık oluşturulması…….…… 31
Resim 9. Karın kapatıldıktan sonra……..... 31
Resim 10. Özofagusta ölçümü yapılan en uzun lümen çapı (a) ve duvar kalınlığı (b)……. 33
Resim 11. Normal özofagus kesiti……..…….. 38
Resim 12. Kontrol grubunda lümeni daralmış ve duvarı kalınlaşmış özofagus kesiti…….…….. 38
Resim 13. Submukozada kollajen birikiminde artış..…… 39
Resim 14. Tunika muskülariste atrofik kas lifleri arasında yoğun kollajen birikimi…….……. 39
Resim 15. Submukozal kollajen miktarında hafif artış……...…….. 39
Resim 16. Submukoza ve muskülarisde kollajen miktarında hafif artış…… 39
Resim 17. Damar endotelinin boyanması…….. 42
Resim 18. Submukozal enflamatuar hücrelerin boyanması…….. 42

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Özofagus, gıdaların ağızdan mideye geçişini sağlayan 1-2 cm çapında, 20-25 cm uzunluğunda serozası olmayan musküler, tübüler bir organdır. Özofagus kimyasal yanıkları çocukluk çağında sık karşılaşılan bir problemdir. Bu yanıklar katı ve sıvı nitelikteki asit ya da alkali maddelerin ağız yoluyla alınması sonucu ortaya çıkar. Kimyasal özofagus yanıkları erken ve geç komplikasyonları nedeniyle çocukluk çağının ciddi bir sağlık problemidir. Bu maddeler sıklıkla alkali veya asit içeren sıvı, granül, katı yapıdaki temizlik maddeleridir. Erişkinlerde kimyasal yakıcı maddelerin alınması genellikle intihar amacıyla olup, çocuklarda ise sıklıkla kaza ile yutma söz konusudur. Kimyasal özofagus yanığı olgularının %80'ini 5 yaşın altındaki çocuklar oluşturur (1-5).

Yakıcı kimyasal maddenin içilmesi ile oluşan akut doku hasarından genellikle 3 hafta sonra gelişen nedbe dokusuna bağlı özofagus darlıkları ortaya çıkabilir (6). Bugüne kadar uygulanan tıbbi tedavi protokollerinden yüz güldürücü sonuçlar alınamamıştır (7,8). Faydalı olduğunu bildiren çalışmalar olmakla birlikte farklı steroid ve antibiyotik kullanımının iyileşme üzerinde güçlü etkilerinin olmadığı ortaya konmuştur (9). Bir geç dönem komplikasyonu olarak, gelişen nedbe dokusuna bağlı oluşan yemek borusu darlıkları, yıllarca devam edilen ve sık sık tekrarlanan girişimsel genişletme işlemine gereksinim duyabilen bir patolojidir (10). Bu hastalara genel anestezi altında bazen haftada 1 defa ve çoğunlukla 2-3 haftada bir yemek borusu genişletme işlemleri uygulanır (11). Genişletme işlemi geçici bir açılma sağlar ve günler içerisinde tekrarlayan darlıklar her defasında yeni bir genişletme işlemi ihtiyacı doğurur. İlerleyen yıllarda kalın barsak, ince barsak ve midenin yemek borusuyla yer değiştirilmesi gibi ağır ameliyatlar gerekebilir (8,12,13).

Koroziv özofajit sonucunda oluşan darlığın önlenmesi amacıyla birçok antienflamatuvar ve antioksidan farmakolojik ajanlar deneysel koroziv özofajit modellerinde denenmiştir. Dekspantenol klinikte yara tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda dekspantenolün glutatyon, koenzim A ve hücrelerde adenozin trifosfat (ATP) sentezini artırmak yoluyla antioksidan etki sağlayarak doku hasarını önlediği ve yara iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (14-17). Bir Rho-kinaz inhibitörü olan Y-27632'nin yara iyileşmesinde fibroblastları düzenleyerek kontraksiyon oluşmasını önlediği gösterilmiştir (18). Y-27632'nin granülasyon dokusu oluşurken miyofibroblastların kontraksiyonunu önleyerek yara iyileşmesinde etkili olduğuda gösterilmiştir (19).

Bu çalışmada düşük ve yüksek doz dekspantenol ile Y-27632'nin kimyasal özofagus yanığı sonrasında yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

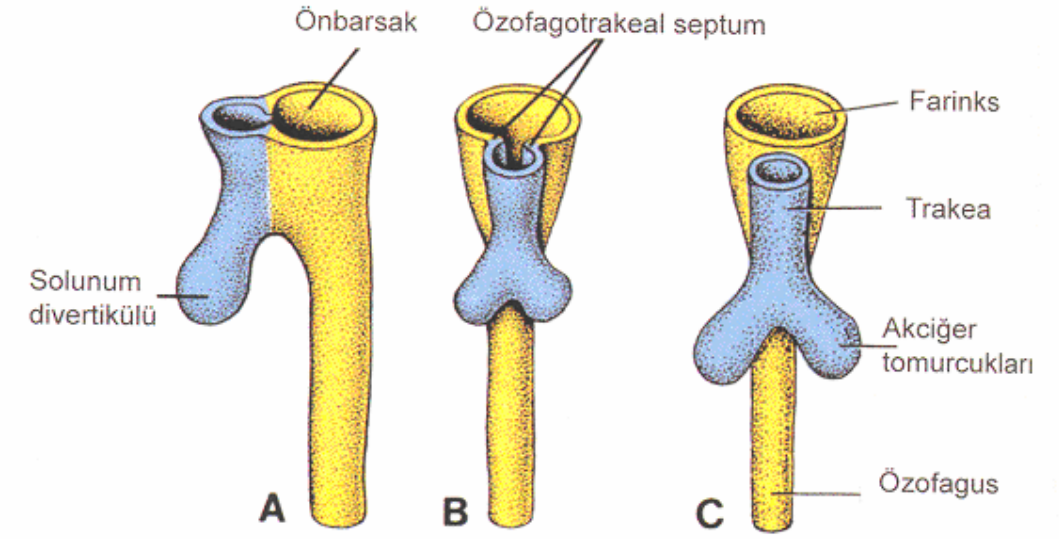
Asit ya da alkali maddelerin içilmesi sonucunda oluşan kimyasal özofagus yanığı sonrasında ortaya çıkan erken ve geç dönem komplikasyonlar önemli bir halk sağlığı sorunu olarak güncelliğini sürdürmektedir. Kimyasal özofagus yanığı sonrasında oluşan nedbe dokusuna bağlı gelişen özofagus darlığı çocuk cerrahlarının sıklıkla karşılaştığı bir problemdir. Teknolojinin gelişmesi ve 20. yüzyılın başlarında özofagoskopun kullanıma girmesi ile kimyasal özofagus yanığına bağlı darlıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli adımlar atılmıştır. Tucker ve ark. (20) tarafından geliştirilen buji ile dilatasyon yöntemi halen kullanılmaktadır. Hastaların bazıları dilatasyona cevap vermektedir. Dilatasyon sırasında özofagus perforasyonu gelişme olasılığı yüksektir. Dilatasyona 1-2 yıl içinde cevap vermeyen hastalarda stent uygulanması ve cerrahi teknikler kullanılmaktadır (20,21).

1950'li yıllardan sonra kullanılan geniş spektrumlu antibiyotikler, kortikosteroidler, parenteral beslenme, anterograd ve retrograd balon dilatasyonları ve son yıllarda uygulanan stent yöntemi ile kimyasal özofagus yanığına bağlı sekeller ve ölümlerde azalma sağlanmıştır. Kimyasal yanıklar sonucu farengeal ve larengeal ödeme bağlı hava yolu tıkanıklığı, gastrointestinal sistem (GİS) perforasyonları nedeniyle ölüm ve diğer komplikasyonlar halen önemli bir halk sağlığı problemi teşkil etmektedir (1,2,20).

2.1. ÖZOFAGUSUN EMBRİYOLOJİSİ

Orofarengeal membran ile kloakal membran arasında uzanan primitif barsak tüpü ön, orta ve son olarak üç kısma ayrılır. Embriyoda gelişimin 4. haftasından sonra ön barsakta trakeoözofageal kıvrımlar belirir. Bu yapılar daha sonra birleşerek trakeo-özofageal septumu oluşturur. Gelişimin altıncı ve yedinci haftaları arasında septumun

ventralinden trakeobronşial yapılar, dorsalinden ise özofagus meydana gelir (22) (Resim 1).



Resim 1. Ön barsağın solunum divertikülü ve özofagus şeklinde ikiye bölünmesi. **A**. 3. hafta sonunda (yandan görünüm), **B**. ve **C**. 4. hafta boyunca (önden görünüm)

Embriyoner gelişim sırasında özofagusun endodermal katı hızlı bir şekilde prolifere olarak lümeni kapatır, daha sonra rekanalizasyonla lümen açılır. Çok katlı yassı epitel, mukozal ve submukozal bezler endodermden; lamina propria, muskülaris mukoza, submukoza, kas tabakası ve adventisya ise mezodermden gelişir. Özofagus başlangıçta kısadır ancak kalp ve akciğerlerin gelişmesi ile uzar (2,22-24).

2.2. ÖZOFAGUSUN ANATOMİSİ

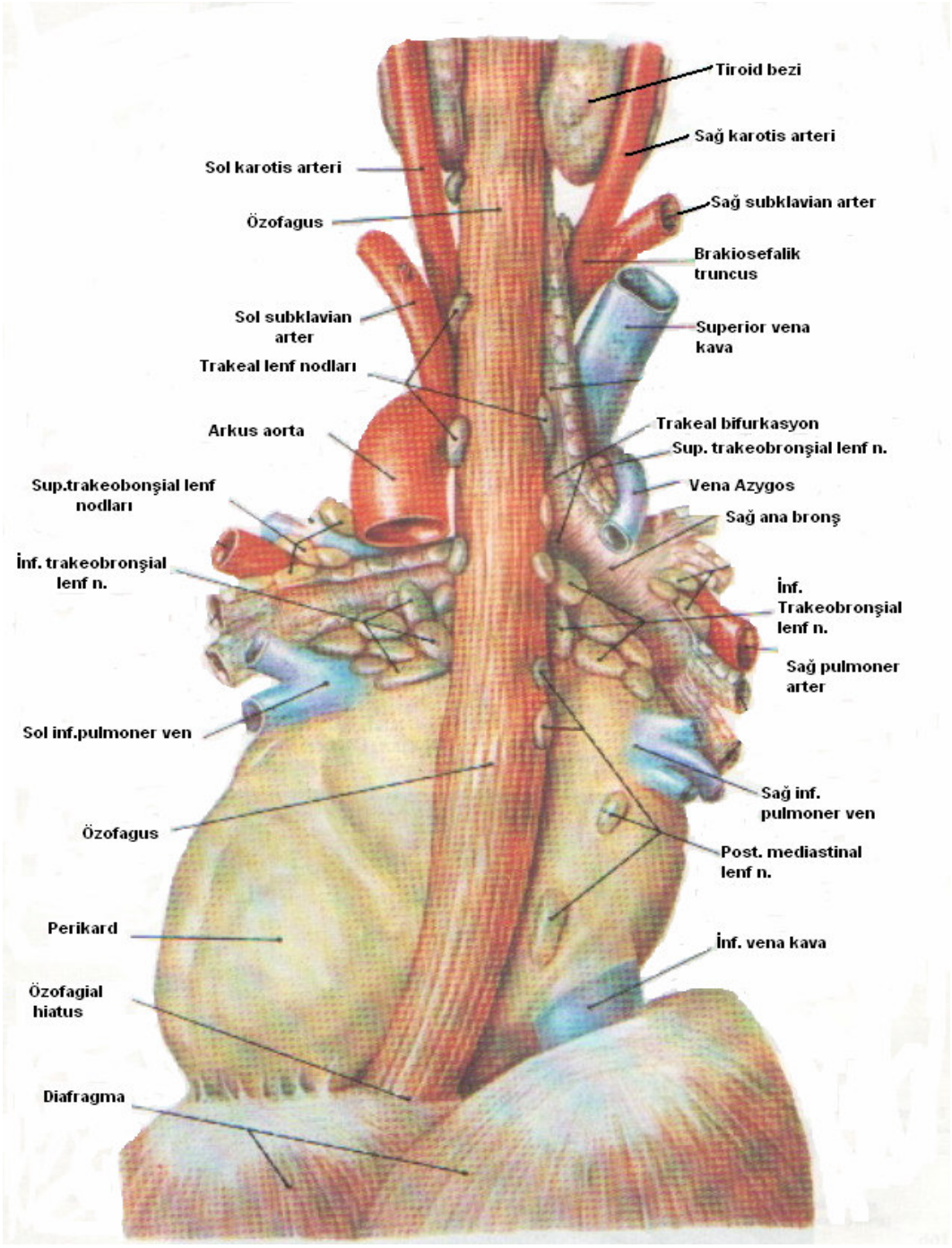
Özofagus sindirim sisteminin farinksten sonra gelen mediasten ve diyaframı geçtikten sonra kardiya bölgesinde mideyle birleşen dinamik, musküler ve tübüler bir organdır. Serozası olmayan dar bir musküler tüp olan özofagusun üst sınırı krikoid kıkırdağın alt sınırından geçen yatay düzlemden başlar. Bu plan altıncı servikal vertebra hizasına uymaktadır. Özofagusun alt sınırı mide ile birleştiği yerdir (11. torakal vertebra hizası). Özofagusun uzunluğu yenidoğanda 9-10 cm, yetişkinlerde 25-30 cm'dir. Yetişkinlerde boş özofagusun genişliği 1-1.5 cm'dir. Lümen hava ile doldurulduğu zaman 2.5-3 cm çapa ulaşır. Duvar kalınlığı ise 3-4 mm'dir.

Özofagus; servikal, torakal ve abdominal olmak üzere üç kısma ayrılır. Yetişkinlerde servikal bölüm 5-8 cm, torakal bölüm 15-18 cm, abdominal bölüm ise 1-3 cm uzunluğundadır (25-28).

2.2.1. Servikal özofagus: Altıncı servikal vertebra hizasından ikinci torakal vertebra hizasına kadar uzanan kısımdır ve 0.5 cm sola deviye halde seyreder. Komşulukları önde trakea, arkada fasya prevertebralis, yanlarda nervi laryngeus recurrens, carotis kılıfları ve sol yanda tiroid bezinin sol lobudur. Trakea ile yakın komşuluk nedeniyle özofagus perforasyonu durumlarında trakeoözofageal fistüller görülebilir (25-28).

2.2.2. Torakal özofagus: Üst sınırı sternumun incisura jugularis'inden geçirilen yatay bir plan, alt sınırı ise diyaframın hiatus esophageus'undan geçirilen yatay bir plan ile gösterilebilen, 2. ve 10. torakal vertebralar arasında uzanır. Posterior, aynı zamanda superior mediastende yer alır. Bu kısım arkada; 5. torakal vertebra düzeyine kadar direkt olarak göğüs omurlarının önünde bulunur, daha aşağıda aorta thoracica, ductus thoracicus, vena azygos, vena hemiazygos, sağ yanda arteriae intercostales, sempatik sistemin pars thoracicası, sol yanda arteria subclavia sinistra, arteria carotis communis sinistra ile komşuluk yapar. Aort ile yakın komşuluğu nedeniyle koroziv maddelere veya diğer nedenlere bağlı özofagus perforasyonu durumlarında aortaözofageal fistüller görülebilir (25-28).

2.2.3. Abdominal özofagus: Özofagus diyaframın arka kısmında 10. torasik vertebra hizasındaki hiatus esophageus adı verilen delikten geçerek karın boşluğuna girer. Bu parçanın üst sınırı hiatus esophagustan geçirilen yatay bir plan; alt sınırı ise 11. torasik vertebra hizasından geçirilen yatay plandır. Abdominal özofagus, arkada aorta abdominalis ve turuncus vagalis posterior, sağda karaciğerin lobus caudatusu, solda midenin fundusu, önde karaciğerin lobus hepatis sinisterin arka yüzü ve turuncus vagalis anterior ile komşuluk yapar. Abdominal özofagusun ön ve yan tarafları periton ile kaplıdır (25-28). Resim 2'de özofagusun anatomisi görülmektedir (26).



Resim 2. Özofagusun kalp ve kalbe yakın damarlar, torasik aorta ve diyaframa göre durumunun arkadan görünüşü

Özofagusun üç yerinde fizyolojik darlık vardır. Bu fizyolojik darlıklarda yutulan gıdalar özofagus mukozasıyla daha uzun süre temasta kalır. Üst kısımdaki darlık krikofarengeal kasın özofagus etrafında halka yapması ile oluşur ve üst özofagus

sfinkteri görevini yapmaktadır. Ortalama lümen çapı 1.5 cm'dir ve özofagusun en dar yeridir. İkinci darlık, sol ana bronşun aortik arkı çaprazladığı kısımda bulunan komşu özofagusta bulunur. Ortalama lümen çapı 1.6 cm'dir. En alttaki darlık, diyafram hiatusundadır ve alt özofagus sfinkteri adı verilir, ancak gerçek bir sfinkter yapısında değildir. Burada özofagusun lümen çapı değişkendir ve 1.6-1.9 cm arasında ölçülmüştür. Normal kasılmalarla yavaş geçiş sağlandığından, yiyeceklerin yutulması sırasında bu bölgelerde bekleme olabilir (25-28).

2.2.4. Özofagusun damar ve sinirleri

Özofagusun kendine özgü arter, ven ve lenfatikleri yoktur. Damarları çevre organların arter, ven ve lenfatiklerinden köken alır. Özofagusun servikal kısmının arterleri arteria thyroidea inferior, torakal kısmının aort ve bronş arterlerinin özofagusa ait dallarından, abdominal kısmı ise arteria gastrika sinistra ve arteria phrenica abdominalis sinistradan beslenir (27,28).

Özofagusun venleri submukoza ve özofagusun dışında olmak üzere iki yerde ağ yapar. Bu ağlardan gelen venöz kan vena thyroidea inferior, vena azygos ve vena hemiazygos aracılığı ile vena cava superiora, özofagusun en alt kısmına ait venöz kan ise vena gastrica sinistra aracılığı ile vena portaya dökülür (27,28).

Özofagusun lenfatikleri kas tabakasını delip özofagus duvarı içerisinde uzunlamasına bir seyir gösterir. 1/3 üst kısmın lenfatikleri derin servikal, 1/3 orta kısmın lenfatikleri mediastinal, 1/3 alt kısmın lenfatikleri ise çölyak lenf düğümlerine akar (27,28).

Özofagusun sinirleri hem iki vagustan hem de sempatik zincirden gelir. Nervi laryngeus recurrensler özofagusun 1/3 bölümündeki çizgili kasların inervasyonundan sorumludur. Bu üst bölüm aynı zamanda 9, 10, 11'inci kafa çiftlerinden ve sempatik zincirden dallar alır. Parasempatikleri nervi vagustan gelir ve özofagusta peristaltizmi ve bezlerin salgılarını arttırıcı etki yapar. Sempatikleri ise truncus sympaticusun pars thoracicasından gelir. Sempatik uyarı GİS'de sekresyon ve motor aktivitede inhibisyona, sfinkterlerde ve kan damarlarında kontraksiyona neden olur (27,28).

2.3. ÖZOFAGUSUN HİSTOLOJİSİ

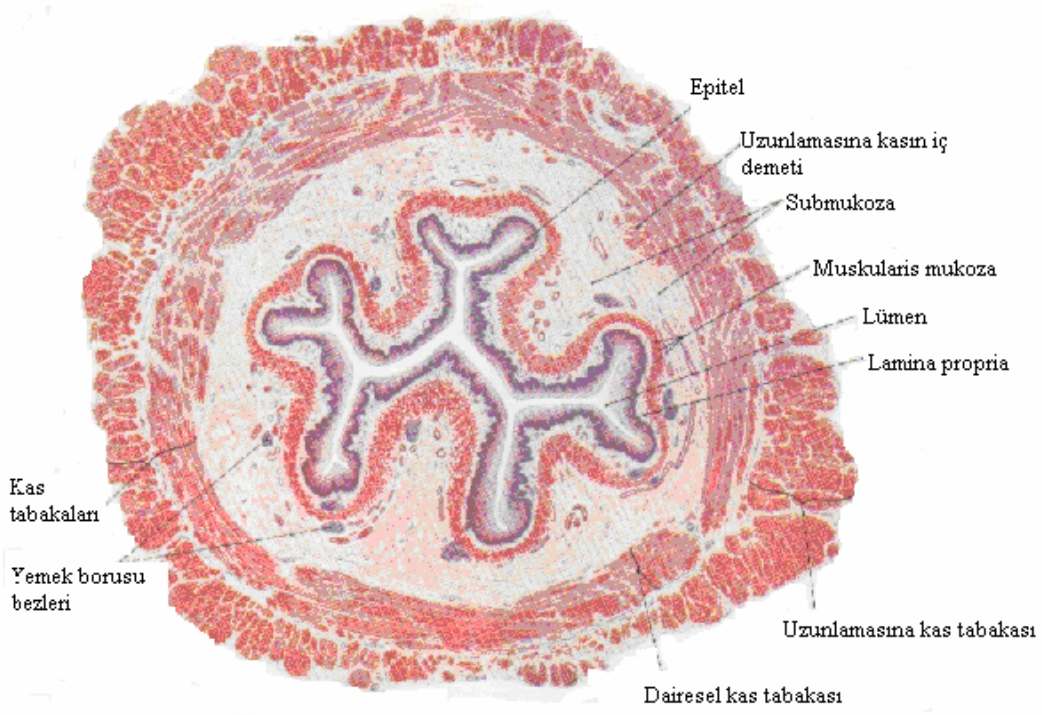
Özofagusun ayrı ayrı tanımlanmış dört histolojik tabakası bulunur.

2.3.1. Tunika adventisya: Gevşek bağ dokusundan oluşan bu katman, özofagusu örter ve komşu yapılara bağlar. Paraözofageal doku, küçük damarları, lenfatik kanalları ve sinir liflerini içerir. Abdominal özofagusun dış kısmı periton ile kaplıdır. Özofagusun serozasının olmaması kolay delinme ve sonucunda mediastinit tehlikesini getirmektedir. Özellikle torasik özofagusta bu risk çok belirgindir (24-26,29).

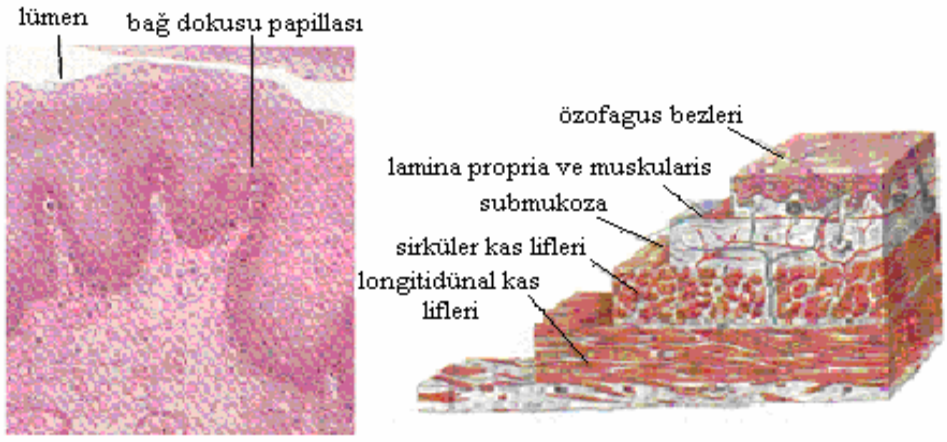
2.3.2. Tunika muskülaris: Özofagusun kas tabakası dışta longitudinal, iç kısımda sirküler kaslardan oluşur. 1/3 üst bölümü çizgili kas, 1/3 alt bölümü düz kas, 1/3 orta bölümü ise karışık yapıdadır. Üst özofagus sfinkteri, özofagusun hemen giriş kısmında 2-4 cm uzunluğunda hipofarenks çevresinde halka yapan krikofarengeal kasların etkisi sonucu ortaya çıkar, bu gerçek bir sfinkter değildir. Alt özofagus sfinkteri, kardiyoözofageal bileşkenin hemen üzerinde yer alan fonksiyonel bir sfinkterdir (24-26,29).

2.3.3. Tela submukoza: Gevşek bağ dokusundan oluşmuştur ve kollajen lifler, kan damarları, lenf kanalları, sinirler ve derin müköz glandları içerir. Derin müköz glandlar tubuloalveolar yapıdadır ve yaptıkları salgılar ile özofagus içeriğinin ısıtılmasını sağlarlar. Tela submukozada bezlerin ve düz kasların fonksiyonlarını idare eden plexus nervorum submucosus (Meissner pleksusu) bulunur (24-26,29).

2.3.4. Tunika mukoza: Tunika propriya, muskülaris mukoza ve keratinize olmayan çok katlı yassı epitelden oluşmuştur. Özofagogastrik bileşke basit silendirik epitel ile örtülüdür. Muskülaris mukoza kas tabakalarının devamıdır. Tunika propriya elastik ve kollajenöz liflerden meydana gelmiştir ve üst bölümde tubuloalveolar, kardiaya yakın kısımda ise tubuler bezler içerir. Bu bezler mukus salgılar (24-26,29). Resim 3'de özofagusun histolojik yapısı görülmektedir (26).



a



b c

Resim 3 a,b,c: Özofagusun histolojik yapısı

2.4. ÖZOFAGUSUN FİZYOLOJİSİ

Özofagus fizyolojisi hakkındaki bilgilerin önemli bir kısmı manometrik çalışmalar sayesinde elde edilmiştir. İstemli olarak başlayan yutma işlevi refleks olarak devam eder, böylece primer peristaltik hareketler de başlamış olur. Yutma işlevi her gün yüzlerce defa tekrarlanan son derece karışık bir olay olup, orofarinks ve özofagustaki kasların koordinasyonlu bir şekilde kasılma ve gevşemelerini içerir. Yutma işlemini programlayan merkez medulla oblangata ve ponstadır.

Gıdalar ağız içine alındıktan sonra istemli olarak dil lokmayı farinkse iter. Dil yükselerek ağız boşluğunu, damak yükselerek orofarinksi kapatır. Larinks yükselerek öne gelip supraglottisi kapatır ve hipofarinksi açar. Böylece istemsiz hareketler başlar ve gıdalar farinksten özofagusa gelir. Bu sırada glottis kapanır ve solunum inhibe olur. Özofagusun üst ucunda 3 cm uzunluğunda istirahat basıncı 20-80 mmHg olan yüksek basınçlı bir bölge mevcuttur (üst özofagus sfinkteri). Yutma işlevi sırasında bu bölge gevşer, lokma yutulduktan sonra tekrar kasılarak 50-100 cmH_2O değerindeki basınç dalgasının 3-5 cm/sn hızla aşağıya doğru ilerlemesini sağlar. Tamamen vagal sinirlerin kontrolü altındaki bu bölge çizgili kaslardan oluşmuştur. Özofagus içerisindeki istirahat basıncı, negatif toraks basıncı nedeniyle atmosfer basıncından daha düşüktür. Özofagus alt ucunda, hiatus düzeyinde ikinci bir yüksek basınçlı bölge vardır. Burası alt özofagus sfinkteridir ve istirahat halinde 20-30 mmHg basınçla kapalı haldedir. Asıl işlevi mide içeriğinin özofagusa kaçmasını önlemektir ve enterik sinir nöronları ile kontrol edilir. Bu sfinkter asetil kolin ile kasılır, ATP, nitrik oksit ve vazoaktif intestinal peptid ile gevşer. Eğer primer peristaltik hareketler gıdaların mideye geçişinde yetersiz kalırsa ikincil peristaltik hareketler başlar. Bu hareketler özofagusun intrensek nöronları ile kontrol edilir (2,29).

2.5. KİMYASAL ÖZOFAGUS YANIKLARI

2.5.1. PATOFİZYOLOJİ

Özofagus travmaya en az toleransı olan ve komplikasyonlarının tedavisi cerrahlar için en fazla zorluk teşkil eden organlardan birisidir. Özellikle çocuklar tarafından ağız yoluyla alınan asit ve alkali özellikteki kimyasal maddeler sıklıkla özofagusta yaralanmaya yol açar. GİS'de sıklıkla kimyasal yanık oluşturan maddeler ve ticari formları Tablo 1'de gösterilmiştir (21).

Tablo 1. Kimyasal yanık oluşturan maddeler ve ticari şekilleri

KOSTİK MADDE	CİNSİ	TİCARİ ŞEKLİ
Asitler	Sülfirik asit	Piller Endüstriyel temizleyiciler Metal kaplama
	Oksalik asit	Tiner Metal temizleyiciler
	Hidroklorik asit	Çözücüler Tuvalet temizleyiciler
	Fosforik asit	Tuvalet temizleyiciler
Alkaliler	Sodyum hidroksit	Sabun yapımı, temizlik maddeleri Lavabo açıcılar Disk piller
	Potasyum hidroksit	Fırın temizleyiciler Toz deterjanlar
	Sodyum karbonat	Sabun üretimi
Amonyak	Amonyum hidroksit	Ev temizleyicileri
Deterjanlar (Ağartıcılar)	Sodyum hipoklorit	Çamaşır suları, temizleyiciler
	Sodyum polfosfat	Endüstriyel deterjanlar
Protoplazmik zehirler (Alkaloid asitler)	Asetik asit Formik asit	Turşu yapımı
Condy Kristalleri	Potasyum permanganat	Dezenfektan, saç boyaları

Yutulan kimyasal maddenin cinsi, fiziksel şekli, miktarı, pH'sı, doku ile temas süresi gibi faktörler hasarlanmanın şiddetini belirlemektedir. Kuvvetli asit veya alkali ile temas sonrası mukozada hasarlanma saniyeler içinde meydana gelir. Asit veya alkali ajanların yaptığı yaralanmalar oluşum mekanizması ve sonuçları bakımından birbirinden farklıdır. Asit alımında mukozada koagülasyon nekrozu, sert nedbe formasyonu ve genellikle sınırlı mukoza penetrasyonu görülür. Alkali madde alımında likefaksiyon nekrozu ile beraber doku penetrasyonu sonrasında epitel ve submukozanın kas tabakasına kadar bütünlüğünün bozulduğu görülür. Oluşan gevrek ve soluk renkli nekrotik dokunun altında doku hasarlanması alkali madde nötralize oluncaya kadar devam eder. Hasarlanma özellikle özofagusun anatomik darlıkları seviyelerinde daha belirgindir. Kristal halde bulunan maddeler genellikle orofarinkste tutulduğu ya da dışarı atıldığı için sıklıkla bu bölgelerde yanıklar oluşur. Asit sıvıların akışkanlığı alkali

maddelere göre fazladır ve özofagusu daha hızlı geçerler. Asitler alkalilere göre mide antrumunda daha çok göllenme eğilimindedir. Bu nedenle asit sıvılar sıklıkla midenin antrumunda yanık oluştururlar. Asit madde alımına bağlı geç dönem komplikasyonu olarak en sık midenin antrumunda darlık gelişimi görülür. Asit maddeler aynı zamanda hızla orofarinksten aşağı geçerek tüm özofagus boyunca yanığa neden olabilirler. Ancak çocuklar kötü bir tada sahip olan yakıcı maddeyi tükürerek dışarı atmaya çalışırlar ve içilen madde miktarı genellikle azdır. Bu esnada çocuğun ağız, farinks ve üst özofagus epiteli ile kimyasal reaksiyona girerken yutulan madde orta özofagus seviyelerine geldiğinde nötralize olabilir. Alkali maddeler şiddetli ağrıya neden olmaları nedeniyle farinkse girer girmez krikofaringeus kası şiddetle kasılır ve motilite bozulur. Alkali maddelerin yoğun olması ve özofagusun alınan maddeyi çepeçevre sarması nedeniyle özofagus daha çok hasarlanır. Bu olay gecikmiş mide boşalmasına ve regurjitasyona yol açar. Alkali madde saniyeler içerisinde özofagus mukozasında, submukozada ve muskülaris mukozada likefaksiyon nekrozuna yol açar. Alkali maddelerin vücut dokularına hızla yayılabilme özelliği, içerdiği hidroksil radikalinin nükleik asit, protein ve fosfolipit gibi esansiyel intrasellüler partiküllerde bulunan serbest hidrojen iyonuna hızla bağlanmasından kaynaklanır. Doku hasarı sonucu ödem, lökosit infiltrasyonu ve şiddetli enflamatuar reaksiyon başlar (1,21).

Hücre hasarı ve ölümüne neden olan mekanizmalar arasında en önemlisi serbest radikallerin ortama salıverilmesidir. Doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleriyle peroksidasyonu, hücre membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Redükte oksijen metabolitlerinin özellikle hidroksil ve hidroksi proksit radikallerinin membrana bağlı poliansatüre yağ asitlerine etkisi sonucu ortaya bir karbon radikali çıkması ve bunun tekrar dizilerek konjuge bir diene dönüşmesiyle oluşur. Bu konjuge form hızla oksijenle reaksiyona girerek peroksit radikali ortaya çıkarır. Peroksit radikali ise diğer yağ asitlerinden hidrojen atomunu çekerek bir zincir reaksiyonu başlatır. Son ürün olarak da Malonildialdehid (MDA) ve hidroproksit oluşur. Dolayısıyla MDA düzeyi artışı doku hasarının saptanmasında kullanılır (30-32).

İnce damarların trombozu alkali hasarın karakteristik özelliğidir ve nekrotizan etkiyi artırır. Hidroksit konsantrasyonu fazla ise madde özofagus duvarına hızla nüfuz ederek özofagusun kas duvarında da nekroza yol açar. Özofagus delinebilir ve

mediasten, trakea ve bronşlar, büyük damarlar hatta periton gibi periözofageal dokular yaralanabilir (30,31).

Çeşitli serilerde koroziv madde içenlerin %18-42'sinde değişen şiddette özofagus hasarı oluştuğu gösterilmiştir (1,21,32,33). Başka bir seride ise granüler madde içenlerde özofageal darlık gelişme sıklığı %5'in altında bildirilmiştir (34).

Özofagus yanığının oluştuğu ilk 24 saat içerisinde (erken akut faz) özofagus duvarında hemoraji, tromboz ve şiddetli enflamatuar yanıtla beraber oluşan ödem lümeni daraltır ve bazan da tıkayabilir. Kırksekiz saatten sonra submukozal damarların trombozu lokal nekroz ve gangrene yol açar. Bakteriyel kontaminasyon ile küçük intramural abseler oluşmaya başlar. Yanık sonrası 4 ile 7. günler arasında mukozal nekrozun döküldüğü, fibroblastik aktivitenin artığı, ödemin azaldığı ve neovaskülarizasyonun başladığı görülür. Bu subakut dönem ikinci hafta boyunca sürer. Bu süre içinde başlayan enflamatuar yanıt trombosit agregasyonu, kapillerin genişlemesi, permeabilite artışı ve önce polimorfonükleer lökositlerin, daha sonra monositlerin yanık sahası etrafında birikmesine neden olur. Monositler makrofajlara dönüşerek ortamdaki yıkım ürünlerini ve bakterileri fagosite ederken diğer yandan da kollajen sentezinde rol oynarlar. İkinci haftanın sonuna doğru akut inflamasyonun gerilemesi ile ödemin azalması neovaskülarizasyon için uygun zemin hazırlar. Bu esnada fibroblast profilerasyonu artmış ve kollajen üretilip depolanmaya başlamıştır. Vücuttaki dokuların fiziksel dayanıklılığından ve stabilitesinden sorumlu olan kollajen aynı zamanda yanık yarasının iyileşmesi sonucu ortaya çıkan darlığın da nedenidir (1,2,21,32,33).

Kollajen insan vücudundaki toplam proteinin üçte birini oluşturur. Kollajeni oluşturan amino asitlerin %33'ü glisin, %20'si prolin ve hidroksiprolin, %10'u alanin ve geri kalanını ise diğer amino asitlerdir. Hidroksiprolin kollajenin yapısına giren iminoasittir ve vücutta diğer proteinlerin yapısında bulunmaz. Organizmada prolinin hidroksilaz enzimiyle hidroksillenmesiyle oluşur. Karaciğerde glioksilik aside ve pirüvik aside yıkılıp idrarla atılır. İdrarla atılan veya doğrudan dokunun homojenizasyonu ile saptanan hidroksiprolin miktarının tayini, kollajen metabolizmasının aktivitesini ölçen güvenli bir yoldur (33).

Darlığın oluşumunda bir diğer etken de myofibroblastlardır. Fibroblastlara benzeyen, ancak düz kas dokusu içeren myofibroblastlar iyileşen yarayı büzerken diğer

yandan biriken kollajen de pozisyonun korunmasına yardım eder. Kontraksiyon sonucu küçülen yara yüzeyi, epitelizasyonun daha hızlı oluşmasını sağlar. Vücudun iyileşme için kullandığı bu fizyolojik mekanizma, özofagusta daralmaya neden olmaktadır. Özellikle musküler tabakanın derinlemesine hasarlandığı yanıklarda iyileşme sonrasında ortaya çıkan nedbe kontraksiyonu lümeni daraltmakta veya tamamen kapatabilmektedir (21,30,35,36).

Yanık oluşumundan sonraki 3. ile 6. haftalar arasında özofagus lümenindeki reepitelizasyon tamamlanır. Bu süre içerisinde de özofagus lümenini daraltan ya da tamamen tıkayan epitelyal yapışıklıklar görülebilir. Yaklaşık 21. günde olgunlaşmaya başlayan kollajen depolanması ile darlık belirgin hale gelir. Bu günler içerisinde biriken kollajen moleküllerinin arasındaki çapraz bağlar yumuşaktır. Oluşan darlığın fibröz doku haline gelmesi 3 ay ile 1 yıl arasında gerçekleşir. Yaranın yeniden şekillenebilmesi ise yıllarca sürebilir. Özofagus kas tabakası nekroze uğradıktan sonra bu tabakanın yeniden rejenere olması mümkün değildir. İyileşme sadece fibröz doku replasmanı ile gerçekleşir. Böyle bir durumda beklenebilecek en iyi gelişme lüminal yüzeyin reepitelizasyonudur (21,30,34,36).

2.5.2. KLİNİK

Kimyasal özofagus yanığı sıklıkla asit ve alkali maddelerin çocuklar tarafından kazayla veya yetişkinlerde intihar amacıyla içilmesi sonucu oluşur. Olguların %80'ini 5 yaş altındaki çocuklar oluşturur (1,3,5,21,37-40).

Koroziv özofajit olgularının %75-90'ından KOH ve NaOH gibi kuvvetli alkaliler, %10-25'inden asitler sorumludur. Çocuklarda alkali madde içilmesi sonrası özofagus yanığı oluşma sıklığı yaklaşık %24'tür. Özofagus yanığı olgularının %12-35'inde organda darlık oluşmaktadır. Ağır yanığı olan hastalarda darlık oranın %50'nin üzerine çıktığını gösteren çalışmalar vardır (38,41,42).

Koroziv madde içen çocuklar sıklıkla ağır olmayan yakınmalarla başvurmaktadır. Olguların yaklaşık %25'inde semptomlar şiddetli olabilir (21). Çocukların genellikle küçük yaşta olmaları ve aile gözetiminden uzaktayken gerçekleştiği için olay hakkında detaylı bilgi almak bazan mümkün olmayabilir. İçilen maddenin özelliği ve miktarı hastalığın seyrini etkileyeceği için olayın oluşu ile ilgili ayrıntılı bilgi edinmek gerekir.

Ağız içinde yanık görülmesi koroziv madde içildiğini destekleyen önemli bir bulgudur. Ancak özofagus hasarının şiddetini göstermesi bakımından güvenilir bir bulgu değildir. Bir çalışmada ağız içinde herhangi bir bulgusu olmayan hastaların %10-30'unda özofagusta şiddetli yanık oluştuğu gösterilmiştir (21).

Orofaringeal bölgede yanıkla birlikte mukozal ödem, hiperemi ve şiddetli ağrı olur. Beraberinde sıklıkla taşikardi ve huzursuzluk vardır. Salya akıntısı veya yutma güçlüğü posterior faringeal veya üst özofagusta ciddi hasar oluştuğuna işaret edebilir. Posterior faringeal veya laringeal ödem solunum sıkıntısına yol açabilir. Koroziv maddenin hava yollarına kaçması hava yolunda tıkanıklığa, solunum sıkıntısına ve akciğer parankim hasarına yol açabilir. Solunum semptomları ilk 24 saat içerisinde ortaya çıkmayabilir. Bu nedenle koroziv madde alım öyküsü olan bütün olgular ilk gece hastanede gözlem altında tutulmalıdırlar. Daha az sıklıkla ise özofagus perforasyonu sonucu mediastinit, peritonit ve şok oluşabilir. Şiddetli ağrı, solunum sıkıntısı, taşikardi, yükek ateş, lökositoz, karın hassasiyeti ve gelişen şok tablosu yanığın şiddetli olduğunun ve organ perforasyonu gibi ölümcül komplikasyonlar geliştiğinin habercisidir (21,30,31).

2.5.3. TANI

Koroziv madde alımında erken tanı ve tedavi prognozu etkileyen önemli faktörlerdendir. Öncelikle içilen maddenin cinsi öğrenilmelidir. Gerekirse madde istenmeli ve içilen sıvının kimyasal özellikleri belirlenmelidir. Muayenede dudak, ağız ve orofarinkste eritem, ödem, yutma zorluğu ve aşırı sekresyon olması gözlenebilir.

Tanı koydurucu ilk ve en önemli girişim, tercihen ilk 12-24 saat olmak üzere ilk 48 saatte yapılan özofagoskopidir. Bu nedenle özofagoskopi özofagus yanığının varlığını doğrudan görmek için yapılır. Özofagoskopi koroziv madde alımından hemen sonra yapılmamalıdır. Özofagoskopi işlemine bağlı organ perforasyonu olabilir. Hastanın midesinin dolu olması ve oluşacak regurjitasyon ile özofagus ikinci kez yaralanabilir. Hastada stridor ile beraber faringeal yanık bulguları varsa, hava yolu tıkanıklığını artırma riski nedeniyle erken özofagoskopi yapılmamalıdır (35).

Eğer özofagus yanığı gözlenmemişse hastaya ağız yanıkları dışında tedaviye gerek yoktur ve hasta evine gönderilebilir. Koroziv madde içen çocukların %75-80'i bu gruba girmektedir. Özofagoskopide ilk ciddi yanık lezyonunun görüldüğü noktada durulmalı, perforasyon riski nedeniyle daha ileri gidilmemelidir (21,30,34,36).

Özofagus yanığının şiddeti mutlaka değerlendirilerek derecelendirilmelidir. Endoskopik olarak özofagus yanıkları 3 grupta değerlendirilir (21):

Evre 0: Normal

Evre I: Mukozal ödem ve hiperemi

Evre IIa: Frajil, hemorajik mukoza; erozyon, eksuda ya da beyazımsı membranlar, yüzeyel ülserler

Evre IIb: Evre IIa + belirgin derin ya da sirkumferensiyal ülserler

Evre IIIa: Küçük, dağınık nekroz alanları, kahverengi-siyah veya gri renkli alanlar

Evre IIIb: Yaygın nekroz

Radyolojik çalışmalar, özellikle akut komplikasyonların değerlendirilmesi için tanıda yardımcıdır. Ön arka, yan göğüs grafileri ve ayakta direkt karın grafilerinin çekilmesi akciğerler ve mediasten değerlendirilip özofagus ya da mide perforasyonunun tanınmasında önemli bilgiler sağlar. Eğer hastada ateş, sistemik sepsis, taşikardi ve perforasyon şüphesi varsa, suda çözünen kontrast madde ile yapılan özofagogram perforasyonu göstermek için faydalı olabilir. Özofagogram hastaların akut dönemden sonra motilite ve darlık gelişimini gözlemek için kullanılır. Aynı zamanda hastaların takibinde ve uygun tedavi yöntemlerinin seçilmesine yardımcı olmak amacıyla da kullanılır. Kimyasal özofagus yanığından sonra uzun dönemde darlık, gastroözofageal reflü (GÖR), özofagus motilite bozukluğu, büyüme gelişme geriliği sık karşılaşılan hastalıklardır (21,30,43).

2.5.4. TEDAVİ

Kimyasal özofagus yanığının tedavisi konusunda yaygın kabul görmüş bir protokol yoktur. Tedavi konusundaki gelişmeler yeni tartışmaları da beraberinde getirmektedir. Günümüzde tedaviye yaklaşım aşamalı olarak yapılmaktadır. Akut fazın ilk saatlerinde enflamasyon patolojisinin temel ilkelerine ve ölümcül komplikasyonların tedavisine yönelik uygulamalar ön plana çıkarken, kronik fazda gelişmiş komplikasyonlara yönelik tedavi yapılır.

2.5.4.1. Akut faz:

Yakıcı madde alındıktan sonra hasar gerçekleştiği ve artık geri dönüşümü olmadığı için erken akut dönemde tedavinin ana ilkesi hastanın daha fazla zarar görmesine engel

olmaktır. Bu amaçla bilinçsiz girişimlere engel olmak ve iyileşmenin uygun şartlarda olması için uygun destek tedavisinin verilmesi gereklidir.

Hasta görüldüğünde yapılması gereken ilk girişim solunum yollarının kontrolü ve açıklığının sağlanmasıdır. Öncelikle başa pozisyon verilmeli, farinks aspire edilmelidir. Bazan solunumun devamlılığı için trakeostomi yapılması dahi gerekebilir. Damar yolu açılarak eğer varsa sıvı açığı karşılanmalıdır. Ağız yoluyla beslenme durdurulmalıdır. Hasta kesinlikle kusturulmamalı, nazogastrik tüp takılmamalıdır. Bu yönde yapılacak girişim hasarlanmış mukozaya daha çok zarar verebilir. GİS steril bir ortam olmadığı için mukozal hasarlanma sonucu gelişebilecek enfeksiyon riskini azaltmak amacıyla antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Solunum sistemine aspirasyon ya da özofageal perforasyon şüphesi varsa geniş spektrumlu antibiyotikler başlanılmalıdır. Özellikle özofagus yanıklarından sonra gelişen enfeksiyon, enflamasyonun şiddetini artırarak iyileşme döneminde daha yoğun nedbe birikimine yol açar. Bunun darlık oluşma riskini artırdığı bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Bu yüzden antibiyotik tedavisine epitelizasyon tamamlanıncaya kadar devam edilmesi önerilmektedir (21,30).

Yanık sonrası ilk 48 saat enflamasyonun en şiddetli dönemidir. Ağır olgularda ödem nedeniyle hastalar tükrüğünü dahi yutamayabilir. Sık yapılacak orofaringeal aspirasyon, bu dönemde fazla sekresyonları temizleyerek hastanın rahatlamasına yardımcı olacaktır. Daha sonraki günlerde ödem azalmaya başlayacağından, hasta tükrüğünü yutmaya başlar. Önce su içilerek özofagus devamlılığından emin olunduktan sonra parenteral beslenme azaltılıp, ağızdan beslenmeye başlanır. Bu dönemde hastanın metobolik ihtiyaçlarını karşılayabilmek ve hastada pozitif nitrojen dengesini sağlamak amacıyla parenteral beslenme uygulamasının iyileşme döneminde olumlu etkileri olduğuna dair görüşler bildirilmiştir (30,44).

Yaklaşık 10. gün civarında hastada tekrar yutma güçlüğü başlayabilir. Bu durum aşırı fibroblastik aktivitenin lümeni tıkadığını gösterir ve kötü prognozun habercisidir. Yutma güçlüğü farkedildiğinde hastaya ince bir nazogastrik tüp takılması yararlı olabilir. Yerleştirilen bu tüp, hem lümenin ortadan kalkmasını önleyecek, hem de enteral beslenmenin devamını sağlayacaktır (21,30).

Erken iyileşme dönemi genellikle 21. gün civarında tamamlanmış olacaktır. Bundan sonra kronik iyileşme fazı başlar. Bu dönemde özofagografi ve gerekirse genel anestezi altında yapılan özofagoskopi ile özofagus değerlendirmelidir. Skopi altında

yapılan incelemede peristaltizmi kaybolmamış, lümeni açık bir özofagus görülmesi ve özofagoskopide yalnızca hafif hiperemi gözlenen olgularda tedavi bitmiş sayılabilir. Ancak bu hastalar en az 3 ay boyunca yakından takip edilmelidir. Darlık ortaya çıkan diğer hastalar ise kronik faz tedavi programına alınmalıdır (30).

Koroziv madde alımı ile başvuran hastalarda ilk günlerde uygulanan tedavi ve girişim yöntemleri hastaların prognozunu önemli ölçüde etkilemektedir. Pek çok araştırmacı antibiyotik verilmesi konusunda hemfikirdir. Yara iyileşmesinin temel prensiplerinden hareketle, yanık dokuda gelişen enfeksiyonun enflamatuar reaksiyonu alevlendirerek darlık oluşumuna katkıda bulunacağı bilinmektedir. Bu nedenle kimyasal özofagus yanığı nedeniyle başvuran hastalara erken dönemde antibiyotik tedavisi başlanması bütün dünyada kabul edilen ve önerilen bir uygulamadır (30,35,36).

Kimyasal özofagus yanıklarının tedavisinde en çok tartışmaya neden olan konu sistemik steroid uygulamasıdır. İlk defa 1950'li yıllarda deneysel koroziv özofagus yanıklarında darlık oluşumunu azalttığı gösterilen steroidler hakkında bu güne dek bir çok çelişkili deneysel ve klinik sonuçlar bildirilmiştir. Antienflamatuar steroidler yaranın gerilme gücünü, epitelizasyon hızını ve neovaskülarizasyonu azaltır ve dolayısıyla yara kontraksiyonunu inhibe ederler. Bu etkiler iki ayrı mekanizma ile oluşur: 1) Steroidler prolil hidroksilaz ve lizil oksidaz aktivitelerini azaltarak kollajen yapımını yavaşlatırken, diğer yandan kollajenaz aktivitesini artırarak yıkımı hızlandırır. Sonuçta oluşan nedbe dokusu zayıf ve yumuşaktır. 2) Steroidler doğrudan doğruya inflamasyonu etkiler. Bu etkinin ancak steroidler yaralanmadan sonraki ilk üç gün içerisinde başlanması ile ortaya çıkabileceği bildirilmiştir. Kollajen metobolizmasında inflamasyonun önemli rol oynadığı da bilinmektedir. Ancak steroidler hangi fazda ve hangi dozda (antienflamatuar amaçlı 30 mg/kg/6 saat, ilk 48 saat içinde; anti kollajen amaçlı 2-4 mg/kg/gün, 3-6 hafta süreyle) verilirse verilsin etkisinin daima geri dönüşümlü olduğu da çeşitli çalışmacılar tarafından bildirilmiştir (21,30,31,35). Anderson ve ark.'nın (7) 1990'da yaptığı geniş prospektif klinik çalışmada steroidlerin darlık oluşumunu önleyici etkisi istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermemiştir. Yine birçok retrospektif çalışmada steroid tedavisinin özofagus yaralanmalarında olumlu etkilerinin olmadığı gösterilmiştir (9,45,46). Steroid uygulaması kesildikten sonra kollajen moleküllerinin çapraz bağlanması gecikmiş olsa da mutlaka gerçekleşir ve yaralanma yine sert, kontrakte nedbe ile sonuçlanır. Antienflamatuar dozlar

uygulandığında ise yara daha uzun süre açık kalacağından, sekonder enfeksiyon riski ve yaranın derinleşme riski artacaktır (30,35). Ancak steroid tedavisinin faydalı olduğunu savunan çalışmalar ilacın erken dönemde başlanıp uzun süre kullanılmasını önermektedirler (21,31).

Sonuç itibariyle, bugün için kimyasal özofagus yanığının tedavisinde steroid verilmesinin birçok araştırmacı tarafından yararsız olduğu savunulmaktadır. Steroid tedavisinin Evre I yaralanmalarında gereksiz, daha yüksek evreli yaralanmalarda ise yetersiz olduğu düşünülmektedir (45). Steroid uygulamasına taraftar olanlar da tedaviye olabildiğince erken başlayıp, en az 3-4 hafta boyunca kullanılmasını önermektedirler (21,30,31,35,47-49).

2.5.4.2. Kronik faz:

Kronik faz genellikle 21. günden itibaren başlar. Bu sırada epitelizasyon tamamlanmış ve yumuşak karekterli darlık oluşmuştur. Kronik dönemde ilaç tedavisinin yeri yoktur. Yirmibirinci günde çekilen özofagogram ile özofagus anotomisi ve fizyolojisi hakkında bilgi sağlanır. Darlık tesbit edilen hastalarda ise lümeni açık tutmak için özofagus dilatasyonu programına başlanır (30).

2.5.4.2.1. Özofagus dilatasyonu: Dilatasyonlar, yaralanmış ve iyileşmekte olan özofagusun remodelizasyonu üzerine etkili olmakta ve yara iyileşmesinin doğal sonucu olan yara kontraksiyonlarını önlemektedir. 18. ve 19. yüzyıllarda özofagus dilatasyonları çeşitli maddelerden yapılmış dilatatörlerle anterograd olarak körlemesine yapılmaktaydı. Chevalier Jackson ilk kez 1902'de distalden aydınlatmalı özofagoskopu geliştirdiğinde darlıkların görülerek anterograd (ağız yolundan bujinin özofagusa ilerletilmesi) olarak dilatasyon yapılması gerektiğini vurgulamıştır. Tucker (36) kendi adını verdiği dilatatörlerle gastrostomi yapılan hastalarda retrograd (gastrostomiden geçirilerek bujinin özofagusa ilerletilmesi) dilatasyonu geliştirmiş ve önemli aşamalar kaydetmiştir.

Dilatasyonlar daima genel anestezi altında yeni yaralanmalara yol açmayacak şekilde yapılmalıdır (30,35).

a) Dilatatör ile dilatasyon: Günümüzde çeşitli isimlerle anılan anterograd veya retrograd kullanım amaçlı dilatatörler bulunmaktadır:

1) Anterograd dilatayon: Bu yöntemin emniyetli olması için darlık mutlaka görülmeli ve mukozal harabiyet vermeyecek genişlikte dilatatörler kullanılmalıdır. Eğer

mukoza zedelenecek olursa, tüm yara iyileşme reaksiyonları tekrar başlayacak ve yeni skar oluşumu gerçekleşecektir (30,35).

2) Retrograd dilatasyon: Bu yolun avantajı, dilatatör bir kılavuz yardımıyla mideden farinkse ilerletildiği için dilatatörün mide ve özofagusun frajil bölgelerini zedeleme ihtimalinin düşük olmasıdır. Bu yöntemle dilatasyon nisbeten daha kolay gerçekleştiği için aşırı bir dilatasyona kayarak nedbe dokusunu çatlatma ve perfore etme riski yüksektir. Bu yöntemi kullanmak için hastaya ayrıca gastrostomi yapılması gerekmektedir (30,35).

b) Balon dilatasyonu: İlk kez 1981'de London tarafından özofagus darlıklarının tedavisinde kullanılan endoskopik ve radyolojik kontrollü balon dilatasyonu, anterograd ve retrograd dilatasyonların aksiyal itici veya çekici kuvvet uygulamalarından farklı olarak, daralan segmenti radial ve üniform şekilde genişletmektedir (50). Özellikle anostomoz darlığı ve kısa segment darlıkların dilatasyonunda etkili olduğu bildirilen bu yöntemin uzun segmentli darlıklarda kullanılması tartışmalıdır (51).

Her hastanın dilatasyon programı, alınan cevaba göre ayarlanmalıdır. Yanık alanında ilk başlarda yumuşak kollajen çapraz bağları her dilatasyon ile parçalanarak, zaman içinde nedbe dokusunun olgunlaşması ile çapraz bağlanma durumu da ortadan kalkacaktır. Bu nedenle programın başlangıcında ilk dilatasyonlar sık aralıklarla yapılmalıdır. Uygulanan protokoller klinikten kliniğe farklılıklar gösterebilir. Tipik olgularda ilk dilatasyonlar 3 ay içinde duruma göre 3 haftada bir, daha sonra sıklık azaltılarak 1, 2 ve 3 aylık aralarla bir yıla kadar yapılması önerilmektedir. Hastalar yanık sonrası beş yıl boyunca takipten çıkarılmamalıdır (21,30,31,35).

Dilatasyon işleminde karşılaşılan komplikasyonlar nadir değildir. Bütün dilatasyon yöntemlerinde tedavi sırasında ve sonrasında özofagus perforasyonu, trakeoözofageal fistül, mediastinit, ampiyem, peritonit, bakteriyemi veya beyin apsesi en çok gelişen komplikasyonlar olarak bildirilmiştir (31,35). Avanoğlu ve ark. (52) 20 yıllık dönem içerisinde 1249 hastanın 52'sinde (%4.1) enstrümantasyon nedeniyle özofageal perforasyon oluştuğunu bildirmiştir. Karnak ve ark. (53) ise 25 yıllık bir dönem içerisinde 195 hastanın 34'ünde (%17.4) enstrümantasyona bağlı özofagus perforasyonu bildirilmiştir. Bu nedenle özofagus dilatasyon teknikleri her ne kadar darlık tedavisinde önemli yer tutsalar da tamamen masum yöntemler değildir.

2.5.4.2.2. İntralezyonel steroid injeksiyonu: Güçlü bir antienflamatuar ajan olan triamcinolone acetonide keloidlerin, hipertrofik skarların ve yanık kontraktürlerinin tedavisinde lokal injeksiyon yoluyla kullanılarak belirgin remisyon sağlandığı bilinmektedir. Bu yöntem özofagus darlıklarında da Holder ve Ashcraft tarafından deneysel ve klinik olarak kullanılmış, ayrıca Gandhi tarafından dilatasyon ile kombine edilerek başarılı sonuçlar bildirilmiştir (54,55). Yapılan bir araştırmada intralezyonel steroid uygulanan hastaların %25'inde iyi cevap alınmış ve en az bir yıllık takip süresini semptomsuz olarak geçirdikleri bildirilmiştir. Ancak günümüzde bu yöntemin yalnızca kısa ve izole darlıklarda kullanılması gerektiği kabul edilmektedir (30).

2.5.4.2.3. İntralüminal stent (İLS): Özofagusun koroziv darlıklarında aralıklı uygulanan dilatasyon, ağır yaralanmalarda iyileşme süreci içindeki özofagusta kollajen birikimine tam olarak engel olmayıp, travmatik dilatasyonlar sonucu darlığın şiddetlenmesine bile neden olabilir. Bu nedenle belirgin darlık gelişmiş olgularda bir yıla varan süre içerisinde yeterli remodelizasyonun sağlanması için dilatasyonun sürekli olması gerektiği düşünülmüştür. Bu amaçla ilk kez 1966 yılında Fell, kedilerde deneysel yanık oluşturduktan sonra 15 gün boyunca İLS uygulamış, aldığı sonuçların başarılı olması üzerine klinik olarak iki olguda yine başarılı sonuçlarla bu yöntemi denemiştir (30,35,56).

Teorikte kimyasal özofagus yanığı sonrası gelişen nedbe dokusunun lümeni daraltmasını mekanik olarak durduran bu yöntemin pratikte uygulanırken karşılaşılan bazı zorlukları ve dikkat edilmesi gereken noktaları vardır. Özellikle, İLS uygulamasının yapılabilmesi için özofagusta epitelizasyonun tamamlanmış olması gereklidir. Akut dönemde, travmatize ve frajil özofagus lümenine uygulanacak olan stent, yeni bir travmaya yol açabilir ya da var olan enfeksiyonu şiddetlendirebilir. Yara iyileşmesi modellerinden edinilen bilgilere göre remodelizasyon için yaklaşık bir yıl gibi bir süre gerektiğinden, ilk 21 gün boyunca uygulanan stentin sadece akut dönemdeki hızlı fibroblastik proliferasyona bağlı darlığı önlediği, özellikle ilk 3 ay boyunca devam eden kollajen birikimine etkisi olmayacağı düşünülmektedir. Bu nedenle stent uygulamasının uzun süreli yapılması önerilmektedir (30,35).

Kimyasal özofagus yanığında İLS uygulanmasında karşılaşılan önemli bir sorun, nedbe dokusu nedeniyle kısalan özofagus boyunun GÖR'ye yol açmasının yanı sıra, lümeni açık olan stentin reflü şiddetini artırarak özofagusta daha ileri travmaya yol

açmasıdır. GÖR'nün meydana getireceği hasarı önlemek için İLS uygulanan hastalarda bazı yazarlar tarafından medikal ya da cerrahi antireflü tedavisi önerilmektedir (30,57).

Yapılan bir çalışmada 172 hasta dilatasyonlarla, 69 hasta da İLS ile tedavi edilmiştir. İyileşme oranının dilatasyon grubunda %33, İLS grubunda ise %69 olarak gerçekleştiği bildirilmiştir (30,57).

İLS ile ilgili uzun vadeli çalışmaların ve geniş serilerin sonuçları bildirildikçe bu uygulamanın kliniğe yerleşeceği düşünülmektedir.

2.5.4.2.4. Ekstralüminal skarektomi: Kısa segmentli darlıklar torakotomi ile eksplore edildiğinde, yanık bölgesi çapının normal özofagustan daha dar olmadığı gözlenmiş ve dar segmentin içerisine dilatatör yerleştirildiğinde dış çap yine değişmemiştir. Bu gözlemden başarısız dilatasyonlarda nedbe genişlemesinin yalnızca lümenin iç çapı ile ilgili olduğu ve dış çapın değişmediği sonucu çıkarılmıştır. Böyle bir durumda, nedbenin dışarıdan lümene uyguladığı basıncı ortadan kaldırmak amacıyla ekstalüminal olarak kollajen dokusunun tahrip edilmesinin faydalı olacağı düşünülmüştür. Bu yöntemde sağ torakotomi ile özofagus ve dar segment eksplore edildikten sonra, kan dolaşımının bozulmaması için yanık kısmının yalnızca 180 derecelik sağ ön yüzeyi prepare edilir. Daha sonra ince-sert bir zımpara yardımı ile nedbe aşındırılmaya başlanır. Lümen içine önceden yerleştirilmiş bir dilatatör hafifce görünür hale gelinceye dek işleme devam edilir. Bu sırada meydana gelen kanama sadece bası ile kontrol edilir. Dilatatör işlem sonunda çekildiğinde lümenin kollobe olduğu gözlenmelidir (30,35).

2.5.4.2.5. Radikal operasyonlar: Kimyasal özofagus yanıklarında uzun dönem dilatasyon tedavisine cevap vermeyen ya da lümenin tamamen kapandığı olgularda faringogastrik pasajın devamlılığı için değişik özofagoplasti ameliyatları tarif edilmiştir (31). Hangi olgularda, ne zaman ve hangi cerrahi tekniğin uygulanması gerektiği konusunda kesin kriterler henüz tanımlanmamıştır. Bununla beraber hastanın yanık sonrası 1. aydan sonra başvurduğu, trakeostomi gerektirecek şiddette faringoözofageal yanığın oluştuğu, özofagusun perfore olduğu, radyolojik incelemede dar segmentin 5 cm'den uzun olduğu ve ilk dilatasyonda geçişe izin veren dilatatör çapının küçük olduğu olgularda konservatif tedavinin başarı şansı düşük olarak öngörülmüş ve bu hastaların erken cerrahi girişimden daha çok fayda görebilecekleri bildirilmiştir (58).

Özofagusun daralmış segmentinin kısa olduğu olgularda dar bölgenin rezeksiyonu ile bereber özofagoözofagostomi yapılabilir. Böylece hem premalign potansiyeli mevcut segment çıkarılmış hem de peristaltizm için gerekli devamlılık sağlanmış olur. Ancak bu yöntemde gergin anastomoz ve teknik hatalardan dolayı sıklıkla anostomoz darlığı ve komplikasyonlar gelişebilmektedir (30,31).

Rezeksiyon ve anostomozun yapılamayacağı uzun darlıklarda ise diğer özofagogastrik bypass ameliyat teknikleri tarif edilmiştir. İlk kez 1894'te Bircher yaptığı antetorasik deri tüpü ile torasik özofagusa bypass yapmış ve daha sonra 1907'de Roux ilk jejunal interpozisyonu gerçekleştirmiştir (59,60). Çocuklarda ilk koloözofageal replasman ise 1921'de Lundblod tarafından başarıyla gerçekleştirilmiştir (61). Daha sonraları tarihsel gelişim süreci içerisinde değişik jejunal özofagus replesman teknikleri, gastrik mobilizasyon ile beraber yapılan faringo veya özofagogastrostomiler ve izoperistaltik olmayan gastrik tüp teknikleri tarif edilmesine rağmen, çocuklarda kullanılan en başarılı yöntem değişik tipteki koloözofagoplastiler olmuştur. Özofagus replesmanı için hangi kolon segmentinin (sağ, sol ya da transvers), hangi yerleşimde (subkütanöz antetorasik, retrosternal, sol intratorasik, ortotopik), hangi yönde (izoperistaltik, anizoperistaltik) kullanılması gerektiği konusunda hangi yöntemin mutlak üstün olduğu henüz kesinlik kazanmamıştır. Ancak çocuklarda damarlanmanın daha uygun olması ve kolay hazırlanması nedeniyle retrosternal yerleşimli sol kolon replasmanı sıklıkla tercih edilmektedir (21,30,31,35).

Son yıllarda uzun segment darlık olan hastalarda, darlığın longitudinal insizyonu ve dar bölgeye lümeni açılarak getirilen kolon segmentinin sütüre edilmesi ile tarif edilen kolon yama özofagoplasti yöntemi tarif edilmiştir. Bu yöntemle 12 cm'ye varan uzunluktaki darlıklarda bile başarı sağlanmıştır. Ancak bu yöntemde de getirilen kolon parçasının peristaltizme katkısının olmadığı bildirilmiştir (62).

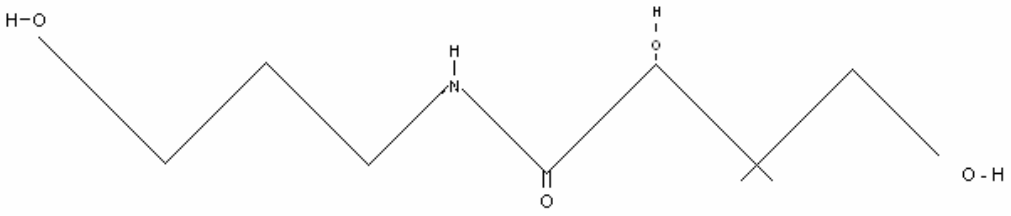
Çocuklarda uygulanan kolon replasman ameliyatlarından sonra önemli komplikasyonlar bildirilmiş olup, reoperasyon gereksinimi oldukça sıktır. Kolon replasmanlarından sonra %6-50 servikal fistül, %3-24 servikal anastomoz darlığı, %20 transplante kolonda nekroz ve bu segmentte %3-21 oranında GÖR'ye bağlı ülserasyon, %38 yapışıklıklara bağlı mekanik barsak tıkanıklığı ve %12 oranında da mortalite bildirilmiştir. Bütün bunlara ek olarak özofagus yanıklı olgular, yaralanmanın ileri

dönemlerinde yanık mukozasında skuamoz hücreli karsinom gelişme riskini normal popülasyondan 1000 kat daha fazla taşımaktadır (31,35).

Sonuç olarak, değişik tiplerde özofagogastrik bypass ameliyatları kabul edilebilir başarı oranları ile birçok yazar tarafından bildirilmiş ve tavsiye edilmiş olsa da, özofagoplastiler mortalite ve morbidite oranları yüksek, zor ve fizyolojik olmayan yöntemlerdir (35).

2.6. DEKSPANTENOL

Dekspantenol B kompleks vitaminlerin bir üyesi olan pantotenik asidin alkolik analoğudur (vitamin B5) (63). Dekspantenolün kimyasal yapısı: (R)-2.4-Dihidroksi-N-(3-hidroksipropil)-3.3-dimetilbutiramid, molekül formulasyonu $C_9H_{19}NO_4$'dür ve molekül ağırlığı 205.3 daltondur (Şekil 1). Dekspantenol enzimatik olarak pantotenik aside oksitlenir ve koenzim A'nın yapısına girerek dokulara dağılır (63,64). Pantotenik asit optik olarak aktif olup sadece dekstrorptator izomeri biyolojik aktiviteye sahiptir. Dekspantenol suda ve alkolde çözünür, pratik olarak yağda çözünmez ve sıvılarda pantotenik asidin en sabit formudur. Pantotenik asit koenzim A'nın bir bileşenidir, koenzim A'nın sülfidril grubu ile çeşitli uzunluktaki tepkime fragmentleri olan asetil gruplarının transferi gibi enzimle katalizlenen reaksiyolarda kofaktör olarak görev alır. Bu reaksiyonlar porfirilerin, steroid hormonların, sterollerin sentezi kadar, yağ asitlerinin yıkımı, glikoneogenezis ve karbonhidratların metabolizmasında önemlidir. Koenzim A yağ asidi asetilasyonu, internal aminoasitlerin asetilasyonu ve N-terminal asetilasyonda olduğu gibi proteinlerin modifikasyonuna da katılır (65,66).



Şekil 1. Dekspantenolün yapısal formülü

Dekspantenolün besinlerle alınması gerekmektedir. Yetişkinler için günlük ihtiyaç 4 ile 7 mg arasındadır. Kalınbarsak florası tarafından da sentezlenebilen bu vitamin et,

yumurta, patates, süt, karaciğer ve yerfıstığında bolca bulunur. Dekspantenol sinir ve derinin normal korunması için gereklidir. Ayrıca karbonhidrat, yağ, protein metabolizmasında enerji dönüşümü basamaklarında yer alan koenzim A'nın yapısına girer (63,64).

Diğer vitaminlerle ilişkili olanlar hariç pantotenik asidin tek başına diyetsel eksikliği klinik olarak tanımlanmamıştır Dekspantenol eksikliğinde somnolans, halsizlik, baş ağrısı, hiperrefleksinin izlediği el ve ayaklardaki uyuşma, kas güçsüzlüğü, gastrointestinal şikayetler, enfeksiyonlara duyarlılıkta artış, infertilite, spontan abortuslar, neonatal ölümler, büyüme geriliği, adrenokortikal disfonksiyon, anormal cilt ve ani ölümler de görüldüğü bildirilmiştir (63,65).

Dekspantenol yara iyileşmesindeki olumlu etkileri nedeniyle uzun yıllardır cilt bakımında ve yaraların tedavisinde ilaç olarak kullanılmaktadır. Dekspantenolün pastil, merhem, krem, ampul ve solüsyon şeklinde ticari formları mevcuttur. Skar tedavisinde, yanık yaralarında ve farklı dermatozlarda dekspantenolün yararlı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (63,64,67). Dekspantenol yetişkinlerde sistemik endikasyonlarda 250-500 mg/gün dozlarda uygulanabilir. Dekspantenolün klinikte kullanım endikasyonları Tablo 2'de verilmiştir (67).

Tablo 2. Dekspantenolün kullanım endikasyonları

Sistemik	**Topikal**
-Barsak atonisi, enterit, kolit	-Larenjit, trakeit
-Akut ve kronik farenjit, larenjit	-Aft, stomatit
-Bacak ülserleri	-Pişik, küçük yara ve sıyrıklar
-Aft, stomatit	-Anal fissür
-Yanıcı ayak sendromu	-Meme başı çatlakları
-Larenjit, trakeit	-Yanıklar
	-Geniş yüzeyli deri lezyonları
	-Enfekte olmamış yaralar
	-Korneal veya konjuktival lezyonlar

Dekspantenol %2-52'lik konsantrasyonlarda merhem, emülsiyon veya solüsyon şeklinde deride ve mukozal lezyonlarda tedavi amaçlı kullanılır. Avrupa'da satışa çıkarılan topikal formülasyonlar %5 konsantrasyondadır. Amerika Birleşik Devletleri

Gıda ve İlaç Yönetimi %2'lik dekspantenol preparatlarının, topikal olarak çeşitli dermatozlarda veya şiddetli kaşıntıyı gidermede kullanımını onaylamıştır (65).

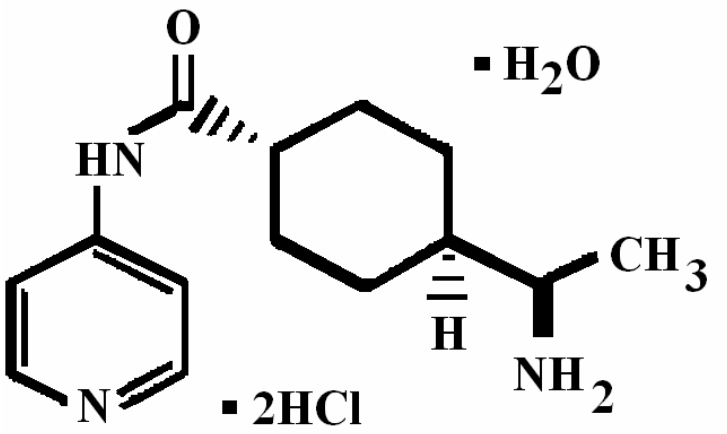
Pantotenik asit metabolik yollardaki rolünden dolayı normal epitelyal fonksiyonlar için gerekli bir moleküldür. Topikal dekspantenol cilt yumuşaklığını ve elastisitesini sağlayan bir nemlendirici olarak etki eder. Dekspantenolün antienflamatuar aktivitesinden dolayı, bebek bakım preparatlarına ve güneş sonrası koruyucuları gibi çeşitli kozmetik ürünlerine eklenmiştir (63,64,65).

Dekspantenol yara tedavisinde klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda dekspantenolün glutatyon, koenzim A ve hücrelerde ATP sentezini artırmak yoluyla antioksidan etki sağlayarak doku hasarını önlediği ve yara iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (14-17). Yara iyileşmesinde fibroblastların proliferasyonu önemli bir faktördür. Dekspantenol ile yapılan in vitro deneylerde insan fibroblastlarının proliferasyonu üzerine ilacı olumlu etkileri kanıtlanmıştır. İnsan fibroblastları üzerine yapılan birçok in vitro çalışmada; pantotenik asit veya türevlerini içeren kültürlerde, kollajen sentezi, fibroblastların tutunması, hücre göçü ve artmış proliferasyon gösterilmiştir (14-17).

2.7. Y-27632

Y-27632, ROCK (Rho-associated coiled coil-forming protein serine/threonine kinase) ailesinin bir selektif sentetik inhibitörüdür. Molekülün formülü $C_{14}H_{21}N_3O.2HCl.^{3/4}H_2O$(Trans-4-[(1R)-1-Aminoethyl]-N-4-pyridinylcyclohexane carboxamide dihydrochloride)'dür ve molekül ağırlığı 333.77 daltondur (68)(Şekil 2).

ROCK proteinleri Rho bağımlı kinaz ailesindendir ve aktin stres liflerinin oluşumu, miyozin fosfataz formlarını (MLCK) etkiler ve bu yolakta esas olarak kalsiyum sensitizasyonu için gereklidir. Rho-kinaz miyozin bağlayıcı alt ünitesini direkt olarak fosforile eder. Bu fosforilasyon sonucu hipertansiyon, vazospazm, preterm doğum, bronşial astım, glukom ve ereksiyon disfonksiyonuna neden olabilir. Bu bileşik, agoniste bağlı düz kas kontraksiyonunu kalsiyum sensitizasyonunu engelleyerek inhibe eder.



Şekil 2. Y-27632 yapısal formülü

Rho-kinaz inhibisyonu amacıyla birçok madde geliştirilmiştir. Bunlardan tanımlanmış olanları Y-27632 ve izoguinolon derivesi olan HA 1077 (fasudil)'dir. Y-27632, ROCK ailesine ait kinazları diğer kinazlardan (protein kinaz C, siklik adenozin mono fosfat kinaz ve MLCK) 100 kat daha güçlü inhibe eder. Y-27632'nin Rho-kinaza olan afinitesi ROCK ailesi üyesi olan protein kinaz ve sirton kinaza göre 20-30 kez daha fazladır (69).

Y-27632'nin düz kas gevşemesi, hücre proliferasyonunun inhibisyonu, anyon kanallarının aktivasyonu, nötrofil kemotaksisinin inhibisyonu, tümör invazyonunun inhibisyonu ve hücre transformasyonunun inhibisyonuna neden olduğu yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (70-72).

Y-27632'nin vasküler, bronşial ve gastrointestinal düz kaslarda uyarılara bağlı kasılmaları in vitro ve in vivo ortamda düz kas kontraksiyonunu inhibe ederek engellediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (70-72). Uehata ve ark. (68) yaptıkları çalışmada, Y-27632'nin sistemik uygulanmasının hipertansif sıçanlarda tansiyonu düşürürken normotansif sıçanlarda sistemik kan basıncında değişme oluşturmadığını göstermişlerdir. Y-27632'nin sıçan, tavşan ve insan korpus kavernozumunda adrenerjik uyarıya bağlı kontraksiyonları inhibe ettiği ve sıçanlarda intrakavernozal basıncı artırdığı gösterilmiştir (73).

Litertürde yara iyileşmesinde Y-27632 ile yapılmış çalışmalar az sayıdadır. Vishwanath ve ark. (74) yaptıkları çalışmada Y-27632'nin korneal fibroblast hücrelerinde fibriller kollajen matrikste gevşeme ve uzamaya yol açarak yara

iyileşmesinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Y-27632'nin topikal, intravitreal ve intrakameral uygulanması sonrası göz içi basıncı düşerken pupilin büyüdüğü gösterilmiştir (75). İn vitro hücre kültürlerinde intestinal epitel hücrelerinde hasar oluşturulmasını takiben Y-27632'nin uygulanması sitotoksik nekrotizan faktör 1'de azalmaya neden olmuş ve hücrelerde hızlı iyileşmeye neden olduğu saptanmıştır (76). Yapılan in vitro çalışmada hasar oluşturulmuş astrosit hücrelerinde Y-27632'nin hasarlı bölgede astrosit migrasyonunda artış ve yara kapanmasında hızlanmaya neden olduğunu göstermişlerdir (77). Hipertansiyon, astım, kanser, serebrovasküler hastalıklar, kemik ağrıları, pnömoni ve pulmoner fibrozis gibi durumlarda tedavi amacıyla kullanılmasına yönelik deneysel çalışmalar devam etmektedir (70-72). Tomasek ve ark. (19) yaptıkları bir çalışmada Y-27632'nin granülasyon dokusu oluşurken miyofibroblastların kontraksiyonunu önleyerek yara iyileşmesinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Gates ve ark. (18) Y-27632'nin yara iyileşmesinde fibroblastları düzenleyerek kontraksiyon oluşmasını önlediğini göstermişlerdir.

Literatürde Rock-II antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyama yöntemi ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Rock-II antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyama yönteminde Rock proteinlerinin yerleşimleri ve dağılımları gösterilmektedir (78). Rock proteini sitoplazmada bulunur, Guanozin tri fosfat'a (GTP) bağımlı sentezlenir ve hücre oluşum döngüsü yüksek olan yerlerde daha fazla bulunur. Tümör hücrelerinde, vasküler endotel hücrelerinde yüksek oranda bulunur ve yapılan immünohistokimyasal boyamalarda sitoplazmik pozitiflik görüldüğü bildirilmiştir (78). İnsan plasentasında Rock-II antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyamada eklampsisi olanlarla preeklampsisi olan hastaların karşılaştırılmasında preeklampsisi olanlarda Rock proteinlerinin yerleşim ve dağılımında artış saptanmıştır (78).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Bu araştırma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Labaratuarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma öncesinde 28.05.2007 tarihli ve 05-2007/19 numaralı Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu izni alındı. Deneyler 20-24^{o}C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ışık döngülü ortamda tutulan, standart laboratuvar yemi ve musluk suyu ile beslenen 60 adet Wistar albino türü sıçan üzerinde gerçekleştirilmiştir.

3.2. DENEY PROTOKOLÜ

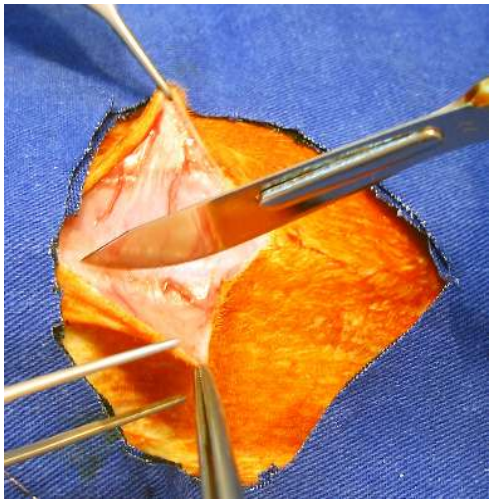
3.2.1. KİMYASAL ÖZOFAGUS YANIĞI MODELİ OLUŞTURULMASI

Deney için ayrılan hayvanlar 12 saat aç bırakıldıktan sonra tartıldı. 100 mg/kg ketamin HCl (Ketalar® flakon, Pfizer, İstanbul) + 15 mg/kg %2 ksilazin (Rompun® flakon, Bayer, İstanbul) karışımının subkutan enjeksiyonu ile anestezi uyguladıktan sonra, denekler sırt üstü yatırılarak dört ayağından tesbit edildi (20,35). Karın ön duvarı yukarıda ksifoid, aşağıda simfizis pubis ve yanlarda her iki rektus kasını kapsayacak şekilde traş edildikten sonra %10 polividon iyot (Biokadin® solüsyon, Kansuk, İstanbul) ile cilt temizliği yapıldı (Resim 4). Kimyasal özofagus yanığı modeli olarak Gehanno ve Guedon tarafından tarif edilen ve Liu tarafından modifiye edilen yöntem kullanıldı (48,49). Buna göre ksifoidin hemen altından başlayan, yaklaşık 3 cm uzunlukta orta hat kesisi ile laparotomi yapıldıktan sonra (Resim 5) mide kesi dışına alınarak yaklaşık 2 cm uzunlukta abdominal özofagus parçası serbestleştirildi (Resim 6). Ağız yoluyla gönderilen 5 French kalınlığında bir beslenme sondası serbestleştirilen abdominal özofagus segmenti içerisine yerleştirildi. Midenin ön duvarından girilerek 14 Guage çapında teflon branül abdominal özofagusun serbestleştirilen segmenti içine yerleştirildi (Resim 7). Deney sırasında verilecek olan NaOH'in mideye ve proksimal özofagusa kaçmasını önlemek için

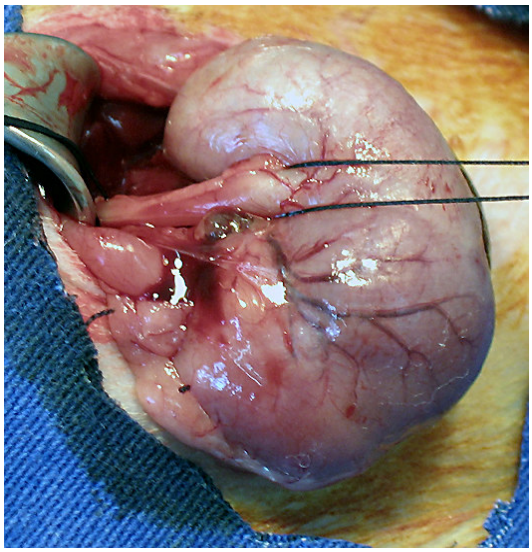
özofagogastrik bileşke ve bunun 2 cm proksimalinden özofagus 2/0 ipekle geçici olarak bağlandı. Bu işlemler sonunda her iki kateterin ucu da hazırlanan bu kapalı abdominal özofagus segmentinin içinde yer almış oldu (Resim 8, Şekil 3).

Proksimal kateterden 90 saniye süre ile 30 cm H_2O basınçla %50 NaOH perfüzyonu yapıldı ve verilen NaOH distal kateterden dışarı alındı. Hemen ardından, yanık segment bir dakika boyunca yaklaşık 20 cc deiyonize su ile yıkandı. Her iki kateter çekililip ipek bağlar açıldı. Fasya ve periton 4/0 atravmatik vikrille, deri ise 4/0 ipekle dikilerek karın kapatıldı (Resim 9). İşlem sonunda deneklerin hidrasyonunu sağlamak için derialtına 10 ml %0.9 NaCl verildi. Denekler işlem sonrasında 12 saat süre ile aç bırakıldı. Deneyden 24 saat sonra ilaç uygulamalarına başlandı.

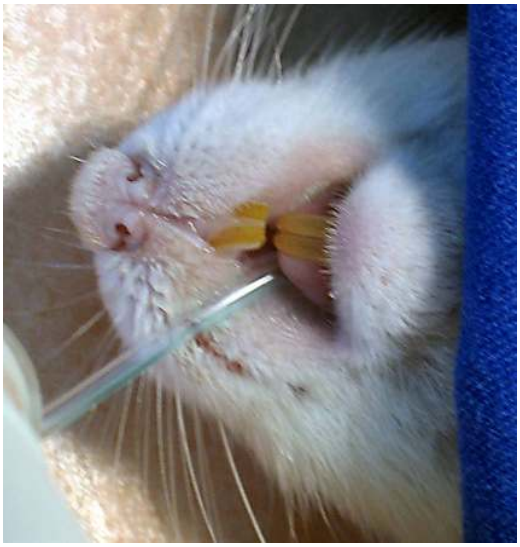
Resim 4. Deney için hazırlanan sıçan



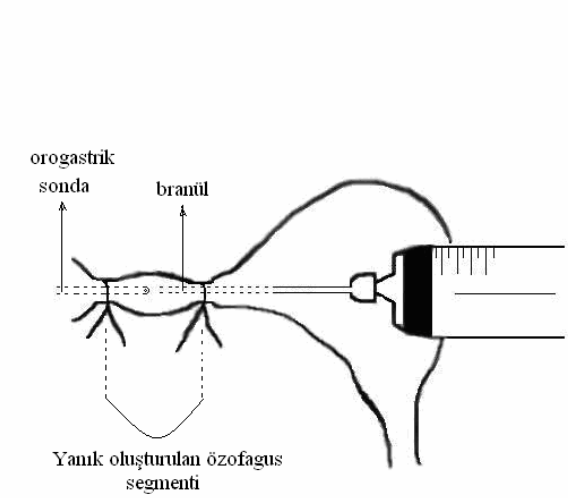
Resim 5. Orta hat kesi



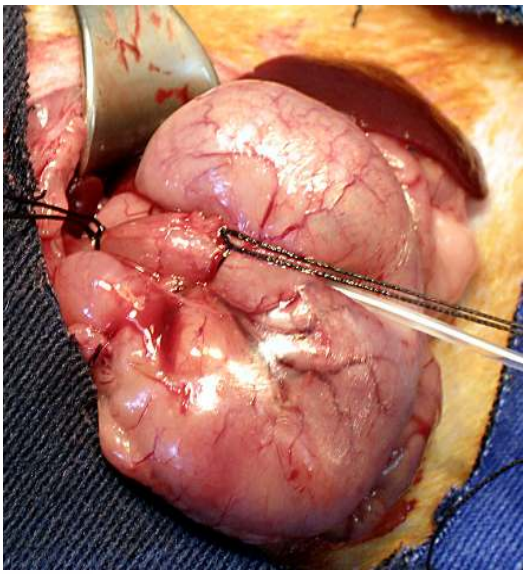
Resim 6. Abdominal özofagusun hazırlanışı



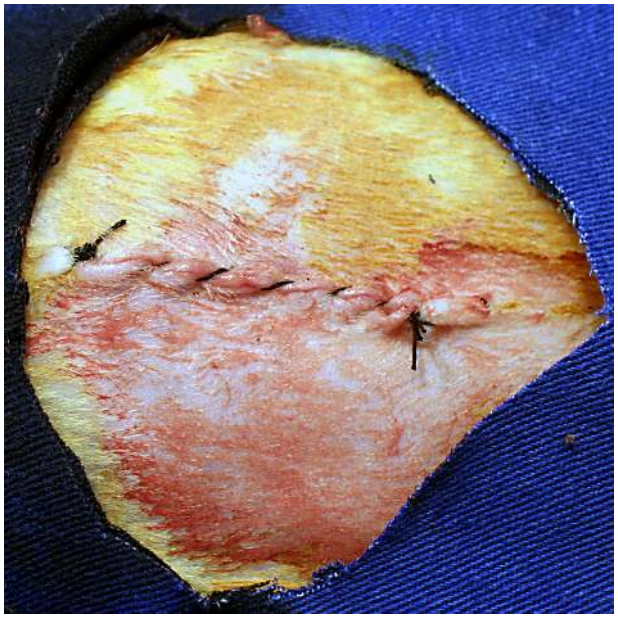
Resim 7. Orogastrik tüp yerleştirilmesi



Şekil 3. Kateterlerin yerleşimi



Resim 8. Yanık oluşturulması



Resim 9. Karın kapatıldıktan sonra

3.2.2. DENEY GRUPLARI

Grup 1 (Sham grubu, n=10): Deney protokolünün tüm basamakları uygulandı. Farklı olarak %50 NaOH yerine hazırlanan özofagus segmenti içine %0.9 NaCl verildi.

Grup 2 (Kontrol grubu, n=10): Özofagus yanığı oluşturulmasından 24 saat sonra deneklere 1ml/gün dozunda %0.9 NaCl 21 gün süreyle intraperitoneal (İP) yoldan uygulandı.

Grup 3 (n=10): Özofagus yanığı oluşturulmasından 24 saat sonra başlanarak 50 mg/kg/gün dozda dekspantenol (Bepanthene® ampul, Bayer, Türkiye) 21 gün süreyle tek doz şeklinde İP uygulandı.

Grup 4 (n=10): Özofagus yanığı oluşturulmasından 24 saat sonra başlanarak 500 mg/kg/gün dozda dekspantenol 21 gün süreyle tek doz şeklinde İP uygulandı.

Grup 5 (n=10): Özofagus yanığı oluşturulmasından 24 saat sonra başlanarak 0.3 mg/kg/gün Y-27632 (Tocris Bioscience®, İngiltere) 21 gün süreyle tek doz şeklinde İP uygulandı.

Grup 6 (n=10): Özofagus yanığı oluşturulmasından 24 saat sonra başlanarak 3 mg/kg/gün Y-27632 21 gün süreyle tek doz şeklinde İP uygulandı.

Yanık oluşturulmasını izleyen 22. gün sıçanların ağırlıkları tartıldı. Denekler genel anestezi altında yapılan torakotomiyle kalbi çıkarılarak öldürüldü. Özofagus tümüyle çıkarıldı ve yanık oluşturulan segment, biyokimyasal ve histopatolojik analizler için transvers kesitler halinde iki eşit parçaya bölündü. Histopatolojik inceleme yapılacak segmentler %10 formaldehid ile tesbit edildi. Biyokimyasal incelemeler için ayrılan segmentler -80^{o}C sıcaklıktaki derin dondurucuda saklandı.

.

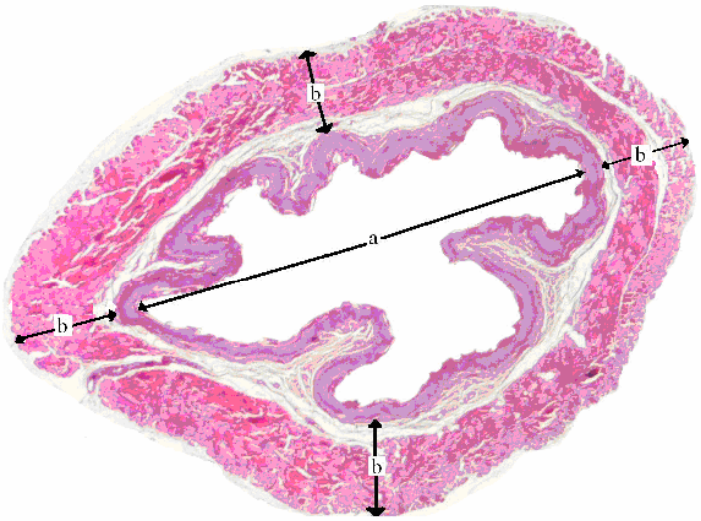
3.3. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Örnekler rutin doku takibinden sonra parafin bloklar içine yerleştirildi. Bu bloklardan 5 mikron kalınlığında, özofagusu transvers şekilde içine alan kesitler elde edildi. Kesitler hematoksilen-eosin (HE) ve Masson-trikrom (MT) ile boyandı. Ayrıca immünohistokimyasal boyamayla Rock-II protein ekspresyonu belirlendi (78). Histopatolojik kesitler deney grupları hakkında bilgi verilmeyen bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirildi.

a) Stenoz indeksi (Sİ): Özofagus duvar kalınlığının lümen çapına oranı hesaplanarak, stenoz şiddeti kantitatif olarak belirlenir. Sİ içi boş organlarda darlık şiddetini belirlemek için tarif edilmiştir ve özellikle özofagus darlıklarının şiddetini belirlemek için kullanılır. Özofagus duvar kalınlığının lümen çapına oranı hesaplanarak, stenoz şiddeti kantitatif olarak gösterildi (41,79) (Resim 10).

$$Sİ = \frac{\text{Özofagus duvar kalınlığı ortalaması}}{\text{Özofagusun en uzun lümen çapı}}$$

Işık mikroskobunda (Nikon Optiphot-2, Japonya) oküler mikrometre ile tarama objektifi (4X10) büyütmesinde mikroskopik kesitlerde özofagus duvar kalınlınlığı 4 ayrı yerden ölçülüp bunların ortalaması ve lümen çapları ölçülerek sonuçlar değerlendirildi. Grupların Sİ ortalamaları birbirleriyle karşılaştırıldı.



Resim 10. Özofagusta ölçümü yapılan en uzun lümen çapı (a) ve duvar kalınlığı (b)

b) Kollajen oluşumunun değerlendirilmesi: Özofagus duvarında submukoza, muskülaris mukoza ve tunika muskülarisde biriken kollajen yoğunluğunun kantitatif

olarak hesaplanması ile darlık gelişimi hakkında bilgi edinilir. Eğer kollajen birikimi fazla ise darlık daha fazla olmaktadır. Özofagus duvarında biriken kollajen yoğunluğu Tablo 3'de gösterilen kriterlere göre derecelendirildi (35,49).

Tablo 3. Kollajen oluşumunun derecelendirildiği kriterler

Kollajen oluşum bölgesi	**Derece**
Submukozal kollajen artışı	
Yok	0
Hafif (muskülaris mukozanın en fazla 2x kalınlığında submukozal kollajen depolanması)	1
Şiddetli (muskülaris mukozanın en fazla 2x > submukozal kollajen depolanması)	2
Muskülaris mukozada hasar olması	
Yok	0
Var	1
Tunika muskülarisde hasar olması ve kollajen birikimi	
Yok	0
Hafif (düz kas lifleri çevresinde kollajen depolanması)	1
Şiddetli (hafifdeki bulgular + bazı liflerin kollajen ile yer değiştirmesi)	2

c) İmmünohistokimyasal Yöntem: Rutin takip işlemlerden sonra hazırlanan kesitler deparafinizasyondan sonra Ventana Benchmark XT cihazı, Ventana (XT IVIEW DAB V.1) (Ventana Medical Systems, Tucson, Arizona, Amerika Birleşik Devletleri) kiti ile AMPLIFIER A, B güçlendirici kullanılarak ve 60 dakika kaynatma protokolu uygulanarak 1/40 dilüsyon ile Rock-II (BD Transduction Laboratories, Kanada) antikoru ile boyama yapıldı. Işık mikroskobunda Rock-II protein ekspresyonu incelendi (78).

3.4. BİYOKİMYASAL İNCELEMELER

3.4.1. Doku MDA Düzeyi Tayini

MDA ölçümü Oxis Research BIOXYTECH MDA-586 (Spectrophotometric Assay for Malondialdehyde) kiti kullanılarak yapıldı. Burada kullanılan MDA analiz metodu MDA'nın kromojenik reaktif olan N-metil-2-fenilindol (NMPI) ile 45^{o}C'de reaksiyonu esasına dayanmaktadır. Bir molekül MDA iki molekül NMPI ile reaksiyona girer ve stabil bir renkli bileşik olan karbosiyanin meydana gelir. Bu renkli bileşik 586 nm'de maksimum absorbans verir (80).

MDA-586 metodu MDA için spesifiktir. Çünkü bu analiz koşullarında 4-hidroksi alkenler 586 nm'de spesifik renk oluşturmazlar (81).

Doku örnekleri %1.15'lik soğuk KCl ile 1/10 homojenize edildikten sonra NMPI ve konsantre HCl ilave edildi. İyice karıştırılıp hava almayacak şekilde ağzı kapatılan tüpler 45^{o}C sıcaklıktaki su banyosunda 60 dakika inkübe edildi. Sonra tüpler soğutularak N-butanol eklendi. Karıştırıldıktan sonra 10000 G'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek supernatan elde edildi. UV 1601 spektrometrede 586 nm'de absorbansları ölçüldü. Çizilen standart eğri grafiğinden elde edilen faktörle absorbanslar çarpıldı. Sonuçlar µmol/gr yaş doku cinsinden verildi.

3.4.2. Doku Hidroksiprolin Düzeyi Tayini

-80^{o}C'de dondurulmuş özofagus doku örnekleri çözülerek %0.9 NaCl ile yıkandı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılarak tartıldı. Her biri ayrı ayrı cam tüplere konularak 100^{o}C'ye ayarlanmış etüvde 72 saat bekletilerek kurutuldu. Daha sonra kuru ağırlıkları ölçüldü. Kontaminasyon engellenerek kurutulan dokular küçük bir havan içinde ezilerek toz haline getirildi. Toz halindeki dokular 10 ml'lik balon jojeler içerisine konularak üzerine 2 ml 12N HCl eklendi. Etüvde 130^{o}C'de 3 saat hidrolize edildi. Miktarı 1 ml'nin altına düşenler 12N HCl ile 1 ml'ye tamamlandı. Daha sonra santrifüj tüplerine aktarılarak 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatandan 0.5 ml alınıp üzerine 0.5 ml isopropanol ilave edilerek 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Hidroksiprolin tayini Woessner'in (82) tarif ettiği metod modifiye edilerek yapıldı.

Deney işlemleri esnasında; OH-P standartı, Chloramine-T çözeltisi, Ehrlich reaktifi, asetat-sitrat tamponu (pH 6) ve 12 N HCl, 1 mM HCl kimyasalları kullanıldı (Merck&Co. Inc., Whitehouse Station, Amerika Birleşik Devletleri).

Numune, standart ve kör tüpleri üzerine reaktifler eklendikten sonra karıştırıldı ve 60^{o}C'de su banyosunda 25 dakika inkübe edildikten sonra 558 nm'de köre karşı okundu. Sonuçlar mg/g kuru doku olarak verildi.

3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Sonuçlar ortalama ± SD olarak verildi. İkiden fazla grubun karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. İki grup arasındaki karşılaştırmalarda ise

biyokimyasal verilerin değerlendirilmesinde PostANOVA (Student-Newman-Keuls) testi, histopatolojik verilerin değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Grup içi deney öncesi ve sonrası ölçümlerin karşılaştırması için paired Student t testi kullanıldı. $P<0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Deneyler sırasında Grup 2 ve 3'den birer tane grup 5'den 3 denek erken dönemde kaybedildiği için çalışma dışında bırakıldı. Yapılan otopsilerinde sıçanların distal özofagus perforasyonuna bağlı öldüğü tesbit edildi.

4.1. AĞIRLIK ÖLÇÜMÜ

Deney öncesi ve sonrası ağırlık değişimleri Tablo 4'de verilmiştir. Deney öncesinde gruplar arasında ağırlık ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Deney sonunda Grup 2'de anlamlı ağırlık kaybı saptanırken diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. Deney sonrası ağırlık artışı saptanan grupların karşılaştırılmasında, Grup 1 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Diğer grupların karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4. Tüm gruplarda deney öncesi ve sonrası ağırlık ortalaması, gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonuçları

DENEY GRUBU	DENEY ÖNCESİ ORTALAMA AĞIRLIK (g ± SD)	DENEY SONRASI ORTALAMA AĞIRLIK (g ± SD)	AĞIRLIK DEĞİŞİMİ %	p
Grup 1	337.6 ± 35.1	344.7 ± 34.0	+2.1	0.0092
Grup 2	323.1 ± 31.3	304.8 ± 29.1	**-5. 6**	**0.0001**
Grup 3	324.6 ± 36.2	335.6 ± 35.8	+3.3	0.005
Grup 4	319.5 ± 45.0	341.9 ± 46.4	+7.0	<0.0001
Grup 5	288.0 ± 26.3	298.1 ± 21.7	+3.5	0.0133
Grup 6	292.7 ± 28.2	316.4 ± 21.0	+8.1	0.0003

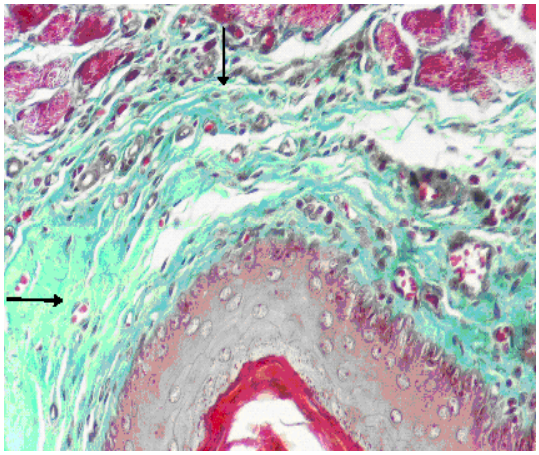
Guruplar	p	Guruplar	p
G1-G3:	>0.05	G3-G4:	>0.05
G1-G4:	>0.05	G3-G5:	>0.05
G1-G5:	**<0.05**	G3-G6:	>0.05
G1-G6:	>0.05	G4-G6:	>0.05
G3-G4:	>0.05	G5-G6:	>0.05

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

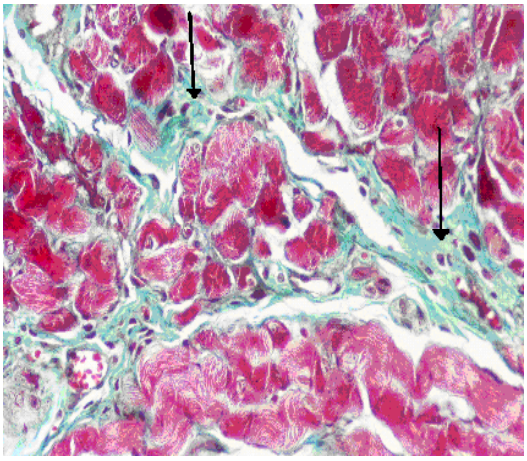
Örneklerin histopatolojik incelenmesinde Grup 1'de yer alan hayvanların özofaguslarında herhangi bir lezyon gözlenmedi (Resim 11). Grup 2'de özofagus duvarında kalınlaşma ve lümende daralma saptandı (Resim 12). Grup 2'de submukoza ve tunika muskülarisde kollajen miktarında artış gözlendi (Resim 13,14). Grup 3, 4, 5 ve 6'da ise kollajen miktarındaki artışın Grup 2'ye göre daha az olduğu gözlendi (Resim 15,16).

Resim 11. Normal özofagus kesiti (HE, X40)

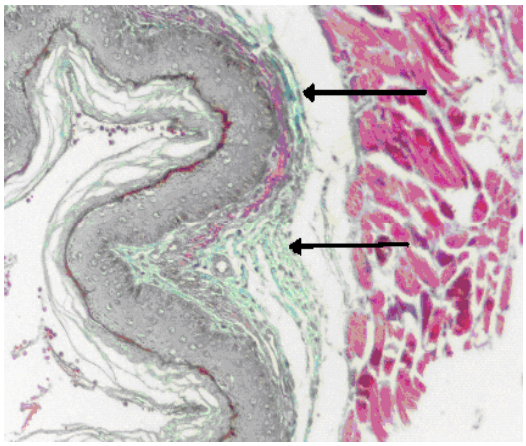
Resim 12. Kontrol grubunda lümeni daralmış ve duvarı kalınlaşmış özofagus kesiti (HE, X40)



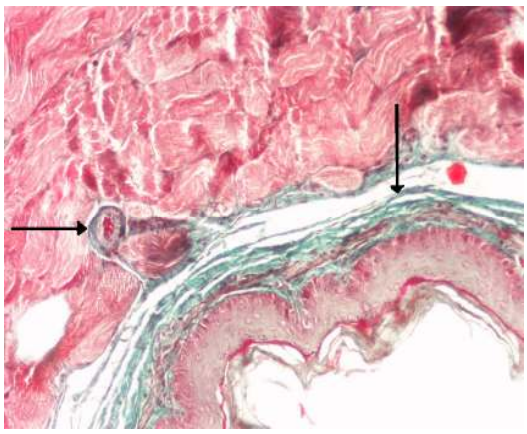
Resim 13. Submukozada kollajen birikiminde artış (MT, X400)



Resim 14. Tunika muskülariste atrofik kas lifleri arasında yoğun kollajen birikimi (MT, X400)

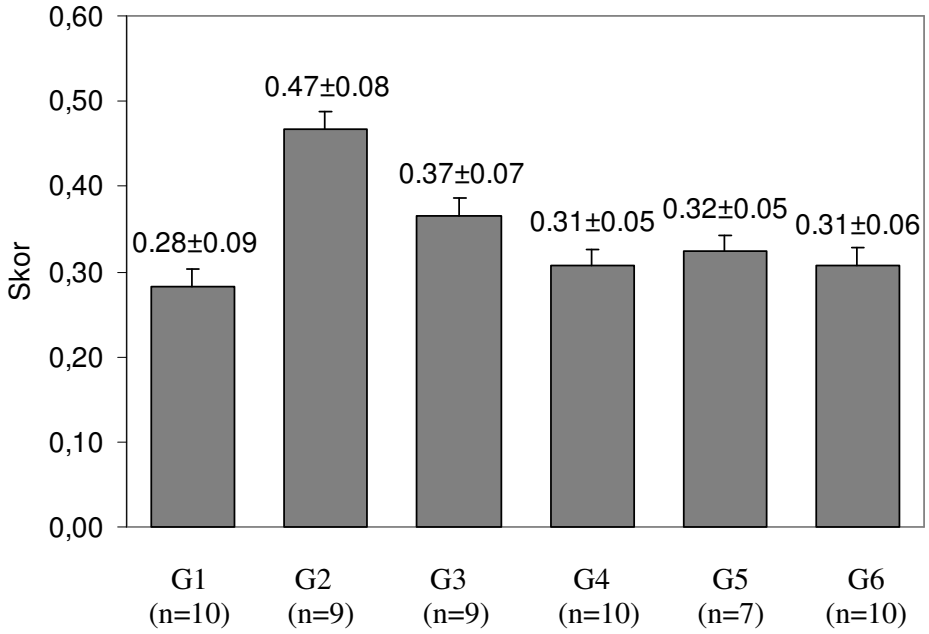


Resim 15. Submukozal kollajen miktarında hafif artış (MT, X200)



Resim 16. Submukoza ve tunika muskülarisde kollajen miktarında hafif artış (MT, X200)

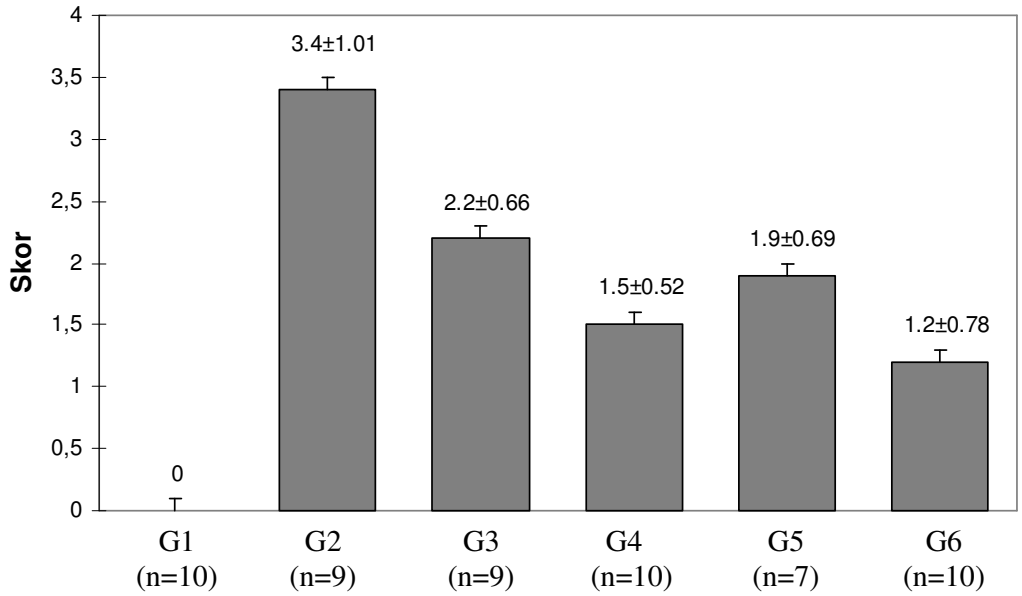
a) Stenoz indeksi: Sİ'leri sonuçları Şekil 4'de verilmiştir. Sİ Grup 2'de diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti. Grup 3 ile Grup 4 ve Grup 5 ile Grup 6'nın karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup 1'in Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.



Gruplar	p	Gruplar	p
G1-G2:	**<0.001**	**G2-G4:**	**<0.001**
G1-G3:	>0.05	**G2-G6:**	**<0.001**
G1-G4:	>0.05	**G2-G5:**	**<0.001**
G1-G5:	>0.05	G3-G4:	>0.05
G1-G6:	>0.05	G5-G6:	>0.05
G2-G3:	**<0.01**		

Şekil 4. Histopatolojik skorlama ve gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonuçları

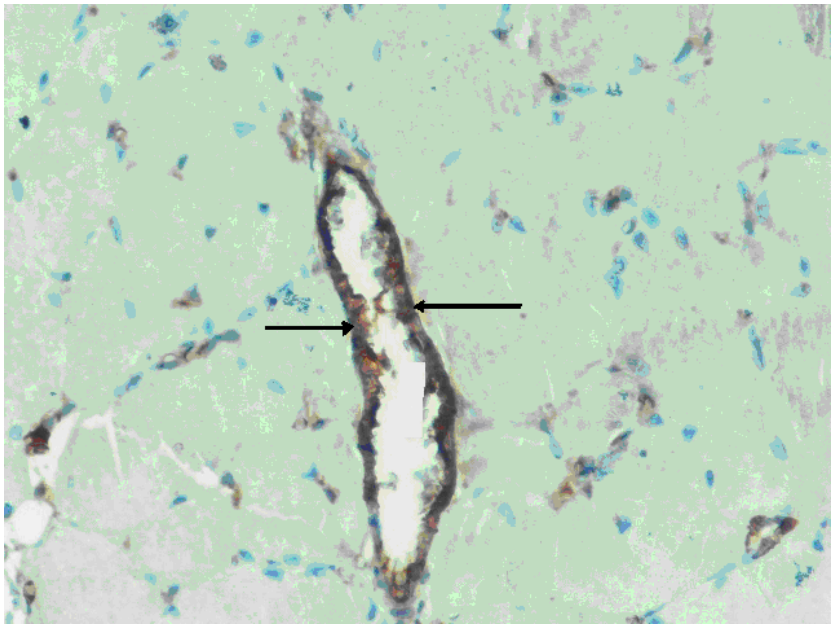
b) Kollajen oluşumunun derecelendirilmesi: Kollajen oluşum skorlama sonuçları Şekil 5'de verilmiştir. Bulunan skor ortalamaları Grup 2'de diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti. Grup 5 ile Grup 6'nın karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup 3 ile Grup 4'ün karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.



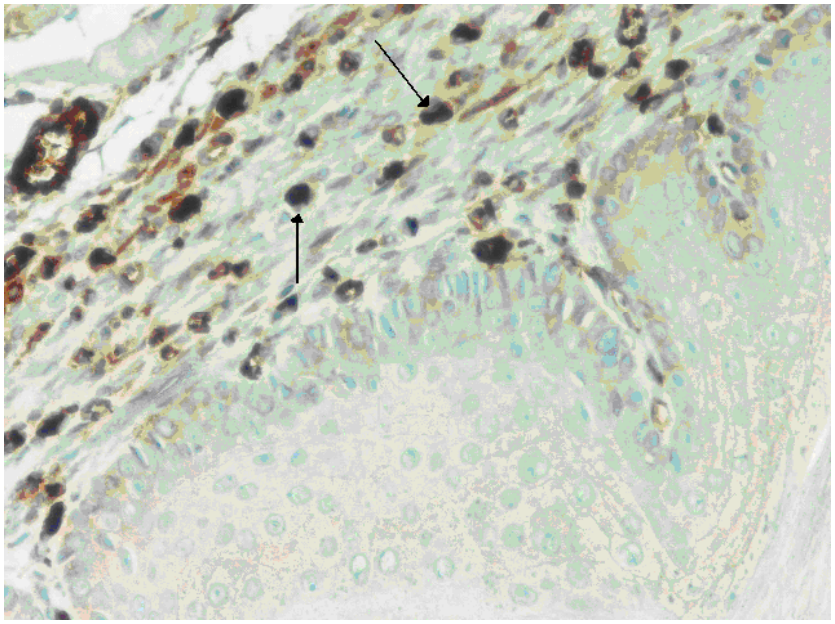
Gruplar	p	Gruplar	p
G1-G2:	**<0.0001**	**G2-G6:**	**0.0009**
G2-G3:	**0.0206**	**G3-G4:**	**0.0422**
G2-G4:	**0.0012**	G5-G6:	0.1510
G2-G5:	**0.0106**		

Şekil 5. Histopatolojik skorlama ve gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirme sonuçları

c) İmmünohistokimyasal boyama: Işık mikroskobunda Rock-II protein ekspresyonu incelendi. Damar endotel hücrelerinde sitoplazmik pozitif reaksiyon görüldü (Resim 17). Submukozal enflamatuar hücrelerde sitoplazmik boyanma gözlendi (Resim 18).



Resim 17. Damar endotelinin boyanması (Rock-II, X400)

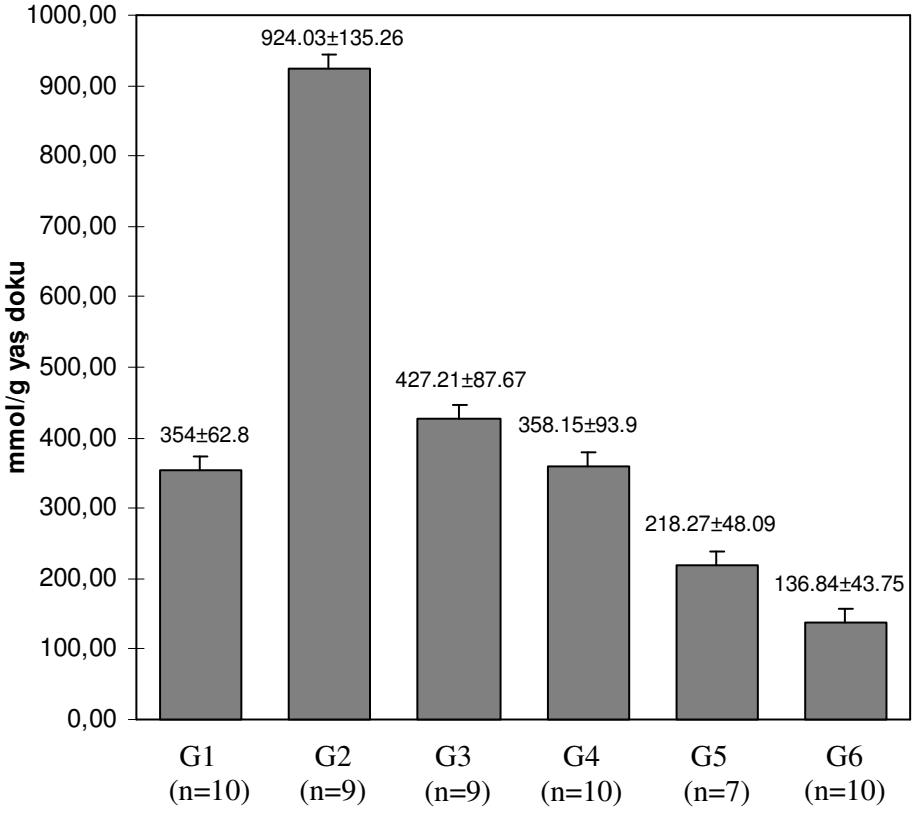


Resim 18. Submukozal enflamatuar hücrelerin boyanması (Rock-II, X400)

4.3. BİYOKİMYASAL BULGULAR

4.3.1. MDA

Bulunan MDA düzeyi sonuçları Şekil 6'da verilmiştir. MDA Grup 2'de diğer gruplara göre istatistiksel yönden anlamlı olarak yüksek bulundu. Grup 1'in Grup 3 ve Grup 4 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve Grup 6'da saptanan MDA düzeyleri anlamlı olarak düşük bulundu. Grup 3 ile Grup 4'ün ve Grup 5 ile Grup 6'nın karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

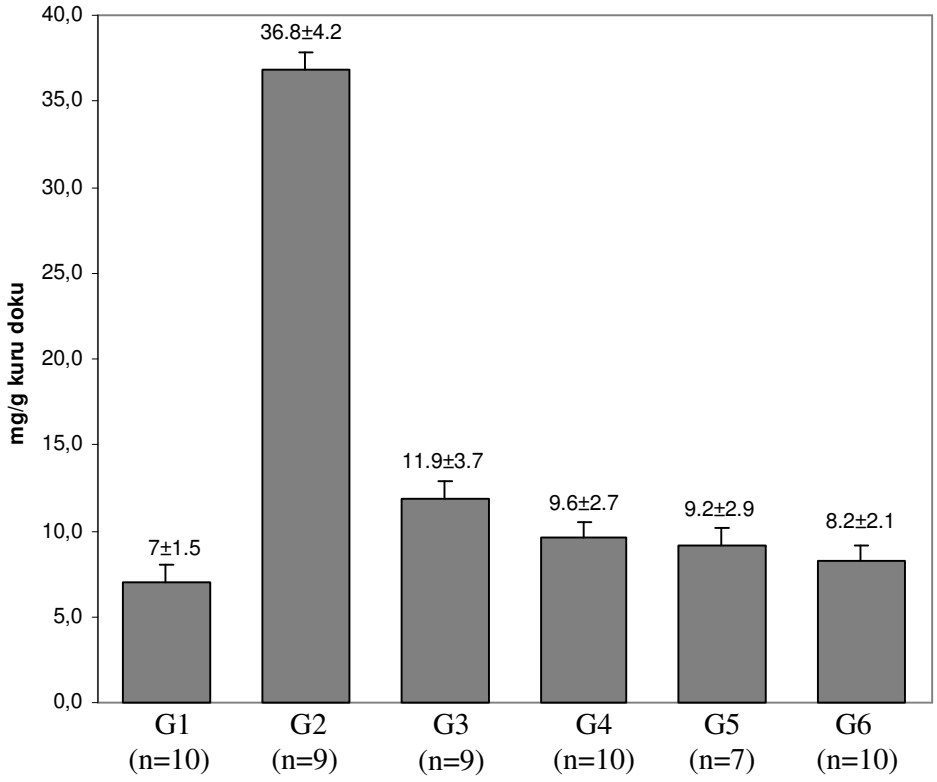


Gruplar	p	Gruplar	p
G1-G2:	**<0.001**	**G2-G5:**	**<0.001**
G1-G3:	>0.05	**G2-G4:**	**<0.001**
G1-G4:	>0.05	**G2-G3:**	**<0.001**
G1-G5:	**<0.001**	G3-G4:	>0.05
G1-G6:	**<0.001**	G5-G6:	>0.05
G2-G6:	**<0.001**		

Şekil 6. MDA düzeyi ve istatistiksel değerlendirme sonuçları

4.3.2. HİDROKSİPROLİN

Hidroksiprolin sonuçları Şekil 7'de verilmiştir. Hidroksiprolin düzeyi Grup 2'de diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Grup 1'in Grup 3 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Grup 1'in Grup 4, Grup 5 ve Grup 6 ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Grup 3 ile Grup 4'ün ve Grup 5 ile Grup 6'nın karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.



Gruplar	p	Gruplar	p
G1-G2:	**<0.001**	**G2-G5:**	**<0.001**
G1-G3:	**<0.01**	**G2-G4:**	**<0.001**
G1-G4:	>0.05	**G2-G3:**	**<0.001**
G1-G5:	>0.05	G3-G4:	>0.05
G1-G6:	>0.05	G5-G6:	>0.05
G2-G6:	**<0.001**		

Şekil 7. Hidroksiprolin sonuçları ve istatistiksel değerlendirme sonuçları

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada %50'lik NaOH ile temas eden sıçan özofagusunda kimyasal yanık oluştuğu ve yaralanmayı izleyen 21. günde yanık özofagus bölgesinde lümen darlığı geliştiği gözlenmiştir. Özofagus darlığı gelişimini önlemeye yönelik uygulanan dekspantenol ve Y-27632 tedavi protokollerinin sıçan özofagusunda darlık gelişmesini önlediği histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerle ortaya konmuştur.

Katı ya da sıvı özellikteki asit ve alkali maddelerle oluşan kimyasal özofagus yanığı erken ve geç dönemde ölüme kadar varan ağır komplikasyonlara yol açan bir hastalıktır. Çocukluk çağı kimyasal özofagus yanıkları ülkemiz için önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaya devam etmektedir (9,30).

Çocuklarda kimyasal özofagus yanığı çoğunlukla sıvı karakterdeki asit ya da alkali koroziv maddelerin içilmesiyle oluşur. Asit özellikteki sıvıların akışkanlığı alkali sıvılara göre daha fazladır ve bu nedenle özofagusu alkalilere göre daha hızlı geçerler. Alkali sıvılar ise asitlere göre yüksek viskoziteye sahip olmaları nedeniyle özofagusu daha yavaş bir hızla geçerler. Bu nedenle alkali sıvılar asitlerle karşılaştırıldığında özofagus lümeniyle daha uzun süre temasta kalır. Dolayısıyla alkali sıvıların özofagus yanığı oluşturma olasılığı asitlere göre daha yüksektir. Asit sıvılar özofagusun yanısıra özellikle mide antrumunda yanık oluşturmaya yatkındır (2). Yapılan çalışmalarda koroziv sıvı içen olguların %75-95'inde alınan sıvı alkali karakterdedir (33,35). Distal özofagus, kimyasal özofagus yanığının en sık geliştiği bölgelerden birisidir. Çocuklardaki özofagus yanıklarının bu özellikleri nedeniyle deneysel çalışmamızda koroziv sıvı olarak güçlü bir alkali olan %50'lik NaOH kullanılmıştır. Kimyasal özofagus yanık modeli olarak Gehanno ve Guedon tarafından 1981'de tanımlanıp, daha

sonra 1985'te Liu tarafından modifiye edilen distal özofagus yanığı oluşturma modeli seçilmiştir (33,48,49,83).

Özofagus duvarında nedbe dokusu gelişmesine bağlı gelişen lümen darlığı hastalığın ağır bir komplikasyonudur. Hastalarda özofagus darlığı sıklıkla yanık oluşumundan 3 hafta sonra ortaya çıkar (2,30,35,84). Klinik olguların bu özellikleri nedeniyle, hastalığa benzer bir model oluşturmak amacıyla, çalışmamızda denek olarak kullanılan sıçanlar yanığı takip eden 21. günde öldürümüş ve alınan özofagus örnekleri üzerinde histopatolojik ve biyokimyasal araştırmalar yapılmıştır. Yapılan bu incelemeler ışığında kontrol grubundaki hayvanlarda, 3. hafta sonunda özofagus lümeninin daraldığı ortaya konmuştur.

Özofagus yanığına bağlı darlıkların net bir klinik sonucu da beslenme güçlüğü ve buna bağlı vücut ağırlığı kaybıdır (30,35). Çalışmamızda da kontrol grubunda yer alan deneklerde sham grubuna göre anlamlı ağırlık kaybı gözlendi. Buna karşın tüm tedavi gruplarında anlamlı ağırlık artışı saptandı.

Koroziv madde içme ile başvuran hastalarda ilk günlerde uygulanan tedavi yöntemleri hastalığın geç dönemdeki sonuçlarını önemli ölçüde etkilemektedir. Yanık sonrasında hastalarda özofagus darlığı gelişmesini önlemeye yönelik farklı tıbbi tedavi protokolleri kullanılmaktadır (1,30,35). Steroidler ve antibiyotikler en yaygın kullanılan ilaçlardır. Ancak bu ilaçların darlık gelişmesini önleme üzerindeki kesin etkileri gösterilememiştir. Bunun yanısıra tedavide seçilecek ilaç, doz ve tedavi süresi konusunda hekimler arasında büyük görüş ayrılıkları mevcuttur (9,32,35,45,46).

Kimyasal özofagus yanıkları sonrası darlık gelişimini önlemeye yönelik uygun tedavi arayışları deneysel çalışmalarla da sürdürülmektedir. Beta amino propio nitril 1970'lerde deneysel olarak sıçan özofagus darlıklarında nedbe dokusu oluşumunu önlemede etkili bulunmuştur (30,47). Ancak bu farmakolojik ajan yüksek oranda aşırı duyarlılık riski ve toksik olması nedeniyle klinikte kullanılamamıştır. Bir deneysel çalışmada sıçanlarda N-asetilsistein ve penisilamin gibi ilaçların darlık formasyonunu azaltmada steroidlere göre daha üstün olduğu gösterilmiştir (48,49). N-asetilsistein aşırı bronşiyal sekresyona neden olurken, penisilamin ise bakır bağlayıcı etkisi ile serum bakır düzeyi düşüklüğüne ve lökopeniye sebep olmaktadır (48,49). Yapılan başka bir deneysel araştırmada sıçanlarda kimyasal özofagus yanığı sonrası östradiol ve

progesteronun kollajen sentezini önlediğini göstermişlerdir (33). Her iki hormon da geri dönüşümlü etkiyi azaltmanın ortadan kalkması sonucu daha fazla hormon salgılanmasına neden olabileceği düşünülerek klinik uygulamada kullanılmamıştır (33). Antikoagülan, antitrombotik ve endotel koruyucu etkisi olan heparinin alkali özofagus yanıklarında submukozal vasküler trombozu ve likefaksiyon nekrozunu önleyerek sıçan özofagusunda darlık formasyonunu önlediği gösterilmiştir. Ancak bu maddenin kanama zamanını artırması kullanımını sınırlamıştır (84). Sodyum hipoklorit ile özofagus yanığı oluşturulmuş tavşanlarda penisilin ile birlikte kortikosteroid kullanımı ile darlık oluşumu ve enfeksiyona bağlı komplikasyonların azaldığı belirtilmiştir. Fakat kortikosteroidlerin sıvı retansiyonu ve hipertansiyon yapıcı yan etkileri bildirilmiştir (43). Koltuksuz ve ark. (20) kafeik asit fenilester ve epidermal büyüme faktörünün deneysel sıçan özofagusu kimyasal yanığında darlık oluşumunu önlediğini göstermişlerdir.

Sunduğumuz bu çalışmada sıçan özofagusunun kimyasal yanığında dekspantenol ve Y-27632'nin özofagusu lümeninde darlık oluşumuna etkileri araştırılmıştır. Dekspantenol ve Y-27632 yara iyileşmesinde doku hasarını önleyebilen, yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunan, klinik uygulamaya konulabilecek, etki mekanizmaları birbirinden tamamen farklı ve kimyasal özofagus yanığında daha önce kullanılmamış olan iki farmakolojik ajandır.

Sİ içi boş organlarda darlık şiddetini kantitatif olarak belirlemek için tarif edilmiştir ve özellikle özofagus darlıklarının şiddetini belirlemek için kullanılır (41,79). Bizim çalışmamızda darlık gelişmesini değerlendirmek üzere Sİ ortalamaları kullanılmıştır. Sİ yönünden incelendiğinde; sham grubunda yer alan sıçanlarda özofagus duvarının histolojisi ve lümen açıklığında herhangi bir patoloji gözlenmedi. Kontrol grubunda yer alan hayvanların özofagus Sİ ortalaması sham grubunda yer alan hayvanlara göre istatistiksel yönden anlamlı olarak yüksek bulundu. Diğer yandan özofagus duvarında submukoza, muskülaris mukoza ve tunika muskülaristeki kollajen yoğunluk değişikliklerinin gözlenmesi ile darlık gelişimi hakkında bilgi edinmek olasıdır. Bu değişiklik kollajen skor ortalaması ile kantitatif olarak değerlendirilebilir. Eğer kollajen birikimi fazla ise darlık daha fazla olmaktadır (35,49). Bizim çalışmamızda sham grubunda yer alan hayvanların özofagus duvarında kollajen oluşumunda artış gözlenmezken kontrol grubunda bulunan kollajen skor ortalamasının önemli artış

gösterdiği saptandı. Bu histopatolojik bulgular, daha önceki çalışmalarda da olduğu gibi, %50 NaOH ile temas eden özofagus segmentinde ciddi bir lümen darlığı oluştuğunu göstermiştir.

5.1. DEKSPANTENOL

Dekspantenol meme başı çatlakları, anal fisssür, deri ve mukoza yanıkları, kornea ve konjunktiva lezyonları gibi yaraların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Yanık yaralarında, skarlar ve bazı dermatozlarda dekpantenolün iyileştirici etkisi vardır (63-65). Dekspantenolün topikal kullanımı yanında parenteral uygulandığı hastalıklar da vardır. Değişik endikasyonlarda önerilen parenteral dekspantenol dozları farklılıklar göstermektedir. İlacın parenteral formu barsak atonisi, enterit, kolit, akut ve kronik farenjit, larenjit, bacak ülserleri, aftlar ve stomatit gibi hastalıkların tedavisinde günlük 250-500 mg dozlarda önerilmektedir (67). Sıçanlarda yapılan bir deneysel çalışmada testis torsiyonundan sonra 250-500 mg/kg dozlarda kullanılmıştır (85). Biz çalışmamızda iki farklı grupta ilacın düşük (50 mg/kg/gün) ve yüksek (500 mg/kg/gün) dozlarını kullanarak elde edilecek sonuçlarda dekspantenolün ve farklı dozlarının etkilerini inceledik.

Gerek düşük doz (Grup 3) ve gerekse yüksek doz (Grup 4) dekspantenol ile 21 gün süreyle tedavi edilen sıçanlarda Sİ ortalamaları kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Her iki farklı doz dekspantenol tedavi grubunda bulunan Sİ ortalamaları sham grubuna göre yüksek bulunmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Dekspantenolün iki farklı dozu karşılaştırıldığında ise; yüksek doz dekspantenol uygulanan grupta Sİ daha düşük bulunmakla birlikte iki farklı doz grubu arasında bulunan bu fark istatistiksel olarak anlamsızdı. Yaptığımız morfometrik ölçüm sonuçlarına dayanarak, dekspantenol tedavisinin sıçan özofagusunun kimyasal yanığı sonrasında lümende darlık gelişimini önlediği düşüncesindeyiz. Bu iyileştirici etki bizim kullandığımız ilaç dozlarından bağımsız idi.

Öte yandan özofagus duvarındaki kollajen artışı için yaptığımız histopatolojik incelemelerde, düşük ve yüksek doz dekspantenol uygulanan gruplarda bulunan ortalamaların, kontrol grubu ortalamasından anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Kollajen skor ortalamasının 500 mg/kg/gün dekspantenol uygulanan grupta, 50 mg/kg/gün ile tedavi edilen sıçanlara göre anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır.

Kollajen birikimi doza bağımlı olarak istatistiksel yönden anlamlı farklılık göstermiştir. Elde ettiğimiz veriler ışığında dekspantenolün kollajen oluşumunda azalmaya neden olması nedeniyle nedbe dokusu gelişmesinin önüne geçerek darlık oluşumuna engel olduğunu düşünüyoruz.

MDA düzeyi artışı hücre hasarını gösteren önemli bir parametredir. Hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleriyle peroksidasyonu, hücre membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Oluşan bir dizi reaksiyonu takiben son ürün olarak MDA ve hidroproksit oluşur. Dolayısıyla dokuda MDA artışı saptanması doku hasarının açık bir kanıtıdır (86). Sunduğumuz çalışmada doku MDA düzeyi ölçülerek yanık özofagus parçasındaki doku hasarı ve deneyde kullanılan farmakolojik ajanların bu hasara etkisi araştırıldı. Kontrol grubunda bulunan MDA ortalamaları sham grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı olarak yüksek bulundu. Her iki farklı doz dekspantenol tedavi gruplarında elde edilen ortalama MDA değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulundu. Diğer yandan dekspantenol tedavi gruplarıyla sham grubunda saptanan MDA düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamadı. 500 mg/kg/gün dekspantenol ile tedavi edilen grupta bulunan MDA ortalaması, 50 mg/kg/gün doz ile tedavi edilen gruba göre düşük bulunmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı. Bu sonuçlara dayanarak dekspantenolün doku hasarını azalttığını düşünüyoruz. MDA sonuçları açısından bakıldığında uygulanan iki farklı dozun yara iyileşmesi yönünden birbirine üstünlük göstermediği saptanmıştır.

Kimyasal özofagus yanığından sonra nedbe dokusunun oluşmasından kollajen miktarının artması sorumludur (33). Hidroksiprolin kollajen yıkımından sonra ortaya çıkan son üründür. Dokuda kollajenin düzeyinin artışına paralel olarak yıkımı da artar ve sonuçta doku hidroksiprolin düzeyi yükselir. Bu nedenle doku hidroksiprolin düzeyleri, dokulardaki kollajen düzeyini indirekt olarak yansıtan objektif bir parametredir. Hidroksiprolin düzeyi kimyasal özofagus yanığı ile yapılan bazı deneysel çalışmada darlığa yol açan kollajen artışını gösteren güvenilir bir kriter olarak kullanılmıştır (33,41,84). Biz de çalışmamızda doku hidroksiprolin düzeylerini ölçerek kollajen birikimindeki değişiklikleri araştırdık. Kontrol grubunda bulunan hidroksiprolin düzeyi ortalaması sham grubundan anlamlı olarak yüksekti. Dekspantenol uygulanan her iki grubun hidroksprolin düzeyi ortalaması kontrol grubu ortalamasına göre istatistiksel yönden anlamlı olarak düşük bulundu. İki ayrı

dekspantenol doz grubu karşılaştırıldığında, 500 mg/kg/gün dekspantenol verilen grubun hidroksiprolin ortalaması 50 mg/kg/gün ilaç uygulanan gruba göre daha düşük bulunmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı. Düşük doz dekspantenol ile tedavi edilen grubun hidroksiprolin ortalaması sham grubundan anlamlı olarak yüksek bulunurken diğer dekspantenol grubuyla sham grubu arasında anlamlı fark yoktu. Elde ettiğimiz bu sonuçlara göre kimyasal özofagus yanığı sonrasında organ duvarında kollajen oluşumunun artığı, bu artışın dekspantenol tedavisiyle önlendiğini söyleyebiliriz. İki farklı doz grubunun hidroksiprolin düzeyi ortalamaları arasında istatistiksel fark olmamakla birlikte 500 mg/kg/gün dekspantenol uygulaması kollajen oluşumunu azaltmış ve sham grubu seviyesine indirmiştir.

Bu çalışmada, deneklerden elde edilen özofagus kesitlerinde Rock-II antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyama yapıldı. Işık mikroskopu ile yapılan kalitatif incelemede Rock-II boyasıyla Rock proteinlerinin yerleşimleri ve dağılımları gösterilir (78,87). Sitoplazmik bir protein olan Rock, hücre oluşum döngüsü yüksek olan dokularda daha fazla bulunur (88,89). Bizim çalışmamızda Rock-II antikoruyla yaptığımız immünohistokimyasal boyamanın incelenmesinde grupların tümünde vasküler endotel hücrelerinde ve enflamatuar hücrelerde sitoplazmik boyanma görüldü. Ancak kontrol grubunda sitoplazmik boyanma artmış olarak gözlendi. Bu da yanık özofagus dokusunda vaskülarizasyonda ve enflamatuar hücrelerde artış olması ile açıklanabilir. Dekspantenol ile tedavi edilen gruplarda Rock-II ile yapılan boyamada vasküler endotel hücrelerinde ve enflamatuar hücrelerde sitoplazmik boyanmanın kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü. Sonuç olarak dekspantenolün antioksidan etki ile dokudaki enflamatuar hücrelerde azalma sağladığı söylenebilir.

Dekspantenol yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle çok uzun süredir yara tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Dekspantenol, metabolik yollardaki rolünden dolayı normal epitelyal fonksiyonlar için gerekli olduğu görülür (63,64,67). Fibroblast proliferasyonu yara iyileşmesinde önemli bir faktördür. Dekspantenol ile yapılan in vitro deneylerde insan fibroblastları üzerindeki olumlu etkileri gösterilmiştir. İnsan fibroblastları üzerine yapılan birçok in vitro çalışmada, pantotenik asit veya türevlerini içeren kültürlerde, fibroblastların tutunması, hücre göçü ve artmış proliferasyon gösterilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda dekspantenolün glutatyon, koenzim A ve hücrelerde ATP sentezini artırmak yoluyla antioksidan etki

sağlayarak doku hasarını önlediği ve yara iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (14-17).

Dekspantenolün yara iyileşmesi üzerindeki bu mekanizmalarının kimyasal özofagus yanığı sonrasında lümen darlığını önlemede katkıda bulunduğunu düşünüyoruz. Çalışılan iki farklı ilaç dozu arasında bir karşılaştırma yapıldığında yalnızca kollajen skor ortalamalarında yüksek doz ile tedavinin daha etkili olduğu izlenimi doğmuştur. Ancak incelenen diğer parametrelerin sonuçlarına dayanarak, kullanılan iki farklı dekspantenol dozunun etkileri arasında fark saptanmamıştır. Yapılacak ileri çalışmalar ile özofagus yanıkları tedavisi, günümüzde yaygın olarak kullanılan dekspantenol için yeni bir endikasyon alanı oluşturabilir.

5.2. Y-27632

Y-27632 selektif bir Rho-kinaz enzim inhibitörüdür. Bu bileşik, agoniste bağlı düz kas kontraksiyonunu kalsiyum sensitizasyonunu engelleyerek inhibe eder (69). Y-27632'nin düz kas gevşemesi, hücre proliferasyonunun inhibisyonu, anyon kanallarının aktivasyonu, nötrofil kemotaksisinin inhibisyonu, tümör invazyonunun inhibisyonu ve hücre transformasyonunun inhibisyonuna neden olduğu bilinmektedir. Güncel literatürde Y-27632 ile yapılan çalışmaların tümü hayvan deneylerine dayanmaktadır. Y-27632'nin hipertansiyon, astım, kanser, serebrovasküler problemler, pnömoni ve pulmoner fibrozis gibi durumlarda tedavi amacıyla kullanılmasına yönelik çeşitli deneysel çalışmalar yayınlanmıştır (70-72). Y-27632'nin yara iyileşmesi üzerindeki etkileriyle ilgili bildirilmiş az sayıda çalışma vardır. Sıçanlarda kas dokusunda oluşturulan yarada granülasyon dokusu oluşumunu Y-27632'nin azaltığı bildirilmiştir (19). Literatürde yer alan yayınlar incelendiğinde, yapılan deneylerde farklı dozlarda Y-27632 kullanıldığı gözlenmiştir (74,76,77). Çalışmamızda Y-27632'nin iki farklı dozunun etkileri araştırıldı. Grup 5'de düşük doz (0.3 mg/kg/gün) Grup 6'da ise yüksek doz (3 mg/kg/gün) Y-27632 uygulandı (76,77).

Y-27632'nin hem düşük dozda ve hem de yüksek dozda uygulandığı deney gruplarında elde edilen Sİ ortalamaları kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Farklı Y-27632 dozları uygulanan iki grup arasında Sİ ortalamaları arasında önemli fark yoktu. Her iki Y-27632 tedavi grubunun Sİ ortalamaları, sham grubuyla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel yönden fark bulunmadı. Bu sonuçlara

dayanarak, Y-27362'nin sıçanlardaki alkali özofagus yanığı sonrasında özofagus darlığı gelişimini engellediği söylenebilir.

Y-27632 ile tedavi edilen her iki grubun kollajen skor ortalamaları kontrol grubundan istatistiksel yönden anlamlı olarak düşük bulundu. 0.3 mg/kg/gün ve 3 mg/kg/gün tedavi dozlarıyla tedavi edilen iki grup karşılaştırıldığında yüksek doz verilen grupta skor ortalaması diğerine göre daha düşük bulunmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Y-27632'nin kollajen oluşumunu engelleyerek alkali kimyasal özofagus yanık bölgesinde darlık oluşmasını önlediğini düşünmekteyiz. Ancak bu olumlu etki çalışmamızda kullanılan iki değişik doz grubunda farklılık göstermemiştir.

Y-27632 ile tedavi edilen her iki grubun MDA ortalamaları kontrol grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı olarak düşüktü. İlginç olarak her iki Y-27632 tedavi grubunda saptanan MDA değerleri sham grubundan da anlamlı olarak düşük bulundu. Bu da Y-27632'nin güçlü bir antioksidan olduğunu düşündürmektedir. Y-27632 MDA düzeyinde elde edilen düşük sonuçlar, bu farmakolojik maddenin yanık özofagus duvarındaki hücre harabiyetinin önüne geçerek lümen darlığı oluşmasını engellediğini düşündürmektedir. Öte yandan düşük ve yüksek doz Y-27632 grupları arasında anlamlı fark bulunmaması, elde edilen bu olumlu etkinin çalışmada kullanılan dozlardan bağımsız olduğunu düşündürmektedir.

Y-27632 ile tedavi edilen her iki grubun hidroksiprolin düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Fakat her iki farklı doz grubun arasında elde edilen ortalama hidroksiprolin düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu. Y-27632 tedavi grupları ve sham grubu arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede arada anlamlı fark yoktu. Y-27632'nin kollajen oluşumunu engelleyerek kimyasal özofagus yanığından sonra oluşabilecek lümen darlığı gelişimini engelliyor olabilir. Ancak bu olumlu etki çalışmamızda kullanılan iki değişik doz grubunda farklılık göstermemiştir.

Y-27632 ile tedavi edilen gruplarda Rock-II ile yapılan boyamada vasküler endotel hücrelerinde ve enflamatuar hücrelerde sitoplazmik boyanmanın kontrol grubuna göre daha az olduğu görüldü. Buna dayanarak Y-27632 ile tedavinin kimyasal özofagus yanığından sonra Rho-kinazı inhibe ederek dokudaki enflamatuar hücrelerde ve vaskülarizasyonda azalma sağladığı söylenebilir.

Y-27632'nin yara iyileşmesi üzerindeki etki mekanizması hakkında değişik görüşler vardır. Gates ve ark. (18) Y-27632'nin yara iyileşmesinde fibroblastları düzenleyerek kontraksiyon oluşmasını önlediğini göstermişlerdir. Tomasek ve ark. (19) yaptıkları bir çalışmada Y-27632'nin granülasyon dokusu oluşurken miyofibroblastların kontraksiyonunu önleyerek yara iyileşmesinde etkili olduğunu göstermişlerdir. İn vitro hücre kültürlerinde intestinal epitel hücrelerinde hasar oluşturulmasını takiben Y-27632'nin uygulanması sitotoksik nekrotizan faktör 1'de azalmaya neden olmuş ve hücrelerde hızlı iyileşmeye neden olduğu saptanmıştır (76). Bu görüşler ışığında Y-27632'nin alkali özofagus yanığı sonrasında kollajen oluşumunu azaltarak, myofibroblastların kontraksiyonu ve fibroblastları düzenleyerek organda lümen darlığı gelişimini engellediği söylenebilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada kullanılan alkali özofagus yanığı modeliyle yanıktan 21 gün sonra özofagusta darlık oluştuğu görüldü. Yanık oluşumundan 1 gün sonra başlanarak 21 gün süresinde uygulanan 50 mg/kg/gün ve 500 mg/kg/gün dozlarda dekspantenol ile 0.3 mg/kg/gün ve 3 mg/kg/gün dozlarda Y-27632'nin özofagus üzerinde koruyucu etki göstererek lümende darlık gelişimini anlamlı şekilde azalttığı gösterildi. Bu iki farmokolojik ajanın, yapılacak yeni çalışmaların verileri ışığında, gelecekte koroziv özofajit tedavisinde kullanılabileceği görüşündeyiz.

6. SONUÇLAR

1. Gehanno ve Guedon tarfından tarif edilen ve Liu tarfından modifiye edilen deney protokolü sıçanlarda kimyasal özofagus yanığı oluşturmak için uygun bir yöntemdir.
2. 50 mg/kg/gün ve 500 mg/kg/gün dozlarda dekspantenol kimyasal özofagus yanığında lümende darlık oluşumunu azaltmaktadır. İki farklı dekspantenol dozunun etkileri arasında sonuç olarak fark gösterilememiştir.
3. 0.3 mg/kg/gün ve 3 mg/kg/gün dozlarda Y-27632 kimyasal özofagus yanığında darlık oluşumunu önlemede etkili bir ajandır. Ancak bu olumlu etki çalışmamızda kullanılan iki değişik doz grubunda farklılık göstermemiştir.
4. Düşük ve yüksek doz dekspantenol ile Y-27632'nin kimyasal özofagus yanığında darlık oluşumunun engellenmesinde etkin ajanlar olduğu görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Adam JS, Brick HG. Pediatric caustic ingestion. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1982;91:656-658.

2. Ashcraft KW. Pediatric surgery. The esophagus. Chapter 26(3rd ed). Philadelphia, W. B. Saunders Company, 2000:325-347.

3. Celik RA: Asit ve alkali koroziv özofagus yanıklarında histopatolojik bulgular ve bakteriyel translokasyonun değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı. İstanbul 2003.

4. Moore KL, Dalley AF. Clinically oriented anatomy. Esophagus(4th ed). Lippincott Williams-Wilkins Baltimore, 1999:221–225.

5. Rothstein FC. Caustic injuries to esophagus in children. Pediatric Toxicology. 1986;33:665-678.

6. Millar AJ, Numanoglu A, Mann M, Marven S, Rode H. Detection of caustic oesophageal injury with technetium 99m-labelled sucralfate. J Pediatr Surg. 2001;36:262-265.

7. Anderson KD, Rouse TM, Randolph JG. A controlled trial of corticosteroids in children with corrosive injury of the esophagus. N Engl J Med. 1990;323:637-640.

8. Mutaf O, Ozok G, Avanoglu A. Oesophagoplasty in the treatment of caustic oesophageal strictures in children. Br J Surg. 1995;82:644-646.

9. Ulman I, Mutaf O. A critique of systemic steroids in the management of caustic esophageal burns in children. Eur J Pediatr Surg. 1998;8:71-74.

10. Leape LL, Bhan I, Ramenofsky ML. Esophageal biopsy in the diagnosis of reflux esophagitis. J Pediatr Surg. 1981;16:379-384.

11. Broto J, Asensio M, Jorro CS, Marhuenda C, Vernet JM, Acosta D, et al. Conservative treatment of caustic esophageal injuries in children: 20 years of experience. Pediatr Surg Int. 1999;5:323-325.

12. Hugh TB, Kelly MD. Corrosive ingestion and the surgeon. J Am Coll Surg. 1999;189:508-22. Review. Erratum in. J Am Coll Surg. 2000;190:102.

13. Wain JC, Wright CD, Kuo EY, Moncure AC, Wilkins EW Jr, Grillo HC, et al. Long-segment colon interposition for acquired esophageal disease. Ann Thorac Surg. 1999;67:313-317.

14. Jessop CE, Bulleid NJ. Glutathione directly reduces an oxidoreductase in the endoplasmic reticulum of mammalian cells. J Biol Chem. 2004;279:55341-55347.

15. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. FEBS Lett. 2004;569:169-172.

16. Slyshenkov VS, Piwocka K, Sikora E, Wojtczak L. Pantothenic acid protects jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. Free Radic Biol Med. 2001;30:1303-1310.

17. Wojtczak L, Slyshenkov VS. Protection by pantothenic acid against apoptosis and cell damage by oxygen free radicals--the role of glutathione. Biofactors. 2003;17:61-73.

18. Gates DH, Lee JS, Hultman CS, Cairns BA. Inhibition of rho-kinase impairs fibroblast stress fiber formation, confluence, and contractility in vitro. J Burn Care Res. 2007;28:507-513.

19. Tomasek JJ, Vaughan MB, Kropp BP, Gabbiani G, Martin MD, Haaksma CJ, et al. Contraction of myofibroblasts in granulation tissue is dependent on Rho/Rho kinase/myosin light chain phosphatase activity. Wound Repair Regen. 2006;14:313-320.

20. Koltuksuz U, Mutuş HM, Kutlu R, Özyurt H, Çetin S, Karaman A, et al. Effects of caffeic acid phenethyl ester and epidermal growth factor on the development of caustic esophageal stricture in rats. J Ped Surg. 2001;36:1504-1509.

21. Millar AJW, Cywes S. Caustic strictures of the esophagus. Pediatric Surgery (5th ed). Volume One, Mosby-Year Book, 1998:969-979.

22. Sadler TW. Özofagus. Langman's medikal embriyoloji(6th ed). Ankara, Palme Yayınları, 1993:224-226.

23. Kayalı H. İnsan Embriyolojisi (6th ed). İstanbul, Evrim Basım Yayım Dağıtım, 1989:175.

24. Sadler TW. Medikal Embriyoloji (9th ed). Ankara, Palme Yayınları, 2005:281-284.

25. Yıldırım M. Topografik anatomi. Özofagus (1th ed). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2000:204-208.

26. Putz R, Pabst R, Arıncı K. Sobotta İnsan Anotomisi Atlası (4th ed). 2. Cilt, İstanbul, BETA Basın Yayım Dağıtım, 1994:107-108.

27. Beasley SW. Anotomy, in Beasley SW, Myers NA, Auldist AW (eds). Oesophageal atresia, chap 4. Cambridge, Great Britain, Chapman and Hall Medical, 1991:45-58.

28. Odar İV. Anotomi ders kitabı. Ankara, Salmanlar Ofset, 1984:68-73.

29. Yiğit R. Sindirim sistemi, kontrol sistemleri, sindirim ve boşaltım fizyolojisi. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi, 2001:347-408.

30. Mutaf O. Çocuklarda kostik özofagus yanıkları. Pediatrik Cerrahi Dergisi. 1988;2:69-85.

31. Mevsim A: Çocuklarda kostik özofagus yanıkları, Uzmanlık tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi. İzmir 1992.

32. Hawkins DB, Demeter MJ, Barnett TE. Caustic ingestion: controversies in management. A review of 214 cases. Laryngoscope. 1980;90:98-109.
.

33. Demirbilek S, Bernay F, Rizalar R, Bariş S, Gürses N. Effects of estradiol and progesterone on the synthesis of collagen in corrosive esophageal burns in rats. J Pediatr Surg. 1994;29:1425-1428.

34. Leape LL, Chemical injury of the esophagus in Ashcfaft KW, Holder TM. Pediatric Esophageal Surgery. Orlando, FL, 1986:73-88.

35. Mutuş HM: Koroziv özofagus yanıklarında caffeic acid phenethyl esther ve epidermal growth factör'ün darlık oluşumu üzerine etkilerinin deneysel olarak araştırılması, Uzmanlık tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi. Malatya 2000:14-16.

36. Tucker JA, Yarington CT. The treatment of caustic ingestion. Otolaryngol Clin North Am. 1979;12:343-350.

37. Çakmak M, Naycı A, Renda N, Erekul S, Gökçora H, Yücesan S. The effect of corticosteroids and pentoxifylline in caustic esophageal burns. Int Surg. 1997;82:371-375.

38. Günel E, Çağlayan F, Çağlayan O, Canbilen A, Tosun M. Effect of antioxidant theraphy on collagen synthesis in corosive esophageal burns. Ped Surg Int. 2002;18:24-27.

39. Moore WR. Caustic Ingestions. Clin Pediatr. 1986;25:192-196.

40. Zargar SA, Kochhar R, Nagi B, Mehta S, Mehta SK. Ingestion of corrosive acids. Spectrum of injury to upper gastrointestinal tract and natural history. Gastroenterology. 1989;97:702-707.

41. Berthet B, Costanzo J, Arnaud C, Choux R, Assadourian R. Influence of epidermal growth factor and interferon gamma on healing of oesophageal corrosive burns in the rat. Britsh J Surg. 1994;81:395-398.

42. Symbas PN, Vlasis SE, Hatcher CR Jr. Esophagitis secondary to ingestion of caustic material. Ann Thorac Surg. 1983;36:73-77.

43. McNeill RA, Welbourn RB. Prevention of corrosive stricture of the oesophagus in the rat. J Laryngol Otol. 1966;80:346-358.

44. Klein MD, Coran AG, Drongowski RA, Wesley JR. Long-term survival of dogs maintained solely on intraperitoneal nutrition. J Pediatr Surg. 1985;20:765-771.

45. Karnak I, Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Combined use of steroid, antibiotics and early bougienage against stricture formation following caustic esophageal burns. J Cardiovasc Surg (Torino). 1999;40:307-310.

46. Oakes DD, Sherck JP, Mark JB. Lye ingestion. Clinical patterns and therapeutic implications. J Thorac Cardiovasc Surg. 1982;83:194-204.

47. Madden JW, Davis WM, Butler C 2nd, Peacock EE Jr. Experimental esophageal lye burns. II. Correcting established strictures with betaaminopropionitrile and bougienage. Ann Surg. 1973;178:277-284.

48. Gehanno P, Guedon C. Inhibition of experimental esophageal lye strictures by penicillamine. Arch Otolaryngol. 1981;107:145-147.

49. Lui AJ, Richardson MA. Effects of N-asetylcysteine on experimentally induced esophageal lye injury. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1985;94:477-482.

50. London RL, Trotman BW, DiMarino AJ Jr, Oleaga JA, Freiman DB, Ring EJ, et al. Dilatation of severe esophageal strictures by an inflatable balloon catheter. Gastroenterology. 1981;80:173-175.

51. Tam PK, Sprigg A, Cudmore RE, Cook RC, Carty H. Endoscopy-guided balloon dilatation of esophageal strictures and anastomotic strictures after esophageal replacement in children. J Pediatr Surg. 1991;26:1101-1103.

52. Avanoğlu A, Ergün O, Mutaf O. Management of instrumental perforations of the esophagus occurring during treatment of corrosive strictures. J Pediatr Surg. 1998;33:1393-1395.

53. Karnak I, Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Esophageal perforations encountered during the dilation of caustic esophageal strictures. J Cardiovasc Surg (Torino). 1998;39:373-377.

54. Ashcraft KW, Holder TM. The expeimental treatment of esophageal strictures by intralesional steroid injections. J Thorac Cardiovasc Surg. 1969;58:685-691.

55. Gandhi RP, Cooper A, Barlow BA. Successful management of esophageal strictures without resection or replacement. J Pediatr Surg. 1989;24:745-750.

56. Fell SC, Denize A, Becker NH, Hurwitt ES. The effect of intraluminal splinting in the prevention of caustic stricture of the esophagus. J Thorac Cardiovasc Surg. 1966;52:675-681.

57. Mutaf O, Genç A, Herek O, Demircan M, Ozcan C, Arikan A. Gastroesophageal reflux: a determinant in the outcome of caustic esophageal burns. J Pediatr Surg. 1996;31:1494-1495.

58. Panieri E, Rode H, Millar AJW, Cywes S. Oesophageal replacement in the management of corrosive strictures: when is surgery indicated?. Pediatr Surg Int. 1998;13:336-340.

59. Mitchell IM, Goh DW, Roberts KD, Abrams LD. Colon interposition in children. Br J Surg. 1989;76:681-686.

60. West KW, Vane DW, Grosfeld JL. Esophageal replacement in children: experience with thirty-one cases. Surgery. 1986;100:751-757.

61. Hendren WH, Hendren WG. Colon interposition for esophagus in children. J Pediatr Surg. 1985;20:829-839.

62. Othersen HB Jr, Parker EF, Chandler J, Smith CD, Tagge. Save the child's esophagus, Part II: Colic patch repair. J Pediatr Surg. 1997;32:328-333.

63. Ebner F, Heller A, Rippke F, Tausch I. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. Am J Clin Dermatol. 2002;3:427-433.

64. Biro K, Thaci D, Ochsendorf FR, Kaufmann R, Boehncke WH. Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study. Contact Dermatitis. 2003;49:80-84.

65. Canpolat H: Postoperatif boğaz ağrısına benzidamin hidroklorür ve dekspantenolün etkisi, Uzmanlık tezi, Malatya 2006.
.

66. Verse T, Klöcker N, Riedel F, Pirsig W, Scheithauer MO. Dexpanthenol nasal spray in comparison to dexpanthenol nasal ointment. A prospective, randomised, open, cross-over study to compare nasal mucociliary clearance. HNO. 2004;52:611-615.

67. Ommaty R. Pharmatürk. Ankara, Matsa Basımevi, 2000:322.

68. Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, Ono T, Kawahara T, Morishita T, et al. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. Nature. 1997;389:990-994.

69. Ishizaki T, Uehata M, Tamechika I, Keel J, Nonomura K, Maekawa M, Narumiya S. Pharmacological properties of Y-27632, a specific inhibitor of rho-associated kinases. Mol Pharmacol. 2000;57:976-983.

70. Masumoto A, Hirooka Y, Shimokawa H, Hironaga K, Setoguchi S, Takeshita A. Possible involvement of Rho-kinase in the pathogenesis of hypertension in humans. Hypertension. 2001;38:1307-1310.

71. Iizuka K, Shimizu Y, Tsukagoshi H, Yoshii A, Harada T, Dobashi K, et al. Evaluation of Y-27632, a rho-kinase inhibitor, as a bronchodilator in guinea pigs. Eur J Pharmacol. 2000;406:273-279.

72. Robertson TP, Dipp M, Ward JP, Aaronson PI, Evans AM. Inhibition of sustained hypoxic vasoconstriction by Y-27632 in isolated intrapulmonary arteries and perfused lung of the rat. Br J Pharmacol. 2000;131:5-9.

73. Rees RW, Ralph DJ, Royle M, Moncada S, Cellek S. Y-27632, an inhibitor of Rho-kinase, antagonizes noradrenergic contractions in the rabbit and human penile corpus cavernosum. Br J Pharmacol. 2001;133:455-458.

74. Vishwanath M, Ma L, Otey CA, Jester JV, Petroll WM. Modulation of corneal fibroblast contractility within fibrillar collagen matrices. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003;44:4724-4735.

75. Honjo M, Tanihara H, Inatani M, Kido N, Sawamura T, Yue BY, et al. Effects of rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632 on intraocular pressure and outflow facility. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001;42:137-144.

76. Brest P, Turchi L, Le'Negrate G, Berto F, Moreilhon C, Mari B, et al. Escherichia coli cytotoxic necrotizing factor 1 inhibits intestinal epithelial wound healing in vitro after mechanical injury. Infect Immun. 2004;72:5733-5740.

77. Höltje M, Hoffmann A, Hofmann F, Mucke C, Grosse G, Van Rooijen N, et al. Role of Rho GTPase in astrocyte morphology and migratory response during in vitro wound healing. J Neurochem. 2005;95:1237-1248.

78. Ark M, Yilmaz N, Yazici G, Kubat H, Aktas S. Rho-associated protein kinase II (rock II) expression in normal and preeclamptic human placentas. Placenta. 2005;26:81-84.

79. Berthet B, Di Costanzo J, Arnaud C, Ledoray V, Choux R, Assadourian R. Treatment of caustic burns of the esophagus with interferon gamma. Comparison with epidermal growth factor. Experimental study in rats. Gastroenterol Clin Biol. 1994;18:680-686.

80. Gérard-Monnier D, Erdelmeier I, Régnard K, Moze-Henry N, Yadan JC, Chaudière J. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. Chem Res Toxicol. 1998;11:1176-1183.

81. Erdelmeier I, Gérard-Monnier D, Yadan JC, Chaudière J. Reactions of N-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Mechanistic aspects of the colorimetric assay of lipid peroxidation. Chem Res Toxicol. 1998;11:1184-1194.

82. Woessner JF Jr. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. Arch Biochem Biophys. 1961;93:440-447.

83. Keskin E, Okur H, Koltuksuz U, Zorludemir U, Olcay I. The effect of steroid treatment on corrosive oesophageal burns in children. Eur J Pediatr Surg. 1991;1:335-338.

84. Bingöl-Koloğlu M, Tanyel FC, Müftüoğlu S, Renda N, Çakar N, Büyükpamukçu N, et al. The preventive effect of heparin on stricture formation after caustic esopageal burns. J Ped Surg. 1999;34:291-294.

85. Etensel B, Ozkisacik S, Ozkara E, Karul A, Oztan O, Yazici M, et al. Dexpanthenol attenuates lipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury. Pediatr Surg Int. 2007;23:177-181.

86. Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Aydinc M, Karaman A, Gultek A, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion in rats. J Pediatr Surg. 1999;34:1458-1462.

87. Chapados R, Abe K, Ihida-Stansbury K, McKean D, Gates AT, Kern M, et al. ROCK controls matrix synthesis in vascular smooth muscle cells: coupling vasoconstriction to vascular remodeling. Circ Res. 2006;99:837-844.

88. Kamai T, Tsujii T, Arai K, Takagi K, Asami H, Ito Y, et al. Significant association of Rho/ROCK pathway with invasion and metastasis of bladder cancer. Clin Cancer Res. 2003;9:2632-2641.

89. Fritz G, Just I, Kaina B. Rho GTPases are over-expressed in human tumors. Int J Cancer. 1999;81:682-687.