

Korozif özofagus striktüründe siklofosfamidin etkisi

Mustafa KÜÇÜKAYDIN, Süleyman BALKANLI,
Akın YEŞİLKAYA, Çiğdem ÖZESMİ

Çocuk Cerrahisi, Patolojik Anatomi, Biyokimya ve Fizyoloji Anabilim Dalları
Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kayseri.

Özet

Bu çalışma korozif özofagus striktürleri üzerine Cyclophosphamid'in (Cytosan) etkisini araştırmak amacıyla düzenlenmiştir. Seksen Sprague Dewley türü sıçanla 3N NaOH ile özofagus yanığı oluşturularak bunlar; yalnızca özofagus yanıklılar, özofagus yanığı + antibiyotik + steroid, özofagus yanığı + antibiyotik + steroid + Cytosan, özofagus yanığı + antibiyotik + Cytosan olarak gruplandırıldı. Hayvanların yarısı deneyin yedinci gününde, diğer yarısı da 28. gününde öldürülerek özofagus dokularında hidroksi-pirolin tayinleri yapılmış ayrıca özofagus kesitleri mikroskopik olarak incelenmiştir. Cytosanın tedaviye eklendiği gruplarda geç dönemde (28. gün) histolojik olarak diğer gruplara göre daha az fibrin birikmesi gözlenmiş ve kollagen sentezinin belirgin şekilde inhibe olduğu dikkat çekmiştir.

Anahtar kelimeler: Korozif özofagus striktürü, cyclophosphamide

Summary

The effect of cyclophosphamide on corrosive esophageal stricture

The purpose of this study was to investigate the effect of cyclophosphamide (Cytosan) on corrosive esophageal strictures. Esophageal burns were produced in eighty Sprague Dewley rats by 3N NaOH, and they were grouped as pure esophageal burn, esophageal burn + antibiotics + steroids, esophageal burn + antibiotics + steroids + Cytosan, and esophageal burn + antibiotics + Cytosan. Half of the rats were sacrificed on the 7th day of the experiment, and the other half on the 28th day. The determination of hydroxyproline levels in esophageal tissue and microscopic investigation of esophageal sections were done in each rat. In the late phase (28th day), a significant decrease in fibrin collection and an inhibition of collagen synthesis were determined histologically in the groups that were treated with Cytosan.

Key words: Corrosive stricture of the esophagus, cyclophosphamide.

Giriş

Korozif özofagus yanıklarında minimal mukozal yaralanmadan özofagus duvarında tam tabaka nekroza kadar varan değişiklikler

meydana gelir. Tedavideki tartışmalar günümüzde hâlâ devam ettiğinden, klinisyenler en iyi yöntemin hangisi olduğunda karar kılmışlardır^(6,12,17,20).

Özofagus yanıklarında striktür gelişmesi en sık görülen geç komplikasyon olup hayvanlar

Adres: Mustafa KÜÇÜKAYDIN, Çocuk Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kayseri

üzerinde yapılan deneysel çalışmalar erken dilatasyonun striktür oluşumunu arttırdığını göstermiştir^(13,17). Tek başına steroid kullanımı ise enfeksiyon gelişme ihtimalini arttırmaktadır⁽⁵⁾. Steroid ve antibiyotiğin kombine kullanımı striktürleri önlemede daha etkili olmasına rağmen bu problem günümüzde tümüyle çözülmüş değildir⁽⁶⁾.

Son zamanlarda yapılan hayvan deneyleri latirojenlerin (β -amino-propionitrile veya penicillamine) striktür oluşumunu önlemede steroidlerden daha etkili olduğunu göstermiştir^(12,18).

Biz bu deneysel çalışmamızda koroziv özofagus striktürlerinin oluşumunda esas neden olan fibroblastik proliferasyonu inhibe etmek ve granülasyon dokusunu azaltmak için^(3,14) bir başka tedavi yöntemi olarak antineoplastik ajanlardan cyclophosphamid'in (cytoxan) etkisini araştırdık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada ağırlıkları ortalama 100 gram olan yüz adet Spregue-Dewley türü beyaz sıçan kullanıldı. Beş eşit gruba ayrılan deney hayvanlarına aşağıdaki işlemler yapıldı.

- Grup A: Kontrol grubu
- Grup B: Özofagus yanığı
- Grup C: Özofagus yanığı + antibiyotik + steroid
- Grup D: Özofagus yanığı + antibiyotik + steroid + cytoxan
- Grup E: Özofagus yanığı + antibiyotik + cytoxan

Grup B'de hayvanların ağızlarına 3N (%10.7) NaOH damlatılarak özofaguslarında yanık oluşturuldu. Grup C'de özofaguslarında yanık oluşturulduktan sonra intramüsküler (İ.M.) kilogram başına 0.7 mg deksametazon (Onadron, İE Kimya Evi T.A.Ş.) ve 100 mg seftizoksim (Cefizox, Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş.) verildi. Grup D'de kilogram başına 15 mg Cytoxan (Endoxan-ASTA-IE Kimya Evi T.A.Ş.) intraperitoneal (İ.P.), 0.7mg/kg deksametazon ve 100 mg/kg seftizoksim (İ.M.) yolla verildi. Grup E'de 15 mg/kg Cytoxan (İ.P.) ve 100 mg/kg seftizoksim İM yolla verildi. D ve E grubundaki hayvanlara İP üçüncü gün aynı dozda cytoxan verildi. Antibiyotik ve deksametazon'a 15 gün devam edildi.

Kontrol ve deney gruplarında onar hayvan deneyin yedinci günü kontrol grubundan 10, deney gruplarından da kalan hayvanlar deneyin 28. günü dekapite edilerek öldürüldü ve özofaguslarının yarısı ışık mikroskobu için %10 formalinde tesbit edildi. Kesitler Hematoksilen Eosin (HE) boyası ile boyandı ve ışık mikroskobunda incelendi.

Özofagusların diğer yarısı 6 N HCl ile 100°C de 20 saat hidrolize edildi⁽¹⁴⁾. Hidroksipirolin tayini, alınan numunelerin asit hidrolizinden sonra hidroksipirolinin chloramine-T solüsyonu ile pirole okside olması ve bunun Ehrlich reaktifi olarak bilinen P-dimetilaminobenzaldehit ile reaksiyonu sonucu oluşan chromophore'ye dönüşerek rengin 560 nm'de kantitatif olarak ölçülmesi ile yapıldı⁽²⁾.

Gruplar Mann Whitney u testi ile karşılaştırıldı⁽¹⁶⁾.

Bulgular

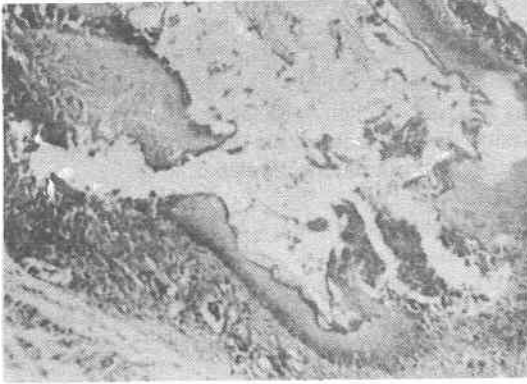
Grup A'de yapılan kesitlerin mikroskopik incelenmesinde, normal yüzey çok katlı yassı epitel tabakası, submukoza, muskularis propria ve müsküler tabakalar izlendi (Resim I). Deneyin erken döneminde (7. gün) deney gruplarının özofaguslarının mikroskopik incelenmesinde; benzer bulgular tesbit edildi. Yüzey çok katlı yassı epitelinde ülserasyon, submukoza, muskularis propria ve yer yer müsküler tabakada ödem, hücre nekrozu ve aşırı lökosit infiltrasyonu izlendi (Resim 2).

Deneyin geç döneminde (18. gün) mikroskopik inceleme:

Grup B₂'de incelenen kesitlerin bir kısmında iyileşmekte olan yüzeysel lezyonlar tespit

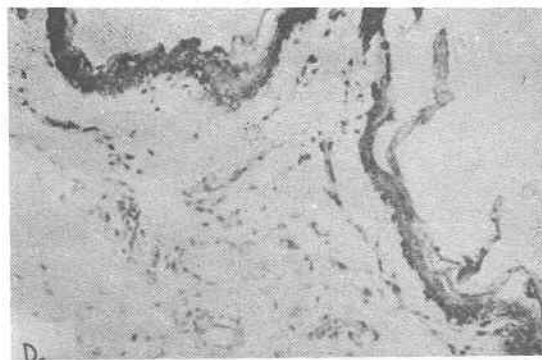
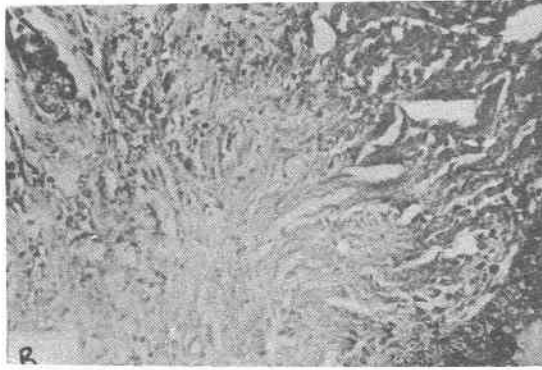


Resim 1, Normal histolojik görünümde özofagus, HE X 80



Resim 2. Yüzey epiteli ortadan kalkmış, submukoza ve m. muskuler tabakada bol miktarda polimorfonükleer lökosit içeren iltihabi ekssidasyon varlığı görülmektedir. HE X 300

edildi. Diğer bir kısmın kesitlerinde ise mukozal yüzün yer yer tek sıralı skuamöz epitelle örtülü olduğu submukoza ve m. muskuler tabakada fibröz dokunun arttığı görüldü (Resim 3 B₂). Grup C₂'de minimal mukozal değişiklik gözlenirken, bazı kesitlerde sub-



Resim 3. B₂- Yüzey epiteli altında bol damarlı granülasyon dokusu varlığı ve fibröz doku artımı görülmektedir. HE X 200, C₂ - Submukozada fibroblastik aktivite ve yüzey epitelinde rejenerasyon HE X 200, D₂- Submukozada

mukoza ve m. muskuler tabakada az olmakla beraber Grup B₂'deki değişimlere benzer fibroz doku artımı tesbit edildi (Resim 3 C₂). Grup D₂-E₂'de minimal yara iyileşmesi bazı kesitlerde ise submukoza ve m. muskuler tabakada fibröz doku birikimi olduğu, fakat bunun Grup B₂'dekine göre daha az yoğunlukta olduğu dikkati çekti (Resim 3 D₂-E₂).

Yedinci günde hidroksipirolin ağırlığı:

Grup A'da: Ortanca değer (Medyan) 59, 93 µg/mg, minimal 52, 65 µg/mg, maksimal 67.47 µg/mg. Grup B'de ortanca 60.61 µg/mg, minimal 50.68 µg/mg, maksimal 67.68 µg/mg. Grup C'de ortanca 60, 01 µg/mg, minimal 47.70 µg/mg, maksimal 79.69 µg/mg. Grup D ortanca 56.10 µg/mg, minimal 29.47 µg/mg, maksimal 61.59 µg/mg. Grup E ortanca 57.87, µg/mg, minimal 32.63 µg/mg, maksimal 67.63 µg/mg bulundu (Tablo 1).



ödeme, az sayıda kapiller damar proliferasyonu, minimal fibrozis HE X 160, E₂ - Yüzey epiteli intakt, submukozada dolgun damar yapıları ve fibrozis varlığı görülmektedir. HE X 160.

TABLO 1. Deneyin Yedinci Gününde Saptanan Hidroksipirolin Ağırlığı ($\mu\text{g}/\text{mg}$ Dokuda)

Gruplar	n	Medyan (ortanca)	Range (Min-Max)
A ₁	10	59.93	52.65-67.47
B ₁	10	60.61	50.68-67.68
C ₁	10	56.10	29.47-61.59
D ₁	10	56.10	29.47-61.59
E ₁	10	57.87	32.63-67.64

TABLO 2. Deneyin 28. Gününde Saptanan Hidroksipirolin Ağırlığı ($\mu\text{g}/\text{mg}$ Dokuda)

Gruplar	n	Medyan (ortanca)	Range (Min-Max)
A ₂	10	98.85	86.99-115.56
B ₂	8	117.66	133.51-233.58
C ₂	8	136.07	108.29-153.03
D ₂	7	86.50	70.94-102.81
E ₂	8	89.55	73.20-107.35

TABLO 3. Deneyin Yedinci Gününde Saptanan Hidroksipirolin Ağırlığı Yönünden Grupların İstatistiki Karşılaştırılması.

Gruplar	U	P
A ₁ -B ₁	58	> 0.05
A ₁ -C ₁	53	> 0.05
A ₁ -D ₁	75	< 0.05*
A ₁ -E ₁	74	< 0.05*
B ₁ -C ₁	68	> 0.05
B ₁ -E ₁	67	> 0.05
C ₁ -D ₁	71	> 0.05
C ₁ -E ₁	70	> 0.05
D ₁ -E ₁	67	> 0.05

TABLO 4. Deneyin 28. Gününde Saptanan Hidroksipirolin Ağırlığı Yönünden Deney Gruplarının İstatistiki Karşılaştırılması.

Gruplar	U	P
A ₂ -B ₂	90	< 0.05*
A ₂ -C ₂	79	< -0.05*
A ₂ -D ₂	48	> 0.05
A ₂ -E ₂	46	> 0.05
B ₂ -C ₂	64	< 0.05*
B ₂ -D ₂	63	> 0.05
B ₂ -E ₂	72	< 0.05*
C ₂ -D ₂	55	< 0.05*
C ₂ -E ₂	64	< 0.05*
D ₂ -E ₂	45	> 0.05

Deneyin 28. gününde hidroksipirolin ağırlığı:

Grup AE₂ ortanca 98.85 $\mu\text{g}/\text{mg}$, minimal 86.99 $\mu\text{g}/\text{mg}$, maksimal 115 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Grup B₂ ortanca 177.66 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 133.51 $\mu\text{g}/\text{mg}$,

maksimal 233 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Grup C₂ ortanca 136.07 $\mu\text{g}/\text{mg}$, minimal 108.29 $\mu\text{g}/\text{mg}$, maksimal 153.03 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Grup D₂ ortanca 86.50 $\mu\text{g}/\text{mg}$, minimal 70.94 $\mu\text{g}/\text{mg}$, maksimal 102 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Grup E₂ ortanca 89.55 $\mu\text{g}/\text{mg}$, minimal 73.20 $\mu\text{g}/\text{mg}$, maksimal 107.35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ olarak bulundu (Tablo 2).

Tartışma

Korozif özofagus yanıklarında akut yanığın ve erken komplikasyonların tedavisi yapılırken, asıl tedavi geç dönemde özofagusta ortaya çıkacak striktür komplikasyonunu önlemeye yönelik olmaktadır^(1, 4, 7, 12, 18). Günümüzde uygulanan çağdaş tedavi yöntemlerinin hemen hepsi hayvan deneylerine dayanmaktadır⁽¹²⁾. Krey'in⁽¹¹⁾ yaptığı çalışmalara göre % 3.8 NaOH konsantrasyonu 10 saniyede mukoza, submukoza ve az miktarda kas liflerinde nekroz meydana getirirken, 3N veya % 10.7 NaOH ise müsküler tabakada da nekroz meydana getirebilmektedir. Biz de çalışmamızda 3N (% 10.7) NaOH kullandık.

Korozif özofagus yanıklarında ilk haftada özofagusta nekroz ve bunu izleyen inflamatuvar olay ortaya çıkar. Onuncu günden sonra ise nekrotik dokunun yerini granülasyon dokusu alır. Bu dönem fibroblastik proliferasyon ve sonuç olarak kollagen ve mukopolisakkarid oluşumu ile karakterizedir. Üçüncü haftanın sonunda fibroblastik proliferasyon özofagusta striktür oluşturmaya başlar. Bu dönemde müsküler tabakada fazla miktarda fibröz doku ve mukoza tabakası glanddan yoksun tek katlı skuamöz epitel ile örtülür^(14, 17). Çalışmamızda deney gruplarının özofagus kesitlerinde erken dönemde (7. gün) mikroskobik olarak benzer görünümler saptandı. Bunlar yüzey çok katlı yassı epitelinde ülserasyon, submukoza, müskularis propria ve yer yer müsküler tabakada ödem, hücre nekrozu ve polimorf lökosit infiltrasyonu idi (Resim 1).

Özofagus yanıklarında striktür gelişmesine

antibiyotikler enfeksiyonu önleyerek, steroidler ise inflamatuvar cevabı azaltarak etkili olurlar⁽¹²⁾. Özofagus yanıklarında major inflamatuvar cevap 24-48 saat içinde olduğundan steroid tedavisine bu dönem içinde başlanmalıdır^(5, 10, 12, 13, 15). Çalışmamızda antibiyotik ve steroide özofagus yanığından hemen sonra başlanmıştır.

Sistostatik ajanların çoğu DNA replikasyonunu engelleyerek RNA prodüksiyonunu, protein sentezini ve hücre bölünmesini engeller.

Bu etki yara iyileşmesinde fibroblast proliferasyonu veya direkt kollagen oluşumunu inhibe etme şeklindedir^(3, 9, 18). Cytoxan ile sıçanlarda yapılan çalışmalar deride granülasyon ve sikatriks dokusunun daha az olduğunu göstermiştir⁽¹⁹⁾. Bizim çalışmamızda deneyin erken döneminde (7. gün) mikroskopik incelemede deney grupları arasında belirgin fark olmamasına rağmen geç dönemde (28. gün) submukoza ve muskuler tabakada en fazla fibröz doku artımı Grup B₂'de ve en az fibröz doku artımı ve kollagen birikimi D₂ ve E₂ gruplarında izlenmiştir.

Dokulardaki total kollagen miktarının yaklaşık % 14 kadarını hidroksipirolin oluşturmaktadır. Bu nedenle yara iyileşmesinde hidroksipirolin aktivitesinin ölçülmesi kollagen metabolizması hakkında en iyi bilgiyi vermektedir⁽⁸⁾. Deneysel çalışmamızda yedinci ve 28. günü özofagus dokusunda hidroksipirolin ölçülerek kollagen metabolizması değerlendirildi. Erken dönemde (7. gün) Grup A₁'de ortalanca değeri 59.93 µg/mg, B₁'de 60.61 µg/mg, C₁'de 60.01 µg/mg, D₁'de 56.10 µg/mg, E₁'de 57.87 µg/mg olarak tesbit edildi (Tablo I).

Gruplar istatistiki olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile D₁ ve E₁ grubu farklılık gösterdi (P < 0.05) (Tablo 3).

Deneyin 28. gününde ölçülen hidroksipirolin

ortalanca değerleri Grup A₂'de 98.95 µg/mg, B₂'de 177.66 µg/mg, C₂'de 136.07 µg/mg, D₂'de 86.50 µg/mg, E₂'de 89.55 µg/mg bulundu. Deneyin bu döneminde en yüksek hidroksipirolin değeri hiç tedavi uygulanmayan Grup B₂'de bulunmuş (177.66) olup diğer gruplarla yapılan karşılaştırmaların tümünde istatistiki yönden farklılık göstermiştir (P < 0.05). İkinci en yüksek hidroksipirolin değeri Grup C₂'de saptanmış (136.07 µg/mg) olup yine karşılaştırmaların hepsinde anlamlı farklılık göstermiştir (P < 0.05). Antibiyotik, steroid ve cytoxan alan grupla (Grup D₂) antibiyotik ve cytoxan alan grupta tesbit edilen hidroksipirolin değerleri birbirine yakın bulunmuştur (Tablo 2). Karşılaştırmada B₂ ve C₂ gruplarıyla farklılık gösterirken (P < 0.05) A₂ grubu ile karşılaştırıldıklarında farklılık görülmemiştir (P > 0.05) (Tablo 4).

Deneysel çalışmamızda 28. gününde özofagus dokusunun mikroskopik incelenmesinde Grup D₂, E₂'de submukoza ve muskuler tabakada fibröz doku birikiminin Grup B₂ ve C₂'ye göre daha az olması ve ölçülen hidroksipirolin değerinin D₂ ve E₂ gruplarında B₂ ve C₂ gruplarına göre oldukça düşük seviyede bulunması, özofagus yanıklı hayvanlarda antineoplastik ajanların kollagen sentezini etkili bir şekilde inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlara göre özofagus yanıklarında striktürlerin önlenmesinde steroid ve latirojenlere alternatif olarak yan etkileri de göz önünde bulundurularak antineoplastik ajanların da kullanılabileceğini düşünüyoruz.

Kaynaklar

1. Adam JS, Birck H: Pediatric caustic ingestion. Ann Otol Rhinol Laryngol 91:656, 1982.
2. Bergman I, Loxley R: Two improved and simplified method for spectrophotometric determination of hydroxyproline. Anal Chem 39: 1961, 1963.
3. Ferguson MK: The effect of antineoplastic agents on wound healing. Surg Gynecol Obstet 154: 421, 1982.

4. Gaudreault, P, Parent M, McGuigan MA, Chicoine L, Lovejoy FH: Predictability of esophageal injury from signs and symptoms: a study of caustic ingestion in 378 children. Pediatrics 71: 767, 1983.
5. Haller JA, Andrews HG, White JJ, Tamer MA, Cleveland Ww: Pathophysiology and management of acute corrosive burns of the esophagus: results of treatment in 285 children J Pediatr Surg 6: 578, 1971.
6. Hawkins DB, Demeter MJ, Barnett TE: Caustic ingestion: Controversies in management: a review of 214 cases. Laryngoscope 90: 98, 1980.
7. Howell JM: Alkaline ingestions. Ann Emerg Med 15: 820, 1986.
8. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B: Healing of experimental colonic anastomoses Am J Surg 139: 398, 1986.
9. Karpinen V, Myllaniemi H: Vascular reactions in the healing laparotomy wound under cytostatic treatment. Acta chir Scand 136: 675, 1970.
10. Kirsch MM, Peterson A, Brown A, Brown JW: Treatment of caustic burns of the esophagus: a ten year experience. Ann Surg 188: 675, 1978.
11. Krey H: On the treatment of corrosive lesions in the esophagus, an experimental study. Acta Otolaryngol 102: 1, 1952.
12. Moore WR: Caustic ingestions. Clinical Pediatrics 25: 192, 1986.
13. Oakes DD, Sherck JP, Mark JBD: Lye ingestion. J Thorac Cardiovasc Surg 83: 194, 1982.
14. Penny DG, Baylerian MS, Thill JE, Fanning CM, Yedavallys S: Postnatal carbonmonoxide exposure: Immediate and lasting effects in the rat. Am J Physiol 243: H 228, 1982.
15. Postlethwait RW: Chemical burns of the esophagus. Surg Clin North Am 63: 915, 1983.
16. Sümbüloğlu K: Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik. Ankara Matis Yayınları 1978, S: 146-150
17. Symbas PN, Vlasis SE, Hatcher CR: Esophagitis secondary to ingestion of caustic material. The Ann of Thorac Surg
18. Tunell W: Corrosive strictures of the esophagus, in Welch KJ, Radolph JG, Ravitch MM, Rowe MI (ens): Pediatric Surgery Chicago, Year Book Medical, 1986 pp 698-703
19. Wie H, Brauset I, Eckers berg T: Effects of cyclophosphamide on open, granulating skin wounds in rats. Acta Path Microbiol Scand Sect A: 87: 185, 1979.
20. Zorludemir Ü, Sınır F, Yücesan S, Olcay I: Çocuklarda koroziv özefagus yanıkları Ç.Ü. Tıp Fak. Der. 6: 22, 1981.

Abone Formu

Pediatric Cerrahi dergisi

1987 yılı içinde 3 sayı (Mart, Temmuz, Kasım) çıkacak olan "PEDIATRİK CERRAHİ DERGİSİ"nin abone bedeli 6000.- TL.dir. (KDV dahil) Abone olacak meslektaşları abone bedelini 254320 No'lu Posta Çeki hesabımıza yatırmaları, havale makbuzunu veya fotokopisini abone formu ile birlikte adresimize göndermeleri rica olunur.



Adı Soyadı : _____

Ünvanı : _____

Adres : Ev: _____

: İş: _____

Not: Derginin gönderilmesini istediğiniz adres için o bölümdeki kutuyu işaretleyiniz.

İmza