



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TRAKEAL STENOZDA D-VALİN ETKİSİ; İNVİTRO
VE İNVİVO DENEYSSEL ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet Akif EKİCİ

GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ahmet ULUŞAN**

Haziran - 2022

**T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TRAKEAL STENOZDA D-VALİN ETKİSİ; İNVİTRO
VE İNVİVO DENEYSEL ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet Akif EKİCİ

GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ahmet ULUŞAN**

Haziran - 2022

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**TRAKEAL STENOZDA D-VALİN ETKİSİ; İNVİTRO VE İNVİVO DENEYSSEL
ÇALIŞMA**

Dr. Mehmet Akif EKİCİ

.../.../2022

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Can DEMİREL
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Ahmet Ferudun IŞIK
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç. Dr. Ahmet ULUŞAN
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

- 1)
- 2)
- 3)

I. ÖNSÖZ

Göğüs cerrahi eğitimim boyunca deneyimlerinden faydalanma fırsatı bulduğum, eğitim sürecinde desteğini üzerimizden hiç esirgemeyen ve meslek yaşamımda kendisinden izler taşıyacağımı düşündüğüm bir abi olarak gördüğüm tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Ahmet ULUŞAN' a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca her zaman ilgi ve desteklerini gördüğüm değerli hocalarım Prof. Dr. A. Ferudun IŞIK, Prof. Dr. Maruf ŞANLI ve uzun süre birlikte çalışmasak da Dr. Öğr. Üyesi Bekir ELMA'ya teşekkür eder, saygı ve sevgilerimi sunarım.

Tezimi hazırladığım süre boyunca, deney prosedürlerinin işleyişi konusunda emeği ve bilgisiyle yol gösteren Patoloji Anabilim Dalı üyesi Dr. Öğr. Üyesi Ömer ERONAT'a, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı üyesi Dr. Öğr. Üyesi Demet TAŞDEMİR ve yüksek lisans öğrencisi Cansu BAĞCI' ya teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimime başladığım andan itibaren üyesi olmaktan mutluluk duyduğum Göğüs Cerrahi Kliniğinin, başta asistan arkadaşlarım olmak üzere tüm çalışanlarına, bana göstermiş oldukları sevgi, ilgi ve tüm güzellikler için teşekkür ederim. Rotasyon eğitimimde emeği geçen Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalındaki tüm hocalarıma ve bölüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Beni her zaman destekleyip yanımda olan anne ve babama, abime, verdikleri bütün emekler için teşekkür ediyorum. Bu hayattaki en büyük şansım olduğunu düşündüğüm, varlığıyla bana her zaman en büyük güç kaynağı olan, en zor zamanlarımızda devam etmemi sağlayan hayat arkadaşım sevgili eşim Uzm. Psikiyatrist Dr. Ayşegül ŞAHİN EKİCİ'ye, mutluluk kaynağım canım oğullarım Yusuf Eren ve Yiğit Ali'ye, hayatımda beni mutlu eden bütün detayları sağladıkları için teşekkür ediyorum.

Dr. Mehmet Akif EKİCİ

Gazianep-2022

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ	I
II. İÇİNDEKİLER	II
III. ÖZET	IV
IV. ABSTRACT	VI
V. KISALTMALAR	VIII
VI. TABLO LİSTESİ	IX
VII. ŞEKİL LİSTESİ	X
VIII. EK LİSTESİ	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Trakea Anatomisi ve Fizyolojisi	4
2.2. Trakeanın Beslenmesi:	7
2.3. Trakea stenozu:	8
2.4. PETS Risk Faktörleri:	10
2.5. Patogenez:	12
2.6. İnflamasyon ve Fibrozis:	14
2.7. D-valin:	15
2.8. Trakeal Stenozda Tanı:	18
2.8.1. Solunum fonksiyon testleri:	18
2.8.2. Radyoloji	19
2.8.3. Bronkoskopi:	22
2.9. Trakeal Stenozda Sınıflama:	24
2.10 Trakeal Stenozda Tedavi	28
2.10.1 Bronkoskopik Yöntemler	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
4. BULGULAR	47
5. TARTIŞMA	55

6. SONUÇ	58
7. KAYNAKLAR	59
8. EKLER	73



III. ÖZET

TRAKEAL STENOZDA D-VALİN ETKİSİ; İNVİTRO VE İNVİVO DENEYSSEL ÇALIŞMA

Dr. Mehmet Akif EKİCİ
Uzmanlık Tezi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ahmet ULUŞAN
Haziran 2022, 72 Sayfa

Amaç: Bu çalışmada hücre kültüründe fibroblastları seçici olarak uzaklaştırmak için kullanılan bir molekül olan D-valinin fibroblastların çoğalmasını inhibe ederek trakeal stenoz tedavisindeki yerini göstermeyi amaçladık.

Yöntem:

İnvitro deneysel çalışma: Çeşitli nedenlerle lobektomi veya pnömonektomi yapılan 10 hastanın ameliyat eksplantlarından, tanı için patoloji tarafından kullanılan materyalden arta kalan doku kullanıldı. Aynı hastadan hem bronş epitel hücre kültürü hem fibroblast kültürü elde edildi. İlk 4 hastanın kültürleri standardizasyon için kullanıldı ve beş D-valin konsantrasyonu (10,12.5,15,17.5,20 mM) belirlendi. Sonraki 6 hastanın örnekleri her birinden bronş epitel ve bağ doku ayrı ayrı ekildi ve beş farklı D-valin konsantrasyonu ve serum fizyolojik uygulanan altı grup oluşturuldu. Her hastanın epitel ve bağ dokusu kültüre edildi. Ancak teknik sebepler ve dokuların farklı üreme hızları nedeniyle eş zamanlı kültür edilip çalışılmadı. Bu yüzden her doku kültür edildi, ama %70 yayılım gösteren hücreler deneye alındı. Hücre kültürleri 96 kuyucuklu (ml/2000hücre) plateelerde %70-80 oranında yüzeyi kaplar hale geldiklerinde, D-valinin farklı konsantrasyonları (10,12.5,15,17.5,20 mM) ile 24 saat süre ile inkübe edildi. Hücrelerin canlılığı MTT (3- [4,5- dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5- diphenyl-tetrazoliumbromide) yöntemi ile değerlendirildi. Kısaca, kültür vasatı 1 mg/ml MTT (Sigma) içeren SF vasatı ile değiştirilerek 37 C de 30 dk süre ile inkübe edildi. Daha sonra MTT solüsyonu dökülüp, hücrelerin üzerine DMSO (Sigma) konuldu. Renkteki değişim kolorometrik bir okuyucu ile (spektrofotometre) 550 nm'de okundu. D-valin in en uygun inhibe edici dozları tespit edildi.

İnvivo Deneysel Çalışma: 20 (yirmi) adet yetişkin Yeni Zellanda beyaz tavşanı (2 ila 3,4 kg) randomize 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu, ikinci grup serum fizyolojik (SF) uygulanan grup, üçüncü grup lokal steroid (Deksametazon 2 mg) uygulanan grup, dördüncü grup D-Valin uygulanan grup olmak üzere, her grupta 5 tavşan yer aldı. Tüm hayvanlara standart cerrahi prosedür uygulanarak trakeal stenoz indüklendi. 15. günde kontrol grubunda bulunan hayvanlar aşırı doz pentobarbital ile sakrifiye edildi, trakeal stenoz olduğu histopatolojik olarak gösterildi. Takip eden günlerde diğer gruplarda da aynı cerrahi yöntem uygulanarak cerrahi sırasında ikinci gruba serum fizyolojik, üçüncü gruba deksametazon(2 mg/0,5 ml), dördüncü gruba D-valin (20 mM/0,5 ml) tek seferde uygulandı. 15. günün sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilerek trakeaları histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular:

İnvitro Deneysel Çalışma: Epitel ve bağ doku kültürlerinde SF ve 5 farklı D-valin konsantrasyonu arasında anlamlı fark bulunmadı. 20 mM konsantrasyonda epitel ve bağ doku kültürleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon bulundu.

İnvivo Deneysel Çalışma: Kontrol grubu tavşanlarda submukozal kalınlık literatürün aksine diğer gruplardan daha az görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,004$, $p=0,006$, $p=0,022$). SF, deksametazon ve D-valin grupları arasında anlamlı fark bulunmadı. Fibrozis oranlarına bakıldığında kontrol grubu ile SF uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu; ancak kontrol grubunda fibrozis oranı daha düşüktü ($p=0,001$). Kontrol grubu ile diğer iki grup arasında ve SF, deksametazon ve D-valin gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmasında ise anlamlı bir fark bulunmadı.

Sonuçlar: Literatür incelendiğinde trakeal stenozda D-valin etkisi üzerine bir çalışmaya rastlanmadı. Dolayısıyla çalışmamız bu konuda ilk olma özelliği taşımaktadır. Ayrıca trakeal stenoz üzerine hem invitro hem invivo çalışılması nedeniyle de önem arz etmektedir. D-valin in fibrozis üzerine baskılayıcı etkisi bilinmektedir. Ancak invitro koşullarda fibroblastları baskıladığı konsantrasyonlarda epitel dokuyu da etkilediği görüldü. İnvivo koşullarda ise göreceli olarak fibrozisi etkilediği izlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi. İnvitro koşullarda daha fazla konsantrasyon denenmesi, invivo koşullarda ise daha fazla hayvan sayısı ve çeşitli hayvanlarla deneyin tekrarlanması yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Trakeal stenoz, Fibrozis, D-valin, tavşanda trakeal stenoz modellemesi, Trakeal stenoz yönetimi

IV. ABSTRACT

EFFECT OF D-VALINE IN TRACHEAL STENOSIS; INVITRO AND INVIVO EXPERIMENTAL STUDY

Dr Mehmet Akif Ekici

Master Thesis, Department of Thoracic Surgery

Thesis Supervisor: Associate Professor Dr Ahmet Uluşan

June-2022, 72 pages

Objective: In this study, we aimed to show the place of D-valine, a molecule used to selectively remove fibroblasts in cell culture, in the treatment of tracheal stenosis by inhibiting the proliferation of fibroblasts.

Methods: In vitro experimental study; The remaining tissue from the material used by the pathology for diagnosis surgical explants of 10 patients who underwent lobectomy or pneumonectomy for various reasons was used. Both bronchial epithelial cell culture and fibroblast culture were obtained from the same patient. The cultures of the first 4 patients were used for standardization and five D-valine concentrations (10,12.5,15,17.5,20 mM) were determined. The bronchial epithelium and connective tissue samples from each of the next 6 patients were seeded separately, and six groups were formed that were treated with five different D-valine concentrations and saline. Epithelial and connective tissue of each patient were cultured. However, due to technical reasons and different growth rates of the tissues, they could not be cultured and studied simultaneously. Therefore, each tissue was cultured, but cells with 70% dispersal were included in the experiment. When cell cultures became 70-80% surface coverage in 96-well (ml/2000 cells) plates, they were incubated with different concentrations of D-valine (10,12.5,15,17.5,20 mM) for 24 hours. Cell viability was evaluated by the MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl- tetrazoliumbromide) method. The culture medium was replaced with SF medium containing 1 mg/ml MTT (Sigma) and incubated at 37°C for 30 min. Then, MTT solution was poured and DMSO (Sigma) was placed on the cells. The change in color was read at 550 nm with a colorimetric reader (spectrophotometer). The most appropriate inhibitory doses of D-valine were determined.

In vivo Experimental Study: 20 (twenty) adult New Zealand white rabbits (2 to 3.4 kg) were randomly divided into 4 groups. There were 5 rabbits in each group, as the first group was the control group, the second group was administered saline (SF), the third group was administered local steroid (Dexamethasone 2 mg) and the fourth group was the group administered D-Valine. Tracheal stenosis was induced in all animals by performing a standard surgical procedure. On the 15th day, the animals in the control group were sacrificed with an overdose of pentobarbital, and tracheal stenosis was demonstrated histopathologically. In the following days, the same surgical method was applied in the other groups, and saline was administered to the second group, dexamethasone (2 mg/0.5 ml) to the third group, and D-valine (20 mM/0.5 ml) to the fourth group at one time during surgery. At the end of the 15th day, all animals were sacrificed and their tracheas were examined histopathologically.

Results:

Invitro Experimental Study: No significant difference was found between SF and 5 different D-valine concentrations in epithelial and connective tissue cultures. A significant positive correlation was found between epithelial and connective tissue cultures at 20 mM concentration.

In vivo Experimental Study: Contrary to the literature, submucosal thickness was observed less in the control group rabbits than in the other groups and it was found to be statistically significant ($p=0.004$, $p=0.006$, $p=0.022$). There was no significant difference between SF, dexamethasone and D-valine groups. When the fibrosis rates were examined, a statistically significant difference was found between the control group and the SF applied group; however, the fibrosis rate was lower in the control group ($p=0.001$). No significant difference was found between the control group and the other two groups, and when the SF, dexamethasone and D-valine groups were compared among themselves.

Conclusions: When the literature was examined, no study was found on the effect of D-valine in tracheal stenosis. Therefore, our study is the first in this regard. It is also important because it is studied both in vitro and in vivo on tracheal stenosis. The suppressive effect of D-valine on fibrosis is known. However, it was observed that it also affected epithelial tissue at concentrations that suppressed fibroblasts under in vitro conditions. In vivo conditions were observed to affect fibrosis relatively, but statistically significant results could not be obtained. Trying more concentrations in in vitro conditions, and repeating the experiment with a larger number of animals and various animals in in vivo conditions will be guiding.

Key words: Tracheal stenosis, Fibrosis, D-valine, Rabbit tracheal stenosis modeling, Tracheal stenosis management

V. KISALTMALAR

mM	: Milimol
ml	: Mililitre
MTT	: 3- [4,5- dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5- diphenyl- tetrazoliumbromide
Mg	: Miligram
DMSO	: Dimetilsülfoksit
Nm	: Nanometre
SF	: Serum fizyolojik
PETS	: Postentübasyon trakeal stenoz
PTTS	: Posttrakeostomi trakeal stenoz
CO₂	: Karbondioksit
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
Mm	: Milimetre
ECM	: Ekstrasellüler matriks
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
COX	: Siklooksijenaz
PGES	: Prostaglandin E Sentaz
TGF-β1	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü b1
EP₂/EP₄	: E Prostanoid 2 ve 4
DNA	: Deoksi ribonükleik asit
KOAH	: Kronik Obsrükktif Akciğer Hastalığı
SI	: Stenoz İndeksi

VI. TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1: MC CAFREY Sınıflaması.	24
Tablo 2: MYER Sınıflaması.	25
Tablo 3: LANO Sınıflaması.	25
Tablo 4: NOURAEİ Sınıflaması.	25
Tablo 5: FREİTAG Sınıflaması.	26
Tablo 6: GHORBANİ Sınıflaması.	27
Tablo 7: MONNİER Sınıflaması.	28
Tablo 8: Bir hastanın epitel ve bağ doku kültürlerinde çeşitli konsantrasyonlar ve SF ile spektrofotometride okunan değerleri.	38
Tablo 9: 6 Hastanın epitel ve bağ doku örneklerinin çeşitli D-valin dozları ve SF ile kültüre edilmesi sonrası spektrofotometride okunan değerleri.	48
Tablo 10: SF ve 5 farklı D-valin konsantrasyonunda spektrofotometride okunan ortalama değerler.	49
Tablo 11: Bağ doku yoğunluğu ile D-valin konsantrasyonları arasındaki ilişki.	49
Tablo 12: Epitel doku hücre yoğunluğu ile D-valin konsantrasyonları arası ilişki.	50
Tablo 13: Farklı konsantrasyonlarda epitel doku ve bağ doku miktarları arasındaki korelasyonlar	50
Tablo 14: Korelasyon analizi grafikleri.	51
Tablo 15: Gruplar arası submukozal kalınlıkların analizleri.	53
Tablo 16: Gruplar arası submukozal kalınlıkların karşılaştırılması.	53
Tablo 17: Gruplar arası fibrozis yüzdelerinin analizleri.	54

VII. ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1: Larinks ve Trakea önden görünüş.	5
Şekil 2: Platisma kası.	6
Şekil 3: T4 vertebra seviyesinde trakeanın komşulukları.	7
Şekil 4: Trakea beslenmesi, Segmental dağılım.	8
Şekil 5: Yara onarımı ve Fibrozis TSLP, thymic stromal lymphopietin; Ab, antibody; PMN, polymorphonuclear leukocyte; EOS, eosinophil; Baso, basophil; Mast, mast cell.	13
Şekil 6: Fibrozis ve Yara iyileşmesi modeli.	15
Şekil 7: Genel bir aminoasitin kiral görünümü.	16
Şekil 8: D-valin in D-amino asid oksidaz reaksiyonu ile L- valine dönüşümü	17
Şekil 9: Solunum Fonksiyon Testleri: Çeşitli hava yolu darlıklarında akım volüm eğrisi görünüşleri.	18
Şekil 10: Postentübasyon trakea stenozu direk grafide görünümü.	19
Şekil 11: Postentübasyon trakea stenozu bt görünümü.	20
Şekil 12: BT eşliğinde oluşturulmuş sanal bronkoskopi görüntüsü; Karina seviyesinde trakea görüntüsü.	20
Şekil 13: Trakeopati osteokondropatika da tipik BT de ön ve yan duvarlarda gözlenen nodüller.	21
Şekil 14: Trakeopati osteokondroplastika trakeal stenozla takipli hasta bt görüntüsü.	21
Şekil 15: Morfometrik bronkoskopi yöntemi ile stenoz derecelendirilmesi.	23
Şekil 16: Dinamik bronkoskopide inspiryum ve ekspiryum görüntüleri.	23
Şekil 17: Trakeal Rezeksiyon.	30
Şekil 18: Metalik trakeal stentler.	31
Şekil 19: Silikon düz ve stenotik stent örnekleri.	32
Şekil 20: Çeşitli T-tüp örnekleri.	33
Şekil 21: Trakea stenozunda yönetim algoritması.	34
Şekil 22: Trakeal stenozda tedavi algoritması.	35

Şekil 23: Normal fibroblastlar hücrelerinin A; Vimentin B; düz kas aktin (SMA) ile reaksiyonu.	37
Şekil 24: Tavşan trakea önden görünüş.	40
Şekil 25: Bronkoskopik olarak mukozal hasarlamada kullanılan fırça	41
Şekil 26: Cerrahi sırasında tek seferde serum fizyolojik, deksametazon ve D-valin submukozal enjeksiyonu.	42
Şekil 27: Sedoanaljezi altında hayvanlar sırt üstü yatırılarak boyun ekstansiyonda pozisyon.	42
Şekil 28: Trakea tüm hayvanlarda 3-4. kıkırdak halkalar arasından kesilerek açıldı.	43
Şekil 29: Tüm hayvanlarda aynı teknikle dört adet tek tek ipek süturlar atılarak açılan trakea kapatıldı.	43
Şekil 30: Tüm hayvanlarda cilt 3/0 prolene süturlarla kapatıldı.	44
Şekil 31: Kontrol grubunda postoperatif 15. günde trakeanın makroskopik Görünümü	45
Şekil 32: Histopatolojik görüntüler.	52

VIII. EK LİSTESİ

EK-1. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 04.12.2019 tarih ve 2019/448 karar numaralı onayı.

EK-2: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 27.10.2021 tarih ve 2021/54 karar numaralı onayı.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Postentübasyon trakeal stenoz (PETS) fikri ilk kez 1800'lü yıllarda ortaya çıkmıştır (1). Posttrakeostomi trakeal stenoz (PTTS) ise sonradan tariflenmiş ve bu gruba dahil edilmiştir (2). Geçmişte nadir olarak nitelendirilse de entübasyon endikasyonlarının artışı ve bu entübasyonlar sonrası PETS oluşabileceği farkındalığının artması ile günümüzde daha sık gözlenen önemli bir iyatrojenik komplikasyon olmuştur (3, 4). PETS, benign trakeal stenozlar içinde en sık rastlanan stenoz şeklidir (5). Trakeaya yapılan acil girişimler sırasında kıkırdak halkanın ve komşu dokunun hasarlanması veya yüksek açılmış trakeostomi yeri, yüksek kaf basıncı, uzamış entübasyon, sık aspirasyon gerekliliğine bağlı irritasyon PETS için önemli risk faktörleridir. Bu faktörler ilk olarak trakeanın kıkırdak halkası üzerindeki mukozasında hasara ve iskemik nekroza yol açar. Bu patolojik durum sonra daha derin dokuların da sürece katılmasıyla granülasyon dokusu ve fibrozise ilerler, submukozal ve mukozal tabakada kalınlaşma ve böylece trakea lümeninde stenozla sonuçlanır(6). PETS tanılı ameliyata uygun olarak değerlendirilen hastada ilk tercih edilen tedavi yöntemi trakeal rezeksiyon ve uç uca anastomozdur (7). PETS'de ilk tercih edilen tedavi cerrahi olsa da, genel kabul görülen şekliyle trakea çapının 5 mm'den daha dar olduğu acil durumlarda ve cerrahi tedavi olamayacak hastalarda bronkoskopik yöntemler tercih edilebilir(8, 9). Mekanik dilatasyon: Artan çapta rijid tüpler kullanılarak yapılan bu dilatasyon yöntemi hızlı yanıt alınması, kısa süre içerisinde yapılabilir olması, tekrarlanabilir olması nedeniyle hayat kurtarıcı özelliğiyle de en sık kullanılan, tecrübeli ellerde yapılırsa da oldukça güvenli olan bir yöntemdir. Balon kateter ve buji ile darlık bölgesi dilate edilebilir. Yine web-like stenozlarda kullanılabilen, saat 11 ve 13 hizalarında darlık alanına kesi yapılması da bir diğer tercih edilen yöntemdir (10). Mekanik dilatasyon yöntemlerinin başarı oranı %40-82'dir (11). Laserasyon, rüptür, pnömotoraks, pnömomedastinum, hemoraji gibi komplikasyonlar görülebilir(12). Soğuk Yöntemler; Kriyoterapi: Nitroz oksit, karbondioksit ve sıvı nitrojen içeren dondurma yöntemidir. -40, -60 dereceye kadar dokuyu soğutur. Dokularda koagülasyon nekrozuna yol açarak etki eder. Etkisi geç ortaya çıkar. Çalışmalarda çok etkili bulunmasa da işlem tekrar sıklığını azalttığına dair veriler mevcuttur (13, 14).

Sıcak Yöntemler; Argon plazma koagülasyon: Direkt temas gerektirmez, Kullanımı kolay ve hızlı etki gösteren bir yöntemdir. trakea duvarında derin penetrasyonu olmadığı için düşük komplikasyon ve kanama riskine sahip bir termal tedavi yöntemidir. PETS’de de kullanıma uygundur (15). Elektrokoter: Darlık alanını saat 3, 6 ve 9 yönlerinde keserek, koagüle eden termal tedavi yöntemidir. Ancak perforasyon riski yüksek olduğu için dikkatli kullanılmalıdır. Diğer termal tedavi yöntemlerindeki gibi kanama açısından güvenli bir yöntemdir (16). Laser: İşlem yapılan alanı koagüle ederek etki eden bir yöntemdir. Hızlı etkilidir ve düşük kanama riski nedeniyle PETS’de tercih edilebilecek yöntemlerdendir. Nd-YAG, CO₂, Diot olmak üzere farklı tipleri vardır(17). Stentler: Cerrahiye kabul etmeyen ya da ameliyat şansı olmayan olgularda hem palyasyon hem kür amaçlı kullanılırlar. Bazı hastalarda cerrahiye kadar geçecek zamanda hastaya zaman kazandırmak için de kullanılan araçlardır. Hızlı etkili bir tedavi yöntemidir. Metal ve silikon çeşitleri vardır. PETS’ler benign nedenli stenozlar olduğu için gereğinde çıkarılabileceğinden uygulamada metal stentler değil silikon stentler tercih edilir. Stenozun uzunluğu, yerleşim yeri dikkate alınarak düz veya stenotik stentler (silikon, polifleks) kullanılabilir(18). Kortikosteroidler: Kortikosteroidlerin PETS’de tek başına kullanımı önerilmemektedir. Diğer tedavi seçenekleri ile kombine edilerek kullanılır. Sık tekrarlanan bronkoskopik dilatasyon sayısını, rezeke edilecek darlık alanını ve cerrahi rezeksiyon gereksinimini azalttığına dair ümit verici bilgiler vardır(19). Sonuç olarak post entübasyon trakea stenozunda kullanılan tüm bu yöntemlere rağmen postentübasyon trakea stenozu olan hastalarda kesin çözüm oranı oldukça düşük kalmaktadır. Bu hastalar ya yaşamları boyunca tekrarlanan uzun süreli hastaneye yatışlarla boğuşmakta ya da solunum yolunun kapanması nedeniyle ölüm tehlikesi ile karşılaşmaktadırlar.

D-Valine, önemli bir organik kiral kaynağıdır ve tarımsal böcek ilaçları, yarı sentetik veteriner antibiyotikleri ve farmasötik ilaçların sentezinde ara madde olarak kullanılan kapsamlı bir endüstriyel uygulamaya sahiptir. Türevleri, immün yetmezlik hastalıklarının tedavisi için penisilamin ve klinik antitümör tedavisi için aktinomisin D gibi klinik kullanımda büyük aktivite göstermiştir. D-valin, ayrıca fibroblast proliferasyonunu seçici olarak inhibe etmek için hücre kültüründe kullanılır(20). L-valin hücre büyümesi için elzemdir. Sadece D aminoasit oksidaz içeren hücreler D-valini L-valine döndürebilir. D aminoasit oksidaz fibroblastlarda olmadığı için D-valini L-valine döndüremez ve çoğalamazlar. Deneysel hücre kültürü üzerine yapılan çalışmalarda fibroblastlar aşırı çoğalarak diğer hücreleri baskılamaktadır.

Fibroblastların aşırı çoğalmasını engellemek için birçok yöntem kullanılmıştır. Standard kültür ortamında L-valinin D-valinle değiştirilmesi yöntemi bu uygulamalardan biridir(21).

Bu çalışmanın amacı; literatür bilgileri ışığında invitro ortamda hücre kültürlerinde kullanılan ve etkinliği bilinen D-valinin hem hastalardan alınan örnek dokuların kültüre edilerek çoğaltılması ile invitro olarak, hem de lokal verilerek invivo ortamda fibroblastları baskılayacağı ve trakeal stenoz tedavisinde rol alabileceğini göstermektir.

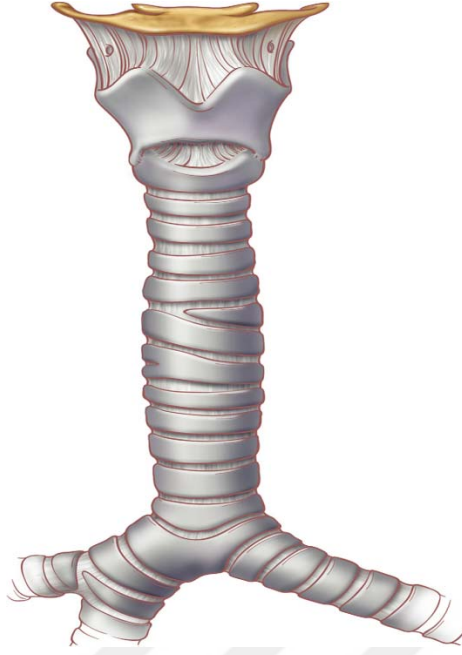


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Trakea Anatomisi ve Fizyolojisi

Cerrahinin temelini cerrahi anatomi oluşturur. İyi bir cerrah ilgilendiği organın anatomik yapısını, fizyolojisini, komşu yapıları, o organ veya komşuluğundaki yapılarda oluşabilecek komplikasyonları en iyi bilendir. Olası bir komplikasyon durumunda; anatominin, yakındaki yapıların ve komplikasyonun bu yapılar üzerine etkilerinin bilinmesi başarı olasılığını en üst seviyeye çıkarır(22).

Trakea; dış dünya ile akciğerler arasında gaz giriş-çıkışı ve trakeobronşial sekresyonların atılmasını sağlayan yarı esnek bir borudur(23). Larinksin bitiminde krikoid kıkırdağın alt sınırından başlayıp sağ ve sol ana bronşlara ayrıldığı karina seviyesine kadar uzanır. Karina genellikle T4 vertebra gövdesi seviyesinde bulunur, ancak mediastendeki dikey pozisyonu solunum fazlarıyla değişir(24). Trakea dış çapları erkeklerde yaklaşık koronal 2,3 cm, sagittal 1,8 cm ve kadınlarda koronal 2 cm, sagittal 1,8 cm dir. Toplam uzunluğu 10-13 cm arasında değişmekle birlikte yetişkin bir erkekte ortalama 11,8 cm dir. Ön ve yan duvarları oluşturan C şeklinde kıkırdak halkalardan oluşur. Arkada membranöz duvar kıkırdak halkaların kollarını bağlayarak oval bir lümen oluşturur. Her bir kıkırdak halka ortalama 4 mm kalınlığında olup toplamda yaklaşık 18-22 adet kıkırdak halka bulunur (Şekil 1). Trakeanın duvar kalınlığı 3 mm kadardır(22). Trakealis kası membranöz duvarın arka yüzünde longitudinal uzanır ve özofagusun ön duvarına bitişiktir. Önde kıkırdak halkalar arası ince bir interkartilaginöz membran ile kaplıdır.

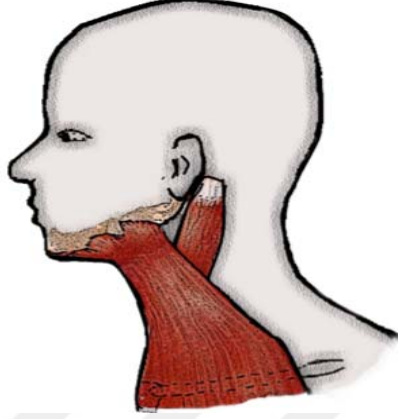


Şekil 1: Larinks ve Trakea önden görünüş.

Trakea lümeni silyalı yalancı çok katlı kolumnar epitel ile kaplıdır. Solunum sırasında içeri alınan küçük partiküller ve sekresyonların atılmasını silyalar sağlar. Uzun süreli sigara içimi ve kronik irritasyon varlığında skuamöz metaplazi sıklıkla görülür. Silya tabakasının altında epitel hücreleri ve goblet hücreleri yer alır. Submukozal alanda bulunan mukus salgılayan bezler kanallar ile lümeneye uzanırlar(22).

Trakea lümeni çocuklarda daireseldir. Yaşla birlikte değişerek erişkinde oval şekil alır. Erişkinde dairesel lümen de görülebilir. Lümen çapı lümen içi basınçtaki değişikliklerle dinamik olarak değişir. Trakealis kası öksürük sırasında kıkırdak halkaların kollarını birbirine yaklaştırır. Yaşlanma veya kronik obstrüksiyonla giden hastalıklarda trakea ön-arka çapı artarak lateral çap azalır. Buna ‘‘kılıç kını trakea’’ denir. Trakeal halkalarda kalsifikasyon da olabilir. Kronik obsrükatif akciğer hastalığında ise trakea ön-arka çapı azalır ve trakeal halkalar yumuşar. Arka duvarın genişlemesi ve kalınlaşması nedeniyle zorlu ekspirasyon sırasında lümeneye kapanma olabilir(22, 24). Erişkinde trakea boyunda önde yerleşimlidir. Karınaya ilerlerken mediastende arkaya doğru uzanır. Bu iniş açısı çocuklarda daha keskindir. Omurgadaki kifotik değişiklikler ve sol ana bronşun aortik arkın altında kalması nedeniyle yaşla birlikte daha yatay olma eğilimindedir(24). Trakea komşulukları ve yerleşimi nedeniyle servikal ve torasik olarak iki bölümde incelenebilir. Servikal trakea boyundaki sternum üst sınırına kadar olan trakea bölümünü ifade eder.

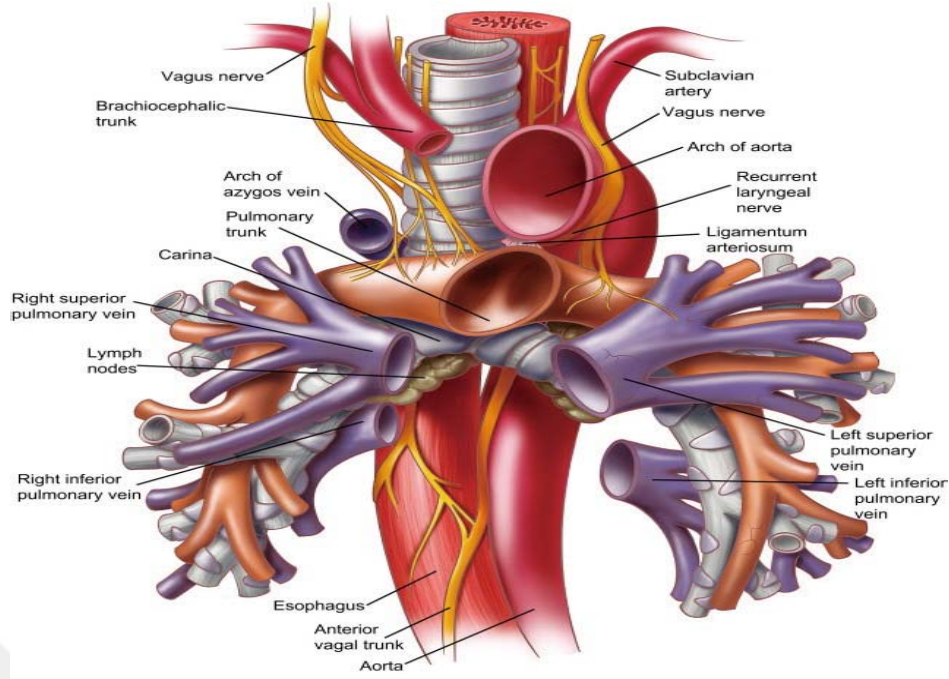
Servikal alanda cilt altında boynun anterolateral kısmını saran yüzeysel kas tabakası olan platisma bulunur. Platismanın lifleri mandibula üzeri dokulardan m. pektoralis major ve m. deltooidusun üzerine kadar geniş bir alanda yayılır (Şekil 2). Platismanın altında konstrüktör kaslar(digastrik, stylohyoid, geniohyoid ve mylohyoid kaslar) bulunur(23).



Şekil 2: Platisma kası.

Servikal trakeada nötral pozisyonda yenidoğanda yaklaşık 10 kıkırdak halka bulunurken, çocuklarda 8 yetişkinlerde yaklaşık 6 kıkırdak halka bulunur ancak bu kişinin boyun yapısına ve ekstansiyon durumuna göre farklılık gösterir. Yetişkinlerde servikal trakeanın genellikle ilk 4 halkası tiroid dokusu altındadır. Bu nedenle servikal trakeaya ait cerrahi işlemler sırasında tiroid dokunun istmusundan ayrılarak lateralize edilmesi gerekebilir(23).

Torakal trakea yaklaşık 5-8 cm uzunluktadır. Torasik inlet girişi sternal çentikten başlayarak 4. torakal vertebra seviyesinde iki ana bronşa ayrıldığı karina seviyesine kadar uzanır. Burada 4. torakal vertebra seviyesi cerrahi açıdan önemli bir lokalizasyondur. Vena azygos bu seviyede vena cava superiorla birleşir. Brakiosefalik arter (innominate arter) trakeayı önden çaprazlar. İnnominate arterin üzerinde brakiosefalik ven yine bu alanda trakea ile komşuluk gösterir. Pulmoner arter sağ ve sol ana dallarına bu seviyede ayrılarak devam eder. Yine bu alanda trakeanın arkus aorta ve asendan aorta ile önden ve soldan yakın komşuluk ilişkisi vardır. Sağda nervus vagus trakea sınırı boyunca ilerler ve karina seviyesinde kalbe çok sayıda kollateral dal verir. Solda nervus laringeus rekürrens özofagus ile trakea sınırında seyrederek ve arkus aortayı kanca şeklinde dolandır (Şekil 3) (24).



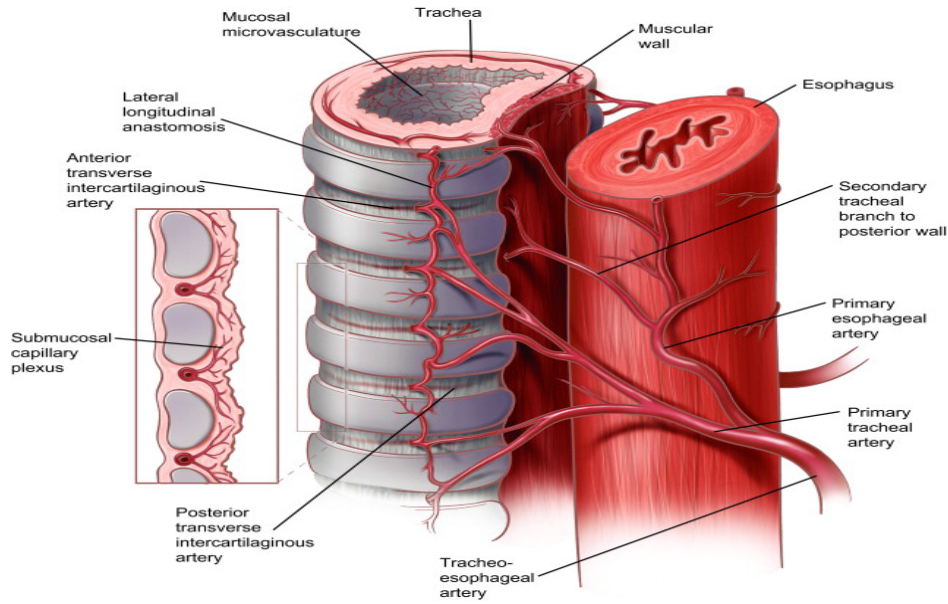
Şekil 3: T4 vertebra seviyesinde trakeanın komşulukları.

2.2. Trakeanın Beslenmesi:

Servikal trakea İnfierior tiroid arterden gelen dallarla beslenir. Bu dallar her iki tarafta rekürren laringeal sinirin önünden veya arkasından geçebilir. Süperior tiroid arter trakeayı doğrudan besleyen dallar vermez. Tiroid dokusu içinde ve etrafında inferior ile anastomozlar yaparak dolaylı olarak trakeanın beslenmesine katılır. Torasik kısım innominate, subklavian ve bronşial arterlerden dallarla beslenir. Ayrıca inferior tiroid arterden de torakal bölüme dallar uzanır ve bronşial arterlerden gelen dallarla anastomoz yapar(22).

Trakea tüm uzanımı boyunca lateral duvarlardan segmental giriş yapan damarlanmalar sayesinde beslenir. Bu nedenle rezeksiyonlarda komplikasyonların önlenmesi ve yönetiminde beslenmenin köken aldığı damardan çok segmental dağılım önemlidir. Her bir trakeal dal interkartilaginöz alandan submukozaya doğru ilerler ve trakeal kıkırdak halkalarının beslendiği kılcak yatağı oluşturur. Kıkırdak halkalarının dış yüzeyinde damar ağı yoktur. Bu yüzden endoluminal bası kıkırdaklarda iskemik nekroza neden olur(22, 23).

Segmental arterler trakea duvarında bir iki kıkırdak halka kadar yukarı ve aşağı uzanır. Karşıdan gelen dallarla anastomoz yaparak sonlanır. Kan akışının bu düzeni trakeal anastomozlarda diseksiyonu anastomoz hattının iki yanında 1-2 cm olacak şekilde sınırlar (Şekil 4) (24).



Şekil 4: Trakea beslenmesi, Segmental dağılım.

2.3. Trakea stenozu:

Trakea stenozu; konjenital veya edinsel nedenlerle trakeada darlık oluşması ve lümen çapının azalmasına bağlı olarak solunum yolunun daralmasıdır. Konjenital nedenler arasında trakeomalazi, kardiovasküler anomaliler, konjenital tümörler sayılabilir. Edinsel olarak en sık şekli entübasyon sonrası iyatrojenik görülen stenozdur. Görülme sıklığı %0,6 ile %21 arasında değişmektedir(25). Trakeostomi sonrası görülme oranı ise %2,6 ile %30 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (26, 27). Nonneoplastik nedenler arasında sistemik hastalıklar, enfeksiyöz trakeobronşit, kılıç kını trakea deformitesi, trakeobronkopati osteokondroplastika, bronkolitiazis azalan sıklıkta sayılabilir. Amiloidoz, inflamatuvar bağırsak hastalığı, tekrarlayan polikondrit, sarkoidoz, wegner granülomatozunda da görülme sıklığının arttığı bildirilmiştir(27). Tüberküloz akut enfeksiyon döneminde trakeobronşial darlık yapmakla birlikte enfeksiyondan 30 yıl sonra dahi sekel değişikliklerle darlığa yol açabildiği gözlenmiştir (28). Tüberküloz genellikle distal trakea ve proksimal bronşları tutar. İzole trakeal tutulum nadir görülür. Trakeada iki mekanizmayla darlık yaptığı düşünülmektedir. Birincisi enfekte sekresyonların hava yoluyla trakeaya taşınması ve submukozal yerleşmesi ve mukozada sığ ülser lezyonlar oluşturması, ikincisi ise komşu mediastinel tüberküloz lenfadenopati ve bu yapılara bitişik trakea ve ana bronşlarda komşuluk veya invazyon nedeniyle darlık oluşturmasıdır (29). Tekrarlayan polikondrit ataklarında öncelikli tutulum larinks ve subglottik bölgede gözlenir. Hastalık ilerledikçe distal trakea ve bronşlarda da görülmeye başlar.

Hastalık kondral ve perikondral bölgede akut inflamasyonla karakterizedir. Sonrasında ise kıkırdak dokuda çözünme ve fibrozis ile lümeninde şiddetli daralma izlenir. Ayrıca kıkırdak desteğinin kaybına bağlı trakeomalazi de eşlik eder. Patognomonik histolojik ve laboratuvar bulgusu yoktur. Tanı klinik olarak konulur (30).

Wegener granülomatozu nekrotizan granülomatöz enflamasyon ve vaskülitte karakterizedir. Klasik olarak üst solunum yolu, akciğer ve böbrekleri tutar. Subglottik stenoz hayatı tehdit eden ilk bulgu olarak ortaya çıkabilir. Trakeal tutulum daha az görülür. Tanı klinik ve histopatolojik bulgularla konulur (31). Bronkolitiazis peribronşial ve paratrakeal kalsifiye olmuş lenf nodlarının trakeobronşial ağacı aşındırdığı ve lümen içi darlık oluşturduğu nadir gözlenen darlık sebeplerindedir. Mycobacterium tuberculosis veya Histoplasma capsulatum gibi mantarların neden olduğu granülomatöz lenfadenitin geç bir komplikasyonu olarak kabul edilir. Tanı malignite bulgusu olmaksızın bilgisayarlı tomografide bronşial lümeninde kalsifiye materyal olması ve bronkoskopik biyopsi örneği ile konulur(32).

Amiloidoz; amiloid birikimi ile karakterize sistemik bir hastalıktır. Solunum yollarında fokal veya diffüz tutulum gözlenebilir. Trakea ve ana bronşlarda amiloid birikmesi, duvar kalınlaşması ve lümen daralması ile kendini gösterir. Amiloid mukozada çok odaklı birikir ve distrofik kalsifikasyon vardır. Tanı histopatolojik olarak amiloid depozitlerin gösterilmesi ile konur(33). Kronik inflamatuvar bağırsak hastalıklarında; özellikle ülseratif kolitte ülseratif trakeit ve buna bağlı darlık nadir olarak görülebilir. Mukozal ve submukozal kronik inflamasyon ve fibrozis ile kendini gösterir. Trakeobronşial lümeninde düzensiz duvar kalınlaşması ve daralmaya neden olur (34).

Post entübasyon trakea stenozu fikri ilk kez 1800 lü yıllarda ortaya atılmıştır (1). Entübasyon ve ventilasyon tekniklerinin geliştirilmesi, yoğun bakım şartlarının sağlanması ile sıklığının arttığı gözlenmiştir (4). Endotrakeal tüp veya trakeostomi kanül kafının düşük basınçta şişkin tutulmasının stenoz gelişme riskini önemli ölçüde azalttığı düşünülmektedir. Subglottik stenoz, krikoid arkta veya hemen altında yüksek trakeostomi bölgesinden veya endotrakeal tüp kafının yanlış yerleştirilmesinden kaynaklanabilir. Komplikasyonların nedenlerinin farkında olmak önlenmesi ve yönetiminde önemlidir(35).

2.4. PETS Risk Faktörleri:

PETS; günümüzde en sık rastlanan benign trakeal stenoz şeklidir. Risk faktörlerine bakıldığında; kadın cinsiyet, laringofaringeal reflü, ileri yaş, düşük kan basıncı, diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalık varlığı, diabetes mellitus, hipotiroidi, astım, hiperlipidemi, romatolojik hastalıklar, anemi, nötropeni, kortikosteroid kullanımı, sekresyon fazlalığı, geçirilmiş infeksiyon varlığı, otoimmün hastalıklar, uyku apnesi, radyoterapi görmüş olmak suçlanan faktörlerdir(36-38).

Trakea stenozlu hastalarda kadın cinsiyet ve ileri yaş daha çok tespit edilmiş olsa da bunların stenoz gelişiminde etkisi olmadığı, bu hasta gruplarında yoğun bakım yatışları ve entübe takip oranlarının fazla olması nedeniyle bu durumun ortaya çıktığı düşünülmektedir. Demografik olarak etkili bulunan tek faktör vücut kitle indeksinin (VKİ) 32 nin üzerinde olmasıdır (38, 39). Benzer şekilde trakea stenozunda eşlik eden komorbidite nedenlerinden diabetes mellitus ve gastroözofagial reflü varlığında stenoz gelişimi riskinin arttığı görülmüştür. Bu klinik tablolar dışındaki komorbidite nedenlerinin trakeal stenoz gelişim riski açısından yoğun bakıma yatan stenoz gelişmemiş hastalarla karşılaştırıldığında aralarında fark olmadığı görülmüştür (39, 40). Trakeostomi hava yolu tıkanıklığında veya uzun süreli solunum yetmezliğinde güvenle uygulanan bir cerrahi prosedürdür(41). Trakeostominin ilk bilinen tasviri M.Ö. 3600 lerde Mısır tabletlerinde geçmektedir (42). İlk başarılı trakeostomi, 1546'da Antonio Musa Brasavola tarafından, büyümüş tonsillerden kaynaklanan hava yolu tıkanıklığının giderilmesi için yapılmıştır(43). 20. yüzyılın başlarına kadar trakeostomi yalnızca üst hava yolu tıkanıklıklarında rahatlatma amacıyla kullanılmıştır. Günümüzde daha çok uzun süreli mekanik ventilasyon desteği gereken hastalar için kullanılmaktadır (44). Yoğun bakım hastalarında en yaygın endikasyonu uzun süreli mekanik ventilasyon ihtiyacıdır. Ventilatörle takipli hastaların yaklaşık %10 unda trakeostomi açılmaktadır. Ancak en uygun zamanlama ve hasta seçiminde klinikler arası çok fark bulunmaktadır (45). Erken trakeostomi tanımı çalışmalar arası farklılık göstermekle birlikte kabul gören genel tanım entübasyon sonrası 3-10 günü kapsamaktadır. Gözlemsel çalışmalarda daha erken trakeostomi zamanlamasının mekanik ventilasyonda daha kısa süre kalma ve yoğun bakım ve hastanede kalış süresinde azalma ile ilişkili olduğu, ancak hastane mortalitesi ile ilişkili olmadığı belirlenmiştir (46).

Trakeal stenoz; trakeostominin geç komplikasyonlarından biridir (47). Açık ve perkütan trakeostomi karşılaştırıldığında perkütan trakeostomi açılan hastalarda stenoz gelişme riski benzer oranlarda bulunmuştur (48). Ancak perkütan yöntemde stenoz gelişme riskinin 3-4 kat arttığını bildiren yayınlar da mevcuttur (26).

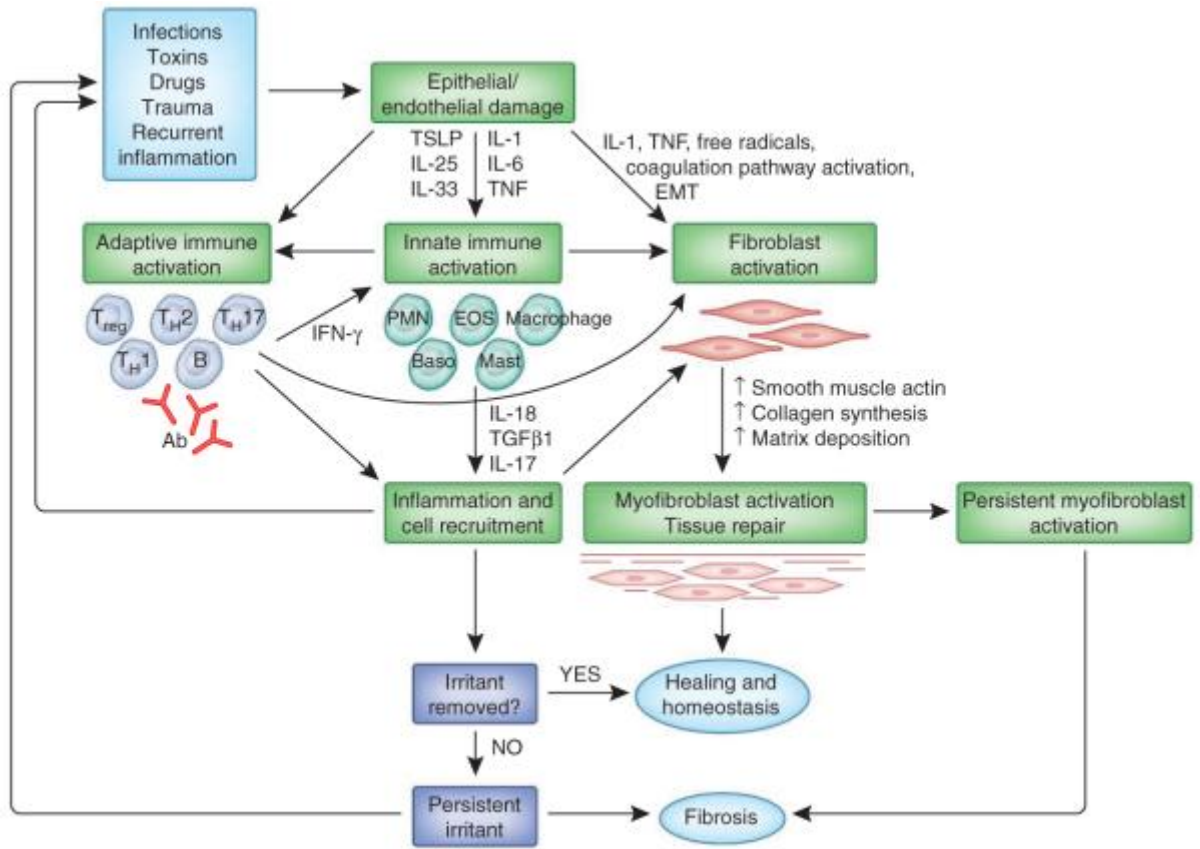
Hem postentübasyon trakea stenozunda hem de posttrakeostomi trakea stenozunda en çok suçlanan etiyolojik neden endotrakeal tüp veya trakeostomi kanül kafının yüksek basınçlı takibidir. Kaf basıncının 20-30 cm H₂O aralığında olması istenir. Ancak bunu palpasyonla sağlamak çoğu zaman mümkün olmamaktadır. Bir çalışmada entübe hastalarda palpasyon tekniğiyle hastaların %73 ünün basıncı izin verilen aralıkta olduğu bulunmuşken; aynı hastaların kaf basıncı manometre ile ölçüldüğünde % 91 inin uygun aralıkta olmadığı saptanmıştır(49). Yüksek kaf basıncı bölgesel kan akımını bozarak önce inflamasyon, mukozal hasar ve iskemik nekroza neden olur. Daha sonra paratrakeal bağ dokunun da sürece katılmasıyla granülasyon ve fibrozis gelişir. Sonuçta submukozal ve mukozal kalınlaşma ve lümende daralma oluşur. Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada kaf yüzeyinin geniş tutulması ile basıncın kapiller kan dolaşımına etkisinin azaltılabileceği belirtilmiş, ancak yine de 30 cm H₂O basıncın üzerine çıkılmaması önerilmiştir (50).

Entübasyon tüpünün veya trakeostomi kanülünün çapı da mukozal hasar ve trakea stenozu oluşturma riskinin artmasında önemlidir. Hastanın boyu, cinsiyeti, hastanın ne amaçla entübe edildiği, ne kadar süre entübe kalacağı, anestezistin tercihi gibi pek çok faktör tüp çapının belirlenmesinde etkilidir. Genel kabul ventilatörle uzun süreli takibi gereken hastalarda daha geniş entübasyon tüpü kullanılması yönündedir. Bernoulli yasasına göre, bir tüpteki direnç, tüpün uzunluğu ile doğru, yarıçapı ile ters orantılıdır. Dolayısıyla daha küçük çaplı tüpler daha yüksek ventilatör basınçlarına neden olmaktadır(51). Bir çalışmada 6 mm lik bir tüpte solunum işinin 9 mm lik bir tüpe göre %490 arttığı bulunmuştur (52). Büyük çaplı entübasyon tüpü entübasyon sırasında üst solunum yolları ve özofagusta hasara yol açabilir. 2-8 saat entübe kalan 100 hastanın retrospektif incelendiği bir çalışmada % 90 ında 6 ila 10 ay sonra çekilen tomografilerinde skar dokusu, laringosel gibi anormal bulguların olduğu bulunmuştur (53). Endotrakeal tüp çapı 7,5 dan büyük olduğunda özellikle obez hastalar (VKİ>30) için stenoz riskinin 5 kat arttığı bildirilmiştir (54, 55).

2.5. Patogenez:

Etiyopatogenezde en çok kronik inflamasyon ve fibrozisin rol oynadığı düşünülmektedir. Fibrozis; özellikle kronik inflamatuvar bozukluklar sırasında olmak üzere birçok doku hasarı tipini takiben düzensiz hale gelen doku onarım yanıtının bir sonucudur. Dokular yaralandığında, lokal doku fibroblastları aktive olur, inflamatuvar mediatörlerin salgılanmasını ve birlikte yara iyileşme yanıtını başlatan ekstrasellüler matriks(ECM) bileşenlerinin sentezini artırır. Hasar küçük olduğunda veya tekrarlamadığında, yara iyileşme tepkisi etkilidir. Daha sonra hızla elimine edilen fazla ECM bileşenlerinin yalnızca geçici bir birikimi ile sonuçlanır ve normal doku mimarisinin restorasyonunu kolaylaştırır. Genetik etkiler, yaşlanma, enfeksiyon ve inflamasyona karşı vücudun vereceği yanıt, yara iyileşmesinin ilerleyici fibrozise mi yol açacağını yoksa etkili onarımla mı sonuçlanacağını belirler(56).

Çeşitli nedenlerle oluşan epitelyal veya endotelyal hasar, birbirine bağlı karmaşık yara iyileştirme programlarını tetikler. Öncelikle pıhtılaşma yolu tetiklenir, ardından akut inflamasyon ve yerleşik makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücrelerin aktivasyonu gelir. Epitelyal ve doğal immün hücre kaynaklı sitokinler daha sonra adaptif immün yanıtın aktivasyonunu etkiler. Doku hasarı ayrıca adaptif bağışıklık tepkisini doğrudan aktive edebilir. İnflamatuvar ve immün araçılar (sitokinler, kemokinler ve serbest radikaller), yerleşik sessiz fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü uyarır ve anjiyojenezi ve ECM bileşenlerinin üretimini aktive eder. Ayrıca tetikleyici faktörü ortadan kaldırmaya çalışır. Tetikleyici faktörlerin ortadan kaldırılamaması, inflamatuvar yanıtı şiddetlendirerek kronik bir yara iyileşme yanıtına yol açar. Sonuçta doku hasarı, onarımı ve rejenerasyonu tekrarlayan süreçlerle fibrozis ile sonuçlanır (Şekil:5) (57).



Şekil 5: Yara onarımı ve Fibrozis TSLP, thymic stromal lymphopoietin; Ab, antibody; PMN, polymorphonuclear leukocyte; EOS, eosinophil; Baso, basophil; Mast, mast cell.

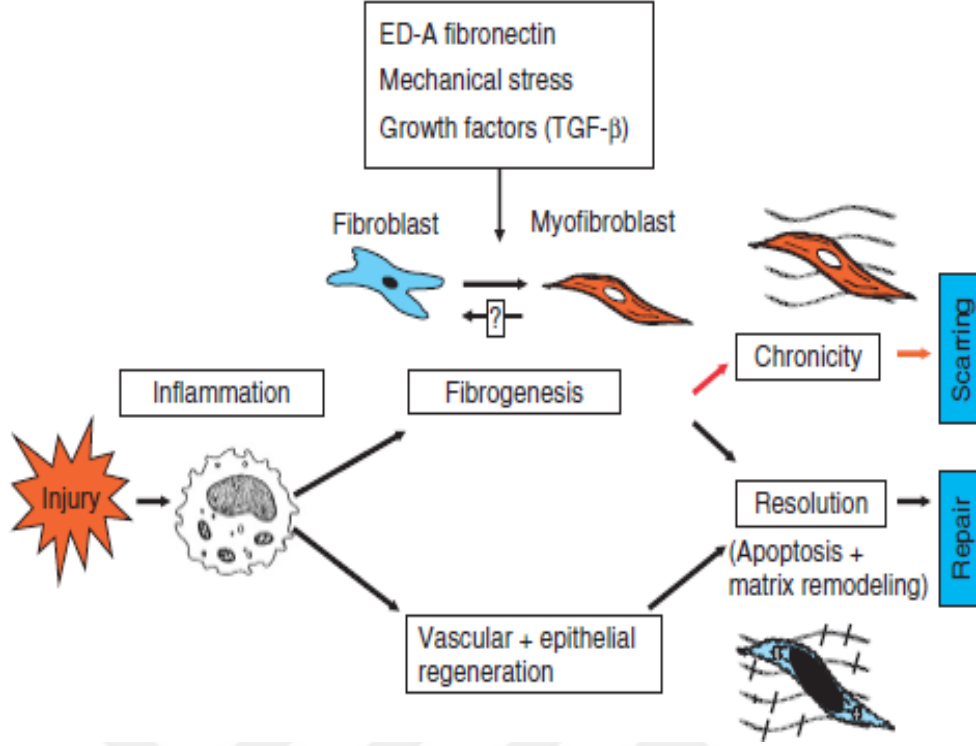
Vücutta bulunan her bağ dokusu, yara onarımının bir parçası olarak aşırı skar oluşumuna neden olabilir. Derideki yara iyileşmesinin aksine, hava yolu mukozasının iyileşmesi üzerine kapsamlı araştırmalar bulunmamaktadır. Keloid oluşumu, büyüme faktörleri ve inflammatuar mediatörler tarafından şiddetlenen anormal fibroblast aktivitesi ile bağlantılıdır. Prostaglandin E2 (PGE2), siklooksijenazlar (COX) ve sentazlar (PGES) tarafından araşidonik asitten sentezlenir. İnflamatuar bir aracı ve fibroblast modülatörü olarak görev yapar. PGE2, aktin hücre iskeletini bozan ve dönüştürücü büyüme faktörü-1(TGF- β 1) ile indüklenen kolajen I ve III sentezini tersine çeviren bir EP2/EP4-cAMP mekanizması aracılığıyla keloid fibroblast göçünü ve kasılmasını azaltmaktadır. Bozulmuş fibroblast PGE2 üretimi keloid oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. PGE2'nin keloid oluşumu sırasındaki antifibrotik etkileri, anormal parakrin fibroblast sinyali nedeniyle azalmaktadır (58).Hipertrofik skarların veya keloidlerin anormal fibroblast aktivitesinin sonucu olduğu bilinmektedir.

Bir çalışmada TGF- β 1 in, keloid veya normal dermisten türetilen kültürlenmiş insan fibroblastlarında DNA sentezini ve kollajen ekspresyonunu farklı şekilde etkileme potansiyeli araştırılmış ve TGF- β 1 in keloidden türetilen fibroblastların DNA sentezini ve kollajen sentezini normal dermisten türetilen fibroblastlardan daha fazla uyardığı bulunmuştur(59, 60).

2.6. İnflamasyon ve Fibrozis:

Doku onarımı tüm organlarda inflamasyonla başlar. Akut inflamasyon saniyeler ve dakikalar içerisinde gerçekleşir ve dokuda lokal ödem ve nötrofillerin infiltrasyonu mevcuttur. Kronik inflamasyon günler, bazen haftalar hatta yıllar içerisinde devam eden lenfosit ve makrofaj hakimiyetinde vasküler proliferasyon ve fibrozisin gerçekleştiği bir süreçtir.

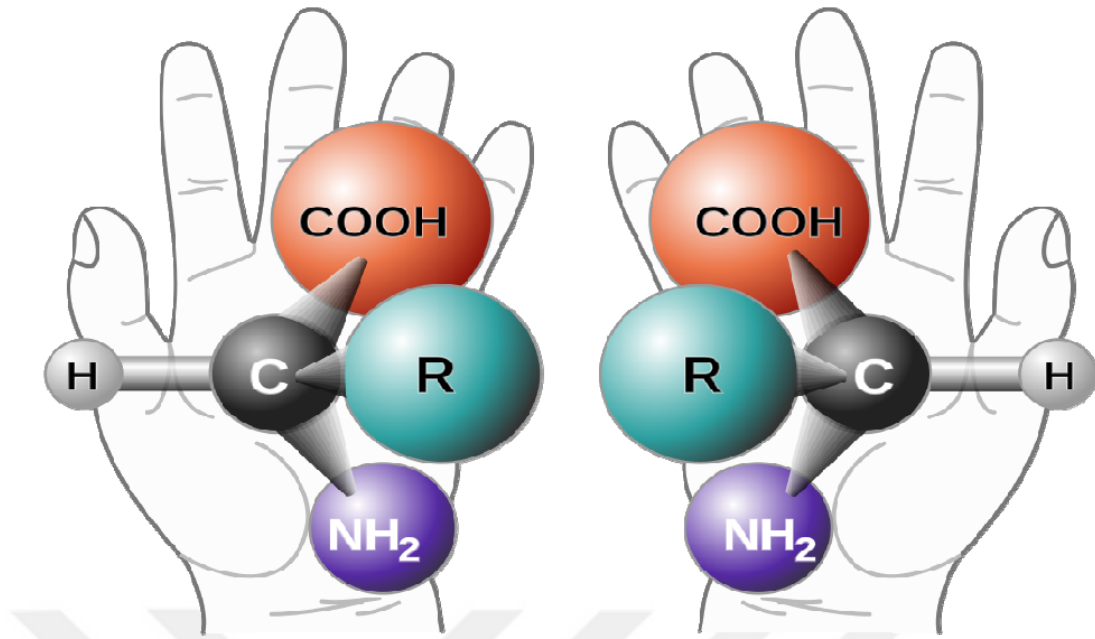
Akut inflamasyonun erken evrelerinde, polimorfonükleer granülositler (polimorflar) baskın hücrelerdir. Daha sonra inflamatuvar yanıtın yoğunluğu azalır ve polimorf infiltrasyonun yerini monosit infiltrasyonu alır. Bu aşamada apoptoz ile polimorflar kaybolur. Monositler ekstravasküler dokuya ulaştığında daha büyük fagositik makrofajlar haline dönüşür ve bu da artıkların uzaklaştırılmasında görev alır. Makrofajların aktivasyonunu takiben, doku yıkımında (proteazlar, oksijen türevli serbest radikaller), kemotaksis (sitokinler, kemokinler), vasküler hemodinamide (tromboksan A2, prostaglandinler) ve fibrojenizde (büyüme faktörleri) yer alan çok çeşitli biyolojik olarak aktif araçlar salgılanır (61). Fibroblastlar hızla geçici matrikse geçer ve fibrojenizi başlatırlar. Hızlı çoğalmaları, yaralanmaya yanıt olarak önemli bir erken olaydır(62). Fibroblastlar, yeni oluşan granülasyon dokusunu oluşturan ve yaraya yapısal bütünlük sağlayan, çoğunlukla kolajen ve fibronektin olmak üzere ECM proteinlerinin ana kaynağıdır. Bu hücreler hasarlı dokuda kaldığı sürece fibrojeniz devam eder (Şekil 6) (63).



Şekil 6: Fibrozis ve Yara iyileşmesi modeli.

2.7. D-valin:

D-Valin, önemli bir organik kiral kaynağıdır ve tarımsal böcek ilaçları, yarı sentetik veteriner antibiyotikleri ve farmasötik ilaçların sentezinde ara madde olarak kullanılan kapsamlı bir endüstriyel uygulamaya sahiptir (20, 64). Kiral terimi, kendisinin rotasyonuyla elde edilemeyen bir ayna görüntüsüne sahip olan cisimleri, özellikle molekülleri tanımlamak için kullanılır. Aynadaki görüntüsüyle kendisi birebir çakışmayan moleküllerdir (65). Kiral sözcüğü Yunanca el anlamına gelmektedir. İnsan elleri de parmakların duruşu nedeniyle çevrilerek birebir üst üste getirilemez. Glisin dışındaki aminoasitler kiraldır. D ve L formları bulunur (Şekil 7).



Şekil 7: Genel bir aminoasitin kiral görünümü.

Türevleri, immün yetmezlik hastalıklarının tedavisi için penisilamin ve klinik antitümör tedavisi için aktinomisin D gibi klinik kullanımda büyük aktivite göstermiştir. D-valin, ayrıca fibroblast proliferasyonunu seçici olarak inhibe etmek için hücre kültüründe kullanılır(20). D-valin hazırlamak için stereo asimetric sentez(66), indüklenmiş kristalizasyon(67), kimyasal çözünürlük(68) ve mikrobiyal hazırlama(64) gibi yöntemler bulunmaktadır. En çok kullanılan yöntem uygulama kolaylığı, çevre dostu yapısı daha ucuz ve kısa süreli olması nedeniyle mikrobiyal hazırlama yöntemidir.

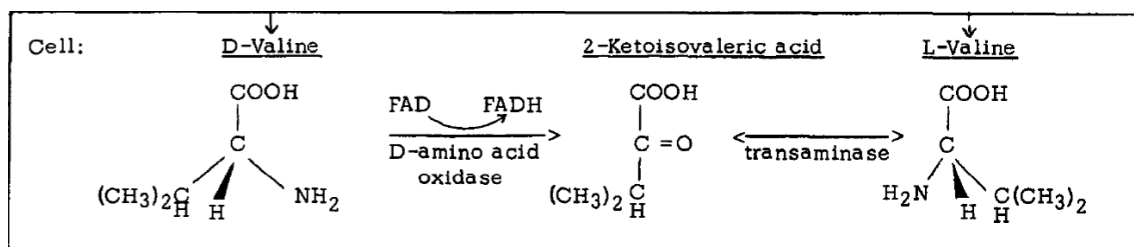
D-Valin, zirai ilaçların kimyasal sentezinde kiral ara madde olarak kullanılır. D-valinden hazırlanan Fluvalinate, lepidoptera(kelebekgiller) ve diptera(meyve sineği) böceklerine karşı etkilidir ve yaygın olarak kullanılır(69). Ayrıca Fluvalinate, bal arılarında yıkıcı bir parazit olan varroa akarını kontrol etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır(70).

D-valinden hazırlanan yarı sentetik bir pleuromutilin türevi olan Valnemulin, bakterilerin 50S ribozomal alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe edebilir ve Mycoplasma hyopneumoniae ve Brachyspira hyodysenteriae gibi mikoplazma ve brakispiralara karşı etkili antimikrobiyal aktivitelere sahiptir. Valnemulin günümüzde veteriner hekimlikte domuz dizanterisi ve pnömonisinde kullanılmaktadır(71).

D-Penisilamin (3-merkapt-D-valin), yapısında D-valin bulunan bir farmasötik ajandır. Kollagen çapraz bağlanmasını engelleyerek, skleroderma, pulmoner fibrozis, romatoid artrit ve Wilson hastalığı gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (72-74).

Aktinomisin D, DNA transkripsiyonunu inhibe etmesi ile kullanılan etkili bir kemoterapötik ajandır. Özellikle gestasyonel trofoblastik tümörlerde birinci sıra kemoterapide uygulanmaktadır(75).

D-valin hücre kültüründe fibroblastları seçici olarak ortamdan uzaklaştırmak için kullanılır. Epitel doku hücre kültürü fibroblastların epitel hücelere göre yüksek proliferatif özelliği nedeniyle ciddi şekilde sınırlanmaktadır. L-valin hücre büyümesi ve protein sentezinde kullanılan önemli bir amino asit izomeridir (76). D-valin bulunan ortamda D- amino asit oksidaz enzimi varsa D-valin L-valine çevrilir ve hücre büyümesi için gerekli protein sentezi devam eder (Şekil 8). Fibroblastlarda bu enzim bulunmamaktadır. Bu nedenle fibroblastlar D-valin bulunan ortamda özellikle yüksek konsantrasyonda protein sentezleyemezler ve çoğalmaları sınırlanır (77).Yüksek konsantrasyonlarda D-valin (690 mg/l) varlığında uzun süreli kültürde tutulduğunda, endotel hücrelerinin parke taşı benzeri bir dizide büyüme, faktör-VIII antijeninin ekspresyonu ve temas inhibisyonunun korunması özelliklerini korudukları bulundu. Ek olarak, D-valin ile modifiye edilmiş ortamda büyütülen hücreler, L-valin (46 mg/l) içeren ortamda yetiştirilen hücelere kıyasla, bradikinin tarafından uyarıldığında prostoglandin E (PGE) ye göre daha büyük oranda prostaglandin I (PG I) üretti. Yalnız L-valin bulunan ortamda büyütülen endotel hücre kültürlerinin D-valin le fibroblastlar uzaklaştırıldıktan sonra bile düzensiz ve küboidal olmayan bir dizide büyüdüğü ve devam eden seri geçişle polimorfizm sergilediği bulundu(78).



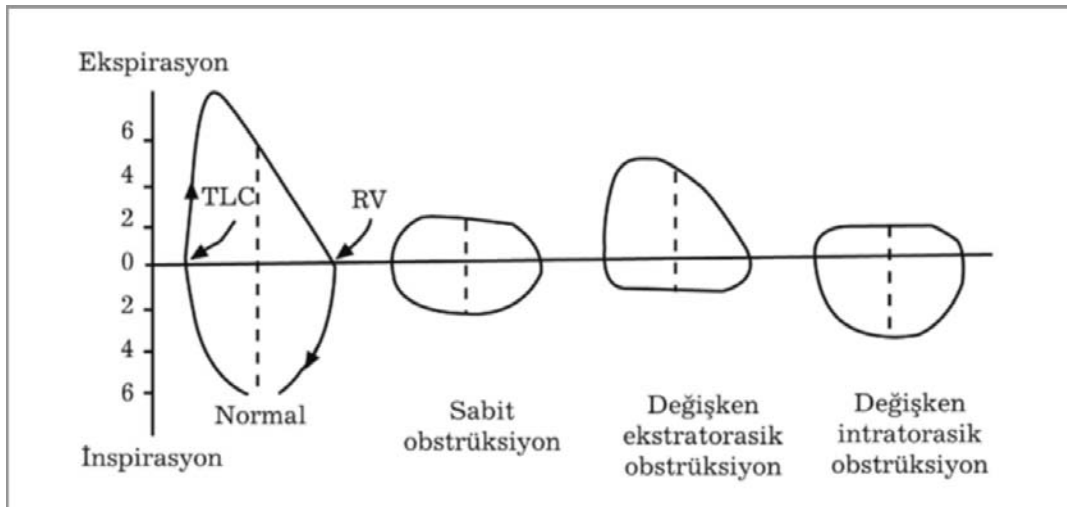
Şekil 8: D-valin in D-amino asit oksidaz reaksiyonu ile L- valine dönüşümü

2.8. Trakeal Stenozda Tanı:

Trakeal darlıklarda en çok görülen semptomlar; ilerleyici dispne, weezing veya stridor, sekresyon tıkaçlarına bağlı aralıklı obsrüksiyon atakları ve kronik öksürüktür (79). Tanıda ilk aşamada hastanın anamnezinde yoğun bakım yatış ve entübasyon öyküsü olması veya trakeostomi skarının bulunması stenoz olabileceğini akla getirmelidir. Hastalarda efor dispnesi genellikle ilk başlangıç semptomu olmaktadır. Bu hastaların çoğunlukla KOAH, konjestif kalp yetmezliği gibi komorbiditesinin bulunması ve bu nedenlerle sedanter yaşamaları tanıyı geciktirebilir. İstirahat halinde semptom olması hava yolu açıklığının %30 lara düştüğünü gösterir. İstirahat halinde stridor varsa veya sekresyon tıkanma atakları başlamışsa genellikle trakea çapı 5 mm ye kadar inmiştir(7). Takipne ve yardımcı solunum kaslarının solunuma katılımı, burun kanadı solunumu semptomatik hastalarda sıklıkla görülür.

2.8.1. Solunum fonksiyon testleri:

Akım volüm halkası darlığın yeri ve derecesi hakkında bilgi verebilir. Akım volüm halkası (F/V-döngüsü), inspirasyon ve ekspirasyon sırasında hava akımı hacminin inhalasyon ve ekshalasyonunun bir sunumudur. Obstrüktif, restriktif ve mikst paternli akciğer patolojisini gösterir(80).Akım volüm halkasına dikkat edilerek yapılan solunum fonksiyon testi, hava akışı obstrüksiyonunun saptanmasına yardımcı olabilir ve müdahalelerden sonra fizyolojik değişikliklerin izlenmesine olanak tanır. Ancak, özellikle trakea çapı 6-8 mm'ye indiğinde görülebilir hale gelir (81). Üst hava yolu darlığında akım volüm eğrisi sabit obstrüksiyon bulgusuyla düzleşir (Şekil 9) (82).



Şekil 9: Solunum Fonksiyon Testleri: Çeşitli hava yolu darlıklarında akım volüm eğrisi görünüşleri.

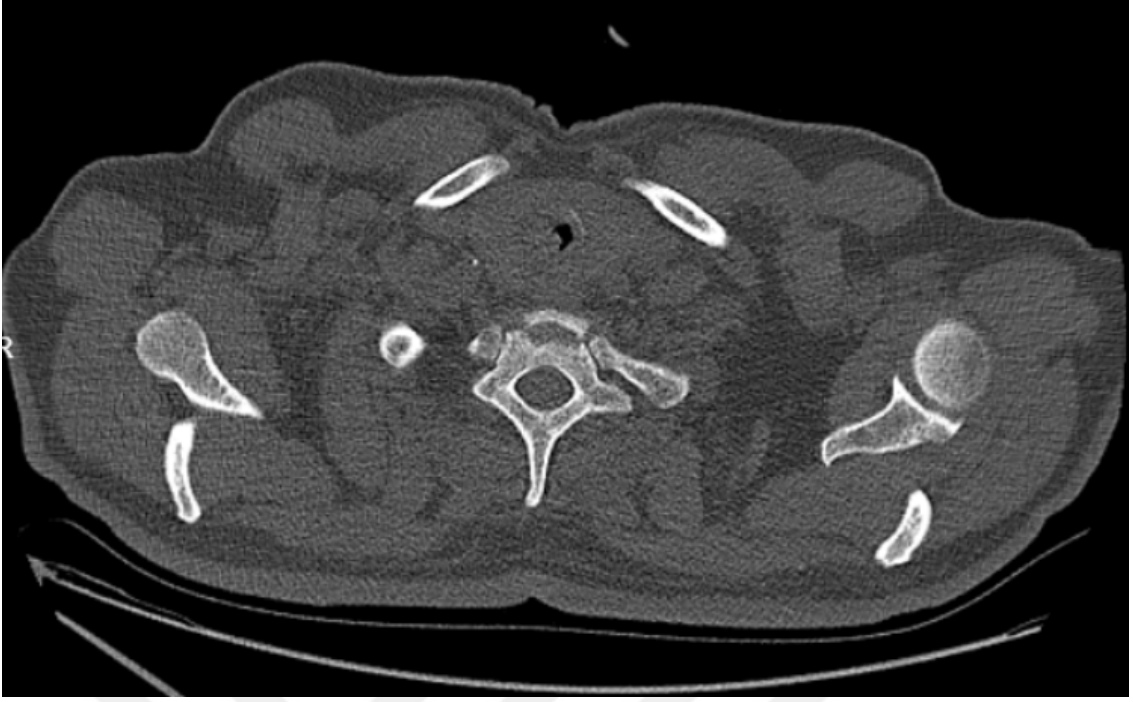
2.8.2. Radyoloji:

Akciğer grafisi: Genellikle normal bulgular içerir. Darlığın derecesine bağlı olarak trakeal hava sütununda incelme, radyolüsende artış görülebilir. Aşağıda Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahi Kliniğinde postentübasyon trakea stenozu nedeniyle takip edilen bir hastanın direk grafisi görülmektedir (Şekil 10).

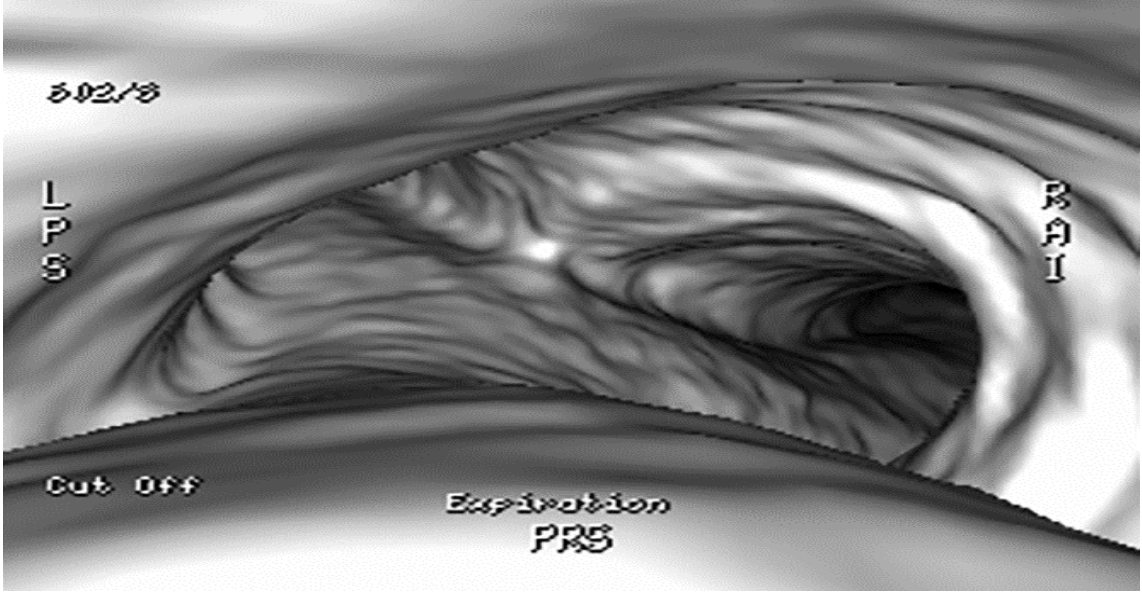


Şekil 10: Postentübasyon trakea stenozu direk grafide görünümü.

Bilgisayarlı tomografi (BT): Hava yollarının gösterilmesi ve değerlendirilmesinde en çok kullanılan yöntemdir. Komşu mediastinel yapıları, tümöral dokuları ve invazyonlarını, hava yollarına basıyı değerlendirmede önemli bir görüntüleme aracıdır. Aksiyal, koronal ve sagittal görüntüleme yapılarak farklı düzlemlerde inceleme sağlanabilir (83). Aşağıda Gaziantep Üniversitesi Göğüs Cerrahi kliniğinde postentübasyon trakea stenozu nedeniyle takipli bir hastanın aksiyal kesit BT görüntüsü görülmektedir (Şekil 11). Zorlu ekspiratuar veya öksürme sırasında görüntüleme trakeomalazinin değerlendirilmesinde faydalıdır. Ayrıca 3D görüntüleme teknikleri ile sanal bronkoskopi görüntüleri elde edilebilir (Şekil 12) (84).



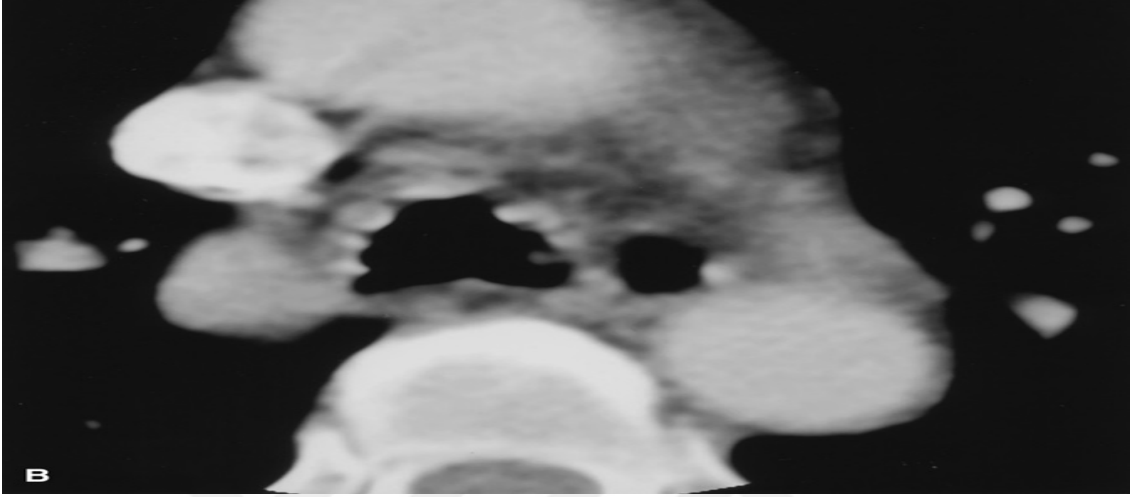
Şekil 11: Postentübasyon trakea stenozu bt görünümü.



Şekil 12: BT eşliğinde oluşturulmuş sanal bronkoskopi görüntüsü; Karina seviyesinde trakea görüntüsü.

Postentübasyon trakea stenozunda BT de darlık olan bölgede karakteristik 'kum saati' görünümü izlenir. Kıkırdak yıkımı mevcut olduğunda, inspiratuar/ekspiratuar BT görüntülemeye gösterilebilen fokal bir malazi alanı gelişebilir. Hastada eğer trakeoözofajial fistül gelişmişse BT de gözlenebilir (85).

Trakeopati osteokondroplastika; trakea ve ana bronşlarda ön ve yan duvarlarda tipik submukozal sert nodüllerin olduğu benign bir hastalıktır. Nadir görülen bu hastalıkta trakeada karakteristik olarak membranöz duvar korunur ve nodüller en iyi BT ile değerlendirilir(86). Aşağıda BT de ön ve yan duvarlarda tipik kalsifik nodüller ve trakeal lümeninde daralma izlenmektedir (Şekil 13) (87).



Şekil 13: Trakeopati osteokondroplastika da tipik BT de ön ve yan duvarlarda gözlenen nodüller.

Aşağıdaki şekilde Gaziantep Üniversitesi Göğüs Cerrahi kliniğinde trakeal stenoz nedeniyle takipli trakeopati osteokondroplastika tanılı hastanın BT görüntüsü bulunmaktadır (Şekil 14).



Şekil 14: Trakeopati osteokondroplastika trakeal stenozla takipli hasta bt görüntüsü.

Skvamöz hücreli papillom BT de en sık gözlenen benign trakeal tümördür. Tipik olarak invazyon bulgusu olmadan lümen içerisinde yumuşak doku olarak görülür (88). Daha nadir olarak hamartom, kondrom, İdiopatik laringotrakeal stenozis, amiloidoz, Wegener granülomatosisi gibi benign nedenlerle BT de trakea da darlık saptanmaktadır.

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI): Trakea ve bronşlar BT ye göre daha iyi görüntülenebilir. Ancak tekrarlanması zorluğu ve çekimin uzun sürmesi nedeniyle daha az tercih edilmektedir. Çocuk ve ergenlerde radyasyon olmaması nedeniyle BT ye göre tercih sebebidir. Ayrıca MRI mediastinel kitleler, vasküler halkalar gibi trakeaya dıştan bası yapan nedenlerde daha iyi değerlendirme sağlar (84). Fluorodeoksiglukoz (FDG) Pozitron Emisyon Tomografi (PET)/CT: Malign trakeal tümörlerde uzak metastaz değerlendirmede ve evrelemede kullanılır.

2.8.3. Bronkoskopi:

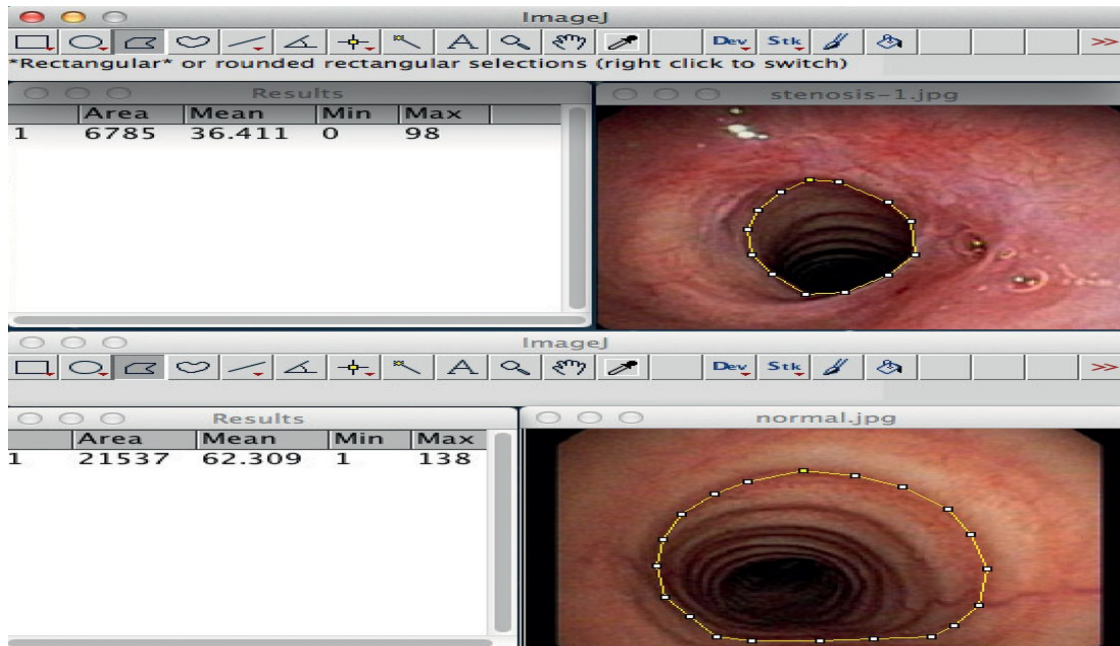
Her tür trakeal stenoz için bronkoskopi tanıda altın standarttır. Fleksibl ya da rijid bronkoskopi ile darlığın yeri, derecesi, vokal kordlar ve karinaya uzaklığı, uzunluğu ayrıntılı olarak değerlendirilir (89). Fleksibl bronkoskopi daha çok tedavi öncesi darlığın tanısal değerlendirilmesi için kullanılmakta, rijid bronkoskopi ise hem tanı hem tedavi imkanı sunmaktadır.

Bronkoskopik olarak darlığın derecelendirilmesi için stenoz indeksi (SI) yaygın olarak kullanılır. Buna göre darlık <%50 ise hafif, %50 ila %70 arası orta, darlık>%70 ise ağır şiddette darlık olduğu söylenir.

$$SI = \frac{CSA_{normal} - CSA_{narrowing}}{CSA_{normal}} \times 100\%$$

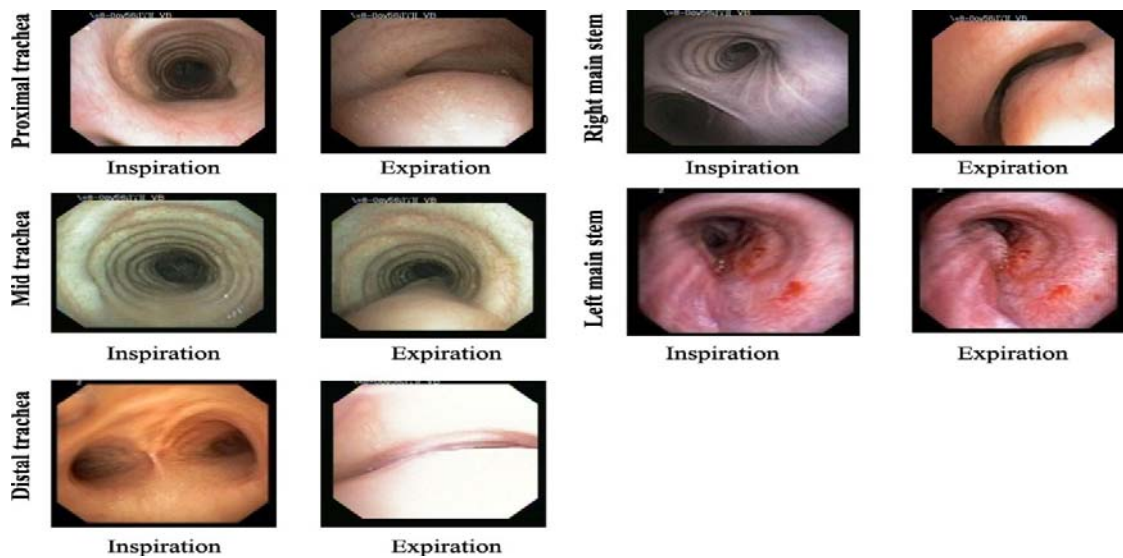
(CSA: Cross-section area=Kesit alanı) (90).

Kesit alanı ve stenoz indeksinin belirlenmesinde morfometrik bronkoskopinin kullanımının daha objektif olacağı bildirilmiştir. Bu yöntemde Bronkoskopik görüntü bir bilgisayar programına yüklenerek program tarafından kesit alanları ve stenoz indeksi çıkarılmaktadır (Şekil 15) (91).



Şekil 15: Morfometrik bronkoskopi yöntemi ile stenoz derecelendirilmesi.

Dinamik fleksibl bronkoskopi trakebronkomalazide altın standart tanı yöntemi olarak bildirilmektedir. Bu yöntemde inspiyum ve ekspiyumda görüntüleme sağlanarak trakeomalazi belirlenebilmektedir (Şekil 16) (92).



Şekil 16: Dinamik bronkoskopide inspiyum ve ekspiyum görüntüleri.

2.9. Trakeal Stenozda Sınıflama:

Tedavi yöntemlerini belirlemek ve klinik seyri tahmin edebilmek için doğru tanımlamalara ve uygun sınıflamalara ihtiyaç vardır. Hava yolunun herhangi bir bölgesinde %50 den fazla daralması anormal obstrüksiyon olarak tanımlanır (93). Hava yolunun enine kesitinde kesit alanının %50 den daha az daraldığı durumlar hafif şiddetli darlıklardır. Bu alanda havanın geçişi sırasında hava akımı basınç düşüşü normal glottik bölgedeki basınç gradyanına benzerdir. Bu nedenle hastada eforla dahi semptom oluşması beklenmez (94). Kesit alanında %50 ila %70 daralma orta derece darlık olarak tanımlanır ve darlık alanında yüksek akışta önemli basınç farkları oluşturur. Bu da hastada eforla semptomların çıkmasına neden olmaktadır. Kesit alanında %70 den fazla azalma olduğunda ise düşük akış hızlarında dahi ciddi basınç farkları olmaktadır. Bu da hastada istirahatte dahi semptomların görülmesine neden olur. Uygun sınıflandırma sisteminin fonksiyonel bozukluğu değerlendirmesi, stenotik hava yolunun uzunluğunu ve şeklini, malazi olup olmasını ve belirli bir referans noktasına göre kesin konumunu belirtmesi gerekir (95).

İlk stenoz sınıflaması Mc Cafrey tarafından 1992 de yapılmıştır. Bu sınıflamada stage I ve II de %90, stage III de %70, stage IV de %40 dekanülasyon şansı bildirilmiştir. Anatomik yerleşimi ve uzunluğuna göre sınıflama yapılmıştır (Tablo 1) (96).

Tablo 1: MC CAFREY Sınıflaması.

MC CAFREY SINIFLAMASI 1992	
Stage I	Lezyon subglottis veya trakeada ve < 1 cm
Stage II	Lezyon subglottise sınırlı ve > 1 cm
Stage III	Glottisi içermeyen subglottik/trakeal lezyon
Stage IV	Lezyon glottisi tutmuştur

Mc Cafrey in ardından 1994 de Myer sınıflaması yapılmıştır. Bu sınıflama yalnızca lümendeki daralma oranına göre yapılmıştır. Anatomik yerleşim ve uzunluğu içermez (Tablo 2) (97).

Tablo 2: MYER Sınıflaması.

MYER SINIFLAMASI 1994	
Grade 1	%0 ila %50 arası obstrüksiyon
Grade 2	%51- %70 arası obstrüksiyon
Grade 3	%71-%99 arası obstrüksiyon
Grade 4	Lümen tespit edilemedi

Ardından 1998 de Lano sınıflaması yayınlanmıştır. Bu sınıflamada yerleşim yerine göre yapılmıştır. Stage I için %94, stage II için %78, stage III için % 20 dekanülasyon şansı bildirilmiştir (Tablo 3) (98).

Tablo 3: LANO Sınıflaması.

LANO SINIFLAMASI 1998	
Stage I	Glottis, Subglottis ve Trakeadan yalnız birinde yerleşimli
Stage II	İki alanda yerleşimli
Stage III	Glottis, Subglottis ve Trakeanın üçünde de yerleşimli

2007 de Nouraei sınıflaması yapılmıştır. Bu sınıflama öncelikle erişkin laringotrakeal stenozun fonksiyonel sonuçlarını görmek için kullanılır. Daha çok kulak burun boğaz uzmanlarının geriye dönük inceleme amaçlı kullandığı bir sınıflamadır (Tablo 4) (99).

Tablo 4: NOURAEİ Sınıflaması.

NOURAEİ SINIFLAMASI 2007	
Grup 1	Hava yolunda stent yok
Grup 2	Hava yolu lümeni içinde stent var
Grup 3	Trakeostomi veya T tüp ile hasta konuşabiliyor
Grup 4	Trakeostomi bağımlı, hasta ses çıkarmıyor
Grup 5	Komplikasyon sonucu ölüm

Yine 2007 de Freitag tarafından bir sınıflama yayınlanmıştır. Öncelikle Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi tarafından kullanılmak üzere tasarlanmış bir sınıflamadır (100). Yapısal, fonksiyonel, stenoz derecesi ve yerleşim yeri değerlendirilerek sınıflanmıştır (Tablo 5).

Tablo 5: FREİTAG Sınıflaması.

FREİTAG SINIFLAMASI 2007	
Yapısal	Tip 1: Ekzofitik veya İntralüminal Tip 2: Dıştan daralmış Tip 3: Distorsiyon Tip 4: Skar veya darlık
Dinamik veya Fonksiyonel	Tip 1: Hasarlı kıkırdak veya malazi Tip 2: Flapy membrane
Stenoz Derecesi	0: Stenoz yok 1: <%25 2: %26-%50 3: %51-%75 4: %76-%90 5: %91-%100
Yerleşim yeri	I: Trakeanın üst 1/3 ü II: Trakeanın orta 1/3 ü III: Trakeanın alt 1/3 ü IV: Sağ ana bronş V: Sol ana bronş

2012 de Ghorbani tarafından başka bir sınıflama yapılmıştır. Bu sınıflamada stenoz tipleri için patolojik örnekleme gerekmektedir (101). Sınıflamada stenoz derecesi, tipi, klinik semptomlar değerlendirilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6: GHORBANI Sınıflaması.

GHORBANI SINIFLAMASI 2012	
Stenoz Derecesi	Skor 0: %0- %25 Skor 1: %26-%50 Skor 2: %51-%75 Skor 3: %76-%90 Skor 4: %91 ve üzeri
Stenoz tipi	1: Granülasyon Dokusu 2: Granülasyon Dokusu, Fibrozis ve inflamasyon 3: Fibrozis 4: Malazi
Klinik Semptom	1: Sadece yoğun aktivite sırasında dispne 2: Normal aktivite sırasında dispne 3: Stridor ve çekilme olmadan inspirasyon ve ekspirasyonun uzaması 4: Stridor ve retraksiyon

Son olarak 2015 de Monnier sınıflaması yayınlanmıştır. Günümüzde preoperatif değerlendirilmede ve postoperatif klinik seyri tahminde yaygın olarak kullanılan sınıflamadır (102).

Tablo 7: MONNIER Sınıflaması.

MONNIER SINIFLAMASI 2015(European Laryngological Society)	
Stenoz Derecesi	I: <%50 II: %51-%70 III: %71-%99 IV: Lümen yok
Yerleşim yeri	A: Supraglottik, glottik, subglottik ve trakeal sadece birinde yerleşim B: Supraglottik, glottik, subglottik ve trakeal iki alanda yerleşim C: Supraglottik, glottik, subglottik ve trakeal üç alanda yerleşim D: Dört bölgenin tümü+ ciddi bir komorbidite veya konjenital anomali varlığı

2.10. Trakeal Stenozda Tedavi:

Her ne kadar bronkoskopik yöntemler çok etkili olarak bildirilse de günümüzde hala altın standart tedavi trakea rezeksiyonu ve rekonstrüksiyonudur (103). Güvenli rezeksiyon ve rekonstrüksiyon için sınır 4-4,5 cm dir. Cerrahi sonrası 5-7 gün sonra kontrol bronkoskopi rutin olarak önerilmektedir. Böylece şüphelenilmeyen olguların klinik olarak bulgu vermeden önce tanınmasını sağlar ve gerekli müdahalenin erken yapılmasına olanak sunar(104). Hiperbarik oksijen tedavisinin anastomoz sonrası iyileşmeyi hızlandırdığı, reepitelizasyonu arttırdığı bildirilmiştir (105).

Trakeal rezeksiyon sonrası anastomoz komplikasyonları nadir görülür, ancak görüldüğünde ciddi morbidite ve mortaliteye yol açar. Anastomoz hattında minimal ayrışmaya bağlı granülasyon dokusu, anastomozun distraksiyonu veya sütür hattında skara bağlı restenoz ve sütür hattında bozulmaya bağlı anastomozun ayrılması ve başarısız olması trakea rezeksiyonu ve rekonstrüksiyonu sonrası komplikasyonlar arasındadır. Rezeksiyonun uzunluğu arttıkça anastomoz hattında gerilim artar ve ayrışma ve başarısız anastomoz ihtimali artar. Kadavra çalışmaları ve retrospektif çalışmalar güvenli anastomoz sınırını 4,5 cm olarak bildirmektedir (104, 106). Özellikle 1978 den sonra emilebilir vicryl poliglaktin süturların kullanılmaya başlanmasıyla sütür reaksiyonuna bağlı granülasyon oranı çok azalmıştır (25).

Hastada diabetes mellitus varlığı, darlığa bağlı reoperasyon, 4,5 cm üzerindeki rezeksiyonlar, genç yaş (hasta<17 yaş), operasyon öncesi trakeostomi ihtiyacı ve laringotrakeal rezeksiyon anastomoz komplikasyonları için risk faktörleridir (107).

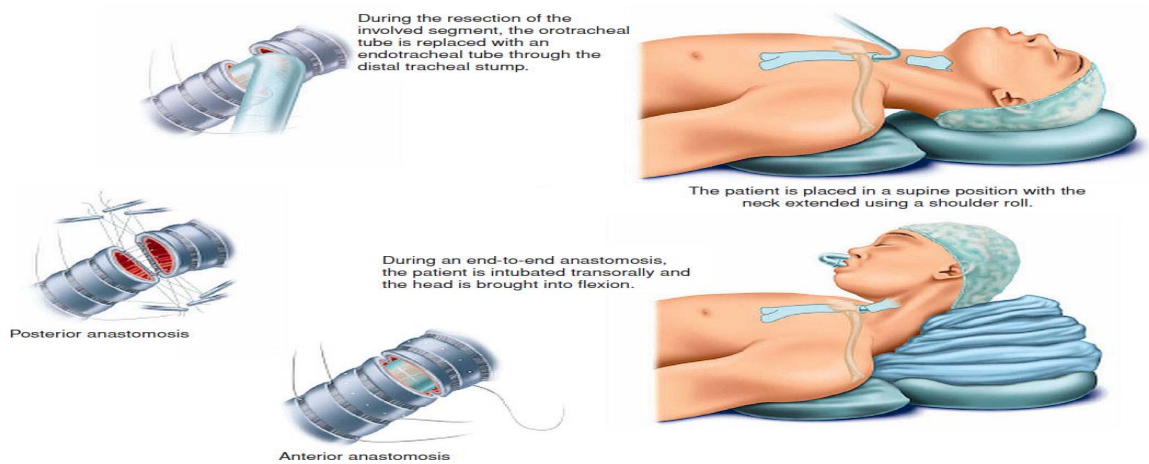
Cerrahide kullanılan genel yöntem darlık olan trakeal segmentin çıkarılması ve kalan bölümlerin uç-uca anastomozudur (108). PEST de ilk rezeksiyon ve anastomoz başarısız olduğunda ikinci ameliyat şansı her zaman vardır, ancak başarı ihtimali ilk operasyona oranla çok daha azdır. Reoperasyona alınmadan önce inflamasyon ve fibrozisin baskılanması için 3-6 ay beklenmesi önerilir. Bu süreçte tekrarlayan bronkoskopi ve dilatasyonlar tercih edilir. Trakeostomi gerekli ise reanastomoz için canlı trakeayı korumak önemlidir (109). Bu nedenle trakeostomi kanülünün mümkün olan en küçük boyutta olması ve darlığın maksimum olduğu bölgeye konulması gereklidir. Uygun hasta seçimi ve bu koşullara uyulduğunda reoperasyonda dahi %90 ın üzerinde başarı bildirilmektedir (104).

Cerrahi başarısızlıkta anastomoz gerginliği ve kan akımını korumanın kritik önemi vardır. Rezeke edilen trakea miktarı ne anastomoz gerginliğine sebep olacak kadar uzun, ne de geride bozulmuş trakea dokusu bırakacak kadar kısa olmalıdır.

Laringeal serbestleme gerekli hallerde mutlaka yapılmalıdır. Anastomoz için 1,5 cm ye kadar mesafe kazandırır(25).

Cerrahi teknik: Servikal bölgede bulunan darlıklarda en çok uygulanan yöntem Pearson ve ark. ve daha sonra Grillo ve ark. tarafından tariflenen cerrahi uygulamadır (110, 111). Kliniğimizde de bu uygulama uzun yıllardır başarıyla sürdürülmektedir. Sternal çentiğın yaklaşık 2 cm yukarısında yatay bir kesi yapılır. Torakal trakeal darlıklarda ek olarak parsiyel ya da total sternotomi gerekebilir. Strep kaslar ayrılarak trakeaya ulaşılır. Tiroid istmusundan ayrılarak ekarte edilebilir. Benign darlıklarda skar dokusu yoğun olduğundan diseksiyon sırasında sinir yaralanmalarından kaçınmak için aşırı diseksiyon yapılmamalıdır. Özellikle krikoid alanda fazla diseksiyondan kaçınılmalıdır. Dar segment intraoperatif fiberoptik bronkoskop ile tespit edildikten sonra trakea sağlıklı dokudan başlayarak yatay olarak açılır. Bu sırada orotrakeal tüp geri çekilir ve ameliyat süresi boyunca distal hava yoluna steril bir endotrakeal tüp yerleştirilir. Hastanın ventilasyonu steril bağlantı hortumu ile sağlanır. Rezeksiyon sonrası iki trakeal uç birbirine yaklaştırmaya çalışırken aşırı gerilim gösteriyorsa, laringeal gevşetme ile trakeal mobilizasyon veya daha az yaygın olarak hiler gevşetme, güvenli bir rezeksiyon ve anastomoz sağlar. Önce membranöz duvar 3\0 vicryl, pds, prolene, monocryl süturlarla düğümler dışarıda kalacak şekilde sürekli bir suturela dikilerek bağlanır. Daha sonra lateral ve anterior anastomoz, yine devamlı 3-0 vicryl, pds, prolene, monocryl süturlarla dikilerek gerçekleştirilir (Şekil 17).

Operasyonun tamamlanmasına doğru orijinal endotrakeal tüp distal hava yoluna ilerletilir ve anastomoz dikişleri bağlanır. Anastomoz tamamlandıktan sonra suture hattına fibrin yapıştırıcı uygulanabilir ve bir Perniosis veya mini vac dren yerleştirilir (112). Servikal fleksiyon, suture hattındaki gerilimi azaltır. Hastanın servikal fleksiyonu “nöbetçi” bir çene dikiş ile korunabilir(113).



Şekil 17: Trakeal Rezeksiyon.

2.10.1. Bronkoskopik Yöntemler:

Cerrahi olarak tedavisi mümkün olmayan ya da cerrahi öncesi hava yolu açıklığının sağlanması gereken hastalar için bronkoskopik yöntemler kullanılır. Bronkoskopik dilatasyonlar için rijid bronkoscopi tercih edilmelidir(8). Fiberoptik bronkoscopi tanısal amaçlı kullanılabilir, ancak dilatasyon gerektiğinde yetersiz kalmaktadır. Rijid bronkoscopi fleksibl bronkoscopiye tolere edemeyen hastalarda tercih edilir. Genel anestezi ortamında öksürük olmadan hareketsiz bir alan oluşması müdahale güvenliğini arttırmakta ve işlem kolaylığı sağlamaktadır (114).

Mekanik dilatasyon: Daralmış hava yoluna dairesel bujilerle radyal basınç uygulayarak sağlanır. Balon dilatasyon da bujilere alternatif olarak uygulanabilir. Ayrıca büyüyen çaplarda rijid bronkoskoplarla doğrudan görüş altında künt diseksiyonlarla da mekanik olarak dilatasyon sağlanabilir. Mekanik dilatasyonda özellikle 5 mm nin altına inmiş darlıklarda perforasyon olmaması için lümeni doğru tayin etmek çok önemlidir. Tek başına dilatasyon nadiren kesin çözüm olur. Genellikle dilatasyon sonrası restenoz gelişir. Temel amaç rezeksiyon öncesi hastaya zaman kazandırmaktır(115).

Laser: Darlık olan bölgeyi koagüle ederek genişletme sağlar. Kanama riskinin düşük olması nedeniyle çok tercih edilmektedir. En çok kullanılan çeşidi ND-Yag laser dir. Nd-Yag lazer, 1.064 nm dalga boyuna sahiptir. Gözle görülmez. Bu nedenle yönlendirme için kırmızı ışık kullanılır. 1-5 saniyelik lazer darbeleri ve mümkün olan en düşük güç(15-20 watt) kullanımı önerilir(8, 116).

Elektrokoter: Darlık alanını keserek koagüle eden termal bir yöntemdir. Perforasyon riski nedeniyle dikkatli kullanılmalıdır. Düşük kanama riski nedeniyle sık başvurulan yöntemlerdendir (117).

Kriyoterapi: Hasarlı dokunun -40 ila -60 dereceye kadar soğutulması ile koagülasyon nekrozu oluşmasını kullanan yöntemdir. Nitröz oksit, karbondioksit, sıvı nitrojen kullanılır. Etkisi geç ortaya çıkar. İstenen etkiye ulaşılabilmesi için tekrarlayan uygulamalar gerekir. Dilatasyon sıklığı ihtiyacını azalttığı bildirilmektedir(118).

Brakiterapi: Malign lezyonların tedavisinde kullanılır. Fleksibl bronkoskop ile yerleştirilen özel proplar yardımıyla radyoterapi uygulanır. Akut semptomların giderilmesinde yeri yoktur. Maksimum etki birkaç hafta sonra gözlenir (119).

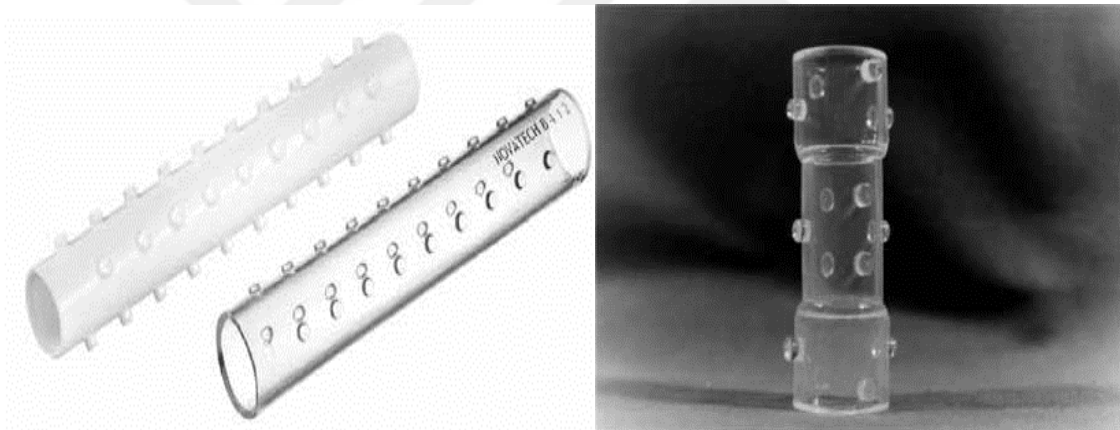
Argon Plazma Koagülatör: Elektrokotere benzer şekilde çalışır. Dokuya elektrik akımını argon gazı üzerinden aktararak çalışır. Argon gazı her yöne yayıldığı için ablatif etkisi sınırlıdır. Yüzeysel etkiye sahiptir ve koagülasyonda etkilidir (120).

Stent uygulamaları: Cerrahi kabul etmeyen ya da inoperabl hastalarda palyasyon ve kür sağlanması için kullanılan araçlardır. Ayrıca cerrahi olacak hastalarda zaman kazanılmasını sağlarlar. Semptomların giderilmesinde hızlı çözüm sağladıkları için tercih sebebidirler. Literatürde tanımlanmış çeşitli stentler bulunmaktadır ve piyasada bulunan stentlerin listesi her geçen gün artmaktadır. Ancak ideal stent olarak nitelendirilebilecek bir stent bulunmamaktadır(121). Kendi kendine genişleyebilen metalik stentler(SEMS) (Şekil 18) fleksibl bronkoskopa da yerleştirilebilmeleri nedeniyle uygulama kolaylığı sağlarken; aşırı granülasyon oluşumu, hava yolu yaralanması ve stent kırılması nedenleriyle özellikle benign stenozlarda kullanımı önerilmemektedir (122).



Şekil 18: Metalik trakeal stentler.

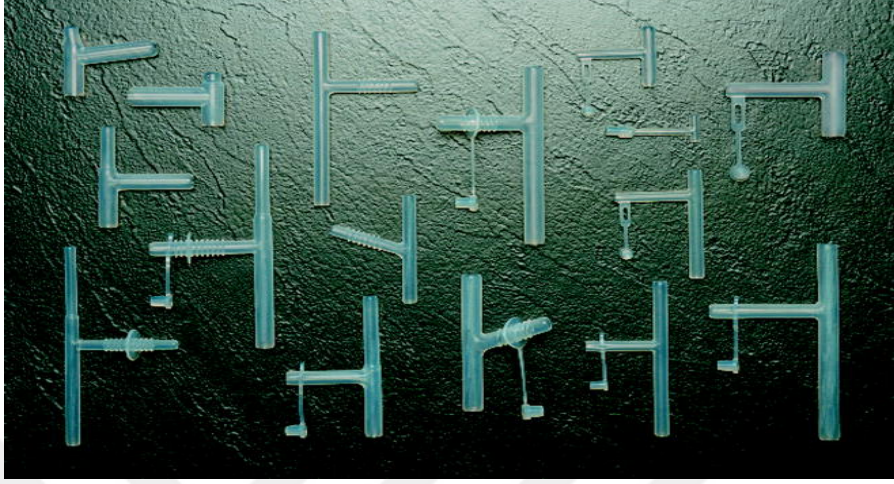
Silikon stentler cerrahiye uygun olmayan hastalarda uzun süreli palyasyon için kullanılabilir. Düz ve kum saati şeklinde stenotik çeşitleri bulunmaktadır (Şekil 19). Lezyon uzunluğuna göre düz stentler kullanılabilir, ancak düz stentlerde migrasyon oranı çok daha fazla olduğundan stenotik stentler tercih edilmektedir. Stent ömür boyu kalıcı bir uygulama değildir. Bazı hastalar ameliyata uygun hale gelebilir. Bazılarında ise stent sonrası başka müdahaleye gerek kalmayabilir (95). Dumon ve arkadaşları stent sonrası %25 hastada nüks olmadığını bildirmiştir. En çok görülen komplikasyonlar migrasyon, granülom oluşumu ve sekresyon tıkaçıdır (123). Başka bir çalışmada stent sonrası nüks gelişmeyen hasta oranı %40 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada stent sonrası başarıyı kardiovasküler hastalık olmaması ve entübasyondan sonraki 6 ay içerisinde trakeal stenoz için tedaviye başlanmış olması faktörlerinin etkilediği bildirilmiştir (124). Stentin çıkarılması için en uygun zaman 12 ay olarak bildirilmektedir. Bir çalışmada 12 ay sonra çıkarılan stentlerde %48 başarı gösterilmiştir (125).



Şekil 19: Silikon düz ve stenotik stent örnekleri.

T-tüp uygulaması:1965 te Montgomery tarafından silikon bazlı T-tüp ler tasarlanmıştır(Şekil 20) (126). Trakeal darlığı uzun segment olup rezeksiyona uygun olmayan hastalar, birden çok segmental darlığı olan hastalar, medikal olarak inoperabl kabul edilen hastalar, ameliyatı kabul etmeyen hastalar için endikedir. Uygulama sırasında subglottise ya da karınaya uzanmayacak şekilde yerleştirilmesine dikkat etmek gerekir. Aksi halde ses kısıklığı veya stent uçlarının irritasyonuna bağlı öksürük görülebilir. Mukosilier aktiviteyi bozduğu için özellikle ilk günlerde yoğun solunum fizyoterapisi önerilir. T-tüp stentle takipli hastaların 6-9 ayda bir bronkoskopik kontrolü ve 12-18 ayda bir stent değişiminin uygun olacağı bildirilmiştir (127).

En çok bildirilen komplikasyonlar cilt altı amfizem, sekresyon tıkaçı, kronik persistan öksürük, özellikle stent uç bölgelerinde granülasyon ve restenozdur. Doğru endikasyon ve düzenli takiplerle % 82 dekanülasyon oranı bildirilmektedir (128).



Şekil 20: Çeşitli T-tüp örnekleri.

İntralezyonel uygulamalar: İlk kez 1973 te Bonchek tarafından subglottik stenozu olan trakeostomili çocuk hastaya intralezyonel steroid enjeksiyonu uygulanmış, seri dilatasyonlarla birlikte hasta sonunda deküle edilmiş ve semptomsuz takip edildiği bildirilmiştir. Çalışmada yaklaşık 6 ay boyunca 5 kez dilatasyon ve her seferde 40 mg triamsinolon intralezyonel olarak uygulanmıştır (129). Başka bir çalışmada 8 i Wegener granülomatozisi olan 12 trakeal subglottik stenozlu hastada tekrarlayan dilatasyonlarla birlikte 40 mg/ml triamsinolon intralezyonel olarak uygulanarak tüm hastalarda cerrahiye gerek kalmadan tedavi bildirilmiştir (130).

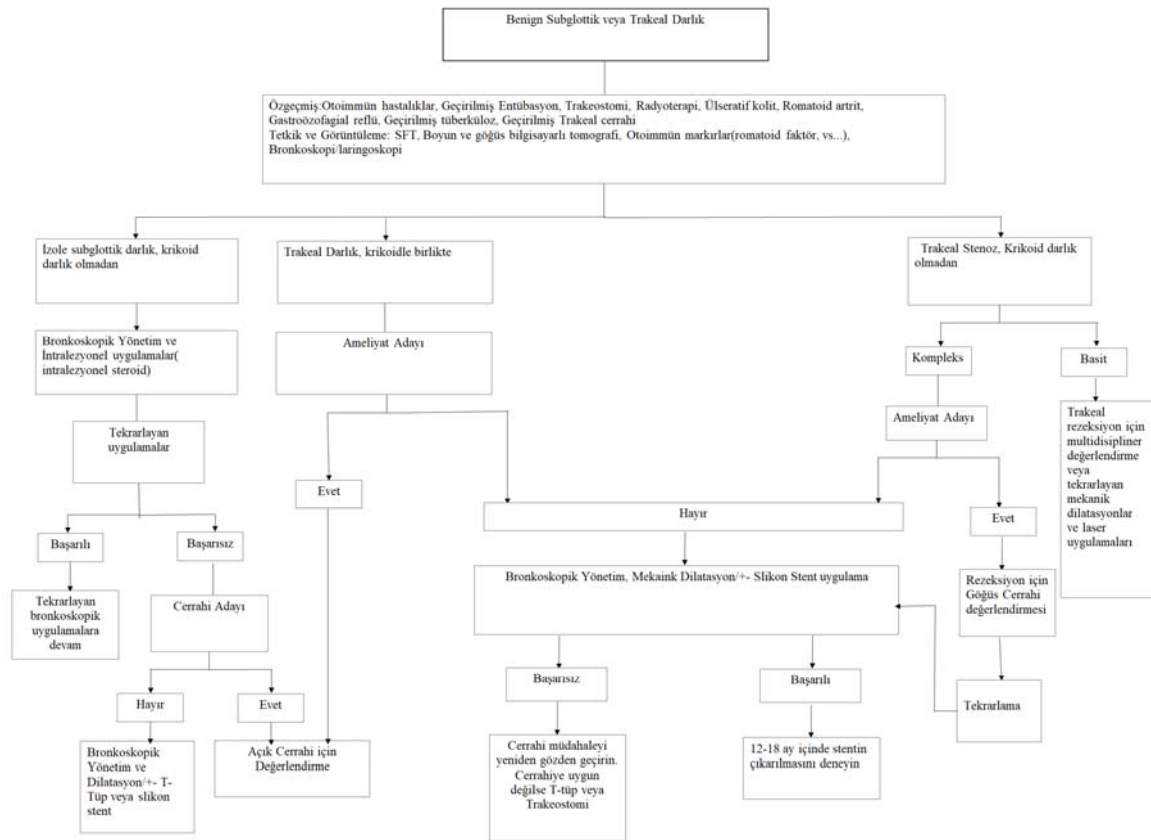
2016 da yapılan bir çalışmada travmatik, idiopatik ve otoimmün nedenli trakeal stenozu bulunan 45 hastada tekrarlayan buji ve balon dilatasyonlarla birlikte 40 mg/ml metilprednizolon asetat uygulanmış, %68,9 başarı bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada ortanca takip süresi 76 aydır(131). 2014 te bildirilen bir olgu sunumunda subglottik stenozu bulunan trakeostomili bir hastaya günde toplam 8 mg deksametazon bronkoskop ile lezyon üzerine damlatma yoluyla 5 gün boyunca uygulanmış, hasta 7. gün dekanüle edilmiştir. Bronkoskopik olarak bakıldığında darlık alanında ödemin çözüldüğü ve deksametazon uygulaması sonrası mukozanın normale yaklaştığı bildirilmiştir (132).

Endotrakeal tüp üzerine topikal steroid uygulanması ile ekstübasyon sonrası öksürük ve ses kısıklığı insidansı açısından olumlu sonuçlar bildiren çalışmalar bulunmaktadır (133).

Literatürde steroidlerin topikal uygulanmasına yönelik çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Steroidler genellikle diğer tedavi yöntemleri ile birlikte kullanılırlar. Sistemik uzun süreli kullanımda dilatasyon tekrarı sayısını azalttığına ve cerrahide rezeke edilecek alanı küçülttüğüne dair ümit verici çalışmalar bulunmaktadır (19).

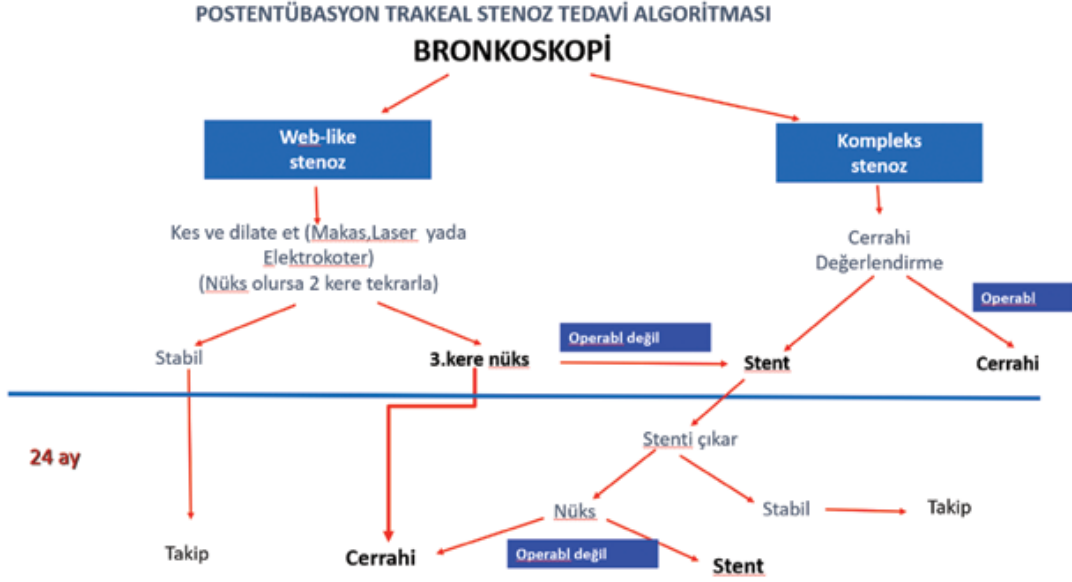
Mitomycin-C, Streptomyces caespitosus tarafından üretilen DNA sentezini inhibe eden, böylece fibroblast ve kollajen proliferasyonunu önleyen bir antrasiklin antibiyotiktir. 0,4 ila 2,0 mg/mL arasında topikal kullanımının başarılı sonuçlarını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Etkin başarı için tekrarlayan uygulamalar önerilir (134, 135). Topikal ve intralezyonel uygulamada etkinliği bilinen en önemli ajandır (136).

Trakeal stenozda yönetim oldukça karmaşık ve hastaya özgüdür. Aşağıda Agrawal ve ark. tarafından oluşturulan yönetim algoritması Türkçe ye çevrilmiştir (Şekil 21) (95).



Şekil 21: Trakea stenozunda yönetim algoritması.

Ugur EG ve ark. tarafından European Journal of Cardio-Thoracic Surgery 2009;35:429-34'ten alınarak Türkçe ye çevrilen tedavi algoritması daha sade ve akılda kalıcı görünmektedir (Şekil 22) (82).



Şekil 22: Trakeal stenozda tedavi algoritması.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

İnvitro Çalışma:

Akciğer Eksplant Donörleri: Akciğer eksplantlarından elde edilecek primer hücre kültürü için, Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Cerrahisi Kliniğinde tümör, bronşiektazi, tüberküloz, hidatik kist gibi çeşitli nedenlerle lobektomi veya pnömonektomi yapılan hastalar değerlendirildi. Bu çalışmada kullanılan dokular için Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Yerel Etik kurulundan 2019/448 nolu karar ile etik izin alındı. Ameliyathaneden Patoloji Laboratuvarına getirilen akciğer eksplantından hastanın tanısal işlemleri için gerekli doku alındıktan sonra, arta kalan bronş eksplantının tümörsüz kısmından bir miktar alınarak transfer vasatına konuldu ve hızlıca Hücre Kültürü Laboratuvarına getirildi. Araştırma için toplam 10 hastanın bronş eksplantı kullanıldı. İlk 4 hastadan elde edilen dokular üzerinde D-valin in çeşitli konsantrasyonları denenerek diğer 6 hastada uygulanacak D-valin konsantrasyonları bulundu. Hasta sayısı literatür bilgileri ışığında Güç (Power) analizi ile belirlenmiştir.

Hücre Vasatı ve Zenginleştiriciler; Fetal bovine serum (Sigma-Aldrich, ABD), sığır pankreas insülini (Sigma-Aldrich, ABD), hidrokortizon(Stemcell, Kanada), insan transferrin(Sigma-Aldrich, ABD), epidermal büyüme faktörü(Sigma-Aldrich, ABD) ve antibiyotik/antimikotik solüsyonu (Sigma-Aldrich, ABD) medium 199 (HyClone, ABD), RPMI-1640 (Gibco, Amerika Birleşik Devletleri), D-valin(Sigma-Aldrich, ABD)

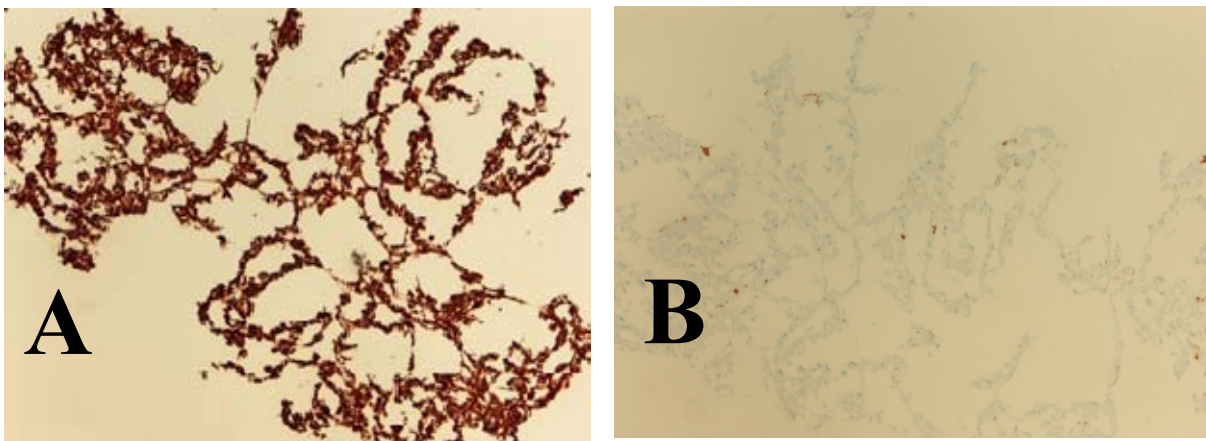
Bronş Epitel Hücrelerin Kültürü: Primer insan bronş epitel hücreleri (BEH) daha önceki çalışmalarda aynı laboratuvarında kullanılan eksplant kültür tekniğiyle elde edildi. Laboratuvara getirilen bronş dokusu diseksiyon mikroskobu altında gözlenerek epitelyum disseke edilerek 1-2 mm³'lük parçalara bölündü. Eksplantlar %2.5 dana buzağı serumu ('fetal calf serum', FCS), %1 sığır pankreas insülini, hidrokortizon, insan transferrin, epidermal büyüme faktörü ve antibiyotik/antimikotik içeren medium 199 vasatı içinde %5 CO₂'li ortamda 37C⁰'de inkübe edildi.

Prolifere olmaya başlayan hücre kültürleri 5 gün sonra %2.5 Nu serum (Becton Dickinson, Türkiye) ve yukarıda belirtilen kimyasalları içeren medium 199 vasatında aynı koşullarda inkübasyona devam edildi. Kültürler buldukları ortamda yeterince çoğalmaya kadar 2-3 hafta süre ile izlenip 2-3 günlük ara ile vasatları değiştirildi (137).

Fibroblast Hücrelerin Kültürü: Bronş kültürü için alınan dokunun üst tabakasından epitel ince bir şekilde alındıktan sonra bir alt tabaka olan bağ dokusundan ince bir kesit dissekiye edildi. Bronş epiteline benzer şekilde eksplantlar %10 dana buzağı serumu ('fetal calf serum', FCS), %1 sığır pankreas insülini, hidrokortizon, insan transferrin, epidermal büyüme faktörü ve antibiyotik/antimikotik içeren RPMI-1640 vasatı (L-valin içermeyen) içinde %5 CO₂'li ortamda 37C⁰'de inkübe edildi. Dokuların tutunabilmesi için ilk 5 gün hücre vasatı değişimi yapılmadı, 5 günden sonra 2-3 günlük ara ile vasatları değiştirildi.

Kültür Edilen Fibroblast Hücrelerin Karakterizasyonu

Laboratuvarımızda uzun yıllardır aynı metod ile epitel kültürü yapılmakta olup daha önce yapılan karakterizasyon çalışmaları bulunmaktadır (138-140). Bu yüzden bu hastalar için tekrardan karakterizasyon değerlendirilmesi yapılmadı. Fibroblast hücreleri kültür edildikten sonra histopatolojik değerlendirme patoloğ tarafından yapıldı. Değerlendirme sonucuna göre incelenen preparatlarda yer yer yumaklar oluşturan fibroblastlar gözlemlendi. Fibroblastlar Vimentin ile pozitif reaksiyon gösterirken (Vimentin x 100) düz kas aktin (SMA) ile negatif reaksiyon gösterdi (Şekil 23).



Şekil 23: Normal fibroblast hücrelerinin A; Vimentin B; düz kas aktin (SMA) ile reaksiyonu.

Çalışmaya katılan ilk 4 hastadan elde edilen epitel ve bağdoku kültürleri üzerinde D-valin in çeşitli dozları denenerek bağ doku üzerine etkili olabilecek ancak epitel doku için lethal olmayan 5 farklı D-valin konsantrasyonu 10,12.5,15,17.5,20 mM olarak belirlendi. Diğer 6 hastanın epitel ve bağ doku kültürleri kontrol grubu D-valin yerine serum fizyolojik vasata eklenerek toplamda her bir hastadan epitel ve bağ dokuda altışar farklı kültüre edilmiş grup oluşturuldu. Aşağıda bir hastadan elde edilmiş epitel ve bağ doku kültürlerinde spektrofotometride okunan değerler görülmektedir. Bu değer ne kadar yüksekse hücre yoğunluğu o kadar fazladır (Tablo 8).

Tablo 8: Bir hastanın epitel ve bağ doku kültürlerinde çeşitli konsantrasyonlar ve SF ile spektrofotometride okunan değerleri.

		D-valin Konsantrasyonları(mM)				
HASTA 1 BAĞDOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20
	0,746	0,62	0,582	0,785	0,549	0,624
	0,85	0,615	0,471	0,475	0,62	0,652
	0,751	0,541	0,795	0,491	0,618	0,599
	0,684	0,758	0,659	0,619	0,536	0,607
	0,494	0,518	0,527	0,65	0,39	0,467
	0,715	0,569	0,55	0,689	0,583	0,496
HASTA 1 EPİTEL DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20
	1,254	1,752	1,114	1,196	1,402	1,052
	1,089	1,135	1,034	0,95	1,045	0,906
	1,242	0,961	1,111	1,108	1,05	0,815
	1,097	1,156	0,847	0,893	0,867	1,064
	1,529	2,008	1,398	1,299	1,756	1,132
	1,27	1,576	1,702	1,099	1,178	0,959

Çalışma Bileşiklerin Hazırlanması: Ticari olarak satın alınan D-valin distile saf su içinde çözülerek serum bulunmayan ('serum free, SF') vasatında 10,12.5,15,17.5,20 mM konsantrasyonlarda deneyler için hazırlandı.

Hücre canlılığının değerlendirilmesi: Her hastanın epitel ve bağ dokusu dokuya ve teknik sebeplere bağlı olarak eş zamanlı kültür edilip çalışılmadı. Bu yüzden her doku kültür edildi ama %70 yayılım gösteren hücreler deneye alındı. Hücre kültürleri 96 kuyucuklu (ml/2000 hücre) platelerde %70-80 oranında yüzeyi kaplar hale geldiklerinde, D-valinin farklı konsantrasyonları (10,12.5,15,17.5,20 mM) ile 24 saat süre ile inkübe edildi. Hücrelerin canlılığı MTT (3- [4,5- dimethylthiazol- 2- yl]- 2,5-diphenyl- tetrazoliumbromide) yöntemi ile değerlendirildi. Kısaca, kültür vasatı 1 mg/ml MTT (Sigma) içeren SF vasatı ile değiştirilerek 37 C de 30 dk süre ile inkübe edildi. Daha sonra MTT solüsyonu dökülüp, hücrelerin üzerine DMSO (Sigma) konuldu. Renkteki değişim kolorometrik bir okuyucu ile (spektrofotometre) 550 nm'de okundu. D-valinin hücrelere göre en uygun proliferatif ve inhibe edici dozları tespit edildi (141).

İstatistiksel Analiz:

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro-wilk testi ile test edilmiş, normal dağılmayan özelliklerin ikiden fazla bağımsız grupta karşılaştırılmasında ise Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Sayısal değişkenler arasındaki korelasyon Spearman korelasyon katsayısı ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 22.0 paket programı kullanılmış ve $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

İnvivo Çalışma:

Çalışma öncesi literatür bilgileri ışığında yapılan Power analizi sonucu 20 (yirmi) adet yetişkin Yeni Zellanda tipi beyaz tavşanın (2 ila 5 kg) çalışmaya katılması planlanmıştır.

Neden Tavşan?

Tavşanlar uzun bir servikal trakeaya sahiptir. Bu nedenle trakeal araştırmalarda kullanıma son derece uygun deney hayvanlarıdır. Ayrıca domuz ve koyun gibi büyük hayvanların aksine daha kolay erişilebilir ve yönetilmesi daha kolay hayvanlardır. Tavşanlar filogenetik olarak primatlara daha yakındırlar. Bu nedenle diğer deney hayvanlarına göre insan genetik çeşitliliğini daha doğru biçimde taklit ederler. Son olarak tavşan trakeal anatomisi insan trakeasına çok benzer (142, 143).

Tavşan Trakea Anatomisi:

Tavşan trakeası yaklaşık 6,5 cm uzunluğunda ve 0,5 cm çapındadır. Önde interkartilajinöz ligamentler ve arkada trakealis kasıyla birbirine bağlanan kıkırdak halkalardan oluşur (Şekil 24). Hem kıkırdak hem de trakealis kası, trakeanın tipik yarı sert, yarı esnek özelliğine katkıda bulunur (144). Hiyalin kıkırdak, yüksek düzeyde organize olmuş kolajen tip I ve II fibrillerinden oluşur. Halkalar fibroelastik bağlarla birbirine bağlanır. Zengin anastomoz yapan bir submukozal kapiller ağa sahiptir (145).



Şekil 24: Tavşan trakea önden görünüşü.

Deney Hayvanlarında Trakeal Stenoz Modeli Oluşturulması:

Hayvan modelinde uzun süreli endotrakeal entübasyonun trakeal stenoza neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir ve bu ideal bir yöntem gibi görünmektedir. Ancak, trakeal stenoz oluşumu için 12 haftaya varan süreler gerekmektedir (146).

Trakeal mukozanın bir indücer yoluyla hasarlanması ile stenoz oluşumu da kullanılan yöntemlerdendir. Bu yöntemde hayvana trakeostomi açılarak veya bronkoskopik olarak bir çeşit fırça yoluyla mukozaya hasarlanır ve ilerleyen günlerde stenoz gözlenir (Şekil 25) (147).



Şekil 25: Bronkoskopik olarak mukozal hasarlamada kullanılan fırça.

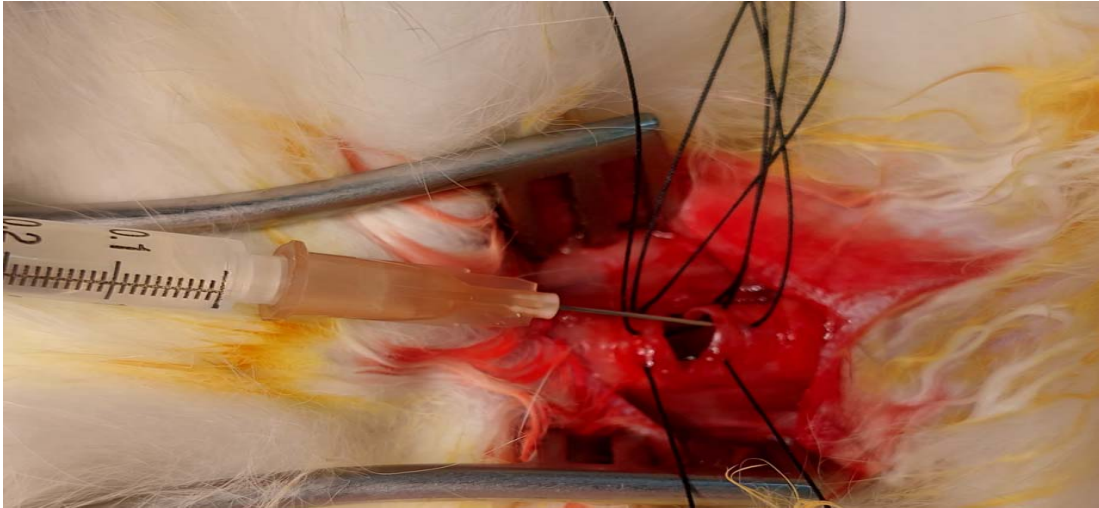
Hayvanlarda trakeostomi açılması ve konulan süturların yabancı cisim etkisi ile granülasyon dokusu oluşturulması kullanılan başka bir yöntemdir. Çalışmamızda tek seferde uygulanması, tekrarlayan bronkoskopik girişimler gerektirmemesi nedeniyle bu yöntem uygulanmıştır (148).

Bronkoskopik olarak lazer ya da elektrokoterle mukozada termal abrazyon oluşturarak da stenoz bildirilen hayvan modelleri bulunmaktadır. Bu modellemeler köpek gibi daha büyük hayvanlar için uygundur (149, 150).

Trakeal stenoz modeli oluşturulmuş çalışmalarda stenoz oluşma süresi 9-42 gün, stenoz indeksi ise %22-%97 arasında değişen oranlarda gözlenmektedir (146, 149-151).

Çalışmada toplam 20 tavşan randomize 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu, ikinci grup serum fizyolojik (SF) uygulama grubu, üçüncü grup lokal steroid (Deksametazon 2mg) uygulama grubu, dördüncü grup D-Valin uygulama grubu olmak üzere, her grupta 5 tavşan yer aldı (152).Deksametazon piyasada bulunan ticari ampul formu(Dekort 2 ml/8 mg) kullanılarak ve D-Valin serum fizyolojik içinde çözdürülerek tüm gruplarda toplam 0,5 ml hacimde olacak şekilde 22 gauge siyah uçlu insülin enjektörü yardımı ile uygulandı.

Serum fizyolojik, deksametazon ve D-valin cerrahi sırasında tek seferde submukozal sütün hattının bir alt ve bir üst kıkırdak halkasına uzanacak şekilde enjeksiyon yapılarak uygulandı (Şekil 26).



Şekil 26: Cerrahi sırasında tek seferde serum fizyolojik, deksametazon ve D-valin submukozal enjeksiyonu.

Cerrahi teknik:

Trakeal stenozu indüklemek amacıyla standart bir cerrahi prodesür uygulandı. İşlem ketamin(10 mg/kg) ve ksilazin(3 mg/kg) intramusküler uygulanması ile indüklenen sedoanaljezi altında yapıldı (153). İşlem sırasında ek doz ihtiyacı olduğunda 10 mg/kg ketamin ve 1 mg/kg ksilazin verildi. 4 hayvanda ek doz ihtiyacı oldu. Tüm hayvanların işlem boyunca spontan solunumu devam etti. Anestezi uygulanmış hayvanlar boyun uzatılarak sırt üstü yatırıldı, ön boyunları traş edildikten sonra cilt ve cilt altı dokuları orta hat boyunca pretrakeal fasya derinliğine kadar 10 ml %2 lik lidokain enjekte edilerek lokal anestezi de uygulandı (Şekil 27).



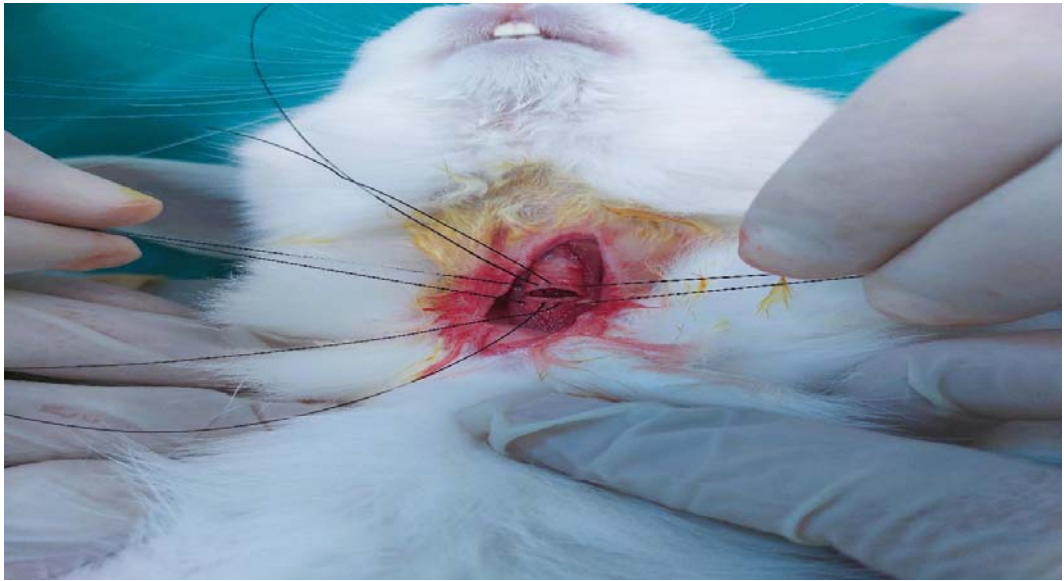
Şekil 27: Sedoanaljezi altında hayvanlar sırt üstü yatırılarak boyun ekstansiyonda pozisyon.

Aseptik koşullar kullanılarak Tiroid kıkırdak seviyesinden sternumun yaklaşık 1 cm üstüne kadar orta hat vertikal cilt insizyonu yapıldı, strap kaslar korunarak künt diseksiyonlar yardımı ile trakea ortaya kondu. Ardından 3-4. kıkırdak halkalar arasından interkartilaginöz kesi ile trakea ön duvarı tam kat kesilerek açıldı (Şekil 28).



Şekil 28: Trakea tüm hayvanlarda 3-4. kıkırdak halkalar arasından kesilerek açıldı.

Trakeal kesi 2/0 ipek süturlarla tüm hayvanlarda aynı yöntemle dört adet tek tek suture konularak kapatıldı (Şekil 29). İpek süturların yabancı cisim reaksiyonu ile inflamasyon ve fibrozisi artırması planlandı.



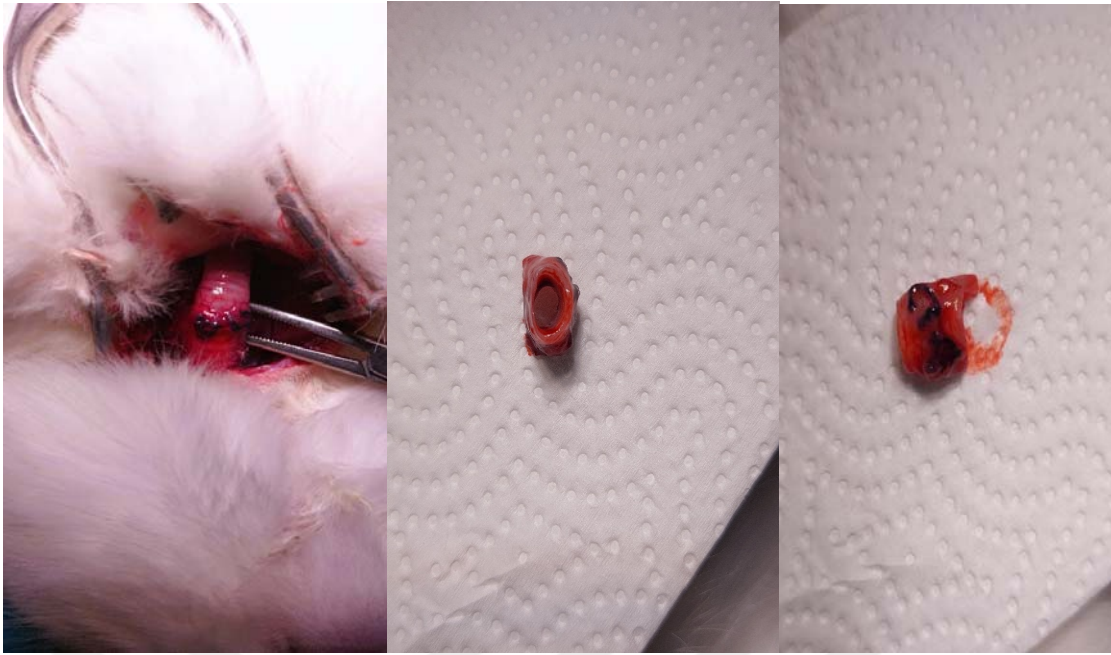
Şekil 29: Tüm hayvanlarda aynı teknikle dört adet tek tek ipek süturlar atılarak açılan trakea kapatıldı.

D-valin, deksametazon ve SF gruplarına süturlar kapatılmadan hemen önce submukozal enjeksiyon yapıldı ve trakea kapatıldı. Cilt altı 3/0 vycril ve cilt kesisi 3/0 prolene sturler ile kapatıldı (ekil 30). Gece boyu sadece sıvı beslemenin ardından 24 saat içinde tüm hayvanların normal diyete geçmesi sağlandı. Prosedür her tavşan için tekrarlandı.



Şekil 30: Tüm hayvanlarda cilt 3/0 prolene süturlarla kapatıldı.

Çalışmaya ilk olarak kontrol grubunda bulunan 5 hayvan ile başlandı. Yukarıda anlatılan cerrahi prosedür uygulandı. Postoperatif 10. günde kontrol grubunda bulunan 5 hayvandan biri aşırı doz intravenöz pentobarbital (marginal kulak veni yoluyla 100 mg/kg) verilerek sakrifiye edildi (154). Kesilip tekrar dikilerek kapatılan kıkırdak halkaları histopatolojik olarak incelendi ve inflamasyon ve fibrozisin olduğu, submukozal kalınlaşmanın olduğu gözlendi. Deneyin 15. günde sonlandırılması planladı (ekil 31). 15. gün kontrol grubunda bulunan diğer hayvanlar aynı yöntemle sakrifiye edildi ve sütüre edilmiş trakeal halkalar çıkarılarak histopatolojik olarak incelendi.



Şekil 31: Kontrol grubunda postoperatif 15. günde trakeanın makroskopik görünümü.

Takip eden günlerde SF, Deksametazon ve D-valin grubunda aynı cerrahi yöntem ile stenoz gelişmesi indüklendi. Bu gruplarda cerrahi bitiminde SF, deksametazon ve D-valin çözeltisi submukozal enjeksiyon yapılarak uygulandı.

Deksametazon 2 mg (0,5 ml), D-valin 20 mM (0,5 ml) ve serum fizyolojik 0,5 ml verilerek tüm gruplarda eşit hacimde enjeksiyon yapılması sağlandı. Deksametazon etkinliği bilinen sistemik dozda, D-valin, invitro çalışma sırasında hücre kültüründe belirlenen epitel dokuya zarar vermeyen, ancak bağ dokuda fibroblast üretimini kısıtlayan en yüksek konsantrasyonda uygulandı. 15. günde tüm gruplar aşırı doz (100 mg/kg) pentobarbital marginal kulak veni yoluyla verilerek sakrifiye edildi. Sütüre edilmiş trakeal halkalar postmortem çıkarılarak histopatolojik olarak incelendi.

Histopatolojik İnceleme:

Tüm örnekler %10 tamponlu formalin solüsyonunda fikse edilerek patoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Parafine gömülen trakea dokuları mikrotom yardımı ile 5 milimikron kalınlığında kesitlere alındı. Kesitler Hemotoksilen eozin ve masson trikrom ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında incelendi ve fibroproliferatif doku (kolajen lifleri ve fibroblastlar) ve enflamatuar hücreler (nötrofiller, lenfositler, monositler, plazma hücreleri) gözlemlenerek yarı niceliksel olarak derecelendirilme sağlandı. Işık mikroskobu altında 10 luk ve 40 lık büyütmede submukozal kalınlık ölçümü yapıldı, fibroblast ve enflamatuar hücrelerin yüzdesi bakıldı.

İstatistiksel Analiz: Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro-wilk testi ile test edilmiştir. Verilerin 4 grupta karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 22.0 paket programı kullanılmış ve $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

İnvitro Çalışma:

Çalışmamıza katılan 10 hastadan ilk dördünde standardizasyonu sağlamak adına çeşitli dozlar denenerek 10, 12,5, 15, 17,5, 20 mM olmak üzere beş farklı D- valin konsantrasyonu bulundu. Diğer 6 hastanın doku örnekleri bulunan bu beş doz ve serum fizyolojik verilerek her birinden epitel ve bağ dokuda altışar farklı kültür grubu oluşturuldu. Her bir hastanın epitel ve bağ doku kültürlerinin spektrofotometri ile hücre yoğunlukları ölçüldü (Tablo 9).

Tablo 9: 6 Hastanın epitel ve bağı dokularının çeşitli D-valin dozları ve SF ile kültüre edilmesi sonrası spektrofotometride okunan değerleri.

HASTA 1 EPİTEL DOKU	D-valin konsantrasyonları(mM)						20	D-valin konsantrasyonları(mM)						20
	SF	10	12,5	15	17,5	20		SF	10	12,5	15	17,5	20	
	1254	1,752	1,114	1,196	1,402	1,052		0,746	0,62	0,582	0,785	0,549	0,624	
	1089	1,135	1,034	0,95	1,045	0,906		0,85	0,615	0,471	0,405	0,62	0,652	
	1242	0,961	1,111	1,108	1,05	0,815		0,751	0,541	0,795	0,491	0,518	0,599	
	1097	1,156	0,847	0,893	0,867	1,064		0,684	0,798	0,699	0,619	0,536	0,607	
	1529	2,008	1,398	1,299	1,756	1,132		0,494	0,518	0,527	0,65	0,39	0,467	
	1,27	1,576	1,702	1,099	1,78	0,959		0,715	0,568	0,95	0,689	0,583	0,496	
HASTA 2 EPİTEL DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	HASTA 2 BAĞ DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	
	0,92	0,89	0,634	1,322	0,911	0,572		1,293	1,049	1,33	1,207	1,222	1,348	
	1144	1,508	0,776	1,114	0,577	0,726		1,372	1,285	1,396	1,26	1,207	1,22	
	0805	1,038	0,867	0,674	0,673	0,591		1,388	1,16	1,439	1,125	1,02	1,245	
	1046	0,872	0,522	0,557	0,49	0,489		1,129	1,336	1,303	1,367	1,248	1,413	
	0922	1,376	1,301	0,711	0,766	0,63		1,158	1,169	1,302	1,039	1,271	1,368	
	0841	0,737	0,752	1,034	0,643	0,788		1,461	1,233	1,067	1,172	0,967	1,308	
HASTA 3 EPİTEL DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	HASTA 3 BAĞ DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	
	2059	1,641	1,833	1,7	1,475	1,306		0,86	0,767	0,693	0,617	0,326	0,558	
	2077	1,139	1,911	1,359	1,618	1,156		0,792	0,64	0,626	0,656	0,56	0,539	
	2274	1,712	1,533	1,545	1,796	1,232		0,632	0,652	0,611	0,612	0,507	0,543	
	2085	1,733	1,645	1,628	1,664	1,775		0,725	0,711	0,642	0,629	0,546	0,557	
	2054	2,026	1,942	1,835	1,895	1,661		0,838	0,637	0,751	0,694	0,514	0,579	
	2017	1,839	2,013	1,436	1,74	1,409		0,656	0,607	0,611	0,615	0,525	0,488	
HASTA 4 EPİTEL DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	HASTA 4 BAĞ DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	
	0048	0,936	0,619	0,421	0,571	0,719		1,226	1,032	0,667	0,833	0,564	0,764	
	0049	0,698	0,743	0,574	0,883	0,636		0,972	1,85	0,824	0,666	1,119	1,049	
	0049	0,904	0,835	0,935	0,721	0,786		0,901	1,146	0,862	1,059	1,063	0,72	
	0056	0,644	0,688	1,026	0,613	1,004		0,756	1,13	0,705	0,726	0,714	0,719	
	0049	0,721	0,883	0,957	0,757	0,931		1,031	1,86	0,645	0,58	0,396	0,759	
	0051	0,881	0,773	0,738	0,452	1,224		0,425	0,411	0,783	0,337	1,392	0,914	
HASTA 5 EPİTEL DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	HASTA 5 BAĞ DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	
	0048	0,588	0,599	0,676	0,846	0,611		1,279	1,071	0,857	0,99	0,305	0,842	
	0049	0,648	0,739	0,759	0,692	0,816		1,398	1,213	1,028	0,579	1,188	1,19	
	0049	0,997	0,64	1,007	0,832	0,759		1,532	2,027	1,531	1,636	1,435	1,016	
	0056	0,697	0,745	0,774	0,739	0,467		1,198	1,104	1,279	1,235	1,384	1,001	
	0049	0,733	0,725	0,751	0,455	0,784		1,135	1,974	1,115	1,319	1,537	1,112	
	0051	0,536	0,673	0,535	0,573	0,593		1,506	1,473	1,362	1,59	1,389	1,376	
HASTA 6 EPİTEL DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	HASTA 6 BAĞ DOKU	SF	10	12,5	15	17,5	20	
	1,05	1,106	1,052	0,997	0,843	0,357		0,818	0,579	0,758	0,683	0,503	0,66	
	1105	1,035	1,542	0,92	1,28	0,356		0,671	0,656	0,598	0,572	0,588	0,68	
	0807	1,081	0,937	0,746	0,804	1,148		0,632	0,587	0,628	0,587	0,572	0,515	
	0921	0,699	1,408	1,19	1,429	0,347		0,651	0,565	0,802	0,711	0,512	0,546	
	1185	1,568	1,365	0,985	1,304	0,353		0,669	0,805	0,675	0,589	0,566	0,619	
	0876	0,64	0,65	0,327	0,282	0,391		0,682	0,659	0,628	0,519	0,487	1,175	

Bağ doku ve epitel doku değerleri bakımından konsantrasyonlar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi (sırasıyla $P=0,326$, $P=0,214$) (Tablo 10).

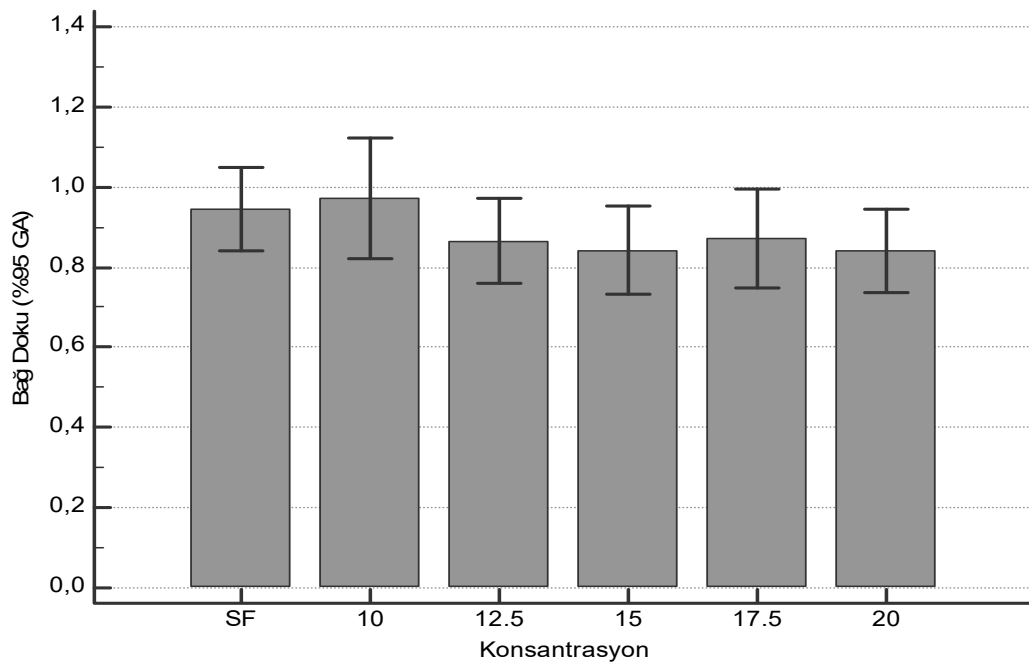
Tablo 10: SF ve 5 farklı D-valin konsantrasyonunda spektrofotometride okunan ortalama değerler.

Konsantrasyonlar	Bağ doku	Epitel doku
	Ortalama \pm SD	Ortalama \pm SD
SF (n=36)	0,95 \pm 0,31	0,9 \pm 0,72
10 (n=36)	0,97 \pm 0,44	1,15 \pm 0,47
12.5 (n=36)	0,87 \pm 0,31	1,07 \pm 0,45
15 (n=36)	0,84 \pm 0,32	0,99 \pm 0,36
17.5 (n=36)	0,87 \pm 0,36	1 \pm 0,46
20 (n=36)	0,84 \pm 0,31	0,85 \pm 0,36
	$P=0,326$	$P=0,214$

*0,05 düzeyinde anlamlı; Kruskal Wallis testi.

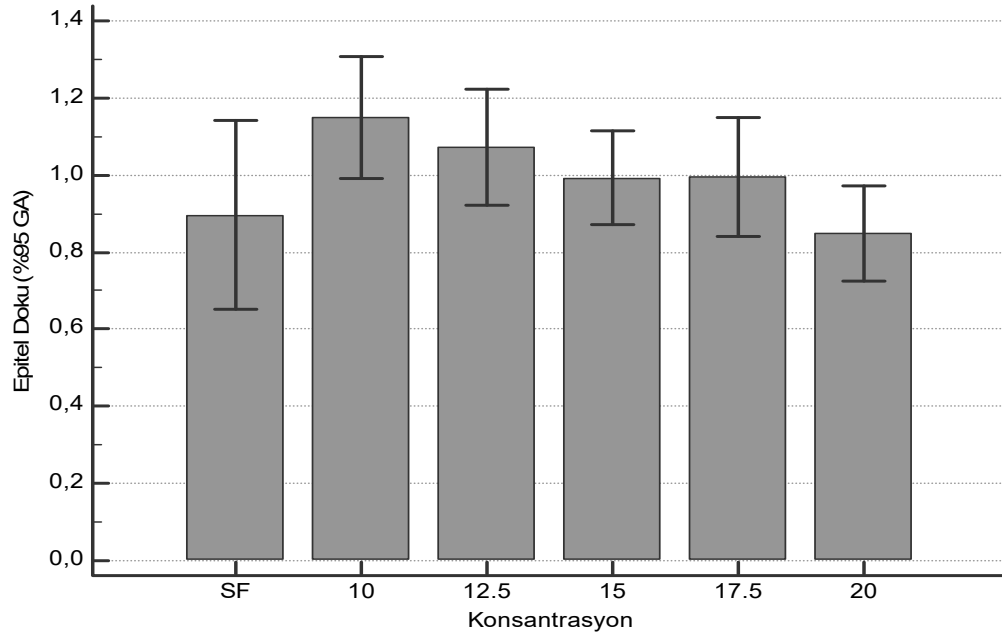
Bağ doku hücre yoğunluğu ile SF ve D-valin konsantrasyonları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 11).

Tablo 11: Bağ doku yoğunluğu ile D-valin konsantrasyonları arasındaki ilişki.



Epitel doku hücre yoğunluğu ile D-valin konsantrasyonları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (Tablo 12).

Tablo 12: Epitel doku hücre yoğunluğu ile D-valin konsantrasyonları arası ilişki.

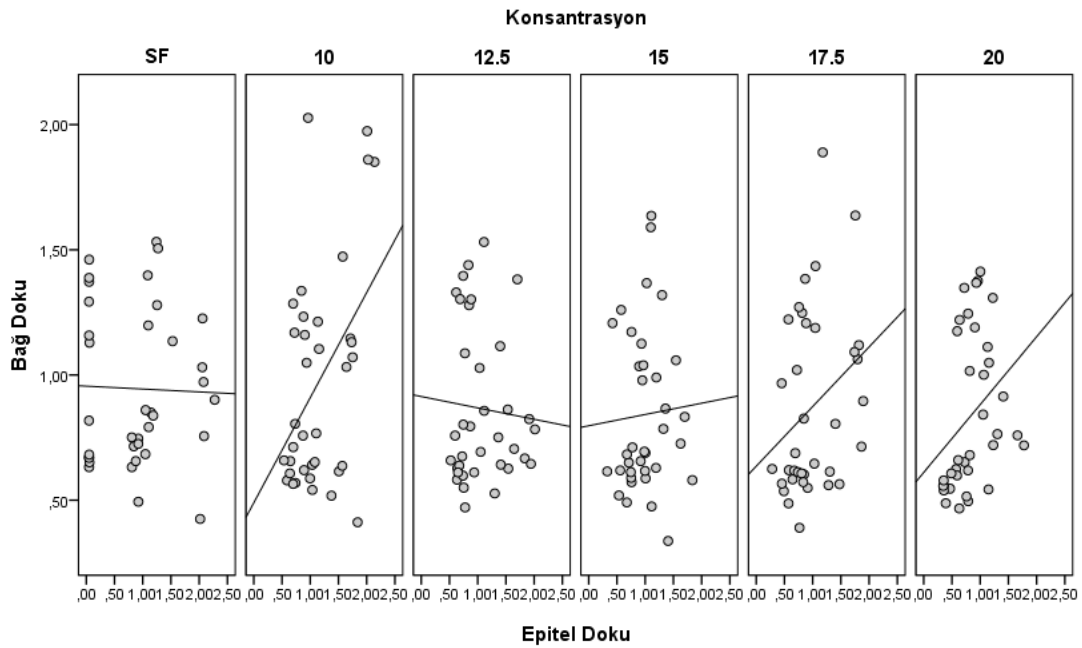


20 mM D-valin konsantrasyonunda, Bağ doku ile epitel doku miktarları arasında pozitif yönde orta şiddette anlamlı korelasyon saptandı ($r=0,494$, $P=0,002$) (Tablo 13,14).

Tablo 13: Farklı konsantrasyonlarda epitel doku ve bağ doku miktarları arasındaki korelasyonlar

Konsantrasyon			Epitel Doku
SF	Bağ Doku	r	0,158
		p	0,357
10	Bağ Doku	r	0,275
		p	0,104
12.5	Bağ Doku	r	0,115
		p	0,505
15	Bağ Doku	r	0,149
		p	0,386
17.5	Bağ Doku	r	0,312
		p	0,064
20	Bağ Doku	r	0,494*
		p	0,002

*0,05 düzeyinde anlamlı, r:Spearman rank korelasyon katsayısı.

Tablo 14: Korelasyon analizi grafikleri.**İnvivo Çalışma:**

Çalışmaya toplam 20 adet beyaz Yeni Zelanda tipi erişkin erkek tavşan dahil edildi. Tavşanlar 2,2 ila 3,1 kilogram (kg) ağırlığında olup ortalama ağırlıkları 2,61 kg'dır. Dekametazon grubunda bir tavşan henüz deneye dahil edilmeden exitus olup çalışmadan çıkarılmak zorunda kaldı. Kontrol grubunda bir tavşan 10. günde sakrifiye edilerek histopatolojik olarak trakeası incelendi. Submukozal kalınlaşma ve granülasyon dokusu izlendi. Deneyin her grup için 15 gün olmasına karar verildi. Kontrol grubunda bir hayvan postoperatif 14. günde ex oldu. Postmortem yapılan incelemede derin boyun enfeksiyonu ve mediastinit nedeniyle exitus görüldü. Ancak 15. gün zaten sakrifiye edileceği için çalışmadan çıkarılmadı. Submukozal kalınlıklara bakıldığında en yüksek değerler ortalama $1,08 \pm 0,44$ mm ile SF uygulama grubunda gözlemlendi. En az submukozal kalınlığa sahip grup ise ortalama $0,28 \pm 0,08$ mm ile kontrol grubu oldu (Tablo 15).

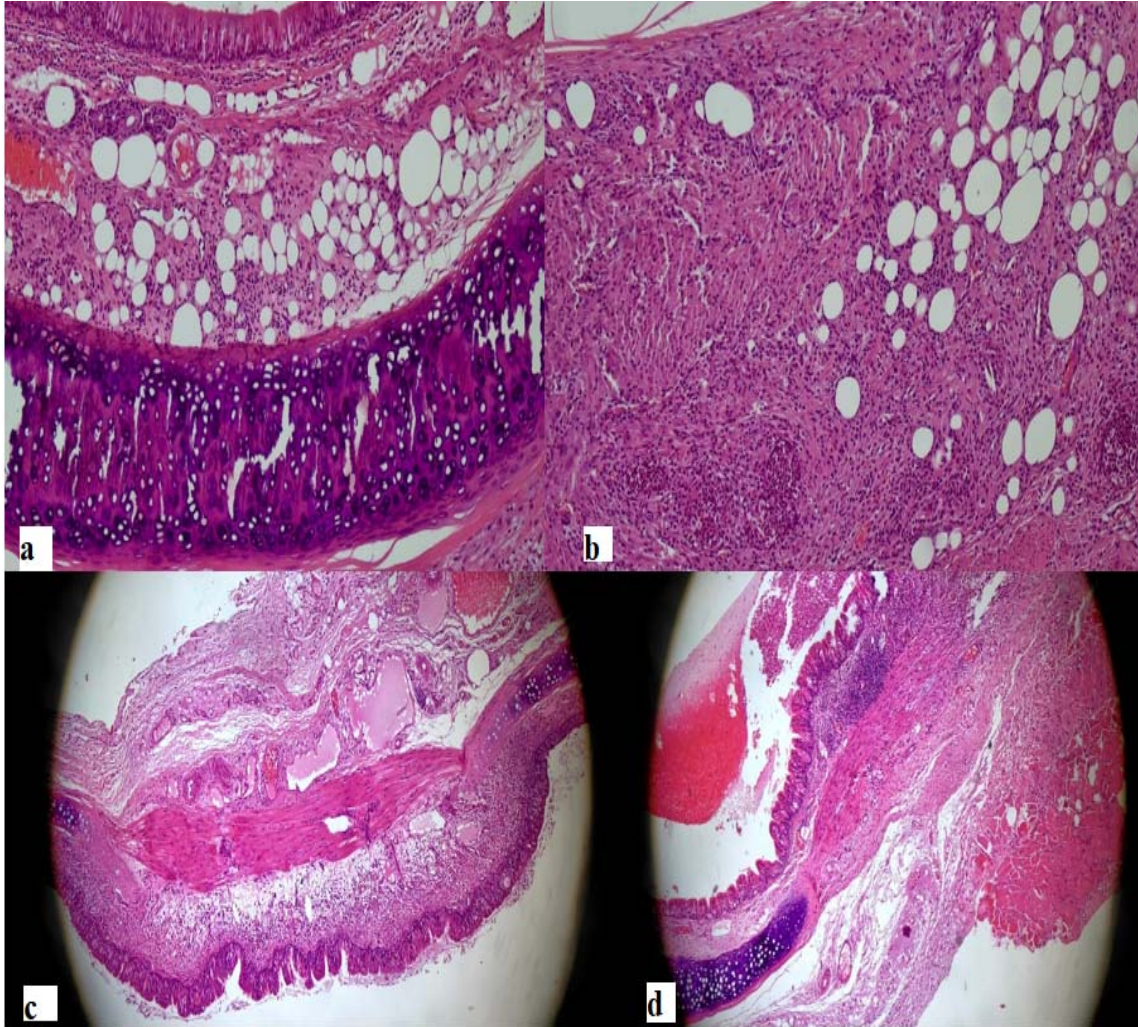
Aşağıda histopatolojik incelemede ışık mikroskobu altında x40 ve x100 büyütmede örnek görüntüler bulunmaktadır.

Şekli 32/a: Yüzeyde epiteli de infiltre eden kartilaj tabakasına kadar ilerlemiş orta şiddette karışık tipte inflamatuvar hücre infiltrasyonu (x100 H&E).

Şekil 32/b: Mikroapse odakları ile karakterize şiddetli karışık tipte inflamatuvar hücre infiltrasyonunun eşlik ettiği yabancı cisim tipi dev hücre reaksiyonu (x100 H&E).

Şekil 32/c: Yüzey epitelinden başlayıp yer yer kas tabakasını aşmış transmurall kalınlaşmaya sebep olan karışık tipte inflamatuvar hücre infiltrasyonu (x40 H&E).

Şekil 32/d: Mukozada ülserasyona sebep olan özellikle yüzey epiteli altında yoğunlaşmış karışık tipte inflamatuvar hücre infiltrasyonu (x40 H&E).



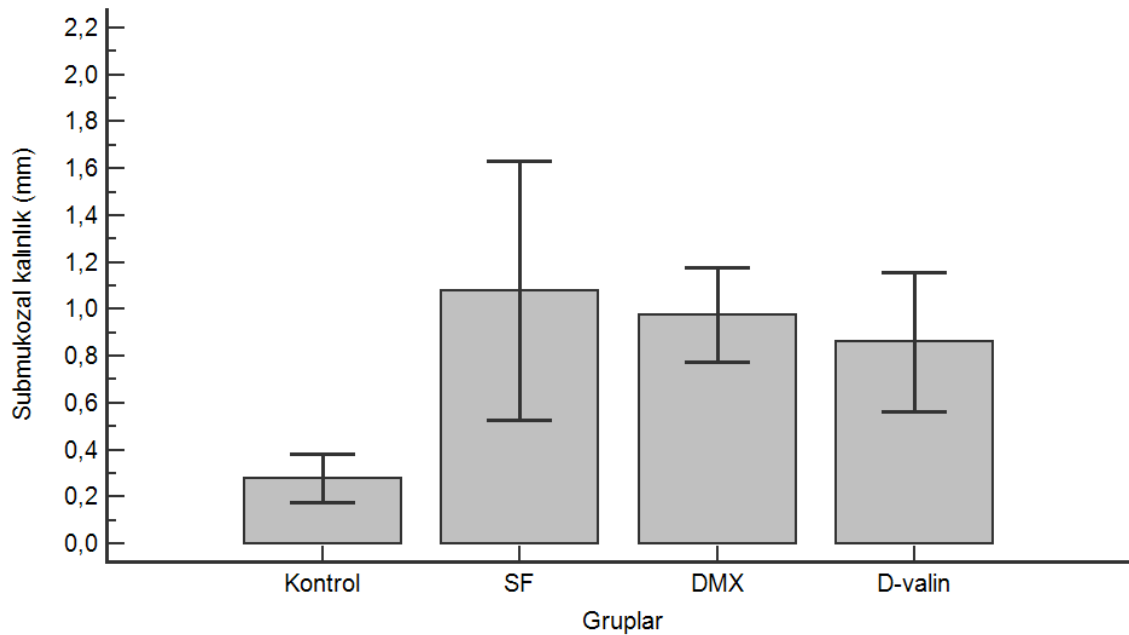
Şekil 32: Histopatolojik görüntüler.

Tablo 15: Gruplar arası submukozal kalınlıkların analizleri.

Gruplar	Submukozal kalınlık(mm) (Ortalama±SS)	Dunn çoklu karşılaştırma testi		
		SF	DMX	D-valin
Kontrol (n=5)	0,28 ± 0,08	0,004*	0,006*	0,022*
SF (n=5)	1,08 ± 0,44		0,989	0,534
DMX (n=4)	0,98 ± 0,13			0,566
D-valin (n=5)	0,86 ± 0,24			
	P=0,011*			

SS: Standart sapma, *0,05 düzeyinde anlamlı; Kruskal Wallis ve Dunn çoklu karşılaştırma testi.

Submukozal kalınlık açısından karşılaştırıldığında kontrol grubu diğer gruplardan daha ince olduğu görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diğer üç grubun ise kendi aralarında submukozal kalınlık bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (Tablo 16).

Tablo 16: Gruplar arası submukozal kalınlıkların karşılaştırılması.

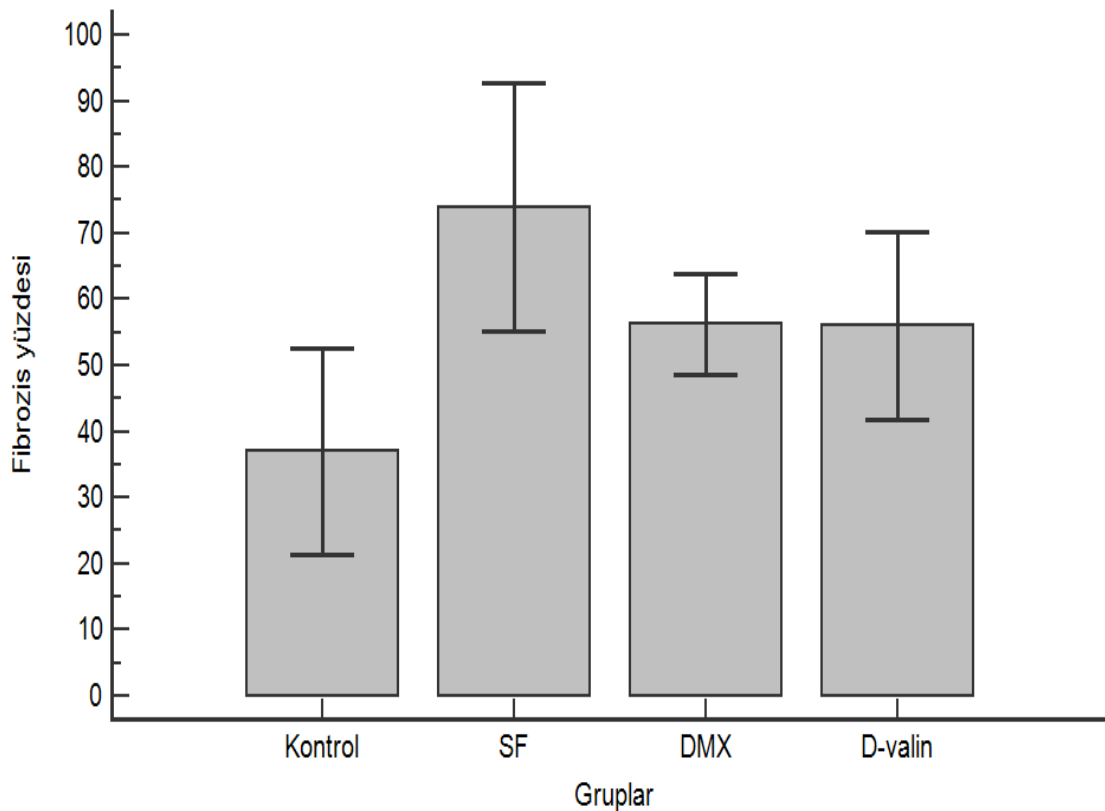
Fibrosis yüzdelerine bakıldığında en fazla fibrosis ve inflamasyon %74 ± 15,17 ile SF grubunda izlendi. En düşük fibrosis yüzdesi ise %37 ± 12,55 ile kontrol grubunda izlendi. Gruplar arası fibrosis yüzdesine bakıldığında kontrol grubu ve SF uygulama grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup kontrol grubunda fibrosis yüzdesi daha düşüktü (Tablo 17).

Tablo 17: Gruplar arası fibrozis yüzdelerinin analizleri.

Gruplar	Fibrozis yüzdesi (Ortalama±SS)			
Kontrol (n=5)	37 ± 12,55	0,001*	0,056	0,057
SF (n=5)	74 ± 15,17		0,204	0,140
DMX (n=4)	56,25 ± 4,79			0,904
D-valin (n=5)	56 ± 11,4			
	P=0,009*			

SS: Standart sapma, *0,05 düzeyinde anlamlı; Kruskal Wallis ve Dunn çoklu karşılaştırma testi.

Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak kontrol grubu-DMX grubu arasında $p=0,056$ ve kontrol-D-valin grubu arasında $p=0,057$ bulundu (Tablo 18).

Tablo 18: Gruplar arası fibrozis yüzdelerinin karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Post entübasyon trakea stenozu; benign stenozlar içerisinde en çok rastlanan stenoz şeklidir(155). Hastanın günlük yaşamını ciddi şekilde etkileyen, işlevselliğini bozan, ilerleyici, bazen ölüme kadar gidebilen bir bozukluktur. Etiyopatogeneizde en çok kronik inflamasyon ve fibrozisin rol oynadığı düşünülmektedir (156). Bu nedenle tedavisinde ya da önlenmesinde inflamasyon ve fibrozisin baskılanması fikri ön plana çıkmaktadır.

PETS yönetimi oldukça karmaşıktır (157). Tedavide altın standart cerrahidir. Ancak uygun hasta seçimi çok önemlidir. Hastaların önemli bir bölümü cerrahi olamamakta veya cerrahi istememektedir. Bronkoskopik yöntemler de etkili görünse de; tekrarlayan hastane yatışları, çoğu zaman sık tekrarlanan bronkoskopi gerekliliği, kesin çözümün belirsizliği nedeniyle hastalar için hem tedaviye uyum zor olmakta hem de yaşam kalitesini oldukça etkilemektedir.

Sistemik yada lokal etkili çeşitli ilaçlar denenmiş olup, başarılı olunduğunu bildiren az sayıda çalışma da bulunmaktadır. Bu çalışmaların sayısı arttıkça tedavide yeni ufuklar açılacaktır.

D-valin invitro ortamda uzun yıllardır kullanılan bir ajandır(21). İnvitro koşullarda uygun ortamda fibroblastlar hızla çoğalmakta ve baskın hücreler haline gelmektedir. Ortamda D-valin bulunması fibroblast aktivitesi ve çoğalmasını baskılamakta, böylece ortamda primer çoğalması istenen hücrelere daha elverişli çoğalma imkanı sağlanmaktadır(158, 159).

Solunum epiteli üzerine D-valin le yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. İnvitro koşullarda D-valin bulunan ortamda epitel hücreleri güvenle izole edilebilmektedir (160). Çalışmamızda literatür bilgileriyle uyumsuz olarak D-valin in fibroblastlar üzerine etkisinin olduğu konsantrasyonlarda epitel hücrelerini de baskıladığını bulduk.

İnvitro koşullarda D-valin in fibrozisi etkilediği konsantrasyonlarda epitel de etkilenmiş görünse de invivo koşullarda fibrozisin nasıl etkilendiğini görmek üzere çalışmada hayvan modellemesi oluşturuldu.

Trakeal stenozda fibrozisin hangi genetik mutasyonlar sonucu olduğu bilinmemektedir. Çalışmamızda ekonomik nedenlerle genetik mutasyonlara bakılmadı.

Tavşanlar uzun bir servikal trakeaya sahiptir. Bu nedenle trakeal araştırmalarda kullanıma son derece uygun deney hayvanlarıdır. Ayrıca domuz ve koyun gibi büyük hayvanların aksine daha kolay erişilebilir ve yönetilmesi daha kolay hayvanlardır. Tavşanlar filogenetik olarak primatlara daha yakındırlar. Bu nedenle diğler deney hayvanlarına göre insan genetik çeşitliliğini daha doğru biçimde taklit ederler. Son olarak tavşan trakeal anatomisi insan trakeasına çok benzer (142, 143). Bu nedenlerle çalışmamızda tavşan modellemesi kullanılmıştır. Koyun, köpek gibi daha büyük hayvanlarla çalışılarak daha kolay gözlem ve daha uzun süreler postoperatif izlem imkanı sağlanabilir.

Deney hayvanlarında uzun yıllardır uygulanan çeşitli trakeal stenoz modellemeleri bulunmaktadır(148, 161). Çalışmamızda trakeostomi açılması ve konulan süturların yabancı cisim etkisi ile granülasyon dokusu oluşturulması modeli kullanıldı. Tek seferde uygulanması, tekrarlayan bronkoskopik girişimler gerektirmemesi, lokal ilaç uygulanmasına olanak sağlaması nedeniyle bu yöntem uygulandı. Postoperatif yara bakımı gerekliliği, uygun asepsi koşullarının sağlanması, enfeksiyona açık olması, süturlara karşı alerjik reaksiyon, cerrahın uygulama tecrübesi gibi nedenler bu modellemenin kısıtlılıklarıdır. Çalışmamızda postoperatif kontrol grubunda bir hayvan 14. günde muhtemel sütün yetmezliği sonrası derin boyun enfeksiyonu ve mediastinit nedeniyle exitus oldu. Entübe bekletme veya bronkoskopik çeşitli abrazyon yöntemleri ile stenoz oluşturma modelleri tekrarlayan uygulama gerekliliği ve uzun süreli takip ihtiyacı nedeniyle köpek, koyun gibi daha büyük hayvanlarda uygulanabilir. Çalışmamızda tavşan kullanıldığı için bu modeller tercih edilmedi.

Trakeal stenoz modeli oluşturulmuş çalışmalarda stenoz oluşma süresi 9-42 gün, stenoz indeksi ise %22-%97 arasında değışen oranlarda gözlenmektedir(149, 151, 162). Çalışmamızda 15. günde %20-%90 arası değışen oranlarda inflamasyon ve fibrozis yüzdesi elde ettik. Postoperatif bekleme süresi uzatılarak daha yüksek fibrozis oranları ve daha yüksek stenoz indeksi oranları elde etmek mümkün olabilir.

İntralezyonel yada bronkoskopik olarak lezyon üzerine topikal ilaç uygulamaları üzerine literatürde çalışmalarda bulunmaktadır (131, 132, 136, 163). Mitomycin C bu konuda bilinen etkinliği kanıtlanmış en önemli ajandır (164).

Ancak sistemik ve lokal yan etkileri ve piyasada temin zorluğu nedeniyle yaygın kullanıma geçilememektedir. Çalışmamızda Mitomycin C yi piyasadandan temin edemediğimiz için kullanamadık.

Topikal ve intralezyonel steroid uygulamaları üzerine başarı bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmamızda hem uzun etkisi, hem de inflamasyon ve fibrozis üzerine etkisi bilinen deksametazonu kullandık.

Trakeal stenozda submukozal kalınlığın fibrozis derecesi ve inflamasyonun şiddetine bağlı olarak arttığı bilinmektedir(165). Çalışmamızda submukozal kalınlık açısından karşılaştırıldığında kontrol grubu SF,deksametazon ve D-valin grubuyla anlamlı olarak farklı bulundu. Ancak bu fark literatürün tam tersine kontrol grubunda submukozal kalınlığın daha az olması lehinedir. Enjeksiyon yapılan gruplarda ise kendi aralarında bakıldığında deksametazon ve D-valin uygulama grubunda göreceli olarak SF uygulama grubuna göre submukozal kalınlık daha az olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,989$ ve $p=0,584$). Diğer gruplarda submukozal kalınlığın daha fazla olması, enjeksiyona ve submukozal alana verilen sıvı volümünün lokal hasar oluşturmaya bağlı olabilir.

İnflamasyon ve fibrozis oranı ne kadar yüksek ise stenoz indeksi o kadar yüksek olmakta ve trakea lümeni o kadar daralmaktadır. Gruplar arası fibrozis oranlarına bakıldığında kontrol grubu ve SF uygulama grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup kontrol grubunda fibrozis oranı daha düşüktür. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak kontrol grubu-Dmx grubu arasında $p=0,056$ ve kontrol-D-valin grubu arasında $p=0,057$ bulunmuştur. Bu p değerleri çalışmada daha çok hayvan olması durumunda $p<0,05$ olarak istatistiksel olarak anlamlı farka ulaşılabileceği yönünde yorumlanabilir.

Submukozal kalınlıkta olduğu gibi inflamasyon ve fibrozis oranında da beklenenin tersine enjeksiyon yapılan tüm gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek reaksiyon gözlemlendi. Bu durum enjeksiyonun oluşturduğu lokal hasara ve submukozal alana verilen sıvı volümüne bağlı olabilir.

6. SONUÇ

Yaptığımız bu çalışmada, D-valin in invitro koşullarda yüksek konsantrasyonlarda fibroblast hücrelerini baskıladı; ancak aynı zamanda epitel hücrelerinin de çoğalmasına engel olduğu görüldü. İnsanlardan elde edilen dokularla primer hücre kültürü yapılmış olması ve canlı insan hücreleri üzerine etkilerinin görülmesi açısından çalışma önem arz etmektedir. D-valin in yüksek konsantrasyonlarda hem fibroblast hücrelerini, hem de epitel hücrelerini baskıladı, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

İnvivo koşullarda ise kontrol grubunda submukozal kalınlık açısından bakıldığında SF, deksametazon ve D-valin grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu. Ancak bu fark beklenen etkinin tam tersine kontrol grubunda kalınlığın daha az olması yönündedir.

Fibrozis oranlarına bakıldığında kontrol grubu SF grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulundu. Ancak bu fark beklenenin aksine kontrol grubunda fibrozis oranının da daha az olması yönündedir. Deksametazon-kontrol grubu arasında fibrozis oranları açısından $p=0,056$ ve D-valin-kontrol grubu arasında $p=0,057$ dir.

Sonuç olarak bu çalışma trakeal stenozun hem invitro hem invivo koşullarda araştırıldığı ve D-valin in bu amaçla denendiği ilk çalışma olmasıyla literatürde özgün bir yer kazanacaktır. Çalışmamız trakeal stenoz gibi kişinin günlük yaşam kalitesini önemli ölçüde bozan, hatta hayatını tehlikeye sokan bir patolojinin daha çok incelenmesi ve tedavisi üzerine yeni çalışmalar yapılması yönünde yol gösterici olabilecektir.

İleri çalışmalarda invitro koşullarda fibrozis üzerine etkisi olduğu düşünülen daha fazla ajan denenerek ve farklı doz aralıkları kullanılarak, invivo koşullarda hayvan sayısı artırılarak ve daha büyük hayvanlar kullanılarak çalışmamızın geniş ölçekli boyutlarda yapılması literatüre daha fazla katkı sağlayacak ve tedavi yönünde yeni ufuklar açacaktır.

7. KAYNAKLAR

- 1.Macewen W. Clinical observations on the introduction of tracheal tubes by the mouth, instead of performing tracheotomy or laryngotomy. *British medical journal*. 1880;2:163.
- 2.Dane T, King E. A prospective study of complications after tracheostomy for assisted ventilation. *Chest*. 1975;398-404.
- 3.Stauffer JL, Olson DE, Petty TL. Complications and consequences of endotracheal intubation and tracheotomy: a prospective study of 150 critically ill adult patients. *The American journal of medicine*. 1981;65-76.
- 4.Ghiani A, Tsitouras K, Paderewska J, Munker D, Walcher S, Neurohr C, et al. Tracheal stenosis in prolonged mechanically ventilated patients: prevalence, risk factors, and bronchoscopic management. *BMC pulmonary medicine*. 2022;1-9.
- 5.Karaçam V, Tertemiz KC. Trakeal Lezyonlarda Bronkoskopik Girişimler.
- 6.Colton House J, Noordzij JP, Murgia B, Langmore S. Laryngeal injury from prolonged intubation: a prospective analysis of contributing factors. *The Laryngoscope*. 2011;596-600.
- 7.Wain Jr JC, editor *Postintubation tracheal stenosis*. *Seminars in thoracic and cardiovascular surgery*; 2009: Elsevier.
- 8.Bacon JL, Patterson CM, Madden BP. Indications and interventional options for non-resectable tracheal stenosis. *Journal of Thoracic Disease*. 2014;258.
- 9.Brighet A, Verkindre C, Dupont J, Carlier M, Darras J, Wurtz A, et al. Multidisciplinary approach to management of postintubation tracheal stenoses. *European Respiratory Journal*. 1999;888-93.
- 10.Lavrysen E, Hens G, Delaere P, Meulemans J. Endoscopic treatment of idiopathic subglottic stenosis: a systematic review. *Frontiers in Surgery*. 2020;6:75.
- 11.Yamamoto K, Kojima F, Tomiyama K-i, Nakamura T, Hayashino Y. Meta-analysis of therapeutic procedures for acquired subglottic stenosis in adults. *The Annals of thoracic surgery*. 2011;1747-53.
- 12.Oh SK, Park KN, Lee SW. Long-term results of endoscopic dilatation for tracheal and subglottic stenosis. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*. 2014;324.

13. Bhora FY, Ayub A, Forleiter CM, Huang C-Y, Alshehri K, Rehmani S, et al. Treatment of benign tracheal stenosis using endoluminal spray cryotherapy. *JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2016;1082-7.
14. Krinsky WS, Rodrigues MP, Malayaman N, Sarkar S. Spray cryotherapy for the treatment of glottic and subglottic stenosis. *The Laryngoscope*. 2010;473-7.
15. Jabbarjarjani H, Kiani A, Sheikhi N, Masjedi M. Argon plasma coagulation in treatment of post intubation tracheal stenosis. *Eur Respiratory Soc*; 2012.
16. Tremblay A, Coulter TD, Mehta AC. Modification of a mucosal-sparing technique using electrocautery and balloon dilatation in the endoscopic management of web-like benign airway stenosis. *Journal of Bronchology & Interventional Pulmonology*. 2003;268-71.
17. Sachdeva A, Pickering EM, Lee HJ. From electrocautery, balloon dilatation, neodymium-doped: yttrium-aluminum-garnet (Nd: YAG) laser to argon plasma coagulation and cryotherapy. *Journal of thoracic disease*. 2015;S363.
18. Dutau H, Maldonado F, Laroumagne S, Astoul P. Silicone stents, the rigid bronchoscope, and the standard of care in central airway stenosis. *Current Respiratory Care Reports*. 2012;46-53.
19. Shadmehr MB, Abbasidezfouli A, Farzanegan R, Pejhan S, Kakhaki AD, Sheikhy K, et al. The role of systemic steroids in postintubation tracheal stenosis: a randomized clinical trial. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2017;246-53.
20. Chen M, Shi C, Zhao J, Gao Z, Zhang C. Application and microbial preparation of D-valine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2016;1-8.
21. Gilbert SF, Migeon BR. D-valine as a selective agent for normal human and rodent epithelial cells in culture. *Cell*. 1975;11-7.
22. Minnich DJ, Mathisen DJ. Anatomy of the trachea, carina, and bronchi. *Thoracic surgery clinics*. 2007;571-85.
23. Kara HV. Trakeanın Cerrahi Anatomisi. In: Aydoğmuş Ü, editor. *Trakea El Kitabı: Derman Tıbbi Yayıncılık*; 2016. p. 1-12.
24. Furlow PW, Mathisen DJ. Surgical anatomy of the trachea. *Annals of cardiothoracic surgery*. 2018;255.
25. Grillo HC, Donahue DM, Mathisen DJ, Wain JC, Wright CD. Postintubation tracheal stenosis: treatment and results. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1995;486-93.

26. Li M, Yiu Y, Merrill T, Yildiz V, deSilva B, Matka L. Risk factors for posttracheostomy tracheal stenosis. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 2018;698-704.
27. Grenier PA, Beigelman-Aubry C, Brillet P-Y. Nonneoplastic tracheal and bronchial stenoses. *Thoracic Surgery Clinics*. 2010;47-64.
28. Prince JS, Duhamel DR, Levin DL, Harrell JH, Friedman PJ. Nonneoplastic lesions of the tracheobronchial wall: radiologic findings with bronchoscopic correlation. *Radiographics*. 2002;S215-S30.
29. Lee JH, Turk SS, Lee DH, Shin DH, Yang SC, Yoo BM. Endobronchial tuberculosis: clinical and bronchoscopic features in 121 cases. *Chest*. 1992;990-4.
30. Tillie-Leblond I, Wallaert B, Leblond D, Salez F, Perez T, Remy-Jardin M, et al. Respiratory involvement in relapsing polychondritis. Clinical, functional, endoscopic, and radiographic evaluations. *Medicine*. 1998;168-76.
31. Du G, Zhu J. Laryngeal and tracheal stenosis caused by Wegener's granulomatosis. Lin Chuang er bi yan hou tou Jing wai ke za zhi= Journal of Clinical Otorhinolaryngology, Head, and Neck Surgery. 2015;862-4.
32. Conces Jr DJ, Tarver RD, Vix VA. Broncholithiasis: CT features in 15 patients. *AJR American journal of roentgenology*. 1991;249-53.
33. Torres PPT, Rabahi M, Pinto SA, Curado KCdMA, Rabahi MF. Primary tracheobronchial amyloidosis. *Radiologia Brasileira*. 2017;267-8.
34. Chakraborty D, Shepherd J, Gregor J, Dhaliwal I. The Tricky Trachea: Tracheitis and Mediastinitis Treated With Infliximab and Steroids in a Patient With Ulcerative Colitis. *Chest*. 2021;e255-e8.
35. Cooper JD. Tracheal injuries complicating prolonged intubation and tracheostomy. *Thoracic Surgery Clinics*. 2018;;139-44.
36. Kastanos N, Agustí-Vidal A. Laryngotracheal injury due to endotracheal intubation: incidence, evolution, and predisposing factors. A prospective long-term study. *Critical care medicine*. 1983;362-7.
37. Zias N, Chroneou A, Tappa MK, Gonzalez AV, Gray AW, Lamb CR, et al. Post tracheostomy and post intubation tracheal stenosis: report of 31 cases and review of the literature. *BMC pulmonary medicine*. 2008;1-9.
38. Kocdor P, Siegel ER, Suen JY, Richter G, Tulunay-Ugur OE. Comorbidities and factors associated with endoscopic surgical outcomes in adult laryngotracheal stenosis. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2016;419-24.

39. Songu M, Ozkul Y. Risk factors for adult postintubation tracheal stenosis. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2019;e447-e50.
40. Cardoso PFG, Minamoto H, Bibas BJ, Pego-Fernandes PM. Impact of gastroesophageal reflux in the pathogenesis of tracheal stenosis. *Translational Cancer Research*. 2020;2123.
41. Ranes JL, Gordon SM, Chen P, Fatica C, Hammel J, Gonzales JP, et al. Predictors of long-term mortality in patients with ventilator-associated pneumonia. *The American journal of medicine*. 2006;897. e13-. e19.
42. Pierson DJ. Tracheostomy from A to Z: historical context and current challenges. *Respiratory Care*; 2005. p. 473-5.
43. Goodall E. *On Infectious diseases and epidemiology in the Hippocratic Collection*. SAGE Publications; 1934.
44. Jackson C. Tracheotomy. *The Laryngoscope*. 1909;285-90.
45. Frutos-Vivar F, Esteban A, Apezteguía C, Anzueto A, Nightingale P, González M, et al. Outcome of mechanically ventilated patients who require a tracheostomy. *Critical care medicine*. 2005;290-8.
46. Arabi YM, Alhashemi JA, Tamim HM, Esteban A, Haddad SH, Dawood A, et al. The impact of time to tracheostomy on mechanical ventilation duration, length of stay, and mortality in intensive care unit patients. *Journal of critical care*. 2009;435-40.
47. Cheung NH, Napolitano LM. Tracheostomy: Epidemiology, Indications, Timing, Technique, and Outcomes Discussion. *Respiratory care*. 2014;895-919.
48. Kettunen WW, Helmer SD, Haan JM. Incidence of overall complications and symptomatic tracheal stenosis is equivalent following open and percutaneous tracheostomy in the trauma patient. *The American Journal of Surgery*. 2014;770-4.
49. Totonchi Z, Jalili F, Hashemian SM, Jabardarjani HR. Tracheal stenosis and cuff pressure: comparison of minimal occlusive volume and palpation techniques. *Tanaffos*. 2015;252.
50. Nordin U, Lindholm CE, Wolgast M. Blood flow in the rabbit tracheal mucosa under normal conditions and under the influence of tracheal intubation. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1977;81-94.
51. Manczur T, Greenough A, Nicholson GP, Rafferty GF. Resistance of pediatric and neonatal endotracheal tubes: influence of flow rate, size, and shape. *Critical care medicine*. 2000;1595-8.

52. Bersten AD, Rutten AJ, Vedig AE, Skowronski GA. Additional work of breathing imposed by endotracheal tubes, breathing circuits, and intensive care ventilators. *Critical care medicine*. 1989;671-7.
53. Avrahami E, Frishman E, Spierer I, Englender M, Katz R. CT of minor intubation trauma with clinical correlations. *European journal of radiology*. 1995;68-71.
54. Halum SL, Ting JY, Plowman EK, Belafsky PC, Harbarger CF, Postma GN, et al. A multi-institutional analysis of tracheotomy complications. *The Laryngoscope*. 2012;38-45.
55. Schiff BA. The relationship between body mass, tracheal diameter, endotracheal tube size, and tracheal stenosis. *International Anesthesiology Clinics*. 2017;42-51.
56. Henderson NC, Rieder F, Wynn TA. Fibrosis: from mechanisms to medicines. *Nature*. 2020;555-66.
57. Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nature medicine*. 2012;1028-40.
58. Sandulache VC, Parekh A, Li-Korotky H, Dohar JE, Hebda PA. Prostaglandin E2 inhibition of keloid fibroblast migration, contraction, and transforming growth factor (TGF)- β 1-induced collagen synthesis. *Wound repair and regeneration*. 2007;122-33.
59. Bettinger DA, Yager DR, Diegelmann RF, Cohen IK. The effect of TGF-beta on keloid fibroblast proliferation and collagen synthesis. *Plastic and reconstructive surgery*. 1996;827-33.
60. Singh T, Sandulache VC, Otteson TD, Barsic M, Klein EC, Dohar JE, et al. Subglottic stenosis examined as a fibrotic response to airway injury characterized by altered mucosal fibroblast activity. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 2010;163-70.
61. Darby IA, Hewitson TD. Fibroblast differentiation in wound healing and fibrosis. *International review of cytology*. 2007;143-79.
62. Hewitson TD, Wu H-L, Becker GJ. Interstitial myofibroblasts in experimental renal infection and scarring. *American journal of nephrology*. 1995;411-7.
63. Desmouliere A, Redard M, Darby I, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. *The American journal of pathology*. 1995;56.
64. Zhang C, Xin W, Chen M, Bi Y, Gao Z, Zhang J. Isolation and characterization of l-valine-degrading *Candida maltosa* DLPU-zpb for d-valine preparation from dl-valine. *Letters in Applied Microbiology*. 2015;453-9.

65. Wagnière GH. On chirality and the universal asymmetry: reflections on image and mirror image: John Wiley & Sons; 2007.
66. Lucet D, Sabelle S, Kostelitz O, Le Gall T, Mioskowski C. Enantioselective Synthesis of α -Amino Acids and Monosubstituted 1, 2-Diamines by Conjugate Addition of 4-Phenyl-2-oxazolidinone to Nitroalkenes. *European journal of organic chemistry*. 1999;2583-91.
67. Susumu T, Ichiro S, Ko O. Optical resolution of dl-valine. Google Patents; 1965.
68. Yoshioka R, Ohtsuki O, Da-te T, Okamura K, Senuma M. Optical resolution, characterization, and X-ray crystal structures of diastereomeric salts of chiral amino acids with (S)-(-)-1-phenylethanesulfonic acid. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1994;3012-20.
69. Yang G-S, Vázquez PP, Frenich AG, Vidal J, Aboul-Enein H. Separation and simultaneous determination of enantiomers of tau-fluvalinate and permethrin in drinking water. *Chromatographia*. 2004;523-6.
70. Elzen PJ, Baxter JR, Spivak M, Wilson WT. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apidologie*. 2000;437-41.
71. Yuan L, Luo X, Zhu L, Wang R, Liu Y. A physiologically based pharmacokinetic model for valnemulin in rats and extrapolation to pigs. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2011;224-31.
72. Zhao M, Wu J, Wu H, Sawalha AH, Lu Q. Clinical treatment options in scleroderma: recommendations and comprehensive review. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2021;1-19.
73. Selman M, Carrillo G, Salas J, Padilla RP, Pérez-Chavira R, Sansores R, et al. Colchicine, D-penicillamine, and prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: a controlled clinical trial. *Chest*. 1998;507-12.
74. Storch W, Berger H. Immunologic studies with the lymphocyte transformation test on the side effects of D-penicillamine therapy in Wilson's disease. *Zeitschrift für die Gesamte Innere Medizin und Ihre Grenzgebiete*. 1980;567-70.
75. Lawrie TA, Tidy J, Hancock BW, Osborne R. First-line chemotherapy in low-risk gestational trophoblastic neoplasia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016.
76. Zhang J, He W, Yi D, Zhao D, Song Z, Hou Y, et al. Regulation of protein synthesis in porcine mammary epithelial cells by L-valine. *Amino Acids*. 2019;717-26.

77. Picciano P, Johnson B, Walenga R, Donovan M, Borman B, Douglas W, et al. Effects of D-valine on pulmonary artery endothelial cell morphology and function in cell culture. *Experimental cell research*. 1984;134-47.
78. Ryan US, Clements E, Habliston D, Ryan JW. Isolation and culture of pulmonary artery endothelial cells. *Tissue and Cell*. 1978;535-54.
79. Takaishi K, Kawahito S, Kitahata H. Management of a Patient With Tracheal Stenosis After Previous Tracheotomy. *Anesthesia Progress*. 2021;224-9.
80. Sadiq S, Rizvi NA, Soleja FK, Abbasi M. Factors affecting spirometry reference range in growing children. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2019;1587.
81. Miller RD, Hyatt RE. Evaluation of obstructing lesions of the trachea and larynx by flow-volume loops. *American Review of Respiratory Disease*. 1973;475-81.
82. UĞUR EG, ÖzGül MA. Postentüasyon trakeal stenoz. *Tuberk Toraks*. 2018;239-48.
83. Naidich DP. *Imaging of the airways: functional and radiologic correlations*: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
84. Shepard J-AO, Flores EJ, Abbott GF. Imaging of the trachea. *Annals of Cardiothoracic Surgery*. 2018;197.
85. Moroni C, Bindi A, Cavigli E, Cozzi D, Luvarà S, Smorchkova O, et al. CT findings of non-neoplastic central airways diseases. *Japanese Journal of Radiology*. 2021;1-13.
86. Zack JR, Rozenshtein A. Tracheobronchopathia osteochondroplastica: report of three cases. *Journal of computer assisted tomography*. 2002;33-6.
87. Restrepo S, Pandit M, Villamil MA, Rojas IC, Perez JM, Gascue A. Tracheobronchopathia osteochondroplastica: helical CT findings in 4 cases. *Journal of thoracic imaging*. 2004;112-6.
88. Ahn Y, Chang H, Lim YS, Hah JH, Kwon T-K, Sung M-W, et al. Primary tracheal tumors: review of 37 cases. *Journal of Thoracic Oncology*. 2009;635-8.
89. Dalar L, Karasulu L, Abul Y, Özdemir C, Sökücü SN, Tarhan M, et al. Bronchoscopic treatment in the management of benign tracheal stenosis: choices for simple and complex tracheal stenosis. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2016;1310-7.
90. Begnaud A, Connett JE, Harwood EM, Jantz MA, Mehta HJ. Measuring central airway obstruction. What do bronchoscopists do? *Annals of the American Thoracic Society*. 2015;85-90.

- 91.Murgu S, Colt H. Subjective assessment using still bronchoscopic images misclassifies airway narrowing in laryngotracheal stenosis. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2013;655-60.
- 92.Majid A, Gaurav K, Sanchez JM, Berger RL, Folch E, Fernandez-Bussy S, et al. Evaluation of tracheobronchomalacia by dynamic flexible bronchoscopy. A pilot study. *Annals of the American Thoracic Society*. 2014;951-5.
- 93.Ost DE, Ernst A, Grosu HB, Lei X, Diaz-Mendoza J, Slade M, et al. Therapeutic bronchoscopy for malignant central airway obstruction. *Chest*. 2015;1282-98.
- 94.Brouns M, Jayaraju ST, Lacor C, De Mey J, Noppen M, Vincken W, et al. Tracheal stenosis: a flow dynamics study. *Journal of Applied Physiology*. 2007;1178-84.
- 95.Agrawal A, Baird BJ, Madariaga MLL, Blair EA, Murgu S. Multi-disciplinary management of patients with benign airway strictures: A review. *Respiratory Medicine*. 2021;106582.
- 96.V. McCaffrey T. Classification of laryngotracheal stenosis. *The Laryngoscope*. 1992;1335-40.
- 97.Myer III CM, O'Connor DM, Cotton RT. Proposed grading system for subglottic stenosis based on endotracheal tube sizes. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*. 1994;319-23.
- 98.Lano Jr CF, Duncavage JA, Reinisch L, Ossoff RH. Laryngotracheal reconstruction in the adult: a ten year experience. *The Annals of otology, rhinology & laryngology*. 1998;92.
- 99.Nouraei S, Nouraei S, Upile T, Howard D, Sandhu G. A proposed system for documenting the functional outcome of adult laryngotracheal stenosis. *Clinical Otolaryngology: Official Journal of ENT-UK; Official Journal of Netherlands Society for Oto-rhino-laryngology & Cervico-facial Surgery*. 2007;407-9.
- 100.Freitag L, Ernst A, Unger M, Kovitz K, Marquette C. A proposed classification system of central airway stenosis. *European Respiratory Journal*. 2007;7-12.
- 101.Ghorbani A, Dezfouli AA, Shadmehr MB, Pejhan S, Saghebi SR, Ghare-Daghi A-s, et al. A proposed grading system for post-intubation tracheal stenosis. *Tanaffos*. 2012;10.
- 102.Monnier P, Dikkers F, Eckel H, Sittel C, Piazza C, Campos G, et al. Preoperative assessment and classification of benign laryngotracheal stenosis: a consensus paper of the European Laryngological Society. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2015;2885-96.

103. Zeeshan A, Detterbeck F, Hecker E. Laryngotracheal resection and reconstruction. *Thoracic Surgery Clinics*. 2014;24(1):67-71.
104. Wright CD, Li S, Geller AD, Lanuti M, Gaissert HA, Muniappan A, et al. Postintubation tracheal stenosis: management and results 1993 to 2017. *The Annals of thoracic surgery*. 2019;108(5):1471-7.
105. Stock C, Gukasyan N, Muniappan A, Wright C, Mathisen D. Hyperbaric oxygen therapy for the treatment of anastomotic complications after tracheal resection and reconstruction. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2014;147(3):1030-5.
106. Mulliken JB, Grillo HC. The limits of tracheal resection with primary anastomosis: further anatomical studies in man. *The journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1968;55(3):418-21.
107. Wright CD, Grillo HC, Wain JC, Wong DR, Donahue DM, Gaissert HA, et al. Anastomotic complications after tracheal resection: prognostic factors and management. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2004;128(5):731-9.
108. Marques P, Leal L, Spratley J, Cardoso E, Santos M. Tracheal resection with primary anastomosis: 10 years experience. *American journal of otolaryngology*. 2009;30(6):415-8.
109. Donahue DM, Grillo HC, Wain JC, Wright CD, Mathisen DJ. Reoperative tracheal resection and reconstruction for unsuccessful repair of postintubation stenosis. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1997;114(6):934-9.
110. Grillo HC, Mathisen DJ, Wright CD, Ashiku SK, Wain JC. Successful treatment of idiopathic laryngotracheal stenosis by resection and primary anastomosis. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*. 2003;112(9):798-800.
111. Pearson F, Cooper J, Nelems J, Van Nostrand A. Primary tracheal anastomosis after resection of the cricoid cartilage with preservation of recurrent laryngeal nerves. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1975;70(5):806-16.
112. Uluhan A, Sanli M, Isik AF, Celik IA, Tuncozgun B, Elbeyli L. Surgical treatment of postintubation tracheal stenosis: a retrospective 22-patient series from a single center. *Asian journal of surgery*. 2018;41(4):356-62.
113. Delaere P, Leyn PD. Surgical Anatomy of the Trachea and Techniques of Resection and Reconstruction. *Shields' General Thoracic Surgery*. 2019. p. 872-89.
114. Jones C, Crerar-Gilbert A, Madden B. Anaesthesia for endobronchial intervention and tracheobronchial stents. *Current Anaesthesia & Critical Care*. 2009;20(4):160-3.

- 115.Brigger MT, Boseley ME. Management of tracheal stenosis. Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery. 2012;20(6):491-6.
- 116.Vansteenkiste J, Lacquet L. Possibilities and indications for Nd-YAG laser and dilation therapy in the management of tracheal stenosis. Acta oto-rhino-laryngologica belgica. 1995;49(4):359-65.
- 117.Amat B, Esselmann A, Reichle G, Rohde H-J, Westhoff M, Freitag L. The electrosurgical knife in an optimized intermittent cutting mode for the endoscopic treatment of benign web-like tracheobronchial stenosis. Archivos de Bronconeumología (English Edition). 2012;48(1):14-21.
- 118.Vergnon J, Huber R, Moghissi K. Place of cryotherapy, brachytherapy and photodynamic therapy in therapeutic bronchoscopy of lung cancers. European Respiratory Journal. 2006;28(1):200-18.
- 119.Klopp AH, Eapen GA, Komaki RR. Endobronchial brachytherapy: an effective option for palliation of malignant bronchial obstruction. Clinical lung cancer. 2006;8(3):203-7.
- 120.JABBARDARJANI HR, Kiani A, Sheikhi N. Argon plasma coagulation in treatment of post intubation tracheal stenosis. 2011.
- 121.Lee P, Mehta AC. Airway stents. Interventional Bronchoscopy. 2013:177-87.
- 122.Alazemi S, Lunn W, Majid A, Berkowitz D, Michaud G, Feller-Kopman D, et al. Outcomes, health-care resources use, and costs of endoscopic removal of metallic airway stents. Chest. 2010;138(2):350-6.
- 123.Dumon J-F, Cavaliere S, Diaz-Jimenez JP, Vergnon J-M, Venuta F. Seven-year experience with the Dumon prosthesis. Journal of Bronchology. 1996;3:6-10.
- 124.Lim SY, Kim H, Jeon K, Um S-W, Koh W-J, Suh GY, et al. Prognostic factors for endotracheal silicone stenting in the management of inoperable post-intubation tracheal stenosis. Yonsei Medical Journal. 2012;565-70.
- 125.Cavaliere S, Bezzi M, Toninelli C, Foccoli P. Management of post-intubation tracheal stenoses using the endoscopic approach. Monaldi archives for chest disease. 2007;67(2).
- 126.MONTGOMERY WW. T-tube tracheal stent. Archives of otolaryngology. 1965;320-1.
- 127.Saghebi SR, Zangi M, Tajali T, Farzanegan R, Farsad SM, Abbasidezfouli A, et al. The role of T-tubes in the management of airway stenosis. European journal of cardiothoracic surgery. 2013;934-9.

- 128.Kumar SP, Ravikumar A, Senthil K, Somu L, Nazrin MI. Role of Montgomery T-tube stent for laryngotracheal stenosis. *Auris Nasus Larynx*. 2014;195-200.
- 129.Bonchek LI. Successful treatment of postintubation subglottic stenosis with intralesional steroid injections. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1973;84-7.
- 130.Wolter NE, Ooi EH, Witterick IJ. Intralesional corticosteroid injection and dilatation provides effective management of subglottic stenosis in Wegener's granulomatosis. *The Laryngoscope*. 2010;2452-5.
- 131.Wierzbička M, Tokarski M, Puszczewicz M, Szyfter W. The efficacy of submucosal corticosteroid injection and dilatation in subglottic stenosis of different aetiology. *The Journal of Laryngology & Otology*. 2016;674-9.
- 132.Agarwal A, Singh D. Bronchoscopic topical steroid instillation in prevention of tracheal stenosis. *Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology*. 2014;91.
- 133.Selvaraj T, Dhanpal R. Evaluation of the application of topical steroids on the endotracheal tube in decreasing postoperative sore throat. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2002;167-70.
- 134.Rojas-Solano J, Becker HD. Bronchoscopic application of mitomycin-C as adjuvant treatment for benign airway stenosis. *Journal of Bronchology & Interventional Pulmonology*. 2011;53-5.
- 135.Viveiros F, Gomes J, Oliveira A, Neves S, Almeida J, e Sá JM. Topical application of mitomycin-C as an adjuvant treatment to bronchoscopic procedures in post-intubation tracheal stenosis. *Revista Portuguesa de Pneumologia (English Edition)*. 2013;276-80.
- 136.Sahin MF, Beyoglu MA, Turkkán S, Yazicioglu A, Yekeler E. Submucosal Injection of Mitomycin-C Due to Development of Tracheal Restenosis After Resection. *Indian Journal of Surgery*. 2021;198-200.
- 137.Bayram H, Devalia JL, Khair OA, Abdelaziz MM, Sapsford RJ, Sagai M, et al. Comparison of ciliary activity and inflammatory mediator release from bronchial epithelial cells of nonatopic nonasthmatic subjects and atopic asthmatic patients and the effect of diesel exhaust particles in vitro. *Journal of allergy and clinical immunology*. 1998;771-82.
- 138.Gogebakan B, Bayraktar R, Ulasli M, Oztuzcu S, Tasdemir D, Bayram H. The role of bronchial epithelial cell apoptosis in the pathogenesis of COPD. *Mol Biol Rep*. 2014;5321-7.

139. Bayram H, Devalia JL, Khair OA, Abdelaziz MM, Sapsford RJ, Sagai M, et al. Comparison of ciliary activity and inflammatory mediator release from bronchial epithelial cells of nonatopic nonasthmatic subjects and atopic asthmatic patients and the effect of diesel exhaust particles in vitro. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;771-82.
140. Jia J, Conlon TM, Sarker RS, Tasdemir D, Smirnova NF, Srivastava B, et al. Cholesterol metabolism promotes B-cell positioning during immune pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *EMBO Mol Med.* 2018;10(5).
141. Tasdemir D, Karakucuk-Iyidogan A, Ulasli M, Taskin-Tok T, Oruc-Emre EE, Bayram H. Synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of novel chiral thiosemicarbazone derivatives as potent anticancer agents. *Chirality.* 2015;177-88.
142. Cockett NE, Kole C. *Genome mapping and genomics in domestic animals: Springer Science & Business Media; 2008.*
143. Den Hondt M, Vanaudenaerde BM, Delaere P, Vranckx JJ. Twenty years of experience with the rabbit model, a versatile model for tracheal transplantation research. *Plastic and Aesthetic Research.* 2016;223-30.
144. Barone R, Pavaux C, Blin P, Cuq P. *Atlas of rabbit anatomy. Atlas of rabbit anatomy.* 1973.
145. Michail S. *Comparative anatomy of domestic mammals. Kiriakidis Brothers Press, Thessaloniki; 2010.*
146. Kumar SP, Ravikumar A, Thanka J. An animal model for laryngotracheal injuries: an experimental study. *The Laryngoscope.* 2015;:E23-E7.
147. Wilson J, Utz E, Marvin K, Schwartz I, Johnson C, Gaudreau P. Rabbit model of consistently survivable subglottic stenosis using a modified brush technique. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology.* 2020;110474.
148. Natvig K, Olving JH. Tracheal changes in relation to different tracheostomy techniques: An experimental study on rabbits. *The Journal of Laryngology & Otology.* 1981;61-8.
149. Chen Z, Luo J, Xu L, Ma R, Zhang N, Cui P. A model of canine tracheal stenosis induced by radiofrequency cauterization. *International journal of pediatric otorhinolaryngology.* 2012;183-8.
150. Lee SS, Shin JH, Woo C-W, Hwang JC, Park C-S, Kim HJ, et al. A new model of tracheal stenosis in dogs using combined bronchoscopic electrocautery and ethanol injection. *Journal of Vascular and Interventional Radiology.* 2008;764-9.

- 151.Nakagishi Y, Morimoto Y, Fujita M, Ozeki Y, Maehara T, Kikuchi M. Rabbit model of airway stenosis induced by scraping of the tracheal mucosa. *The Laryngoscope*. 2005;1087-92.
- 152.Wistermayer P, Escalante D, Mellwain W, Rogers DJ. A Randomized Controlled Trial of Dexamethasone as a Prophylactic Treatment for Subglottic Stenosis in a Rabbit Model. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*. 2021;182-7.
- 153.White G, Holmes D. A comparison of ketamine and the combination ketamine-xylazine for effective surgical anesthesia in the rabbit. *Laboratory Animal Science*. 1976;804-6.
- 154.Care CCOA. CCAC guidelines on: euthanasia of animals used in science. Ottawa; 2010.
- 155.De S, De S. Post intubation tracheal stenosis. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 2008;194.
- 156.Yasnogorodsky O, Shulutko A, Pinchuk T, Taldykin M, Kachikin A, Katanae YA, et al. Surgical and combined correction of tracheal and laryngotracheal cicatricial stenosis and restenosis. *Khirurgiia*. 2016;31-6.
- 157.Li S, Su Z. Risk factors and management of post-intubation tracheal stenosis. *Zhonghua jie he he hu xi za zhi= Zhonghua jiehe he huxi zazhi= Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases*. 2014;561-2.
- 158.Weidekamm C, Hauser P, Hansmann C, Schwarz C, Klingler H, Mayer G, et al. Effects of AT1 and AT2 receptor blockade on angiotensin II induced apoptosis of human renal proximal tubular epithelial cells. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 2002;725-9.
- 159.Acunzo J, Thirion S, Roche C, Saveanu A, Gunz G, Germanetti AL, et al. Somatostatin receptor sst2 decreases cell viability and hormonal hypersecretion and reverses octreotide resistance of human pituitary adenomas. *Cancer Research*. 2008;10163-70.
- 160.Goldman WE, Baseman JB. Selective isolation and culture of a proliferating epithelial cell population from the hamster trachea. *In vitro*. 1980;313-9.
- 161.Schweiger C, Hart CK, Tabangin ME, Cohen AP, Roetting NJ, DeMarcantonio M, et al. Development of a survival animal model for subglottic stenosis. *The Laryngoscope*. 2019;989-94.

- 162.Nakagishi Y, Morimoto Y, Fujita M, Morimoto N, Ozeki Y, Maehara T, et al. Photodynamic therapy for airway stenosis in rabbit models. *Chest*. 2008;123-30.
- 163.Cataneo DC, Ximenes AMG, Cataneo AJM. Mitomycin C in the endoscopic treatment of tracheal stenosis: a prospective cohort study. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 2018;486-90.
- 164.Emam W, Mostafa Y, Madkour A, Wagih K, Ezzelregal H, Anagnostopoulos N, et al. Bronchoscopic management as an alternative treatment in non-operable benign tracheal stenosis. *International Journal of Clinical Practice*. 2021;e14058.
- 165.Roh J-L, Lee Y-W, Park HT. Subglottic wound healing in a new rabbit model of acquired subglottic stenosis. *Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology*. 2006;611-6.

