

**RAT VOKAL KORD MODELİ YARA İYİLEŞMESİNDE
PENTOKSİFİLİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş.Grv.Dr. Hüseyin YILDIZ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Erdoğan OKUR

KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİMDALI
AFYONKARAHİSAR 2011

İşbu çalışma jürimiz tarafından KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİMDALIN' DA TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BASKAN

ÜYE

ÜYE

ONAY

DEKAN

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

**RAT VOKAL KORD MODELİ YARA İYİLEŞMESİNDE
PENTOKSİFİLİNİN ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Arş.Grv.Dr. Hüseyin YILDIZ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Erdoğan OKUR

AFYONKARAHİSAR 2011

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. LARİNK ANATOMİ VE FİZYOLOJİSİ	2
2.1.1. VOKAL KORDLAR	2
2.1.1.1. ANATOMİK YAPI	2
2.1.1.2. HİSTOLOJİK YAPI	3
2.1.1.2.1. EPİTEL TABAKASI	4
2.1.1.2.2. LAMİNA PROPRIA	4
2.1.1.2.3. KAS TABAKASI	8
2.2. YARA İYİLEŞMESİ	9
2.2.1. VOKAL KORD YARA İYİLEŞMESİ	11
2.3. RAT LARENKSİ ANATOMİSİ	13
2.4. RAT LARENKSİ HİSTOLOJİSİ	14
2.5. PENTOKSİFİLİN	15
2.6. FONASYON	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. VOKAL KORD CERRAHİSİ	20
3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI	26
3.3. PATOLOJİK İNCELEME	29
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	30
4. BULGULAR	31
4.1. EPİTELYAL REJENERASYON	32
4.2. ENFLAMASYON	33
4.3. GRANULASYON	34
4.4. SUBMUKOZAL FİBROBLAST YOĞUNLUĞU	35
4.5. KOLLAJEN LİFLER	36
4.6. ELASTİK LİFLER	37
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇ	49
7. ÖZET	50
8. SUMMARY	53
9. KAYNAKLAR	55

TABLO LİSTESİ

Tablo - I: Tüm verilerin dökümü

Tablo - II: Epitelyal rejenerasyon

Tablo - III: Enflamasyon skorları

Tablo - IV: Granülasyon dağılımı

Tablo - V: Submukozal fibroblast yoğunluğu skorları

Tablo - VI: Kollajen depolanması

Tablo - VII: Elastin depolanması

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil-1:Vokal kord histolojik yapısı

Şekil-2:Vokal kord vibrasyonu

Şekil-3a:Çalışma için modifiye edilen otomatik kulak spekulumu.

Şekil-3b:Çalışma için modifiye edilen otomatik kulak spekulumunun üstten görünümü.

Şekil-4:Ratlar sol el ile boynu ve başı manipüle edebilecek şekilde parmaklar arasına alınarak sağ yanları üzerine yatırıldı.

Şekil-5:Direkt laringoskopik görüşte rat vokal kordlarının görünüşü.

Şekil-6:İşlem öncesi rat vokal kord ve epiglotunun endoskopik görüntüsü.

Şekil-7:Kordotomi işlemi yapılmış vokal kord (siyah ok), diğer sağlam vokal kord ve epiglotunun endoskopik görüntüsü.

Şekil-8:Ratlara yapılan larenjektominin basamakları

Şekil-9:Bir ratın larenjektomi spesmeni.

Şekil-10:Pentoksifilin grubunda 2. haftada granülasyonun daha fazla olduğu görülmekte.

KISALTMALAR

ECM: Ekstrasellüler Matriks

HGF: Hepatosit Growth Faktör

MMC: Mitomisin C

TGF- β : Transforming Growth Faktör Beta

HA: Hyalüronik Asit

P: Pentoksifilin

K: Kontrol

ER: Epitelyal Rejenerasyon

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Geçmiş dekatlara baktığımızda fonocerrahinin gelişmesiyle birlikte birçok vokal kord patolojisi tedavi edilebilir düzeye gelmiştir. Ancak fonksiyonel sonuçları etkileyen en önemli sorun olarak karşımıza skar oluşumu çıkmaktadır (1,2). Vokal kord skarının sebepleri arasında, travma, radyasyon, neoplazmlara yönelik cerrahi, iyatrojenik sebepler, enfeksiyon ve havayolu hasarı sonucu ortaya çıkan enflamasyon sayılabilir (1). Lamina propriada skar dokusu olduğu zaman fibröz doku sağlıklı dokunun yerini almaktadır. Ekstrasellüler matriks (ECM) komponentlerindeki değişiklikler normal mukozal dalga formasyonunu bozmakta sonuç olarak seste boğukluk, ses kontrolünün kaybı ve ses yorgunluğuna neden olmaktadır (3).

Vokal kord yara iyileşmesinde birçok kimyasal madde denenmiş ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Hepatosit growth faktör (HGF), Mitomicin – C (MMC), mezenkimal kök hücre ve kortikosteroidler denenmiş ajanlardan bazılarıdır (1,4-6).

Pentoksifilin, diğer skarlarda kullanılmış olmasına rağmen vokal kord skar dokusu üzerine etkinliğini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Biz çalışmamızda vokal kord hasarı oluşturduğumuz sıçanlarda daha önce literatür de hiç yapılmamış olan Pentoksifilin'in etkinliğini gözlemlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. LARİNK ANATOMİ VE FİZYOLOJİSİ

Larinks esas görev olarak alt solunum yollarını korumakla yükümlü bir organ olmanın yanı sıra respirasyon ve fonasyon gibi önemli görevleri üstlenmiş bir organdır. Bu sfinkterik fonksiyon, hava yolu ile besin yolunun ortak yol olarak kullanılmasına olanak verir (7).

Larinks solunum yollarının bir parçasını oluşturup hyoid kemiğin altında, boynun orta ön kısmında yer almakla birlikte yaşa ve cinsiyete bağlı olarak yeri değişkenlik gösterir. Yutkunma ile aşağı yukarı hareket ettiği gibi, sesin kalınlık ve inceliğine göre incelerken yükselir, kalınlaşırken alçalır (8).

Larinks çatısını kıkırdaklar oluşturur. Epiglot, tiroid ve krikoid kıkırdaklar tek, aritenoid, kornikulat ve kuneiform kıkırdaklar çift kıkırdaklardır. Bu yapılar birbirlerine ligamentler ve kaslar ile bağlanırlar (8).

2.1.1. VOKAL KORDLAR

2.1.1.1. ANATOMİK YAPI

Vokal kordlar glottik bölgede yer alır. Tiroid kıkırdak ile aritenoid kıkırdağın vokal çıkıntısı arasında uzanan vokal ligaman üzeri mukoza ile örtülüdür. Vokal kordlar arasındaki açıklığa rima glottis denir. Önde tiroide fikse yapıştığı noktada ön komissür, arkada ise prosesus vokalis ile sonlanan kısımlar hareketli ve posterior komissür olarak adlandırılırlar.

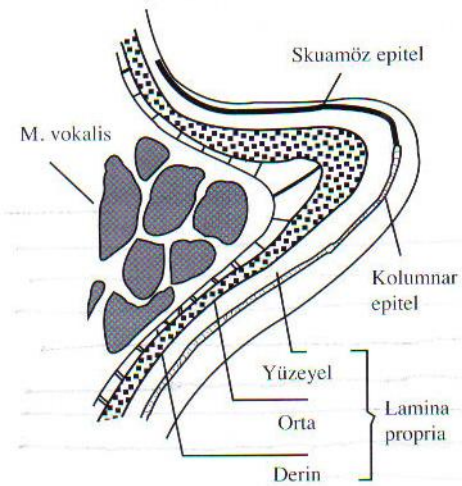
Vokal kordlar lateralde ventrikül tabanı ile inferiorda krikoid düzeyine kadar uzanırlar. Vokal çıkıntının perikondriyuma yapışma yerinde elastik ve kollajen lifler bir ağ oluşturur, Reinke buraya makula flava posterior adını vermiştir. Rimanın kenarlarının 2/3 ön kısmını membranöz parça, 1/3 arka kısmını kıkırdağın vokal prosesi oluşturur (7,8).

2.1.1.2. HİSTOLOJİK YAPI

Vokal kordlar mukoza ve kas olmak üzere iki ana yapıdan oluşur. Mukoza ise epitel ve lamina propriadan meydana gelir (Şekil – 1).

Vokal kordlar 3 tabakadan oluşur;

- i. **Örtü tabakası:** Non keratinize çok katlı yassı epitel ve altında lamina proprianın yüzeysel tabakasından oluşur. İkisi arasındaki potansiyel boşluk Reinke boşluğu adını alır.
- ii. **Transizyon tabakası:** Lamina proprianın orta ve derin tabakaları (Vokal ligaman)
- iii. **Gövde:** Kas tabakası, tiroaritenoid kas medial bölümü



Şekil 1: Vokal kord histolojik yapısı

2.1.1.2.1. EPİTEL TABAKASI

Kord vokalin vibratuvar kenarı ve üst yüzeyi non keratinize çok katlı yassı epitel ile kaplıdır. Kalan vokal kord kısımları psödostratifiye silyalı kolumnar epitel ile örtülüdür. Solunum epiteliyle aynı olan bu epitel salgı yapan goblet hücrelerini de içerir. Serömüköz glandlar kordun serbest kenarı hariç diğer bölümlerinde bulunur. Bunlar tipik asini ve duktus içerirler. Kord yüzeyinin ıslak kalmasını sağlarlar (7).

2.1.1.2.2. LAMİNA PROPRIA

Lamina propria sesin oluşması açısından oldukça önemli bir bölgedir ve benign vokal kord lezyonları genellikle lamina propria içerisinde yer alır. Epitel ile kas tabakası arasında yer alır ve ortalama kalınlığı 1,05 mm civarındadır. Yüzeysel, orta ve derin tabakalar olmak üzere 3 bölümden oluşur (8).

Yüzeysel Tabaka:

Epitelin hemen altındadır. Fibröz elemanları azdır. Subepitelyal boşluk ilk defa Hajek tarafından yazılmıştır. Bu tabaka Reinke aralığı ile ilgilidir. Anatomist Freidrich Reinke ilk defa kordların ince yapısı ve subepitelyal tabakadaki kendi adı ile anılan izafi boşluğu tariflemiştir. Etrafı sağlam fibröz yapı ile çevrili bu boşluk herhangi bir nedenle oluşan ödemin dışa yayılmasını önler. Elastik, kollajen lifler ve esas madde içerir. Kalınlığı 0,2-0,5 mm ortalama 0,3 mm'dir. Ortada en kalın, ön ve arka yapışma yerinde en incedir. Kordun serbest kenarından 2 mm uzaklıktadır. Bu boşluğun ödemi polipoid dejenerasyon, Reinke ödemi, polipoid vokal kord, polipoid hipertrofi olarak adlandırılır (8).

Orta Tabaka:

Yüzeysel tabakanın tersine ortada en ince, ön ve arkada kalındır. Kalınlığı 0,5-1,5 mm'dir. Histolojik olarak elastik lifler içerir ve yüzeysel tabaka ile karışıktır. Elastik liflerin vibrasyona katkısı vardır (8).

Derin Tabaka

Kollajen liflerden oluşur. Vokal kasa paralel seyreden demetler oluşturur. Bu tabaka daha sert ve en az hareket eden tabakadır. Vokal ligaman orta ve derin tabakanın elastik ve kollajen liflerinden şekillenir. Vokal ligaman 0,5-1,1 mm ortalama 0,8 mm kalınlığındadır (8).

Lamina propria kord vokalin ventriküle bitişik lateral kenarında kalınlaşarak korda yataklık yapar. Tiroid kıkırdağın iç yüzeyindeki yapışma yerinde anterior makula flava adını alır. Lamina proprianın vokal çıkıntıda kalınlaştığı nokta ise posterior makula flava adını alır. Vokal ligament ön ve arka makula flava arasında uzanır. Makula flava vokal ligamentin gelişmesi açısından önemlidir. Yeni doğanda fibroblastlarca zengindir ve doğumdan sonra çocuğun ses çıkarması ile bu fibroblastlar aktive olarak vokal ligamenti şekillendirirler (8). Makula flava kondrosit, fibroblast gibi hücrelerden ve kollajen, elastin gibi ECM bileşenlerinden zengindir (9).

Lamina propria insanda kord vokalin vibrasyon performansı ile doğrudan ilişkilidir. Subepitelyal planda yer alan lamina propria, ECM ve bu matriksin bileşenlerini sentezleyen hücrelerden (fibroblast, myofibroblast, makrofaj) oluşmaktadır (10). Kord vokalin biyomekanik özelliklerini belirleyen bu bileşenlerin dengeli dağılımı, ses oluşumunda korda ideal viskoelastikiyeti kazandırır. Glikoproteinler, proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar, kollajen ve elastin bu matriksin ana bileşenlerini oluşturur (11,12) .

Kollajen ve Elastin: Normal kord vokal dokusunda epitelyal mukozaya paralel uzanan demetler halindedir. Kollajen prekürsörü, Prokollajen 1 ve elastin derin ve yüzeysel tabakada da bulunurlar.

Fibronektin: ECM glikoproteini olan fibronektinin önemli bir adezyon molekülü olduğu gösterilmiştir. Enflamatuar hücreler ve fibroblastlar için kemotaksik özellikte olup ECM organizasyonuna katkıda bulunur. Normal kord vokal dokusu içinde primer olarak bazal membranda ve lamina proprianın yüzeysel tabakasında yer alır (13). Hipertrofik ve kronik yaralarda aşırı üretildiği, yara iyileşmesinde ECM içindeki yüksek düzeylerinin fibrozise katkıda bulunduğu gösterilmiştir (1).

Dekorin: Kollajene yapışarak fibril organizasyonunu sağlayan kısa zincirli bir proteoglikan adezyon molekülüdür. ECM içindeki kollajenin formasyonuna ve fibrillerin kalınlığına etkisi vardır. Düşük düzeylerinin akut kord vokal hasarı sonrasında oluşan skar dokusunda düzensiz kollajen oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir. Özellikle lamina proprianın yüzeysel tabakasında bulunduğu gösterilmiştir ve bu tabakanın hasarında oluşan skar dokusuna katkısı vardır (1).

Fibromodulin: Esas olarak lamina proprianın orta ve derin tabakalarında Transforming growth faktör beta'ya (TGF-beta) bağlanarak onu inhibe eden bir proteoglikan moleküldür ve vokal ligament içindeki kollajen ve elastin fibrilleriyle ilişkili halde bulunur. (1). Fibromodulin kollajen sentezini uyaran TGF-beta'yı inhibe eder. Dolayısıyla dokuda azalmış fibromodulin seviyesi artmış kollajen senteziyle sonuçlanır.

Azalmış dekorin ve artmış fibronektin düzeyleri ile birlikte kollajen sentezinde artma (azalan fibromodulin yoluyla), dengesiz kollajen depolanması (azalan dekorin nedeniyle), devam eden enflamatuar hücre

ve fibroblast migrasyonu (artmış fibronektin yoluyla) yakın zamanda tavşan modeli ile yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (1).

Hyaluronik asit (HA): Yara iyileşmesindeki normal kollajen mimarisini koruma yolu ECM içerisindeki intrasellüler ve ekstrasellüler sinyal mekanizmalarında bulunur. Tüm vücutta bulunan HA, vokal kordlarda ECM'de yoğun olarak bulunan antijenik olmayan bir glikozaminoglikan molekülüdür. Mukozal dalga hareketinin başladığı kordun subglottik yüzünde yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir. Endojen HA organizmada hızla metabolize olur. Kord vokal dokusunda yarı ömrü 0,5-4 gün arasında değişir. ECM içinden reseptör aracılı endositoz yoluyla hücre içine alındıktan sonra hyaluronidaz enziminin degradasyonu ile metabolize edilir. Bu enzimin inhibisyonu ile sağlanan yüksek HA düzeyinin yara iyileşmesine olumlu katkıları bildirilmiştir. HA yokluğu, kord vokalde artmış viskoziteyle, fonasyon ve vokal temel frekansı bozan doku değişiklikleriyle kendini gösterir. HA, erkeklerde kadınlara göre kord vokal içinde daha yüksek konsantrasyonda bulunur. Dokudaki HA düzeyinin yara iyileşmesi ve skar formasyonu üzerine direkt etkisi vardır. Fetal dokulardaki skarsız yara iyileşmesi bu dokuların HA içeriğinin anlamlı olarak yüksek olmasıyla açıklanır. Yapılan hayvan çalışmalarında kora vokalde yara iyileşmesinin erken fazında HA seviyeleri kontrole kıyasla anlamlı olarak düşük bulunmuştur (1,14).

Bunların dışında lamina propria yapısında kaderin, sindekan-1, sindekan-4 gibi adezyon molekülleri de bulunur. Syndacecan 4 nadir olarak vokal kord epitelinde bulunur, ancak mukozal epitelin bazal tabakasında yara iyileşmesinin 2. ve 6. ayında önemli ölçüde ekspresyon edilir. Kaderin ve sindekan-1'in epitelyal intersellüler aralıkta bulunduğu ancak skatrize kord vokal dokusundaki düzeylerinin normalden farklılık göstermediği saptanmıştır. (15)

2.1.1.2.3. KAS TABAKASI

Tiroaritenoid kas tiroid kıkırdağın iç yüzünden arkaya uzanarak aritenoidin anterolateral yüzüne yapışır. Üst demetleri ön arka yönde vokal ligamente paralel seyreder. Aşağıdaki lifleri biraz yukarı ve posterolateral yönde ilerleyip aritenoid kıkırdağta fovea oblangaya yapışırlar. Tiroaritenoid kasın medial demetleri vokal kası oluştururlar. Bunlar ses oluşmasında aktif rol oynarlar. Kord vokalin hareketi az olan en katı bölgesidir. Vibrasyon sırasında kord vokalin vertikal stabilitesine ve ossilasyon oluşmasına yardım ederler. Rekürren sinirin lifleri adele içinde ağ yapar (8).

Kord vokalin vaskülarizasyonu karmaşıktır. Vibratuar parçada, kas ve kord mukozasında üst ve alt yüzeydeki vaskülarizasyon farklıdır. Kordun serbest kenarında damarlar uzun eksene paralel seyreder. Lamina propriada ise serbest kenardan uzakta olup uzun eksene perpendiküler durumdadır. Kas tabakasında damarlar derinden girerler. Ana damar kord ekseninde ilerlerken kasa dalcıklar verir (8).

2.2. YARA İYİLEŞMESİ

Yara iyileşmesi dinamik bir süreçtir. Hücreler ve ECM bu süreçte görev alır (16). Yara iyileşmesi kaskadı kesilmediği sürece, üç büyük kesişen fazdan oluşur; enflamasyon, ECM depozisyonu ve epitelizasyon, remodeling.

Normal yara iyileşmesi sürecindeki aksamalar beklenmedik sonuçlar doğurabilmektedir. Yara iyileşmesinin bozulduğu olgularda doku striktürü ve fonksiyonunun yeniden tesisi azalmıştır. Aşırı ve uzamış enflamasyon, genişlemiş doku hasarına neden olmaktadır. Diyabet, Cushing sendromu, malnütrisyon ve sepsis gibi sistemik durumlar normal yara iyileşmesini kesintiye uğratarak, iyileşmeyen yaralar veya aşırı fibrozis nedeniyle istenmeyen sonuçlar doğurabilir (16).

a) *Enflamasyon:* Yaralanma sonrası akut dönemde kan damarları da hasar görür, ortama kan akımı olur. Enflamatuar akut cevap kanamanın durdurulmasıdır. Daha sonra yara yerindeki doku kaybının giderilmesi, geçici matriks yapımı, yara yatağının sterilizasyonu ve diğer hücrelere ECM yapımı için sinyallerin iletimi şeklinde devam eder. Fibrinden zengin bir tıkaç kan damarlarını tıkar, doku defektlerini doldurur ve sonraki hücre invazyonunun geçici olarak yerini alır (16). Makrofajlar ve nötrofiller gibi enflamatuar hücreler yarayı enzimatik temizleme ile dezenfekte ederler. Reepitelizasyon ve ECM replasmanı teşvik edilir.

b) *ECM depozisyonu:* Enflamasyon azalmaya yüz tuttuğunda fibroblast ve epitelyal hücre infiltrasyonu başlar. Fibroblastlar yaralanma sonrası 48-72 saat içinde yara yerinde belirirler. Fibroblastlar hasara yanıt olarak kollajen ve HA gibi yeni matriks

bileşenleri salınımından sorumludurlar. Yaralanmadan 4 gün sonra yara yeri granülasyon dokusu formasyonuna dönüşür. Granülasyon dokusu, fibroblast ve düz kas hücresi özelliklerindeki yüksek myofibroblast yoğunluğundadır ve myofibroblastlar yara kontraksiyonundan sorumludur. Kontraksiyon yaranın küçülmesi için gereklidir ayrıca skar oluşumunu kolaylaştırır.

Fibroblast aktivitesi yaralanma öncesi doku organizasyonunu yeniden sağlamayı amaçlasa da, ECM elemanları düzensiz organize olurlar. Kollajen ve elastin fazla üretilir. Ayrıca glikozaminoglikanlarda üretilir. Glikozaminoglikanlar yer kaplayan büyük moleküllerdir ve birçok organda bulunduğu gibi vokal kordda ve ciltte de bulunurlar. Glikozaminoglikanların ve proteoglikanların oluşumundaki sinyal mekanizmaları açıklığa kavuşturulursa, antifibrotik tedavi seçenekleri daha rahat ortaya konabilecektir. Yara iyileşmesi kontrolden çıkarsa ciltteki örnekleri keloid, hipertrofik skar oluşur. Her iki sonuçta aşırı fibroblast aktivitesi, enflamatuar cevap ve aşırı ECM üretimi ile oluşur (16).

- c) **Epitelizasyon:** Yara iyileşmesinin en büyük hedefi yaranın sızdırmaz bir zırh ile kaplanması yani epitelizasyondur. Klinik olarak yara su geçirmez hale geldiğinde reepitelize olmuş sayılır. Bu süreç dermal yara iyileşmesinde growth faktörlerin stimülasyonu ile yaralanmadan 24-48 saat sonrasında gerçekleşir (16).
- d) **Doku remodeling(biçimlenme):** Yara iyileşmesi ve doku tamiri fonksiyonel bir epidermal bariyer oluştuktan uzun bir süreç sonrada devam eder. Matriks komponentlerinin depozisyonu ve reorganizasyonu ile devam eder. Erken skar dokusu kalın ve sert iken (1-3 ay), olgun skar dokusu ince ve yumuşaktır. Bu farklılığın

stres altındaki kollajen fiberlerinin reorganizasyonu aynı zamanda da proteoglikan içeriğinin değişimi ile olduğu düşünülmektedir (16).

2.2.1. VOKAL KORD YARA İYİLEŞMESİ;

Vokal kordlar vücuttaki diğer dokulara nazaran neredeyse sürekli stres altındadır. İlginç olarak bu sürekli mekanik strese rağmen vokal kordlar yapısal ve fizyolojik olarak ödün vermemektedirler. Bunun iki olası açıklaması olabilir; vokal kordların onarıcı kapasitesinin lamina propria ve üzerindeki epiteli tam bir yara iyileşmesi kaskadı olmadan tamir etmesi, diğer bir açıklamada da lamina proprianın mikrostrüktürel yapısının çok dayanıklı olması (2).

Skar genel olarak fibröz dokusu olarak kabul edilir. Kollajenin artması, özellikle tip 1 kollajenin, fibrozisin temeli ve skar dokusunun sağlamlığını sağlar. Vokal korddaki skar dokusu olgularındaki yoğun kollajen depozitleri yaralanmış vokal kord hayvan modellerinde gösterilmiştir. Ancak, son zamanlardaki çalışmalar HA, fibronectin ve decorin gibi diğer ekstrasellüler matriks elemanlarına daha fazla dikkat verilmesi gerektiğini bildirmektedirler (2).

Skar oluşumu kord vokal hasarı sonrasında ortaya çıkan ses bozukluğunun en önemli sebebidir. Skar dokusu kord vokal serbest kenarında deformeğe yol açarak, lamina proprianın tabakalı viskoelastik yapısını bozarak, vibratuar yapıdaki katılığı artırarak ve glottik yetmezliğe katkıda bulunarak sesi etkiler. Skar oluşumunun nedenleri arasında travma, radyasyon, cerrahi travma, iyatrojenik nedenler, infeksiyonlar sayılabilir (18). Kord vokalin biyomekanik özellikleri, ECM içinde yer alan komponentlerin dansitesi ve dağılımı tarafından belirlenir (17). Kord vokalin biyomekanik özelliklerini belirleyen bu komponentlerin dengeli

dağılımı, ses oluşumunda kord vokale ideal viskoelastikiyeti kazandırır. Lamina propriada skar dokusu oluştuğunda değişen bu özellikler fonasyon sırasında mukozal dalga hareketini bozarak ses karakterlerini etkilemektedir. Bu değişiklik hastalarda ses kısıklığı, vokal kontrolün kaybı ve seste yorulma gibi klinik şikâyetler yaratmaktadır (17). Yapılan çalışmalarla yara iyileşme sürecine ilişkin bilgilerimizin artması skar formasyonunu engellemeye ya da azaltmaya yönelik tedavi seçeneklerini gündeme getirmiştir.

Kord vokalde yara iyileşmesini inceleyen birçok yayında sürecin enflamatuvar ve proliferatif fazda ciltte görülen ile aynı olduğu ancak remodelasyon fazında farklılık sergilediği ortaya konmuştur. Normalde cilt dokusunda yara iyileşirken kollajen tip III başlangıçta hızla sentezlenir. Kollajen tip I ise hasardan yaklaşık üç gün sonra sentezlenmeye başlar ve yedinci günden başlayarak tip III'ün yerini alır (19). Tateya ve ark. rat modelinde akut kord vokal hasarına cevabı inceleyen çalışmalarında cilttekine zıt olarak kollajen tip I'in beşinci günden sonra azalmasına karşılık kollajen tip III'ün 3-14. günler arasında değişmeden kaldığını ortaya koymuşlardır. Bu bulgu kord vokaldeki remodelasyon fazının ciltten farklı sürmekte olduğunu göstermektedir (14).

2.3. RAT LARENKSİ ANATOMİSİ

Larinks kıkırdakları, inspirasyon esnasında kollapsı önler ve larinksin şeklini korur (20).

Altı adet kıkırdaktan oluşmuştur (20).

1. **Epiglot:** Triangüler şekindedir.
2. **Tiroid kıkırdak:** Larinksin en büyük kıkırdağıdır. Lateral ve ventral duvarları vardır. Lateral yüzdeki arka boynuzlar krikoid kıkırdak ile eklem yapar. Ön boynuzlar hipofarenksi destekler.
3. **Krikoid kıkırdak:** Lateral ve ventral yüzü dar, arka kısmı geniş halka şeklinde bir kıkırdaktır. Sıklıkla 'Mühür Yüzüğü' şeklinde adlandırılır.
4. **Aritenoid kıkırdaklar:** Çift olup, vokal kordu destekleyen 'V' şeklinde kıkırdaklardır.
5. **Kuneiform kıkırdaklar:** Vokal kordun önünde, ariepiglottik plikanın arkasında bir çift küçük kıkırdaktır.
6. **'U' şeklinde kartilaj:** Aritenoid kıkırdakların düzeyinde, larengeal lümenin ön duvarında bir ventral poş vardır. 'U' şeklindeki kıkırdak bu poşun girişinde bulunur.

Larengeal lümen 3 bölgeye ayrılır: Farinkse açılan vestibül bölümü, glottis ve infraglottis. Vokal kordlar, önde ventral poşun kaudal bölgesinde, aritenoid kıkırdağın vokal prosesinden tiroide kıkırdak orta hattına uzanım gösterir. Aritenoid kıkırdağın musküler prosesi, krikoid kıkırdağın önü ile eklem yapar (20).

2.4. RAT LARENKSİ HİSTOLOJİSİ

Larinksin ışık mikroskobu ile incelenmesinde 5 tip epitel görülür. Bunlar; çok katlı skuamöz, skuamoid, yalancı çok katlı solunum ve yalancı çok katlı kübik epitelin 2 formudur. Bu epitel tiplerinin dağılımı karmaşıktır (21).

Epiglotun büyük çoğunluğunda, aritenoid seviyesinin üzerinde, lateral ventriküllerin içinde ve dorsal bölgede çok katlı skuamöz epitel mevcuttur. Özellikle epiglotun üstünde olmak üzere ara ara tat tomurcukları da bulunur. Dorsal bölgede de keratinize küçük alanlar vardır. Vokal kordlar yaklaşık 2 hücre tabakası kalınlığında ince bir skuamöz epitel ile kaplıdır (21).

Epiglot kaudalinin ventrolateral bölgesinde respiratuar epitelden oluşan geniş alanlar mevcuttur. Bu alanlar, büyük subepitelyal serömüköz bezlerin duktuslara açıldığı yeri çevrelemektedir. Respiratuar epitel, aritenoid seviyesi iç yüzeyi boyunca ve vokal kordların kaudalinde mevcuttur (21)

Yalancı çok katlı kübik epitel ise yassı ve solunum epitelinin arasında bir geçiş bölgesinde mevcuttur. Geçiş bölgesinin en geniş olduğu yer aritenoid projeksiyonunun seviyesinde, ventrolateral bölge ve ventral poşun ventral ve lateralidir (21).

Yalancı çok katlı kübik epitelin çok olduğu epiglot tabanının ventrolateral yüzünde epitel 3-4 hücre tabakası yüksekliğindedir. Bu yükseklik ventral pos etrafı kaudalinde ve vokal kord yakınında 2-3 hücre tabakası yüksekliğine düşmüştür (21).

2.5. PENTOKSİFİLİN

Pentoksifilin, in vitro fibroblast proliferasyonunu azaltan kollajenaz aktivitesini uyaran, proteoglikan, fibronektin ve kollajen tip I ve III sentezini baskılayan trimetil ksantin türevi bir maddedir (26).

Pentoksifilin, non spesifik bir fosfodiesteraz inhibitörüdür. Özellikle periferik arter hastalıklarında kullanılmaktadır. Oldukça güvenli ve iyi tolere edilen bir ilaçtır. En sık görülen yan etkiler arasında %3 hastada ortaya çıkan bulantı, dispepsi gibi gastrointestinal şikâyetler ve baş dönmesi yer alır (27). Primer hemoreolojik etkisi eritrosit deformabilitesini artırmak ve kan viskozitesini düşürmektir. Bunu eritrosit içinde adenosin trifosfat ve diğer siklik nükleotidlerin seviyelerini yükselterek yapar. Hücre içinde yükselen cAMP düzeyi tromboksan sentezini azaltır, prostasiklin sentezini ise artırır. Böylece damar duvarına trombosit adezyonu ve agregasyonu inhibe edilir. Ancak bu temel hemoreolojik etkisinin yanında pentoksifilinin antiproliferatif, antienflamatuar, antifibrotik etkileri de mevcuttur. Shuei-Liong Lin ve ark.'nın (28) yapmış oldukları derlemede bu etkiler laboratuvar kanıtlarıyla bildirilmiştir.

2.6. FONASYON

Larinksin ses oluşturma mekanizmasındaki rolü yüzyıllardır biliniyor olmasına rağmen, larinksin nefes verme esnasındaki havadan nasıl ses ürettiğinin mekanizması halen açık değildir.

Normal fonasyon için gerekenler;

- 1- Yeterli solunum desteği
- 2- Vokal kordların yaklaşması
- 3- Uygun vibratuvar özellikler
- 4- Uygun vokal kord şekli
- 5- Gerginlik ve uzunluk kontrolü

Güç sağlamak için yeterli nefes desteği olmalıdır ve vokal kordun vibratuvar kenarları aynı hizaya getirilip uygun küçük aralıklarla ayrılmalıdır. Vokal kordun fiziksel özellikleri vibrasyon için olanak sağlamalı ve 3 boyutlu şekli titreşime uygun olmalıdır. Sonuç olarak normal bir ses glottik uzunluk, gerginlik ve şeklin istemli kontrolünü gerektirir (31).

Fonasyon süreci nefes almakla başlar ve daha sonra glottik kapanma ile vokal kordlar orta hattın yanına getirilir. Fonasyonun basitleştirilmiş bir açıklaması nefes vermenin vokal kordları laterale yer değiştirmesinin de subglottik basınçta ani bir düşüşe yol açmasıdır. Vokal kordların orta hatta geri dönüşüne katkıda bulunan kuvvetler, bu basınç düşüşü, vokal kordaki elastik kuvvetler ve akışının Bernouilli etkisidir. Vokal kordlar tekrar orta hatta döndüklerinde trakeadaki basınç tekrar oluşur ve siklus tekrarlanır. Vokal kord yapısı meydana gelen vibrasyonun periyodik veya kaotik olup olmadığını belirler (31).

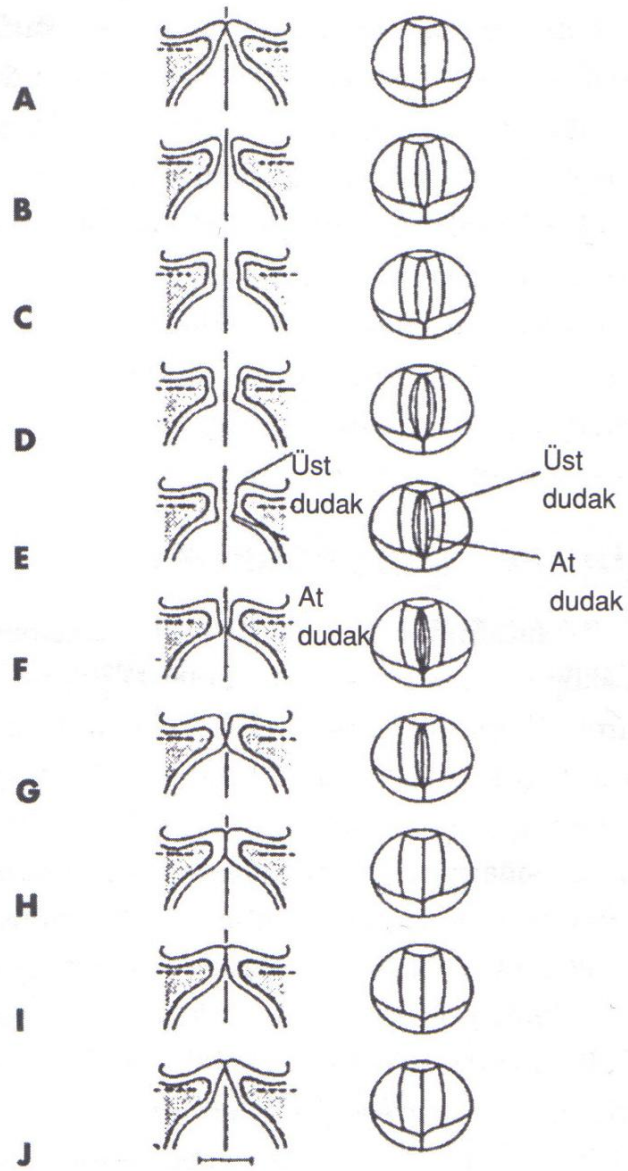
Gerçek fonasyon önceki modelden çok daha karmaşıktır. Çünkü vokal kord homojen bir yapı değildir ve aynı zamanda 3 boyutlu titreşir.

Bunun da ötesinde vibrasyonun şekli sesin perdesi ve bu perdenin ayarlanması ile birlikte değişir. Fonasyonda vücut örtüsü konseptinde, mukozanın vibrasyonu ile vokal kordun geri kalan kısmı direkt olarak birbiri ile karşılaşmaz. Bunun yerine vokal kordun gövdesi nispeten statiktir, buna rağmen dalga mukozal örtü içerisinde çoğaltılır. Bu mukozal dalga vokal kordun inferomedial yüzünde başlar ve rostrale hareket eder. Vokal kordun üst kenarları ayrılmaya başladığı zaman alt kısımdaki kenarları kapanır ve bu zamanla ilgili bağlantı Ishizaka'nın iki kitle modeliyle açıklanır (31). Vokal kordların üst kenarları ayrıldığı zaman, uzaklaşan glottis içinden geçen hava akışı vokal kordların daha aşağıda bulunan kenarlarında daha büyük negatif basınç oluşturarak inferior glottisin kapanmasını hızlandırır. Vücut örtüsü teorisi ve iki kitle modeli fonasyon süresince gözlenen hareketlerin çoğu tutarlıdır (ses perdesinin orta seviyesindeki göğüs kaydı gibi) ; bununla birlikte mukozal dalganın daha yüksek perdelere düşmesi ve falsetto süresince görünür olmaması, mukozanın ve altındaki dokuların hareketlerinin birbiri ile birleşmiş hale geldiğini düşündürmektedir. Bu moda Bernoulli etkisinden öte, elastik geri çekilme fonasyonun kapanma evresini yönlendiren asıl kuvvettir. Kapanma evresi çok daha kısadır ve vokal kordların sadece üst kenarları temas eder. Falsettonun vibratuvar özellikleri vokal kordun azaltılmış kalınlığına ve artırılmış gerginliklere bağlanmıştır. Alçak tınılardaki fonasyon süresince kordun gövdesi osilasyona katılın diye vokalis kası gevşetilir (31).

Ses oluşumu için değişik yorumlar yapılmıştır. Ewald'ın miyoelastik teorisine göre, kord vokallerdeki titreşim pasif olup sesin özelliği infraglottik basınca ve kordların gerilimine bağlıdır. Husson'un nörokronaksik teorisi'ne göre, vokal kordlar aktif rol alıp infraglottik basınca bağlı olarak ses şiddeti değişir. Rekürrens sinirden gelen aksiyon potansiyelleri vokal kasları stimüle ederek glottis açılır ve saniyenin ¼ ü gibi bir sürede yeni aksiyon potansiyeli oluşur. Glottisin açılma frekansları da rekürrens aksiyon frekanslarına eşittir. Vokal kordların pasif açılıp kapandığının

bilinmesi, iki rekürrensın uzunluk ve kalınlıklarının farklı olması yüzünden senkronize impulsları nasıl üretebildiğine ve vokal kord mukozasının önemli olan bu görevine değinmediği için bu teori önemini kaybetmiştir (31).

Miyoleastik aerodinamik teori: Van den Berg tarafından 1950 yılında ortaya atılmıştır. Bu teoriye göre, Perolla' nın mukoondülatuvar teorisi larenks mukozasının fonasyondaki önemini vurgular. Stroboskopi ile kord vokal mukozasının ondulovatuvar hareketleri gösterilmiştir. Mukoondulovatuvar ve miyoelastik teori, larinksteki ses üretimini Bernouilli fenomeni ile açıklar. Buna göre dar bir yerden yüksek hızda bir akım geçerse duvarlara akım merkezindeki basınç etki yapar. Bu etki ile glottis kapanır. Glottisten havanın hızlı geçişi sırasında negatif basınç meydana gelir ve bu basınç vokal kordlarda emme etkisi oluşturur. Vokal kord mukozasının hareketliliği ön komissür ve aritenoid bölgesine kıyasla kordların orta noktasında daha fazladır. Titreşen vokal kordların serbest kenarları eliptik biçimdedir. Vokal kordların açılma (lateral) ve kapanma (medial) hareketleri vokal kord mukozasının hareketleri vokal kord mukozasının medial yüzeyi boyunca alt dudaktan üst dudağa doğru olur (Şekil – 2). Mukozal dalganın hızı vokal kordun uzunluğu, hava akımının şiddeti, subglottik basınç, vokal kas kontraksiyonu fundamental frekansın yükselmesi ile ilişkilidir. O halde glottis, kordun alt kenarından itibaren açılmaya başlar. Tam açılma olmadan önce üst dudağı açılırken alt dudağında kapanma başlar (8).



Şekil – 2: Vokal kord vibrasyonu

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi (AKÜ) Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda Afyon Kocatepe Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı olanakları kullanılarak yürütülmüştür. Çıkarılan spesmenler AKÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelenmiştir. Araştırma AKÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AKÜHADYEK) onayı (B.30.2.AKÜ.0.9Z.00.00/92 sayılı yazı) alındıktan sonra, Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.' de üretilmiş ağırlıkları ortalama 250 gr olan 42 adet sağlıklı Sprague Dowley cinsi ratlar üzerinde, 8 haftalık süreç planlanarak yapılmıştır.

Rat modelinin seçilmesindeki amaç literatür bilgimize göre; rat vokal kord lamina propriyası, insan vokal kord lamina propriyası ile benzer histolojik karakteristiklere sahiptir. HA, rat vokal kordunda orta derin tabakasında fazla miktarda bulunmaktadır. İnsanda da orta tabakada yoğun olarak bulunmaktadır. Ayrıca insandaki gibi Tip 3 kollajen oranının, Tip 1'e göre daha fazla oranda bulunması diğer bir benzerliktir. Ratlar ayrıca haberleşmelerinde aktif olarak seslerini kullanırlar. Bu sayede cerrahi uygulanmış rat vokal kordları da strese maruz kalmaya devam etmektedir (14).

3.1. VOKAL KORD CERRAHİSİ

Çalışmaya başlamadan önce deneme yanılma yöntemiyle ratların larinkslerini en iyi pozisyonda görüntülemek ve en rahat cerrahi pozisyon için ön çalışma yapıldı. Bu sayede direkt laringoskopi için yaklaşık 45 derecelik bir platform oluşturuldu. Direkt laringoskopide yumuşak damak, dil ve farinks yapılarını ekarte etmek için, tasarımı tarafımızca modifiye edilen otomatik kulak spekulumu kullanıldı (Şekil - 3a,3b).



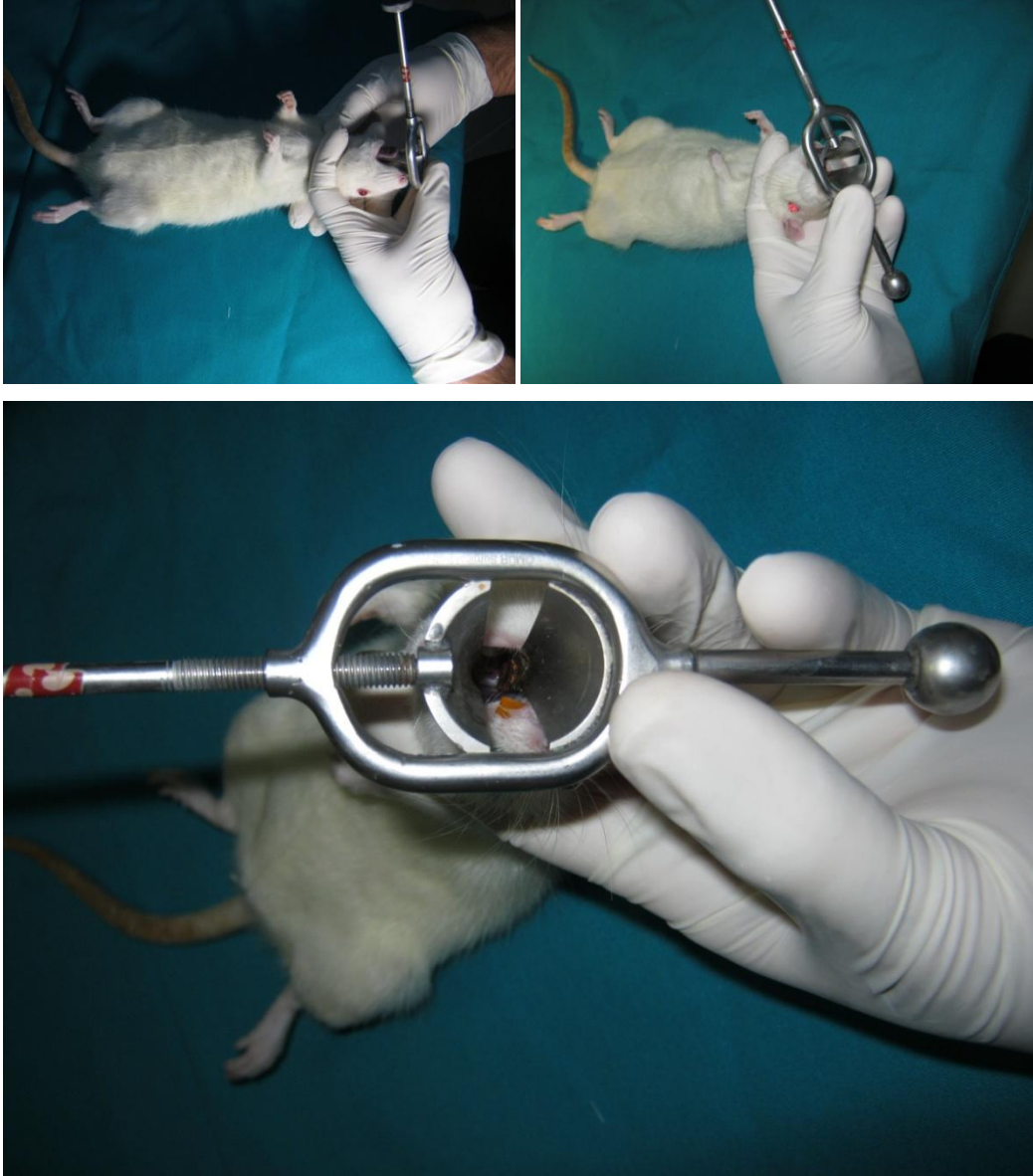
Şekil - 3a: Çalışma için modifiye edilen otomatik kulak spekulumu



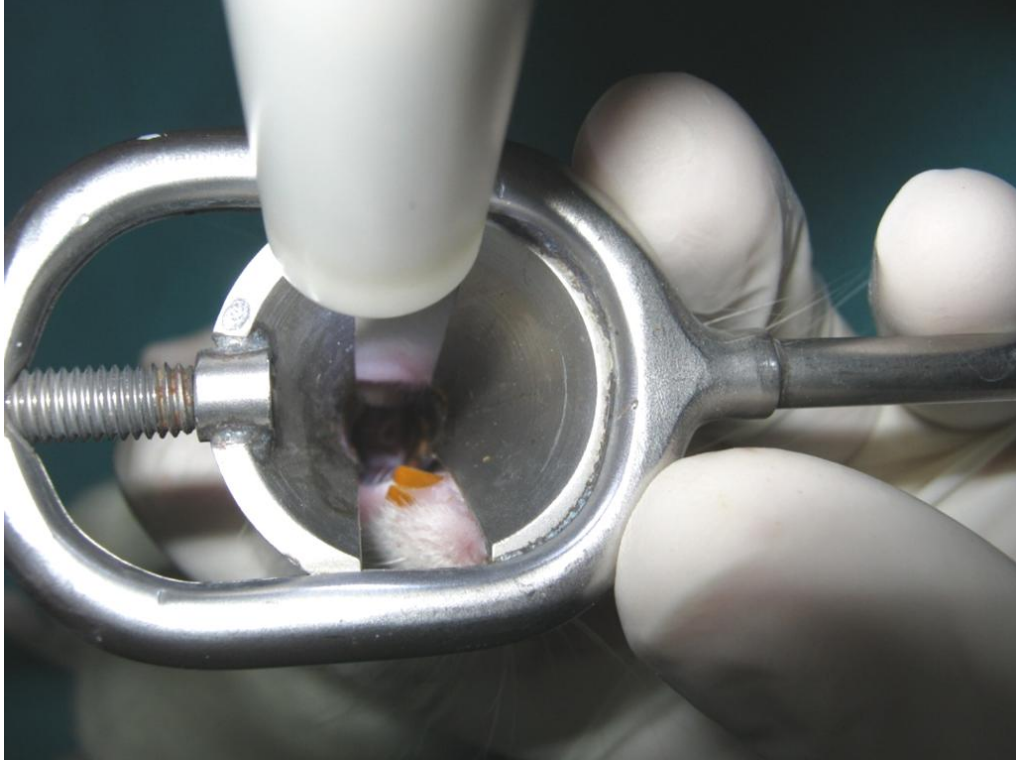
Şekil - 3b: Çalışma için modifiye edilen otomatik kulak spekulununun üstten görünümü.

Hayvanlara cerrahi işlem öncesi arka ekstremitelerin medial yüzünden intramuskuler yoldan 50 mg / kg ketamin hidroklorür (Ketalar ®, Pfizer Warner Lambert, ABD) ve 5mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun ®, Bayer, Mefar İlaç Sanayi, İstanbul, Türkiye) verilerek analjezi ve anestezi sağlandı. Cerrahi işlem sırasında inspeksiyon ve palpasyonla spontan solunumun devam ettiği ve kardiyak atımın varlığı takip edildi. Anestezi derinliği refleksler kontrol edilerek anlaşıldı ve cerrahiye geçildi.

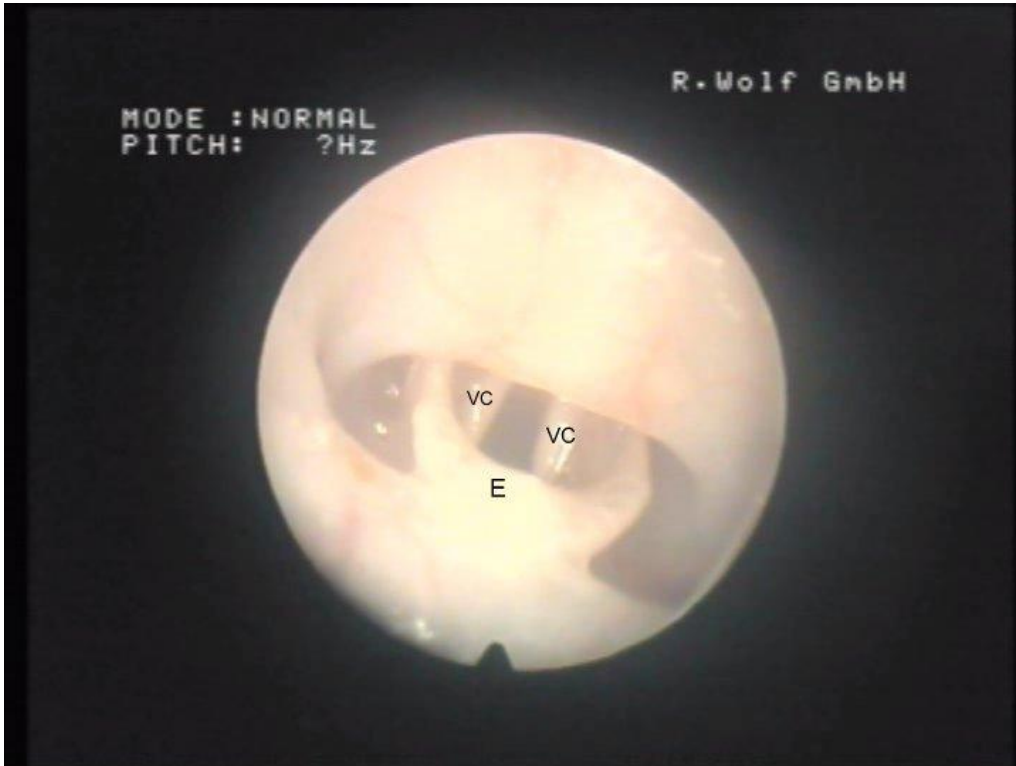
Ratlar sol el ile boynu ve başı manipüle edebilecek şekilde parmaklar arasına alınarak sağ yanları üzerine yatırıldı (Şekil - 4). Önceden hazırlanan 45 derecelik platformda dil dışarı ve laterale ekarte edilerek, özel tasarlanmış kulak spekulumu kanama oluşturmamak için nazikçe ağız içine yerleştirilerek vokal kordlar görüntülenmeye çalışıldı (Şekil - 5,6). Cerrahi işlem kulak muayene mikroskobu (Opmi Pico - Carl Zeiss ® SMT GmbH, Almanya) yardımıyla yapıldı.



Şekil - 4: Ratlar sol el ile boynu ve başı manipüle edebilecek şekilde parmaklar arasına alınarak sağ yanları üzerine yatırıldı.

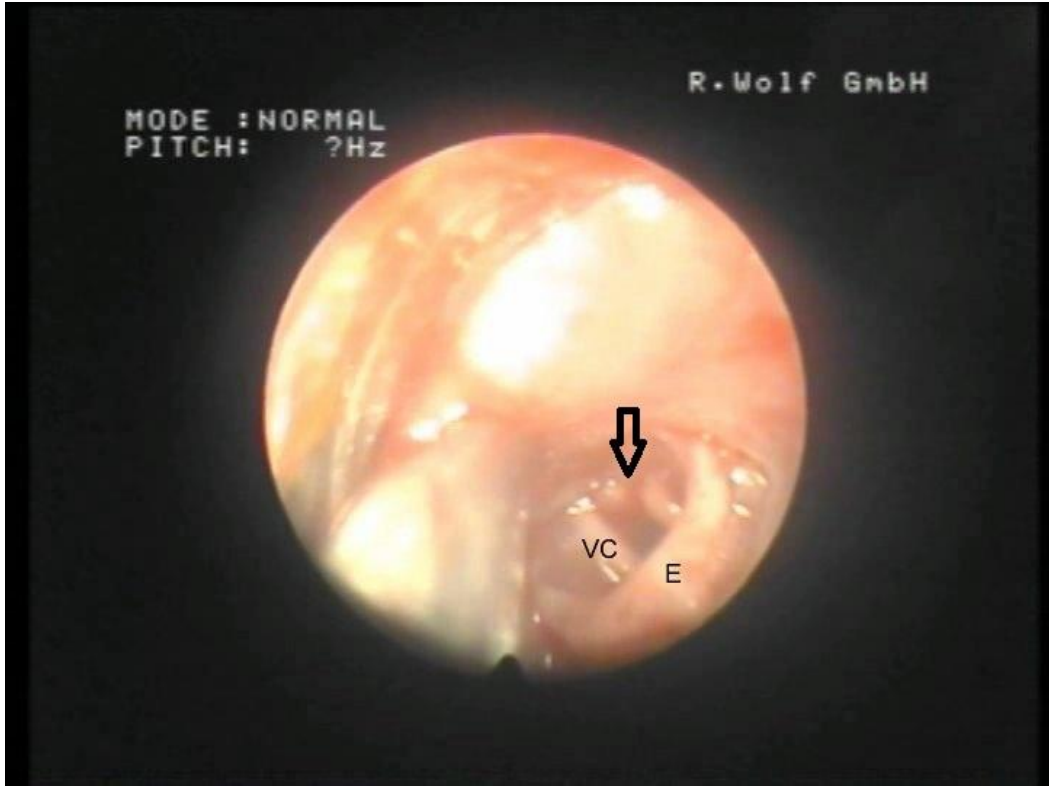


Şekil - 5: Direkt laringoskopik görüşte rat vokal kordlarının görünüşü.



Şekil - 6: İşlem öncesi rat vokal kord ve epiglotunun endoskopik görüntüsü. (VC: Vokal Kord, E: Epiglot)

Cerrahi prosedür olarak ratlara kordotomi işlemi uygulandı. Direkt laringoskopi görüşü sağlandıktan sonra birinci grubun bir korduna tam kat doku hasarı yapacak şekilde mikromakas ile kordotomi ve ardından ince uzun dental iğneler ile 0,5 ml Pentoksifilin kord hemen lateraline enjekte edildi. Kontrol grubuna ise aynı cerrahi işlem uygulandı ve 0,5 ml serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı (Şekil - 7).



Şekil - 7: Kordotomi işlemi yapılmış vokal kord (siyah ok), diğer sağlam vokal kord ve epiglotunun endoskopik görüntüsü. (VC: Vokal Kord, E: Epiglot)

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI:

Grup Kontrol (n=21) : Bu gruptaki ratların sol vokal kordlarına yukarıda tanımlanan kordotomi işlemi uygulandı ve perop 0,5 ml serum fizyolojik enjekte edildi.

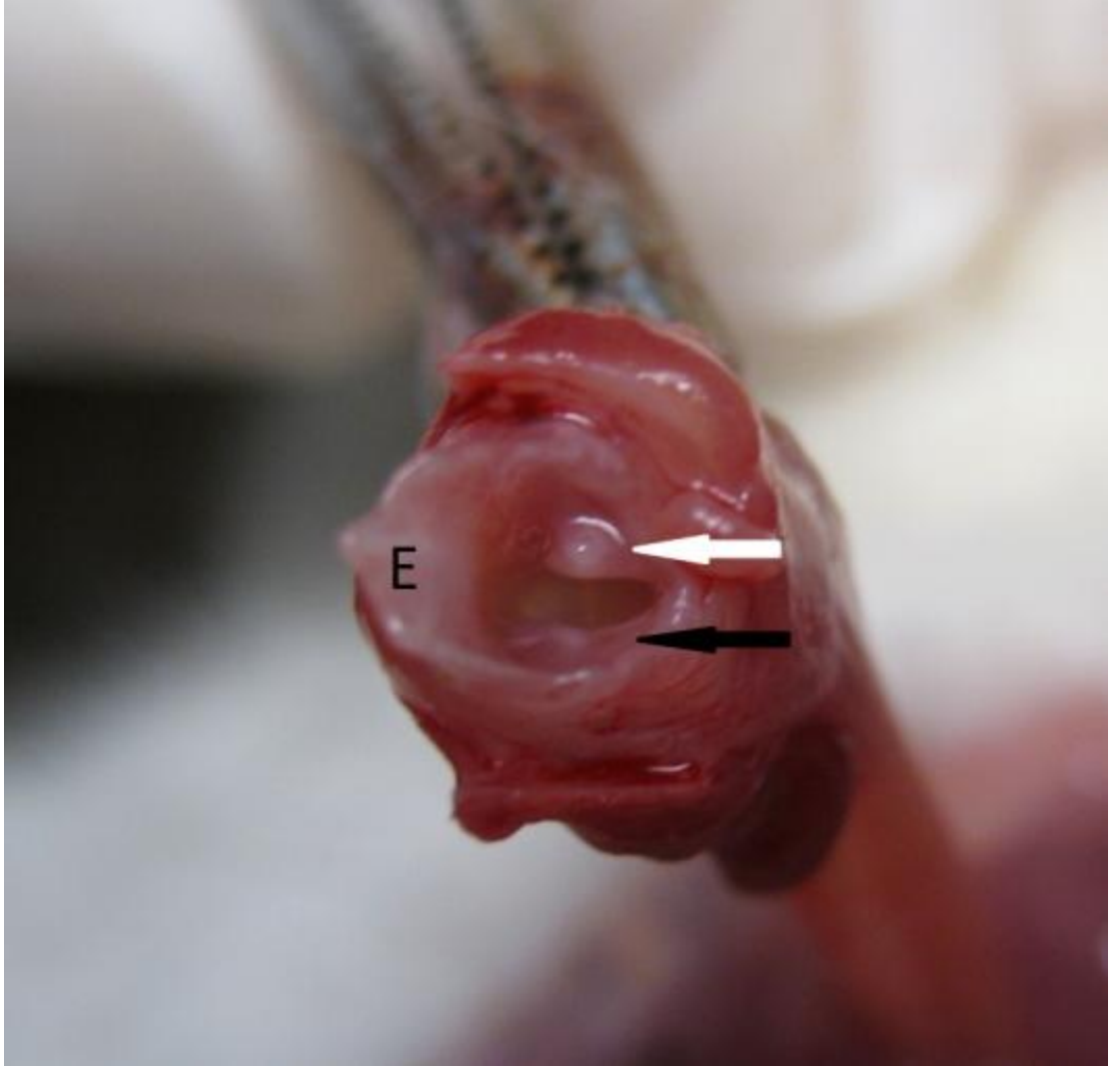
Grup Pentoksifilin (n=21) : Bu gruptaki ratlarda sol vokal korda kordotomi uygulandı. Peroperatif olarak kord hemen lateraline 0,5 ml Pentoksifilin (Trental ampul ®, 300 mg/15ml, Aventis Pharma, İstanbul, Türkiye) lokal uygulandı.

Cerrahi sonrası ratların gözlemi sırasında solunum sıkıntısı meydana geldi. Anestezi yüzeyselleştikçe bu sıkıntı ortadan kalktı. Ratlar cerrahi sonrası standart pellet yemler ile beslendi, su ve yeme işlemleri serbest bırakıldı. Sistemik kemoprofilaksik ajan kullanılmadı.

Grupların kendi içerisinde rastgele seçilen yedişer rat post-operatif 1. hafta, 2. hafta ve 2. aylarda, yüksek doz ketamin hidroklorür (Ketalar ®, Pfizer Warner Lambert, ABD) ile sakrifiye edildi. Tüm hayvanlara larenjektomi yapılarak patolojik inceleme için vokal kordlara zarar vermeden kordlar spesimenden diseke edildi (Şekil - 8,9).



Şekil - 8: Ratlara yapılan larenjektominin basamakları



Şekil - 9: Bir ratın larenjektomi spesmeni. Siyah ok cerrahi uygulanmış vokal kordu, beyaz ok cerrahi uygulanmamış vokal kordu göstermektedir. Aradaki fark makroskopik olarak seçilebilmektedir.

3.3. PATOLOJİK İNCELEME

Vokal kord örnekleri %10 nötral-tamponlu formalinde tespit edildi. Parafine gömüldü. Üç µm kalınlığında kesitler alındı. Yara iyileşmesini değerlendirilebilmek için alınan kesitler hemotoksilen eozin, Van-Gieson elastik ve trikrom boyaları ile boyanarak histopatolojik inceleme yapıldı. Histopatolojik incelemede hemotoksilen eozin ile epitelyal rejenerasyon, enflamasyon, granülasyon dokusu oluşumu ve submukozal fibroblast yoğunluğu, trikrom ile kollajen lifler, Van-Gieson ile elastik lifler değerlendirildi.

Granülasyon dokusu: Yok - Var şeklinde değerlendirildi.

Epitelyal rejenerasyon ve enflamasyonun değerlendirilmesi (32):

Mikroskopik Parametreler	(-) Yok (1)	(+) Hafif (2)	(++) Orta derecede (3)	(+++) Yaygın (4)
Epitelyal Rejenerasyon	Travmatize alanın epitelyal rejenerasyonu <25%	Travmatize alanın epitelyal rejenerasyonu ≥25% ile <50% arasında	Travmatize alanın epitelyal rejenerasyonu ≥50% ile <75% arasında	Travmatize alanın epitelyal rejenerasyonu ≥75%
Enflamasyon En yoğun olduğu alanda	0–10 Enflamatuar hücre her 400× alanda	11–50 Enflamatuar hücre her 400× alanda	51–100 Enflamatuar hücre her 400× alanda	101 veya daha fazla Enflamatuar hücre her 400× alanda

Submukozal fibroblast yoğunluğu (33):

En yoğun olduğu alanda,

Grade 1: 400 büyütmede 25' den az fibroblast bulunması.

Grade 2: 400 büyütmede 25-50 (25 ve 50 dahil) fibroblast bulunması.

Grade 3: 400 büyütmede 50' den fazla fibroblast bulunması.

Kollajen ve elastik liflerin değerlendirilmesi:

Kollajen depolanması değerlendirildi "yok (1)" " hafif (2)" , "şiddetli (3)" şeklinde değerlendirildi (34).

Elastin depolanması "var, organize (3)" "var, organize değil (2)" ,"yok (1)" şeklinde değerlendirildi (34).

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Materyaller epitelyal rejenerasyon, enflamasyon, granülasyon varlığı, submukozal fibroblast yoğunluğu, kollajen ve elastik liflerin skor değerleri istatistiksel açıdan Ki-kare testi uygulanarak değerlendirildi. Tüm analizlerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızdaki tüm veriler Tablo - I ' de gösterilmektedir.

Tablo - I: Tüm verilerin dökümü

		ER	Enflamasyon	Granülasyon	Fibroblast	Kollajen	Elastin
1. HAFTA	K-1	4	3	YOK	2	2	2
	K-2	4	3	VAR	2	2	2
	K-3	4	3	VAR	1	2	2
	K-4	4	2	YOK	3	2	2
	K-5	4	2	YOK	2	2	2
	K-6	4	3	YOK	2	1	2
	K-7	4	2	VAR	2	1	2
2. HAFTA	K-1	4	2	YOK	2	2	2
	K-2	4	4	YOK	1	2	2
	K-3	4	4	YOK	2	2	2
	K-4	4	3	VAR	1	2	2
	K-5	4	2	YOK	1	2	2
	K-6	4	2	YOK	2	2	2
	K-7	4	4	YOK	2	2	2
2. AY	K-1	4	3	YOK	2	2	3
	K-2	4	3	YOK	2	2	3
	K-3	4	4	YOK	2	2	2
	K-4	4	3	YOK	2	2	2
	K-5	4	2	YOK	2	2	2
	K-6	4	2	YOK	2	2	2
	K-7	3	3	VAR	1	2	2
1. HAFTA	P-1	4	3	YOK	2	2	2
	P-2	4	3	VAR	2	2	2
	P-3	4	4	VAR	2	2	2
	P-4	4	4	VAR	3	2	2
	P-5	4	2	VAR	2	2	2
	P-6	4	2	YOK	1	2	2
	P-7	4	2	YOK	1	2	3
2. HAFTA	P-1	4	3	VAR	2	2	2
	P-2	4	2	YOK	2	1	2
	P-3	4	2	YOK	2	2	2
	P-4	4	3	VAR	2	2	2
	P-5	4	3	VAR	2	2	2
	P-6	4	3	VAR	1	2	3
	P-7	4	3	VAR	2	2	2
2. AY	P-1	4	2	YOK	2	2	2
	P-2	4	2	YOK	1	3	2
	P-3	4	3	YOK	2	3	2
	P-4	4	3	YOK	2	2	2
	P-5	4	2	YOK	2	2	2
	P-6	4	3	VAR	2	2	2
	P-7	4	3	YOK	2	2	2

(ER: Epitelyal rejenerasyon, K: Kontrol, P: Pentoksifilin)

4.1. EPİTELYAL REJENERASYON

Gruplardaki epitelyal rejenerasyon skor dağılımı Tablo - II'de gösterilmektedir. Epitelyal rejenerasyonun “Yok” ve “Hafif” olduğu gruplar olmadığı için tabloda gösterilmemiştir. Epitelyal rejenerasyon genel olarak Pentoksifilin grubunda ve kontrol grubunda yedinci günden itibaren tamamlanmıştır. Sadece kontrol grubu 2. ayında 1 (%14,3) ratta “Orta” derecede epitelyal rejenerasyon var iken diğer 6 (%85,7) ratta epitelyal rejenerasyonun tam olduğu görüldü.

Tablo - II: Epitelyal rejenerasyon

		Epitelyal Rejenerasyon Oranı				Toplam	
		Orta		Yaygın		Sayı	%
		Sayı	%	Sayı	%		
Kontrol	1.Hafta	0	0	7	100	7	100
	2.Hafta	0	0	7	100	7	100
	2.Ay	1	14,3	6	85,7	7	100
Pentoksifilin	1.Hafta	0	0	7	100	7	100
	2.Hafta	0	0	7	100	7	100
	2.Ay	0	0	7	100	7	100

Epitelyal rejenerasyon açısından tabloda verilen skorlar Ki-kare testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmede gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. (Ki-kare, $p>0,05$)

4.2 ENFLAMASYON

Gruplardaki enflamasyon skorları dağılımı Tablo III'te gösterilmektedir. Enflamasyonun "Yok" olduğu grup olmadığı için tabloda yer verilmemiştir. Pentoksifilin grubunda enflamasyon skorları 1. haftada "Hafif", "Orta" ve "Yaygın" olarak dağılırken, 2. hafta ve 2. ayda "Hafif" ve "Orta" şeklinde dağılmıştır.

Tablo - III: Enflamasyon skorları

		Enflamasyon						Toplam	
		Hafif		Orta		Yaygın		Sayı	%
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
Kontrol	1.Hafta	3	42,9	4	57,1	0	0	7	100
	2.Hafta	3	42,9	1	14,3	3	42,9	7	100
	2.Ay	2	28,6	4	57,1	1	14,3	7	100
Pentoksifilin	1.Hafta	3	42,9	2	28,6	2	28,6	7	100
	2.Hafta	2	28,6	5	71,4	0	0	7	100
	2.Ay	3	42,9	4	57,1	0	0	7	100

Sonuçlar istatistiksel olarak Ki-kare testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Pentoksifilin uygulanan grupta 2. haftadan itibaren sadece "Hafif" ve "Orta" derecede enflamasyona rastlandı. Ancak bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Ki-kare, $p>0,05$)

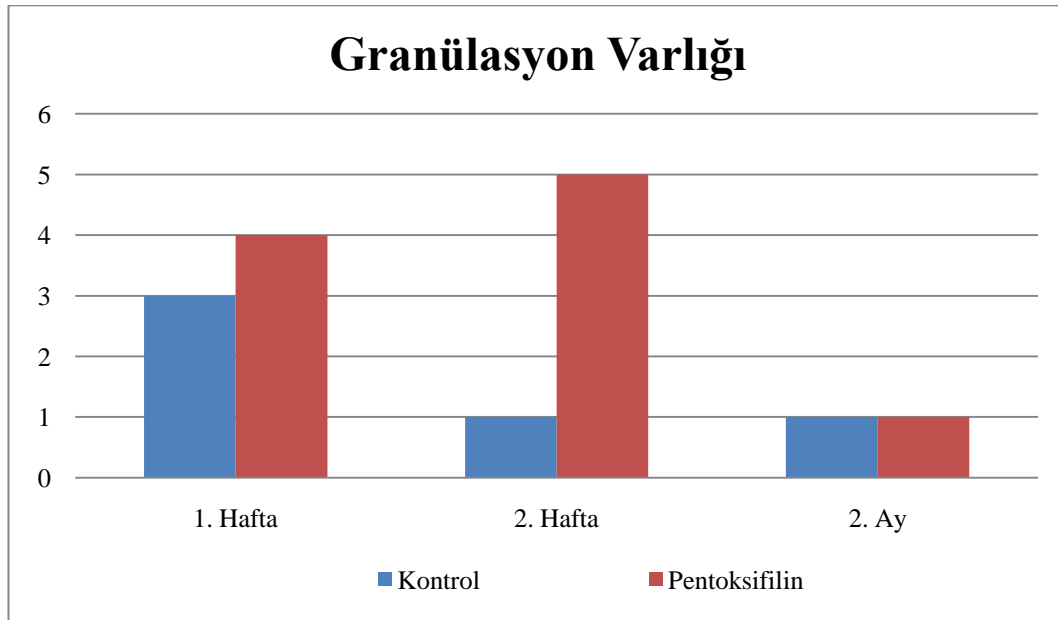
4.3 GRANÜLASYON

Gruplardaki granülasyon dağılımı Tablo - IV'te gösterilmektedir.

Tablo - IV: Granülasyon dağılımı

		Granülasyon				Toplam	
		Var		Yok		Sayı	%
		Sayı	%	Sayı	%		
Kontrol	1.Hafta	3	42,9	4	57,1	7	100
	2.Hafta	1	14,3	6	85,7	7	100
	2.Ay	1	14,3	6	85,7	7	100
Pentoksifilin	1.Hafta	4	57,1	3	42,9	7	100
	2.Hafta	5	71,4	2	28,6	7	100
	2.Ay	1	14,3	6	85,7	7	100

Pentoksifilin grubunda 2. haftada gözlemsel olarak granülasyon dokusu “Var” olan rat sayısı 5 (%71,4), “Yok” olan ise 2 (28,6) olarak bulunmuştur (Şekil – 10).



Şekil – 10: Pentoksifilin grubunda 2. haftada granülasyonun daha fazla olduğu görülmektedir.

Sonuçlar istatistiksel olarak Ki-kare testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Ki-kare, $p>0,05$)

4.4 SUBMUKOZAL FİBROBLAST YOĞUNLUĞU

Gruplardaki submukozal fibroblast yoğunlukları dağılımı Tablo - V'te gösterilmektedir.

Tablo - V: Submukozal fibroblast yoğunluğu skorları

		Fibroblast Yoğunluğu						Toplam	
		Grade 1		Grade 2		Grade 3			
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Kontrol	1.Hafta	1	14,3	5	71,4	1	14,3	7	100
	2.Hafta	3	42,9	4	57,1	0	0	7	100
	2.Ay	1	14,3	6	85,7	0	0	7	100
Pentoksifilin	1.Hafta	2	28,6	4	57,1	1	14,3	7	100
	2.Hafta	1	14,3	6	85,7	0	0	7	100
	2.Ay	1	14,3	6	85,7	0	0	7	100

Fibroblast yoğunluğunun kontrol ve Pentoksifilin gruplarında 2. hafta ve 2. ayda grade1 ve grade 2 düzeyinde olduğu, 1. haftada her iki grupta da birer ratta grade 3 düzeyinde olduğu tespit edildi. Sonuçlar istatistiksel olarak Ki-kare testi uygulanarak değerlendirildi ve anlamlı bulunmadı. (Ki-kare, $p>0,05$)

4.5 KOLLAJEN LİFLER

Gruplardaki kollajen depolanması skorları Tablo - VI'da gösterilmektedir. Değerler istatistiksel olarak Ki-kare testi uygulanarak değerlendirildi.

Tablo - VI: Kollajen depolanması

		Kollajen depolanması						Toplam	
		Yok		Hafif		Şiddetli		Sayı	%
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%		
Kontrol	1.Hafta	2	28,6	5	71,4	0	0	7	100
	2.Hafta	0	0	7	100	0	0	7	100
	2.Ay	0	0	7	100	0	0	7	100
Pentoksifilin	1.Hafta	0	0	7	100	0	0	7	100
	2.Hafta	1	14,3	6	85,7	0	0	7	100
	2.Ay	0	0	5	71,4	2	28,6	7	100

Kord hasarı sonrası Pentoksifilin uygulanan grupta kollajen depolanması yönüyle istatistiksel açıdan fark bulunmadı. (Ki-kare, $p=0,059$)

4.6 ELASTİK LİFLER

Gruplardaki elastik lif depolanması Tablo - VII'de gösterilmektedir. Elastin depolanmasının "Yok" olarak değerlendirildiği grup olmadığı için tabloda yer verilmemiştir. Değerler istatistiksel olarak Ki-kare testi uygulanarak değerlendirilmiştir.

Tablo - VII: Elastin depolanması

		Elastin Depolanması				Toplam	
		Organize Değil		Organize		Sayı	%
		Sayı	%	Sayı	%		
Kontrol	1.Hafta	7	100	0	0	7	100
	2.Hafta	7	100	0	0	7	100
	2.Ay	5	71,4	2	28,6	7	100
Pentoksifilin	1.Hafta	6	85,7	1	14,3	7	100
	2.Hafta	6	85,7	1	14,3	7	100
	2.Ay	7	100	0	0	7	100

Elastik lif depolanması istatistiksel karşılaştırmasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. (Ki-kare, $p>0,05$)

5. TARTIŞMA

Geçtiğimiz son birkaç dekatta laringeal mikrocerrahinin gelişimiyle birçok vokal kord patolojisi tedavi edilebilir hale gelmiştir. Buna rağmen, vokal kord skarı halen tedavisi zor bir hastalıktır. Skar dokusu, hasarlanma ve enflamasyonla oluşur. Uygunsuz yapılan fonocerrahilerin de kolayca vokal kordlarda skar oluşumuna neden olduğu dikkate alınmalıdır. Vokal kordlarda skar oluşumu, vokal kord mukozasının lamina propriasını bozar ve mukozanın viskoelastik gücünü artırarak vokal kordların biyomekanik özelliklerini sekteye uğratır. Böylece kordların vibrasyonunu azaltır bu da tedavisi zor olan ciddi disfoniye yol açar. Hastalar klinik olarak nefesli, zayıf ve kaba bir sesle başvurur. Genellikle stroboskopide asimetric mukozal vibrasyon azalmış ya da yok olmuş bir dalga, tam olmayan glottal kapanma, titreşmeyen segmentler, ventriküler fonasyon ve supraglottal sıkışma gibi kompensatuvar hiperfonksiyonel vokal hareketler gözlenir. Vokal kordlarda meydana gelen mikroskobik değişikliklerle kordlarda kabalaşma ve mukozal esneklikte azalma oluşur, bu da skarın tedavisini daha da zorlaştırır (2). Skar dokusunu normal esnek mukoza ile değiştirmek ve ya dokuyu yumuşatmak için, steroid enjeksiyonu, hyalüronik asit enjeksiyonu, kollajen enjeksiyonu, homolog kollajen matriksi enjeksiyonu gibi medikal tedaviler geliştirilmiş, HGF gibi maddeler de deneysel çalışmalar arasında yerini almıştır.

Yapılan klinik çalışmalar daha çok oluşmuş skar dokusu üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalar skar dokusunun nasıl önlenebileceği konusunda fikir vermektedir. Fakat histopatolojik düzeyde nasıl değişiklikler meydana geldiğini ortaya koymamaktadır. Bu nedenle hayvan çalışmaları önem kazanmıştır. Biz de buradan yola çıkarak, diğer doku gruplarında etkinliği ortaya konulmaya çalışılan, günlük hayatta kullanımında yan etki profili az olan, vokal kord skarı oluşumunu

önleyebileceğini düşündüğümüz Pentoksifilin'in vokal kordlar üzerindeki etkinliğini gözlemlemeyi hedefledik.

Tateya ve ark. (14) ve Branski ve ark.(16) 'ına göre yaralanma sonrası enflamatuar hücreler ile fibroblastların ECM komponentlerini sentezlemeye başladığı 2-3. günler, vokal kord skarının sertliğini azaltmak için akut iyileşmeye müdahale için kritik bir periyottur (15). Yine Tateya ve ark. (14) çalışmasında ECM komponentlerinden HA, kollajen ve fibronektinin, vokal kord cerrahisi hemen sonrasında bulunduğu ve 3-5. günlerde belirginleştiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmalarda göz önüne alınarak amaç fibrozusun önlenmesiye, tedavinin ideal zamanı enflamatuar sürecin başlama zamanı olarak cerrahinin hemen bitimi uygun olmalıdır (36). Biz de çalışmamızda tedavileri hasardan hemen sonra lokal injeksiyon ile uyguladık. Enflamasyon için yapılan istatistiksel değerlendirmemizde buradaki verileri destekler nitelikte anlamlı fark gözlemlenememiştir.

Diğer bir önemli konu olan yara iyileşmesinin erken döneminde müdahalenin önemini ortaya koyan Branski ve ark. (16), yapmış oldukları bir çalışmada tavşan vokal kordunda yara iyileşmesinin akut fazındaki histolojik değişimleri çalışmışlar ve 3. günde masif sellüler infiltrasyonun yanında 7. günde matür kollajen fibrilleri bulmuşlardır. Bu bulgular proliferasyon fazının, hasar sonrası ortalama 3 gün içerisinde gerçekleştiğini ve bu periyodun yara iyileşmesi için kritik olduğunu gösterir. Tateya ve ark. (14) akut vokal kord hasarı verdikleri rat modelindeki çalışmalarında epitelizasyonun, 7. günde kontrol grubuyla neredeyse aynı şekilde olduğunu gözlemlemişler. Bu da kısa yaşam süresi olan rat gibi deney hayvanlarında, bu sürecin çok hızlı seyredip sonlandığını desteklemektedir. Biz de çalışmamızda gerek kontrol, gerekse çalışma grubunda 1. haftadan itibaren epitelizasyonun tamamlandığını gözlemledik. Erken dönemdeki değişiklikler çalışmamızda incelenmemiştir.

Vokal kord ECM oluşumuna fibroblastların önemli katkı sağladığı bilinse de vokal kord içinde, hasar sonrası bu hücrelerin nasıl ve nerede ECM yapımına katkı sağladığı yayınlarda açıklık kazanmamıştır. Makula flava ve lamina propria iki önemli tartışılan yapı olarak karşımıza çıkmaktadır. Hirano ve ark. (35) elektron mikroskopik çalışmalarında, insan vokal kord fibroblastlarının değişik morfolojilere sahip olduğunu bulmuşlardır. Lamina propriadaki birçok fibroblastın iğsi şekilli, az gelişmiş düz endoplazmik retikulum ve golgi cisimciğine sahip oldukları görülmüştür. Diğer tarafta makula flavadaki fibroblastlar stellat şekilli, iyi gelişmiş düz endoplazmik retikulum ve golgi cisimciklerine sahiptirler. Sato ve Hirano (37) makula flavadaki hücrelerin ECM'i desteklemedeki görevlerinin lamina propriaya göre daha aktif olduğu yönüyle görüş bildirmişlerdir. Fayoux ve ark. (38) 'nın bu görüşe destek olan immunohistokimyasal çalışmaları vardır. Ancak Tateya ve ark. (39) rat vokal kordundaki hücre proliferasyonunu ortaya koymak için yaptıkları çalışmada anterior ve posterior makula flavada belirgin proliferasyon görmemişlerdir. Bu sonuç iyi gelişmiş endoplazmik retikulum ve golgi cisimciğine sahip makula flava hücrelerinin iyi diferansiye olduklarını ve daha az proliferasyon gösterdiklerini desteklemektedir. İyi diferansiye makula flava hücrelerinin sentezledikleri yara iyileşmesinde önemli rol oynar. İleriki çalışmaların moleküler düzeydeki değişiklikleri ortaya koymaya yönelik olması kanaatindeyiz. Çalışmamızda submukozal fibroblast yoğunluğunda Pentoksifilin uygulanan grupta değişiklik gözlemlenmedi.

Hayvan çalışmaları olgunlaşmış skar dokusu üzerine veya oluşabilecek skar dokusunu minimize etmek için hasar anında uygulanan tedavilerin etkinliğine yoğunlaşmıştır (1). Vokal kord fibrotik skarı, lamina propria ve epitelin fibrozisi ile karakterizedir. Vokal kordlar hasarlandığında fibroblastlar çeşitli ECM bileşenleri sentezler. Fibroblastlar ayrıca ECM komponentlerini kontrol eden büyüme faktörleri de sentezler. Kronik

fibrotik hastalıklarda Transforming Growth Faktör Beta 1 (TGF- β 1)'in önemli etyolojik rol oynadığı iyi bilinmektedir. TGF- β 1 ECM depozisyonunu artırırken, epitel ve endotel büyümesini inhibe etmektedir. HGF, TGF- β 1 ekspresyonunu süprese etmektedir. Ayrıca ECM komponentlerinin azalmasından sorumlu proteaz aktivitesini stimüle eder. Hirano ve ark. (40) yaptıkları çalışmada HGF'nin antifibrotik etkisinden yola çıkarak, HGF ve reseptörü c-Met'i göstermeyi amaçlamışlardır. HGF ve c-Met'i rat vokal kord epitelial ve gland hücrelerinde bulmuşlardır. Tavşan vokal kordunda ise akut hasar sonrası erken dönemde çok az saptanırken, 10-15. günlerde reepitelizasyon aşamasında belirgin olarak gözlemlenmiştir. HGF aktivitesi lamina propria fibroblastlarda gözlemlense de, epitel tabakasında da bulunmaktadır. HGF'nin fibroblastlarca sentezlenip, epitel tabakasına dağıldığını ileri sürmüşlerdir (40). HGF'nin skar oluşumunu önleyici veya tedavi edici alternatif bir tedavi olabileceğini söylemişlerdir (23).

ABD'deki Wisconsin Üniversitesi HGF üzerinde odaklanmıştır. Çünkü bunun belirgin antifibrotik aktivitesi vardır. HGF'nin embriyogenez, anjiogenez ve doku rejenerasyonu ile ilişkili olduğu ve HGF uygulamasının hayvan modellerinde karaciğer, böbrek ve akciğer fibrozisinin çözülmesinde veya önlenmesinde etkili olabileceği kanıtlanmıştır (22). Dahası, HGF'nin HA üretimini stimüle ettiği ve tip 1 kollajen üretimini baskıladığı hem insan hem de köpek fibroblastlarında in vitro bulunmuştur. Bu da HGF'nin skarlı vokal kordların tedavisinde potansiyeli olduğunu destekler (23). Hirano ve ark. (24) HGF'nin kord skarını önlemedeki etkisini tavşan modelinde de çalışmışlardır. Sözü edilen çalışmada tek taraflı vokal kord hasarını takiben HGF, hasarlı vokal korda lokal enjekte edilmiştir. Tedavi edilen grubun daha iyi viskoelastik ve vibratuvar özellikler gösterdiği bulunmuştur. Histolojik incelemede de daha az kollajen toplandığı ve daha az doku kontraksiyonu olduğu gösterilmiştir. Tedavi edilen grupta diğer gruba göre fonasyon eşik basıncı ve vokal

etkinlik bozuk olmasına rağmen, çalışma HGF'nin skar önleme veya azaltmada kullanışlı olabileceğini göstermiştir. Hirano ve ark. (25) diğer bir çalışmada, HGF'nin terapötik etkinliğini aydınlatmak için köpeklerin skarlı vokal kordlarına uygulamışlardır. Ünilateral vokal kord hasarından sonra HGF, lokal olarak skarlı kordlara 1 ay sonra enjekte edilmiştir. Histolojik ve vibratuvar çalışmalar ilk hasardan 6 ay sonra yapılmıştır. Histolojik bakıda daha az kollajen birikimi ve daha az lamina propria kontraksiyonu gösterilmiştir. Elastin azalmıştır ve HA değişim göstermemiştir. Vibratuvar testler eşiğin ve vokal etkinliğin yine de tedavi edilen grupta diğer gruba göre daha azaldığını ama mukozal dalga amplitütünün tedavi grubunda çok daha iyi olduğunu göstermiştir. Glottal yetersizlik, tedavi grubunda daha iyi duruma gelmiştir. Bu sonuçlar HGF ile tedavi edilen kordların vibrasyonu için daha fazla şeye gerek olduğunu fakat vibrasyonel özelliklerin yine de HGF uygulaması sonrasında iyileştiğini göstermiştir. Kishimoto ve ark. (41) köpekler üzerindeki yaptıkları çalışmada, HGF ile tedavi edilen vokal kordlarda diğer gruba oranla daha iyi doku restorasyonu ve daha az doku kontraksiyonu olduğunu bulmuşlardır. HGF kullanılan vokal kordlarda dezorganize kollajen depolanmasının minimal düzeyde olduğu buna karşın diğer grupta aşırı kollajen depolanması bulunmuştur. HGF'li gruptaki HA ve elastinin daha iyi organize olduğu bunun da skar olmayan karşı vokal korda benzer olduğu görülmüştür. Bununla beraber bunların ikisi de kontrol grubunda azalmış olarak bulunmuştur. Altta yatan (döşemeyi yapan) kas grupları konusunda ise anlamlı olarak bir bulgu saptanmamıştır. Lamina proprianın kalınlığı HGF ile tedavi edilen grupta normale yakın bulunmuşken, diğer grupta anlamlı düzeyde ince bulunmuştur.

Yukarıda bahsedilen çalışmalar HGF'nin kord skarını önleyici ve tedavi edici potansiyelini desteklemektedir. İlaç etkisini uygulanma şeklindeki değişiklikler uzatabilir. Büyüme faktörlerinin etkisini maksimize etmenin diğer bir yolu da gen terapisi'dir. Ama vektörden gelebilecek olan

viral enfeksiyon ya da beklenmeyen yan etkiler açısından endişeler vardır. HGF verilisinin optimal yolları gelecekte araştırılmalıdır (2).

HA son zamanlarda vokal kord skarı oluşumuyla ilgili olarak çok ilgi görmüştür. HA, lamina proprianın yüzeysel katmanına dağılmış olan glikozaminoglikanlardan biri olup, vokal kordların optimum viskoelastisitesini korumak için önemli olduğu düşünülmektedir. HA'nın, insan deri fibroblastlarının kollajen sentezini baskıladığı tasdiklenmiş olup, skarsız fetal yaraların iyileşmesine katkıda bulunduğu bilinir. Bu da HA'nın skar tedavisinde ve skar oluşumunun önlenmesinde potansiyel bir rolü olabileceğini desteklemektedir (2). Bir akut vokal kord skarı çalışmasında, tavşanda ünilateral vokal kord hasarlanmış ve histoloji ve ELİSA kullanılarak 3, 5, 10 ve 15 gün sonra HA düzeyleri bakılmıştır (2). Çalışma HA düzeyinin 15 güne kadar bariz azaldığını göstermiştir. Genelde, olgun yaralarda HA düzeyleri 2-4. günlerde pik yapar ve sonra hızlıca düşüş gösterir. Fakat fetal yara iyileşmesinde HA düzeyleri yüksek kalır, böylece skarsız iyileşme olur. Bu da HA'nın skarsız iyileşmede rolü olabileceğini gösterir (2). Rousseau ve ark. (42) domuzlar üzerinde denedikleri anti hyalüronidaz ile hasar sonrası tedavi edilen grupta HA'in artmış seviyelerini tespit etmişler. Kollajen birikiminin azaldığını gözlemlemişlerdir. Kontrol grubunda 15. günde HA seviyesinin azaldığını ve artmış kollajen seviyesi gösterilmiştir. Aynı zamanda daha yüksek fonasyon eşik basıncı ve kötü vokal etkinlik gözlemlemişlerdir. Bu çalışmalar, yara iyileşmesinin erken dönemlerinde HA seviyelerini yükseltmenin, vokal kordlarda skarlaşmayı önleyici etkisi olabileceğini bildirmektedir.

İlaçların lokal enjeksiyonu, hedef organda yüksek konsantrasyonu sağlamak ve sistemik yan etkilerinden kaçınmak için etkili bir metoddur. Bu amaçla steroidler çok sık kullanılmaktadır. Kortikosteroidler kollajen sentez ve maturasyonuna etki ederek, yara sertliğini değiştirirler (40). Ayrıca

fibroblast fonksiyonlarını ve bazı defans hücrelerinin antibakteriyal ve fagositik özelliklerini baskılayarak, yara iyileşme paternini geciktirirler. Andrea ve ark. (40) yaptıkları çalışmada kortikosteroid enjeksiyonunun (deksametazon) hücre sayıları üzerine etkisinin olmadığını saptamışlardır. Coleman ve ark. (30) köpek vokal kordlarına hasar sonrası Triamsinolon uygulamışlar ve Triamsinolon uygulanmayan hasarlı vokal kordlar ile enflamatuar hücre sayıları yönünden karşılaştırmışlardır. Steroid uygulanan tarafta istatistiksel olarak anlamlı şekilde enflamasyonda uzama tespit etmişler. Biz de çalışmamızda sistemik yan etki profili steroidler gibi yüksek olmayan Pentoksifilin'i tercih ettik. Lokal enjeksiyonun, lokalize enflamasyon oluşumunda ve yara iyileşmesinde etkinliğinin yüksek olabileceğini düşündük.

Elastin, normal dokunun elastikiyetini ve fleksibilitesini sağlar. Skar dokusunda ise normal doku elastikiyetinin kaybolmasından sorumlu olabilecek rastgele yerleşim gösteren elastik ağ dokusu mevcuttur. Skatrize olmuş vokal kordlarda belirgin olarak daha az elastin mevcuttur (17). Kollajen ve elastin fibröz proteinlerindeki değişiklik ile artmış doku sertliği ve yoğunluğu arasındaki ilişki doğru orantılı gibi görülmemektedir. Genel olarak skar dokusunun ve buna bağlı olan sertliğin, fibrozis veya kollajenin artmasına bağlı olduğu kabul edilir. Ancak Susan ve ark.'nın (17) çalışmasında sertlikteki artışın kollajendeki artış sonucuna bağlı olmaktan çok normal kollajen yapısının kaybına bağlı olduğu gösterilmiştir. Sertlik ve yoğunluktaki artışın interstisyel proteinlere ve bu proteinlerin dezorganize fibröz proteinlerle olan ilişkisine ikincil oluştuğunu düşünmektedirler. Ses kalitesini bozan bu sertliğe; kollajenin birikimi, elastinin düzensiz ağ yapması ve bunların diğer proteinlerle ilişkisi olduğunu bilerek fonocerrahi yapmak uygun olacaktır. Günlük hayatta çok sık karşımıza çıkan nodül, polip, kist gibi ses kalitesini bozan patolojilerin çoğunluğu cerrahiyle düzeltilmeye çalışılmaktadır. Bu patolojilerin büyük kısmının vokal kordun sadece küçük bir alanından kaynaklandığını düşünürsek, yapılacak cerrahi

sonrası hasarın lokalize kalmasını sağlamalıyız. Dolayısıyla kollajen birikiminin lokalize bir alanda kalmasını sağlamak fonocerrahların olumsuz sonuçları önlemede en önemli silahı olacaktır. Çalışmamızda bu amaçla, Pentoksifilin'in vokal kord hasarı sonrası lokal uygulamasını gerçekleştirdik. Ancak lokal ilaç uygulamasının ikincil bir sonucu olarak artmış enflamasyon, potansiyel antienflamatuvar ve antifibrotik etkinliğinin nötralize olmasından kaynaklandığını düşünüyoruz. Pentoksifilin'in kollajen ve elastin fibriller üzerine olumlu sonucunu gözlemleyemedik.

Alternatif tedavi metodu olarak, Kriesel ve ark. (43) enjekte edilebilir homolog kollajen matriksinin lamina propriadaki matür skar dokusunu, tedavi edebilecek potansiyel bir aday olduğunu değerlendirmişlerdir. On hafta sonraki histolojik çalışmalar homolog kollajen matriksinin bütün vokal kord tabakalarına yayıldığını göstermiştir. Doku remodelliğinde rolü olan prokollajen 1'in özellikle yüksek değerlerde olduğu ölçülmüştür. Lamina proprianın biyokimyasal özellikleri gereği hasarlanmış dokuda gelişme gözlenmemiştir. Bundan dolayı ECM restorasyonu yerine medializasyonda kullanılması önerilmiştir.

Biz ise çalışmamızda alternatif olarak Pentoksifilin'i tercih ettik. Pentoksifilin'in yenidoğan ratlardaki akciğer hasarındaki etkileri konusunda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Enflamatuvar hücreleri baskılamasının yanısıra, pulmoner epitel hücrelerinden kemokin salınımının da Pentoksifilin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (44). Hayvan deneyleri sonucunda Pentoksifilin'in akciğer hasarı üzerine etkileri konusunda farklı sonuçlar alınmıştır. Ratlarda endotoksin ile geliştirilen akut akciğer hasarında Pentoksifilin'den fayda görülmüştür (45). Gavino ve ark. (46) Pentoksifilin'in hiperoksi uygulanan sıçanlarda pnömositlerin apoptozunu engellediğini göstermişlerdir. Ter Horst ve ark. (47) yaptıkları çalışmanın sonucunda, hiperoksi uygulanan yenidoğan sıçanlarda 150 mg/kg/g

dozunda Pentoksifilin kullanımında kontrol grubuna göre sağkalımın uzadığını, fibrin birikiminin belirgin bir şekilde azaldığını bildirmişlerdir.

Ratlarda oluşturulan pyelonefrit modelinde ise Yağmurlu ve ark. (48) intraperitoneal yoldan 100 mg/kg/gün dozunda verilen Pentoksifilin'in renal skar formasyonunu önlediğini, enflamasyonu baskıladığını göstermişlerdir. Çalışmamızda Pentoksifilin'in 2. haftadan itibaren enflamasyonu baskıladığını gözlemledik. Kontrol grubunda ise 2. haftada ve 2. ayda yaygın enflamasyonun olduğu vokal kordlara da rastladık. Bu durum istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamakla birlikte Pentoksifilin'in enflamasyon şiddetini azalttığı şeklinde yorumlanabilir.

Pentoksifilin'in in vitro ve in vivo ortamda mezanjial hücre proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (49,50). Yine renal fibroziste önemli rolleri olan lenfosit ve renal fibroblastların aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe eder. Pentoksifilin antiproliferatif etkisini, hem proliferasyonda rol alan sitokin ve growth faktörlerin in vivo ekspresyonunu azaltarak hem de bu medyatörleri sentezleyen hücreleri (enflamatuar hücreler, mezanjial hücreler, renal fibroblastlar) sayıca azaltarak gösterir (49). Rawlins ve ark. (51) matür yanık skarı fibroblastlarıyla in vitro yaptıkları çalışmada, fibroblast proliferasyon ve kontraksiyonunu değerlendirmişler. Pentoksifilin'in doz bağımlı olarak fibroblast kontraksiyonunu ve proliferasyonunu azalttığını gözlemlemişlerdir. Isaac ve ark. (52) normal cilt ve yanık sonrası hipertrofik skar dokusundan elde ettikleri fibroblastlarda Pentoksifilin'in Tip I ve Tip III kollajen ekspresyonu ile üç boyutlu kollajen kafesi modelinde kontraksiyonu değerlendirmişlerdir. Pentoksifilin hipertrofik skar dokusu fibroblastlarında Tip III kollajeni, normal cilt fibroblastlarında da Tip I kollajeni baskıladığını ve her iki grupta da kontraksiyonu önlediğini gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda kollajen depolanması ve elastik lif dağılımı yönüyle Pentoksifilin'in diğer dokulardaki üstünlüğünü istatistiksel olarak ortaya koyamadık.

Tateya ve ark. (14) akut vokal kord hasarını inceledikleri rat modelinde kollajeni gösterebilmek için Trikrom ve immunohistokimyasal yöntemleri bir arada kullanmışlar. Trikromun Tip I ve Tip III kollajeni ayıramadığını, immunohistokimyasal yollarla bunun mümkün olduğunu göstermişlerdir. Trikrom ile yapılan boyamada 3. günden 14. güne doğru kollajenin arttığını gözlemlerler iken, immunohistokimyasal yollarla 3-5. günler ile 7. ve 14. günlerdeki Tip I ve Tip III kollajen düzeylerinin yakın olduğunu tespit etmişlerdir. Bu farklılığın, Trikrom boyamasının küçük kollajen depozitleri gösterememesinden ve sadece matür kollajeni tespit etmesinden kaynaklandığını öne sürmüşlerdir. Biz de çalışmamızda Trikrom boyası kullanmamızın sonucu olarak kollajenin tiplendirmesini yapamadık.

Çalışmamızda Pentoksifilin uygulanan gruplarda erken dönemde granülasyon dokusunun fazla olduğu dikkati çekmektedir. Submukozal fibroblast yoğunluklarına, kollajen lif yoğunluğuna, elastik liflere bakıldığında gruplar arasında fark olmadığı tespit edildi. Bu durum vokal kordlara yapılan müdahale neticesinde çok fazla enflamatuar hücrelerin kontrol tarafına göre migrasyonuna neden olmaktadır. Bu da Pentoksifilin'in inhibitör etkinliğini azaltmaktadır. Bu sonuç lokal ilaç uygulamasının ikincil bir travma oluşturmasından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızda sonuç olarak Pentoksifilin'in lokal uygulanmasının vokal kord skarı üzerine olumlu etkisini gözlemlenemedik. Pentoksifilin'in olası olumlu etkinliğini lokal ilaç uygulaması dışında sistemik uygulayarak, farklı dozlarda ve aralıklarda kullanarak gözlemlenmek mümkün olabilir. Ancak sistemik ilaç uygulamasının da sistemik sonuçlar doğurabileceği göz ardı edilmemelidir. Ayrıca histolojik düzeyde değişikliklerin daha erken olabileceği göz önüne alınarak örneklemin erken yapılması daha sağlıklı veriler elde edilmesi açısından önemli olacaktır. Histolojik değişikliklerin

ses üzerinde etkinliğini ortaya koyabilmek için de ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda literatür bilgimize dayanarak Pentoksifilin vokal skar dokusu üzerine olan etkilerini ortaya koymaya çalıştık.

İlk olarak epitelyal rejenerasyona baktığımızda, bu sürecin çok hızlı gerçekleştiğini ve yara iyileşmesinin daha erken fazlarında örnekleme yapılması gerektiğini gözlemledik. Bizde çalışmamızda 1. haftada epitelyal rejenerasyonun tamamlandığını tespit ettik.

Enflamasyonun değerlendirilmesinde gruplarda Pentoksifilin 2. hafta ve 2. ay kontrollerinde enflamasyonun daha az olduğunu gözlemledik. Ancak istatistiksel farklılık gözlemleyemedik.

Pentoksifilin grubunda 2. haftada granülasyonun daha fazla olduğu görülmektedir. Ancak istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

Submukozal fibroblast yoğunluklarına, kollajen lif yoğunluğuna, elastik liflere bakıldığında gruplar arasında fark olmadığı tespit edildi.

Bu bulgular ile Pentoksifilin'in vokal kord skarında, diğer dokular üzerindeki olumlu antiinflamatuvar, antifibrotik özelliklerini göstermediği sonucuna ulaşılmıştır. Ancak Pentoksifilin'in olası olumlu etkinliğini lokal ilaç uygulaması dışında sistemik uygulayarak, farklı dozlarda ve aralıklarda kullanarak gözlemlemek mümkün olabilir.

Histolojik düzeyde beklenen değişikliklerin olmaması vokal kord biyomekaniğinde değişiklik olmayacağı anlamına gelmemektedir. Bunun için de biyomekanik ölçümler ile ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

Geçtiğimiz onyıllar içinde fonocerrahinin gelişimiyle birçok vokal kord patolojisi tedavi edilebilir hale gelmiştir. Buna rağmen, vokal kord skarı halen tedavisi zor bir hastalıktır. Skar dokusu hasarlanma ve enflamasyonla oluşur. Uygunsuz yapılan fonocerrahilerin de kolayca vokal kordlarda skar oluşumuna neden olduğu dikkate alınmalıdır. Vokal kord skarlanması vokal kord mukozasının lamina propriasını bozar ve mukozanın viskoelastik gücünü artırarak vokal kordların biyomekanik özelliklerini sekteye uğratar, böylece kordların vibrasyonunu azaltır ve tedavisi zor olan ciddi disfoniye yol açar.

Bu vakaların tedavisinde ya etiyoloji ortadan kaldırılmalı ki skar dokusu gibi bir sonuç olmasın ya da yara iyileşmesi ve dokunun reperatif süreçlerine müdahale edilmeli ki istenen sonuca ulaşılsın. Amaç vokal kordun histolojik yapısının bozulmaması dolayısıyla biyomekanik yapısının korunması ve ses kalitesinin değişmemesidir.

Bu çalışmadaki amacımız; deneysel olarak oluşturulan vokal kord rat modelinde akut yaralanma sonrası fibrozisin gelişmesinde Pentoksifilin'in fibrozis üzerine etkinliğini ortaya koyabilmektir. Etkin tedavi protokolleri halen bulunamamış olan fonocerrahi sonrası gelişebilecek skarın önlenmesine yönelik tedavi protokollerinin oluşturulmasına katkıda bulunmaktadır.

Çalışmamızda 42 adet Sprague Dawley cinsi dişi rat kullanıldı. Cerrahi prosedür olarak ratlara kordotomi işlemi uygulandı. Direkt laringoskopi görüşü sağlandıktan sonra birinci grubun bir korduna tam kat

doku hasarı yapacak şekilde mikromakas ile kordotomi ve ardından ince uzun dental iğneler ile 0,5 ml Pentoksifilin kord hemen lateraline enjekte edildi. Kontrol grubuna ise aynı cerrahi işlem uygulandı ve 0,5 ml serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.

Vokal kord örneklerinden yara iyileşmesini değerlendirilebilmek için alınan kesitler hemotoksilen eozin, Van-Gieson elastik ve trikrom boyaları ile boyanarak histopatolojik inceleme yapıldı. Histopatolojik incelemede epitelyal rejenerasyon, enflamasyon, granülasyon dokusu oluşumu, submukozal fibroblast yoğunluğu ile kollajen ve elastik lifler değerlendirildi.

Çalışmamızda epitelyal rejenerasyonun erken zamanda tamamlandığını gözlemledik. Pentoksifilin uygulanan grupta 2. haftadan itibaren sadece “Hafif” ve “Orta” derecede enflamasyona rastlandı. Kontrol grubunda ise 2. haftada ve 2. ayda “Yaygın” enflamasyonun olduğu vokal kordlara da rastladık. Bu durum istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamakla birlikte Pentoksifilin’in enflamasyon şiddetini azalttığı şeklinde yorumlanabilir ($p>0,05$).

Granulasyona ve submukozal fibroblast yoğunluğu açısından da istatistiksel olarak Ki-kare testi uygulanarak değerlendirildi ve anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Kollajen ve elastin depolanması karşılaştırıldığında kord hasarı sonrası Pentoksifilin uygulanan grupta kollajen depolanması yönüyle istatistiksel açıdan fark bulunmadı ($p> 0,05$). Elastinin de organize olmayan depolanma gösterdiğini gözlemledik ($p>0,05$).

Sonuç olarak literatürde farklı alanlarda etkinliği ortaya konulmuş Pentoksifilin'in üstünlüklerini vokal kord cerrahisinde ortaya koyabilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. SUMMARY

Many vocal cord pathologies have become treatable with developments in phonosurgery over the past decades. In spite of this fact, vocal cord scarring still presents as a challenge in terms of treatment. The scar tissue builds up with injury and inflammation. Maloperated phonosurgery has its reasons for easily producing vocal cord scarring. Vocal cord scarring disrupts the lamina propria of the mucosa and increases the viscoelastic stability of the mucosa, causing the biomechanics of the cords to deteriorate and decreasing the vibratory ability of the cords and causes severe dysphonia which is hard to cure.

When treating these cases, etiologic factors should be treated to eliminate the production of the scar tissue or the physician should intervene in the reparative and healing processes in order to maintain the optimum results. The objective is to maintain the histologic structure of the vocal cord hence, protection of the biomechanic structure and the quality of sound.

The objective in this case is to show the efficacy of Pentoxifylline on fibrosis, after an acute injury causing fibrosis in an experimentally produced vocal cord rat model. Also, we want to contribute to the possible treatment protocols for preventing the post phonosurgical scarring, which hadn't been fully discovered yet.

Forty-two Sprague Dawley type female rats had been used in the study. Chordotomy was made to the rats as the surgical procedure. with direct laryngoscopy view, chordotomy was performed on one cord to make

full section tissue injury with microscissors to the first group and then Pentoxifylline of 0,5 cc was injected with long dental needles to the lateral zone of the cord. The same procedure was applied to the control group but 0,5 cc saline was injected.

The specimens taken from the vocal cords in order to evaluate the healing process were stained with hematoxylin *and* eosin, Van Gieson elastic and Trichrome and were studied histopathologically. In this assessment epithelial regeneration, inflammation, granulation tissue formation, density of submucosal fibroblasts and collagen and elastics fibers were taken into consideration.

In our study, epithelial regeneration was finished in an early stage. The inflammation from the second week in the Pentoxifylline group was rated as "Mild" and "Moderate" whereas in the control group there was "Common" inflammation in the vocal cords in the second week and month. This situation didn' t reach statistically relevance but can be interpreted as pentoxifilin decreases the severity of the inflammation ($p>0,05$).

The granulation and the density of submucosal fibroblasts were assessed statistically using Chi-square test and did not reach statistical relevance deposition of collagen and elastin were compared and there were no statistical difference between the control and the Pentoxifylline group ($p>0,05$). We also showed that elastin was not accumulated in an organized pattern.

As a conclusion, further studies are needed to establish the up sides of Pentoxifylline in vocal cord surgery, which is already efficient in many different areas in the literature.

9. KAYNAKLAR

1. Hansen JK, Thibeault SL. Current understanding and review of the literature: vocal fold scarring. *J Voice* 2006;20:110-20.
2. Hirano S. Current treatment of vocal fold scarring. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005;13:143-7.
3. Thibeault SL, Gray SD, Bless DM, Chan RW, Ford C. Histologic and rheologic characterization of vocal fold scarring. *J Voice* 2002;16:96–104.
4. Ohno T, French LC, Hirano S, Ossoff RH, Rousseau B. Effect of hepatocyte growth factor on gene expression of extracellular matrix during wound healing of the injured rat vocal fold. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2008;117:696-702.
5. Garrett CG, Soto J, Riddick J, Billante CR, Reinisch L. Effect of mitomycin-C on vocal fold healing in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110:25-30.
6. Campagnolo AM, Tsuji DH, Sennes LU, Imamura R. Steroid injection in chronic inflammatory vocal fold disorders, literature review. *Braz J Otorhinolaryngol* 2008;74:926-32.
7. Petcu LG, Sasaki CT. In: Ballenger J.J, ed: *Diseases of the Nose Throat Ear Head and Neck*, 14th ed, Philadelphia: Lea and Febier 1991; 478-497.

8. Sefa Kaya. Larenks Hastalıkları, 1. baskı Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi 2002:19-20.
9. Sato K, Hirano M. Histologic investigation of the macula flava of the human newborn vocal fold. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995;104:556-562.
10. Catten M, Gray SD, Hammond TH, Zhou R, Hammond E. Analysis of cellular location and concentration in vocal fold lamina propria. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;118:663-7
11. Gray SD, Titze IR, Chan R, Hammond TH. Vocal fold proteoglycans and their influence on biomechanics. *Laryngoscope* 1999;109:845-854.
12. Gray SD, Titze IR, Alipour F, Hammond TH. Biomechanical and histologic observations of vocal fold fibrous proteins. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109:77-85.
13. Hirano S, Bless DM, Rousseau B, Welham N, Scheidt T, Ford CN. Fibronectin and adhesion molecules on canine scarred vocal folds. *Laryngoscope* 2003;113:966-972.
14. Tateya T, Tateya I, Sohn JH, Bless DM . Histological study of acute vocal fold injury in a rat model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115:285-292.

15. Hirano S, Bless DM, Heisey D, Ford C. Effect of growth factors on hyaluronan production by canine vocal fold fibroblasts. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112:617–624.
16. Branski RC, Verdolini K, Sandulache V, Rosen CA, Hebda PA. Vocal fold wound healing: a review for clinicians. *J Voice* 2006;20:432-42.
17. Thibeault SL, Gray SD, Bless DM, Chan RW, Ford CN. Histologic and rheologic characterization of vocal fold scarring. *J Voice* 2002;16:96-104.
18. Benninger MS, Alessi D, Archer S, Bastian R, Ford C, Koufman J, Sataloff RT, Spiegel JR, Woo P. Vocal fold scarring: current concepts and management. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;115:474-482.
19. Stephens P, Thomas DW. The cellular proliferative phase of the wound repair process. *J Wound Care* 2002;11:253-261.
20. Smith G. Structure of the normal rat larynx. *Laboratory Animals* 1977;11:223-8.
21. Lewis DJ, Prentice DE. The ultrastructure of rat laryngeal epithelia. *J Anat* 1980;130:617-32
22. Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor (HGF) as a tissue organizer for organogenesis and regeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 239:639-644.

23. Hirano S, Bless D, Heisey D, Ford C. Roles of hepatocyte growth factor and transforming growth factor beta1 in production of extracellular matrix by canine vocal fold fibroblasts. *Laryngoscope* 2003;113:144-8.
24. Hirano S, Bless DM, Rousseau B, Welham N, Montequin D, Chan RW, Ford CN. Prevention of vocal fold scarring by topical injection of hepatocyte growth factor in a rabbit model. *Laryngoscope* 2004;114:548-56.
25. Hirano S, Bless DM, Nagai H, Rousseau B, Welham NV, Montequin DW, Ford CN. Growth factor therapy for vocal fold scarring in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004;113:777-85.
26. Gosselin LE, Williams JE. Pentoxifylline fails to attenuate fibrosis in dystrophic diaphragm muscle. *Muscle Nerve* 2006;33:820-3.
27. Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs* 1987;34:50-97.
28. Lin SL, Chen YM, Chiang WC, Tsai TJ, Chen WY. Pentoxifylline: a potential therapy for chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 2004;9:198-204.
29. Campagnolo AM, Tsuji DH, Sennes LU, Imamura R. Steroid injection in chronic inflammatory vocal fold disorders, literature review. *Braz J Otorhinolaryngol* 2008;74:926-32.

30. Coleman JR, Smith S, Reinisch L, Billante CR, Ossof J, Deriso W, Garret CG. Histomorphometric and laryngeal videostroboscopic analysis of the effects of corticosteroids on microflap healing in the dog larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999;108:119-27.
31. Charles W. Cummings, Bruce H. Haughey, J. Regan Thomas, Lee A. Harker. Cummings Otolaringoloji - Baş ve Boyun Cerrahisi, 4. baskı İstanbul, Güneş Tıp Kitapevleri 2007:2128-2149
32. Cincik H, Gungor A, Cakmak A, Omeroglu A, Poyrazoglu E, Yildirim S, Cekin E, Candan H. The effects of mitomycin C and 5-fluorouracil/triamcinolone on fibrosis/scar tissue formation secondary to subglottic trauma (experimental study). *Am J Otolaryngol* 2005;26:45-50.
33. Dr. Özgen Aydınca: Ratlarda lomber laminektomi sonrası ortaya çıkan epidural fibrozisin önlenmesinde temozolomid' in etkisi, Uzmanlık tezi. Sayfa 83. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara 2007.
34. Hirano S, Minamiguchi S, Yamashita M, Ohno T, Kanemaru S, Kitamura M. Histologic characterization of human scarred vocal folds. *J Voice* 2009;23:399-407.
35. Hirano M, Sato K, Nakashima T. Fibroblasts in human vocal fold mucosa. *Acta Otolaryngol* 1999;119:271-6.

36. Campagnolo AM, Tsuji DH, Sennes LU, Imamura R, Saldiva PH. Histologic study of acute vocal fold wound healing after corticosteroid injection in a rabbit model. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2010;119:133-9.
37. Sato K, Hirano M. Histologic investigation of the macula flava of the human newborn vocal fold. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995;104:556-62.
38. Fayoux P, Devisme L, Merrot O, Chevalier D, Gosselin B. Histologic structure and development of the laryngeal macula flava. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004;113:498-504.
39. Tateya I, Tateya T, Lim X, Sohn JH, Bless DM. Cell production in injured vocal folds: a rat study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115:135-143.
40. Hirano S, Thibeault S, Bless DM, Ford CN, Kanemaru S. Hepatocyte growth factor and its receptor c-met in rat and rabbit vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:661-6.
41. Kishimoto Y, Hirano S, Kitani Y, Suehiro A, Umeda H, Tateya I, Kanemaru S, Tabata Y, Ito J. Chronic vocal fold scar restoration with hepatocyte growth factor hydrogel. *Laryngoscope* 2010;120:108-13.
42. Rousseau B, Sohn J, Montequin DW, Tateya I, Bless DM. Functional outcomes of reduced hyaluronan in acute vocal fold scar. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004;113:767-76.

43. Kriesel KJ, Thiebault SL, Chan RW, Suzuki T, VanGroll PJ, Bless DM, Ford CN. Treatment of vocal fold scarring: rheological and histological measures of homologous collagen matrix. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:884-9.
44. Krakauer T. Pentoxifylline inhibits ICAM-1 expression and chemokineproduction induced by proinflammatory cytokines in human pulmonary epithelial cells. *Immunopharmacology* 2000;46:253-261.
45. Michetti C, Coimbra R, Hoyt DB, Loomis W, Junger W, Wolf P. Pentoxifylline reduces acute lung injury in chronic endotoxemia. *J Surg Res* 2003;115:92-99.
46. Gavino R, Johnson L, Bhandari V. Release of cytokines and apoptosis in fetal rat type II pneumocytes exposed to hyperoxia and nitric oxide: modulatory effects of dexamethasone and pentoxifylline. *Cytokine* 2002;20:247-255.
47. Ter Horst SAJ, Wagenaar GTM, de Boer E, van Gastelen MA, Meijers JCM, Biemond BJHM, Walther FJ. Pentoxifylline reduces fibrin deposition and prolongs survival in neonatal hyperoxic lung injury. *J Appl Physiol* 2004;97:2014-2019.
48. Yagmurlu A, Boleken ME, Ertoy D, Ozsan M, Gokcora IH, Dindar H. Preventive effect of pentoxifylline on renal scarring in rat model of pyelonephritis. *Urology* 2003;61:1037- 1041.
49. Lin SL, Chen YM, Chien CT, Chiang WC, Tsai CC, Tsai TJ. Pentoxifylline attenuated the renal disease progression in rats with remnant kidney. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2916-2929.

50. Tsai TJ, Lin RH, Chang CC, Chen YM, Chen CF, Ko FN, Teng CM. Vasodilator agents modulate rat glomerular mesangial cell growth and collagen synthesis. *Nephron* 1995;70:91-99.
51. Rawlins JM, Lam WL, Karoo RO, Naylor IL, Sharpe DT. Pentoxifylline inhibits mature burn scar fibroblasts in culture. *Burns* 2006;32:42-5.
52. Isaac C, Mathor MB, Bariani G, Paggiaro AO, Herson MR, Goldenstein-Schainberg C, Carrasco S, Teodoro WR, Yoshinari NH, Ferreira MC. Pentoxifylline modifies three-dimensional collagen lattice model contraction and expression of collagen types I and III by human fibroblasts derived from post-burn hypertrophic scars and from normal skin. *Burns* 2009;35:701-6