

Üretra onarımını takiben lokal krem uygulaması: histopatolojik değerlendirme

Local ointment application after repair of urethra: histopathological evaluation

Turgay Akgül¹, Ali Ayyıldız¹, Ersagun Karagüzel¹, Osman Polat¹, Müzeyyen Astarıcı², Cankon Germiyanoğlu¹

¹Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2. Üroloji Kliniği, Ankara

²Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Ankara

Özet

Amaç: Bu çalışmada sıçanlarda üretrokütanöz fistülün cerrahi tedavisinde primer onarımı (PO) takiben uygulanacak lokal *Triticum vulgare* (TV) ve *Hamamelis virginiana* (HV) uygulamalarının etkinliğini makroskopik ve histopatolojik bulgular açısından değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve yöntem: Çalışmaya alınan 32 Wistar albino sıçan 4 eşit gruba ayrıldı ve tümünde deneysel üretrokütanöz fistül modeli oluşturuldu. Takiben Grup P'deki sıçanlara sadece PO uygulandı. Grup T'de PO'yu takiben onarım bölgesine lokal TV kremi ve grup H'de ise lokal HV kremi günde 1 kez 21 gün boyunca sürüldü. Kontrol grubunda cerrahi onarım uygulanmadı ve üretrokütanöz fistül spontan iyileşmeye bırakıldı. Yirmi bir günün sonunda tüm sıçanlar sakrifiye edilerek penektomi materyalleri histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: İnflamasyon, fibrozis, nekroz, hiperemi, yabancı cisim reaksiyonu, fistül varlığı, neovaskülarizasyon, damar içi ve dışı epitelyum bütünlülüğü gibi parametreler iyileşme kriteri olarak alındı. Her parametreye 1 puanın verildiği skorlama sistemine göre toplam iyileşme sıralaması iyiden kötüye T=H>P>C şeklinde idi. Grup T ve H'de hiperemi ve inflamasyon gözlenmedi. Ancak gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında T ve H grupları ile P grubu arasında toplam skor yönünden bir fark izlenmedi.

Sonuç: Bu çalışmanın bulguları primer üretrokütanöz fistül onarımını takiben TV ve HV kremlerinin lokal uygulamalarının fistül iyileşme sürecinin bazı aşamalarında kısmen de olsa rol oynayabileceğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Cerrahi; hamamelis virginiana; hipospadyas; kütanöz fistüller; triticum vulgare.

Abstract

Objective: In this study, we aimed to evaluate the efficacy of TV and HV applications in the surgical repair of urethrocuteaneous fistula following primary repair (PR) according to macroscopic and histopathological findings in rats.

Materials and methods: Thirty-two Wistar Albino rats were divided into four equal groups and urethrocuteaneous fistulas were created in all rats experimentally. In group P, only primary repair was performed on the rats. In group T TV ointment was applied following primary repair, and in group H HV ointment was applied to the repair regions once a day for 21 days following primary repair. In control group, no surgical repair was performed and urethrocuteaneous fistula was left to spontaneous healing. The rats were then sacrificed after 21 days and penectomy materials of all groups were examined.

Results: The absence of inflammation, fibrosis, necrosis, hyperemia, foreign material reaction and fistula, and the presence of neovascularization and the integrity of intraluminal and extraluminal epithelium were regarded as the healing criteria for histopathological parameters. According to scoring system, where a point was allocated to each parameter and when the healing criteria was considered, a pattern such that T=H>P>C, from good to bad, was determined. Neither hyperemia nor inflammation was observed in groups T and H. However, no significant difference was determined between groups T and H, and group P according to the total score.

Conclusion: The findings of this study reflect that local applications of TV and HV ointments may play a partial role in some parts of the healing process after urethrocuteaneous fistula repair.

Key words: Cutaneous fistulas; hamamelis virginiana; hypospadias; surgery; triticum vulgare.

Giriş

Üretrokütanöz fistül hipospasdyas cerrahisinin en sık görülen ve reoperasyon gerektiren komplikasyonlarından biridir.^[1] Fistül gelişme insidansı %4 ile %20 arasında değişmektedir.^[2] Cerrahi onarımın uygulanan çoğunda uygulanması gereklidir. Hipospadiyas onarımı sırasında oluşturulan yeni üretranın distalindeki obstrüksiyon, iskemi ve enfeksiyon üretrokütanöz fistül gelişimindeki en önemli faktörlerdir. Üretrokütanöz fistüllerin onarımında birçok değişik teknik tanımlanmış olsa da fistül etrafının serbestlenmesini takiben bir veya birden fazla tabaka ile fistülün kapatılması ile gerçekleştirilen primer onarım (PO) günümüzde en sık tercih edilen cerrahi yöntemdir.^[1] Güvercin ağacı olarak bilinen *Hamamelis virginiana* (HV) uzun yıllardan beri primer olarak lokal hemostatik ve anti inflamatuvar etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Minör cilt yaralanmalarında, cilt ve müköz membranların lokal inflamasyonlarında, hemoroidlerde ve variköz venlerde topikal olarak kullanımı tarif edilmiştir.^[3]

Triticum vulgare (TV) ise reepitelizasyonu sağlayan bir ajandır ve hasarlı dokuya lökosit migrasyonu ve invazyonunu sağlayarak fonksiyon göstermektedir. Fibroblast sentezini ve lezyonlu bölgeye fibroblast hareketlenmesini aktive eder.^[4]

Bu çalışmanın amacı üretrokütanöz fistüllerde cerrahi onarımlardan sonra uygulanacak lokal epitelizan ve anti-inflamatuvar kremlerin iyileşme süreci üzerine olabilecek olası etkilerini araştırmaktır. Bu amaçla sıçanlarda deneysel yolla oluşturulan üretrokütanöz fistül modelinin cerrahi onarımında sadece PO ile fistülün primer onarımını takiben uygulanacak lokal TV ve HV uygulamalarını makroskopik ve histopatolojik bulgular açısından karşılaştırdık.

Gereç ve yöntem

Yerel etik kurulunun onayını takiben çalışmaya alınan 32 Wistar albino sıçan (ağırlık: 210-262 g) her grup 8 sıçan içerecek şekilde 4 eşit gruba ayrıldı: grup P (primer onarım grubu), grup T (TV uygulanan grup), grup H (HV uygulanan grup) ve grup K (kontrol grubu).

Cerrahi yöntem

Sıçanlara on iki saat açlığı takiben cerrahi girişimden 1 saat önce tek doz seftriakson (20 mg/kg, kas içine) uygulandı. Genel anesteziyi (ketamin 50 mg/kg, kas içine) takiben cerrahi işlem için sıçanlar supin pozisyonuna alındı ve genital bölgeleri tıraşlandı. Penise eksternal meatustan bir kanül konularak

midpenil seviyeye ilerletildi. Deneysel üretrokütanöz fistül oluşturmak amacıyla penil üretra ventralinden yaklaşık 4-5 mm çapında doku önceden tanımlandığı şekilde 15 no.lu bisturi yardımıyla çıkarıldı.^[5]

Grup P'deki sıçanlara sadece PO uygulandı. Takiben insizyon tek tabaka halinde kapatıldı. Grup T'de primer onarımı takiben onarım bölgesine lokal TV kremi (Fito®, Tripharma, Türkiye) ve grup H'de ise lokal HV kremi (Hametan®, Abdi İbrahim, Türkiye) günde 1 kez olmak üzere 21 gün boyunca sürüldü. Tüm gruplarda sütür materyali olarak 6/0 PDS kullanıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara cerrahi onarım uygulanmadı ve üretrokütanöz fistül spontan iyileşmeye bırakıldı.

Tüm cerrahi girişimler cerrahi luplar (x2.5) eşliğinde uygulandı. Sıçanların hiçbirisinde üriner diverzasyon ve baskılı bandaj uygulanmadı. Sıçanlar anesteziyenin uyanıklarında kafeslere yerleştirildiler ve 21 gün boyunca beslendiler.

Yirmi bir günün sonunda tüm sıçanlara anestezi ile sakrifikasyonu takiben onarılan bölgenin proksimalinden olmak üzere penektomi uygulandı. Tüm grupların penektomi materyalleri %10 formol içine kondu.

Patoloji

Penektomi materyallerinden onarılmış ve normal üretral bölgeleri de içerecek şekilde 5 mm'lik kesitler hazırlandı. Alkol ile 24 saatlik tespiti takiben doku örnekleri hematoksilin-eozin ile boyandı ve histopatolojik olarak incelendi.

Bu çalışmada önceden tanımlanmış bir histopatolojik skorlama sistemi kullanıldı.^[5] Bu sistemde inflamasyon, fibrozis, nekroz, hiperemi, yabancı cisim reaksiyonu, fistül varlığı, neovaskülarizasyon, lümen içi ve dışı epitel bütünlüğü gibi parametreler değerlendirildi (Tablo). Her parametre için her bir gruptaki tüm sıçanların doku örnekleri incelendi ve bu parametrenin o gruptaki tüm sıçanlarda gözlenmesi durumunda o parametre için o gruba 1 puan verildi. Bu puanların toplamı ise her grup için toplam skor verdi.

Fibrozis fibroblast proliferasyonunda ve kollajen formasyonunda artış olarak tanımlandı. Lenfosit sayımındaki artmış yoğunluk inflamasyon olarak kabul edildi. Epitel çizgisinde izlenen nekroz, nekroz olarak tanımlanırken, inflamasyona bağlı aktif hiperemi ise hiperemi tanımını oluşturdu.

İstatistiksel değerlendirme

Çalışmaya ait veriler bilgisayar ortamında Statistical Package for the Social Sciences (SPSS,

Tablo Histopatolojik parametrelere göre grupların karşılaştırılması

Histopatolojik parametreler	Grup P (n=8)	Grup T (n=8)	Grup H (n=8)	Grup K (n=8)
İnflamasyon olmaması	-	1	1	-
Fibrozis olmaması	-	-	1	-
Nekroz olmaması	1	1	1	1
Hiperemi olmaması	-	1	1	-
Yabancı cisim reaksiyonu olmaması	-	1	1	1
Fistül olmaması	1	1	1	- ^c
Neovaskülarizasyon varlığı	1	1	-	-
IEB ^a varlığı	1	1	1	- ^c
EEB ^b varlığı	1	1	1	- ^c
Toplam skor	5	8	8	2

^aIEB intraluminal epitel bütünlüğü^bEEB ekstraluminal epitelyum bütünlüğü^cKontrol grubunda 2 sayıda fistül gözlemlendi.

p<0.05, one way ANOVA ve Tukey testleri; Grup P v Grup T için p=0.195, Grup P v Grup H için p=0.195, Grup P v Grup K için p=0.530, Grup T v Grup K için p=0.01, Grup H v Grup K için p=0.01.

Chicago, Illinois, ABD) 13.0 programı kullanılarak değerlendirildi. Tanımlayıcı yöntemler uygun yerlerde (ortalama $\pm$ standart deviasyon) karşılaştırmalar için one way ANOVA ve posthoc Tukey testleri eşliğinde değerlendirildi. P değerinin 0.05'den küçük olması tüm testlerde istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Cerrahi işlemleri takiben geçen 21 günlük sürede mortalite ve infeksiyon, alerjik reaksiyon ve üreter retansiyon gibi komplikasyonlar gözlenmedi. Değerlendirmede makroskopik ve mikroskopik bulgular kullanıldı.

Makroskopik analiz

Grup P'de inflamasyonu yansıtan hafif bir hiperemi mevcuttu. Grup T ve H'de onarım bölgelerinin makroskopik görünümü diğer iki gruptan daha iyiydi. İnflamasyon veya diğer patolojik bulgular gözlenmedi. Onarım bölgesinin iyileşmesi tamamıyla gerçekleşmişti. Grup K'da inflamasyon baskın görülen özellikti. Onarım bölgesinin iyileşmesi düzensizdi ve iki olguda fistül izlendi.

Mikroskopik analiz

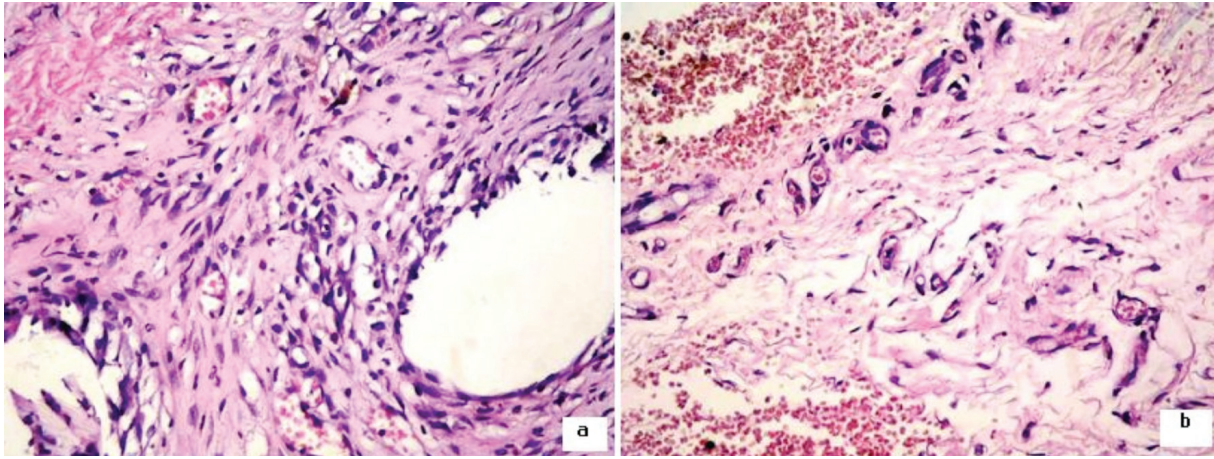
Primer onarım grubunda (grup P) hiperemi ve inflamasyon, fibrozis, neovaskülarizasyon, yabancı cisim reaksiyonu, lümen içi ve dışı epitel bütünlüğü izlendi (Şekil 1a). Primer onarım + TV grubunda (grup T) fibrozis, neovaskülarizasyon ve lümen içi ve dışı epitel bütünlüğü izlendi (Şekil 1b). Primer onarım + HV grubunda (grup H) lümen içi ve dışı epitel

bütünlüğü izlendi (Şekil 2a). Kontrol grubunda (grup K) hiperemi ve inflamasyon, fibrozis ve iki sayıda fistül oluşumu gözlemlendi (Şekil 2b).

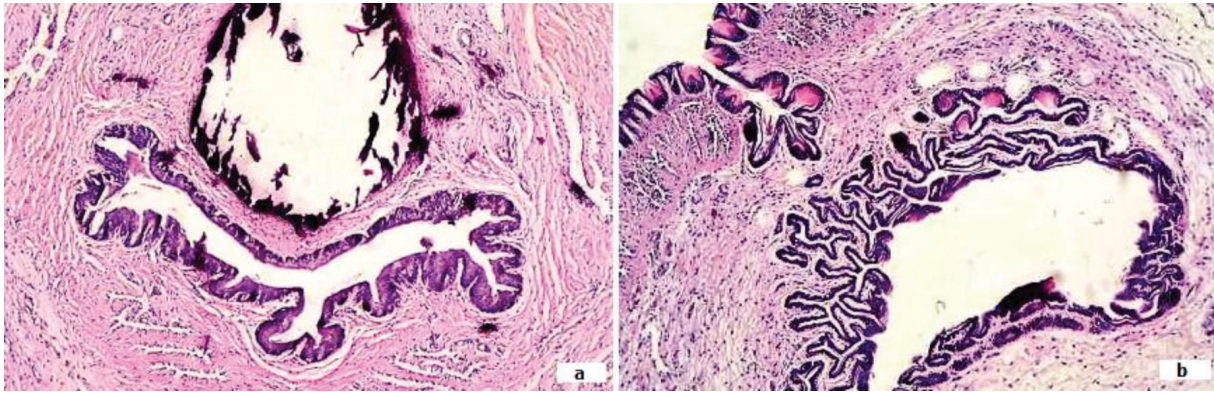
Her parametreye 1 puanın verildiği skorlama sistemine göre grup K 2 puan ile en kötü skora sahip grup olurken grup T ve H 8 puan ile en iyi gruplardı. Toplam iyileşme skoru göz önüne alındığında grupların sıralaması, iyiden kötüye, T=H>P>C şeklinde idi. Parametreler yönünden incelendiğinde grup T ve H'de hiperemi ve inflamasyon gözlenmedi. Ancak gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında T ve H grupları ile P grubu arasında toplam skor yönünden bir fark izlenmedi (p=0.195). Grup T ve H toplam skor yönünden grup K karşılaştırıldığında ise anlamlı fark izlendi (p=0.01).

Tartışma

Üretrokütanöz fistül hipospadiyas cerrahisinin problemleri bir komplikasyonu olmaya devam etmektedir. Edney ve arkadaşları üretrokütanöz fistül oluşumunu histopatolojik olarak domuz modelinde değerlendirmişler ve fistül oluşumunun iyileşme sürecinin oldukça erken evresinde başladığını belirtmişlerdir.^[6] Histolojik analizlerine göre 3. ve 5. günlerde dermal epitelin içe migrasyonu ve üretral mukozanın dışa migrasyonu fistül oluşumuna yol açmaktadır. Bu yüzden üretrokütanöz fistül oluşumunun önlenmesi esas olarak bu mekanizma üzerinde etkili olabilir. Bize göre, üretral iyileşme sırasındaki bu patolojik sürecin lokal uygulanacak tedavi yöntemleri ile inhibisyonu üretrokütanöz fistül oluşumunu engelleyebilir.

**Şekil 1**

Penektomi örneklerinin ışık mikroskobu ile incelenmesinde primer onarım grubunda (a) inflamasyon, fibrozis ve neovaskülarizasyon (H&E, x400 primer onarım + TV uygulanan grupta (b) fibrozis ve neovaskülarizasyon izlendi (H&E, x400).

**Şekil 2**

Penektomi örneklerinin ışık mikroskobu ile incelenmesinde primer onarım + HV uygulanan grupta (a) lümen içi ve lümen dışı epitel bütünlüğü (H&E, x50), kontrol grubunda (b) inflamasyon, fibrozis ve iki sıçanda fistül oluşumu gözlemlendi (H&E, x50).

Hamamelis kremi HV yapraklarının özütünü ve kabuğunu içermektedir ve çoğu ülkede bir ticari ürün olarak iyileştirici etkisi nedeniyle satılmaktadır. HV ekstrelerinin antimitojenik, antiviral, anti-inflamatuar ve antioksidatif özellikleri rapor edilmiştir.^[7-12] Hamamelis kreminin medikal endikasyonları minör cilt yaralanmaları, lokal cilt ve mukozal yapıların inflamasyonu, ve hemoroidlerdir.^[13] Hamamelis kreminde veya bileşenlerine karşı gelişebilecek hipersensitivite reaksiyonları oldukça nadir görülmektedir. Bu çalışmada hamamelis grubunda inflamasyon, fibrozis veya yabancı cisim reaksiyonu gözlemedik.

TV inozitol fosfolipid hidrolizini ve ornitin dekarboksilaz aktivasyonunu artırır.^[4] Ayrıca ciltte kolajen lifleri olan ve skar iyileşmesinde önemli rol oynayan glikozamin ve dekarboksilaz sentezini artırarak elastikiyeti sağlar.^[4] Bu çalışmada TV uygulanan grupta inflamasyon veya nekroz gözlenmedi.

Epitelyal iyileşme sadece primer onarım uygulanan gruba göre daha üstündü. Ek olarak, yabancı cisim reaksiyonunun olmaması da bize göre klinik etkinliği ve güvenliği arttırmaktadır.

Bu çalışmada üretrokütanöz fistül onarımlarından sonra TV ve HV kremlerinin uygulanmasının sadece primer onarım uygulanan gruba göre inflamasyon yönünden belirgin olarak daha iyi sonuçlar verdiğini gözlemledik. Bununla birlikte, değerlendirdiğimiz diğer iyileşme kriterleri açısından krem uygulanan gruplar ile primer onarım grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu. Fistüllerin onarımını takiben sıçanlarda üriner diversiyon kullanmamayı tercih ettik. Sıçan penisinin anatomik özelliğinden dolayı penis cildi kremlerin tatbikini takiben onarım bölgesinin üzerine çekilerek bırakılmıştır. Böylece penise pansuman yaparak kapatılma ihtiyacı ortadan kalkmıştır.

Çalışmanın sonunda çalışma ile ilgili iki adet sınırlayıcı faktör tespit ettik. Birincisi, cerrahi işlemler sırasında cerrahi luplar kullanılmasına rağmen sıçan penisinin ufak boyutu nedeniyle fistül onarımını insanlara göre daha zor gerçekleştirebildik. Bu yüzden fistül kapatılması üretra ve penil cildin ayrı ayrı kapatılması yerine penil insizyonun tek tabaka kapatılması şeklinde gerçekleştirilebildi. İkincisi ise skorlama sonuçlarının gruplar arasında çok az fark oluşturması nedeniyle nispeten az durumuna düşen sıçan sayısıydı. Ancak yine de literatür bilgimize göre ilk olan bu deneysel çalışmanın sonuçları itibariyle anlamlı mesajlar verebileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmanın bulguları bizlere üretrokütanöz fistül onarımını takiben lokal uygulanacak TV ve HV kremlerinden her ikisinde de anti-inflamatuvar özelliğin ön planda olmasının fistül iyileşme sürecinin bazı aşamalarında bu kremlerin rol oynayabileceklerini göstermektedir. Yine lokal HV kremi uygulamasının antifibrotik etkisi ile primer fistül onarımlarından sonra gelişebilecek fibrotik süreçte önleyici bir rol üstlenebileceği görülmektedir. Bununla beraber, bu çalışmada elde edilen bulguların desteklenebilmesi için daha fazla denek sayısı ile yapılacak farklı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Santangelo K, Rushton HG, Belman AB. Outcome analysis of simple and complex urethrocuteaneous fistula closure using a de-epithelialized or full thickness skin advancement flap for coverage. *J Urol* 2003;170:1589-92.
2. Sunay M, Dadali M, Karabulut A, Emir L, Erol D. Our 23-year experience in urethrocuteaneous fistulas developing after hypospadias surgery. *Urology* 2007;69:366-8.
3. MacKay D. Hemorrhoids and varicose veins: a review of treatment options. *Altern Med Rev* 2001;6:126-140.
4. Canonico P, Favit A, Fiore I. An extract derived from TV stimulates inositol phospholipid hydrolysis in mouse fibroblast. *Acta Therapeutic* 1992;18:171-2.
5. Ayyildiz A, Celebi B, Akgül KT, Nuhoglu B, Caydere M, Germiyanoglu C. A comparison of free skin graft, fascia lata, alloderm, bovine pericardium and primary repair in urethrocuteaneous fistulas without diversion: an experimental study. *Pediatr Surg Int* 2006;22:809-14.
6. Edney MT, Lopes JF, Schned A, Ellsworth PI, Cendron M. Time course and histology of urethrocuteaneous fistula formation in a porcine model of urethral healing. *Eur Urol* 2004;45:806-10.
7. Dauer A, Metzner P, Schimmer O. Proanthocyanidins from the bark of HV exhibit antimutagenic properties against nitroaromatic compounds. *Planta Med* 1998;64:324-7.
8. Erdelmeier CA, Cinatl J Jr, Rabenau H, Doerr HW, Biber A, Koch E. Antiviral and antiphlogistic activities of HV bark. *Planta Med* 1996;62:241-5.
9. Hughes-Formella BJ, Bohnsack K, Rippke F, Benner G, Rudolph M, Tausch I et al. Anti-inflammatory effect of hamamelis lotion in a UVB erythema test. *Dermatology* 1998;196:316-22.
10. Hughes-Formella BJ, Filbry A, Gassmueller J, Rippke F. Anti-inflammatory efficacy of topical preparations with 10% hamamelis distillate in a UV erythema test. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2002;15:125-32.
11. Korting HC, Schäfer-Korting M, Hart H, Laux P, Schmid M. Anti-inflammatory activity of hamamelis distillate applied topically to the skin. Influence of vehicle and dose. *Eur J Clin Pharmacol* 1993;44:315-8.
12. Pereira da Silva A, Rocha R, Silva CML. Antioxidants in medicinal plant extracts. A research study of the antioxidant capacity of Crataegus, Hamamelis and Hydrastis. *Phytother Res* 2000;14:612-6.
13. Wolff HH, Kieser M. Hamamelis in children with skin disorders and skin injuries: results of an observational study. *Eur J Pediatr* 2007;166:943-8.

Yazışma (Correspondence): Uzm. Dr. Turgay Akgül. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Üroloji Kliniği, Ulucanlar 06000 Ankara, Türkiye
Tel: +90312-240 23 70 e-posta: turgayakgul@gmail.com