



**T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

**ANOREKTAL MALFORMASYONLU FÖTAL  
SIÇANLARDA REKTOSİGMOİD DÜZ KAS  
FONKSİYONU VE NÖROTRANSMİTER DAĞILIMI**

**Dr. Merdan TÜRKER**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Hasan OKUR**

**ADANA-2009**



**T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

**ANOREKTAL MALFORMASYONLU FÖTAL  
SIÇANLARDA REKTOSİGMOİD DÜZ KAS  
FONKSİYONU VE NÖROTRANSMİTER DAĞILIMI**

**Dr. Merdan TÜRKER**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Hasan OKUR**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından  
TF2007LTP8 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

**ADANA-2009**

## TEŞEKKÜR

Çocuk Cerrahisi Uzmanlık Eğitimimde büyük emekleri olan Prof. Dr. Işık Olcay, Prof. Dr. Ünal Zorludemir, Prof. Dr. Erbuğ Keskin, Prof. Dr. Hasan Okur, Prof. Dr. Recep Tuncer ve Doç. Dr. Serdar İskit'e öncelikle teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimimin ilk gününden itibaren bilgi ve tecrübeleriyle gelişimime büyük katkısı olan ve kötü günlerimde bana sahip çıkarak desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Recep Tuncer'e;

Eğitim çalışmalarında bana destek olan Uzm. Dr. Murat Alkan, Dr. Emre Hoşver, Dr. Gökhan Güler, Dr. İlknur Banlı ve Dr. Zerrin Özçelik'e;

Çocuk Cerrahisi Kliniğindeki çalışmalarım sırasındaki en sıkıntılı anlarımda bile büyük anlayış göstererek yakın destek veren sorumlu hemşire Refiye Özgen ile tüm hemşire ve personel arkadaşlarıma;

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Ameliyathanesinde görev yapan anesteziist, hemşire ve personel arkadaşlarıma;

Çocuk Cerrahisi Ameliyat Hemşireleri Saliha Baki, Ayşe Apbak, teknisyenler Hurşit Akçalı ve Oktay Güleken'e teşekkür ederim.

Tezimin başlangıç aşamasında, ham bir düşüncenin bilimsel bir araştırma projesine dönüşmesinde beni cesaretlendiren ve büyük destek veren Prof. Dr. Işık Olcay'a;

Engin literatür bilgisi ile çalışmama yön veren ve önemli katkılar sağlayan Doç. Dr. Serdar İskit'e;

Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Araştırma Uygulama Merkezi Veteriner Hekimi Dr. Kenan Dağlıoğlu ve merkez çalışanlarına;

Tez çalışmamın yürütülmesinde yoğun destek veren Dr. Cemal Parlakgümüş ve Dr. Selcan Türker'e;

Çalışmamın organ banyosu ve farmakolojik aşamalarında büyük katkılar sağlayan Doç. Dr. Ata Seçilmiş, Arş. Gör. Özlem Yorulmaz, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve diğer çalışanlarına;

Tez çalışmamın immünohistokimyasal inceleme aşamalarında katkı ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Suzan Zorludemir, Arş. Gör. Dr. Ferhat Yıldırım, teknisyen Gülafer Korkut'a;

İstatistik açıdan tezime katkılar sağlayan Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Elemanlarına;

Tezimin tüm aşamalarında büyük bir titizlikle her türlü yardımı veren mümtaz insan Prof. Dr. Hasan Okur'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca; eğitimim ve tez yazım sürecinde çok yakın desteğini gördüğüm sevgili dostum Murat Tufan'a; yaşamımda ve çalışmalarımnda her türlü desteklerini yanımda gördüğüm sevgili eşim Nilüfer, kızlarım Dila Naz ve Duygu'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Merdan TÜRKER

## İÇİNDEKİLER

|                                                               |      |
|---------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                 | I    |
| İÇİNDEKİLER .....                                             | II   |
| TABLO LİSTESİ.....                                            | IV   |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                            | V    |
| KISALTMA LİSTESİ .....                                        | VI   |
| ÖZET .....                                                    | VII  |
| ABSTRACT.....                                                 | VIII |
| 1. GİRİŞ .....                                                | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                       | 3    |
| 2.1. ARM Tanımı.....                                          | 3    |
| 2.2. ARM Tarihçesi .....                                      | 3    |
| 2.3. ARM İnsidansı.....                                       | 4    |
| 2.4. ARM Sınıflaması .....                                    | 5    |
| 2.5. Anorektal Bölge Anatomisi .....                          | 6    |
| 2.5.1. Pelvik Taban ve Anal Sfinkter Anatomisi .....          | 8    |
| 2.5.1.1. İnternal Anal Sfinkter .....                         | 8    |
| 2.5.1.2. Eksternal Anal Sfinkter.....                         | 8    |
| 2.5.2. Anorektal Bölgenin Damarları.....                      | 9    |
| 2.5.2.1. Arterler.....                                        | 9    |
| 2.5.2.2. Venler.....                                          | 9    |
| 2.5.2.3. Lenfatikler.....                                     | 10   |
| 2.5.2.4. Sinirler .....                                       | 10   |
| 2.6. Anorektal Histoloji .....                                | 10   |
| 2.7. Anorektal Fizyoloji .....                                | 11   |
| 2.7.1. Anal Kontinans Fizyolojisi .....                       | 12   |
| 2.7.1.1. Anorektal Yüksek Basınç Hattı .....                  | 13   |
| 2.7.1.2. Anorektal Açık ve Flap Valv .....                    | 13   |
| 2.7.1.3. Rektal Kompliyans, Kapasite ve Motilite.....         | 13   |
| 2.7.1.4. Anorektal Refleksler .....                           | 14   |
| 2.7.1.5. Kolonik Geçiş Zamanı, Gaita Hacim ve Kıvamı.....     | 15   |
| 2.8. Sindirim Sisteminin Nörofizyolojisi .....                | 15   |
| 2.8.1. Otonom Sinir Sistemi.....                              | 15   |
| 2.8.2. Sempatik İnervasyon.....                               | 16   |
| 2.8.3. Parasempatik İnervasyon .....                          | 17   |
| 2.8.4. NANK Sinir Sistemi .....                               | 17   |
| 2.8.5. Enterik Sinir Sistemi .....                            | 18   |
| 2.8.5.1. ESS Nörotransmitterleri.....                         | 20   |
| 2.9. Anorektal Bölgenin Normal Embriyolojik Gelişimi .....    | 22   |
| 2.10. Anorektal Malformasyonların Embriyolojik Gelişimi ..... | 23   |
| 2.11. ARM’lerde Ek Anomaliler .....                           | 25   |
| 2.12. Anorektal Malformasyona Yaklaşım .....                  | 25   |
| 2.13. Anorektal Malformasyonların Tedavisi.....               | 26   |
| 2.14. ARM’de İzlem ve Sonuçlar .....                          | 27   |
| 2.15. ARM’de Belirsizlikler ve Gelecek .....                  | 28   |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                        | 29 |
| 3.1. Çalışmada Kullanılan Malzemeler.....                      | 33 |
| 3.2. Çalışmada Kullanılan Maddeler Solüsyonlar .....           | 33 |
| 3.3. Organ Banyosunda Yapılan Çalışmalar.....                  | 34 |
| 3.4. Histopatolojik İnceleme.....                              | 36 |
| 3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz..... | 37 |
| 4. BULGULAR.....                                               | 38 |
| 4.1. Kasılma Yanıtları.....                                    | 38 |
| 4.2. Histopatolojik İncelemeler.....                           | 40 |
| 5. TARTIŞMA .....                                              | 47 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....                                   | 58 |
| KAYNAKLAR .....                                                | 59 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                 | 65 |

## TABLO LİSTESİ

|                                                                                                        | Sayfa No |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Tablo 1: Wingspread Sınıflaması .....                                                                  | 5        |
| Tablo 2: Krickenbeck Sınıflaması .....                                                                 | 6        |
| Tablo 3: GİS Düz Kas Kasılmasını Etkileyen Uyarıcı ve İnhibitörlerin Hücre İçi İkincil Mesajcılarını20 |          |
| Tablo 4: Erkeklerde Embriyolojik Defektler ve Gelişen Anomaliler.....                                  | 24       |
| Tablo 5: Kızlarda Embriyolojik Defektler ve Gelişen Anomaliler .....                                   | 24       |
| Tablo 6: ARM Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Krickenbeck Kriterleri.....                  | 27       |
| Tablo 7: Çalışmada Oluşturulan Gruplar ve Gruplardaki Fötüs Sayıları.....                              | 29       |
| Tablo 8: Deneyde Kullanılan Araç ve Gereçler .....                                                     | 33       |
| Tablo 9: Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler .....                                                  | 34       |
| Tablo 10: Tyrod Solusyonu İçindeki Maddeler ve Değerleri .....                                         | 34       |
| Tablo 11: Karbamilkolin Uyarısıyla Oluşan Ortalama Kasılma Yanıtları ve Standart Hataları.....         | 39       |
| Tablo 12: İmmünohistokimyasal Boyanma Derecelerinin Ortalama ve Medyan Değerleri .....                 | 40       |
| Tablo 13: İmmünohistokimyasal Boyanma Derecelerinin İkili Karşılaştırmalardaki p Değerleri .....       | 40       |
| Tablo 14: Dokuların İmmünohistokimyasal Boyanma Derecelerinin Karşılaştırılması .....                  | 42       |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                                                                                             | Sayfa No |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Şekil 1: Barsak düz kasında nöromusküler bileşke, GİS kısa ve ara nöronlarının şematik görünümü .                                                           | 19       |
| Şekil 2: A: Laparotomi uygulanmış gebe sıçan ve uterus içindeki fötüsler; B: ARM'li bir fötal sıçan ..                                                      | 30       |
| Şekil 3: A: ARM'li bir fötüste eşlik eden ansefalosel görünümü; B: ARM'li bir fötüste düz perine görünümü ve eşlik eden kuyruk agenezisi izlenmektedir..... | 31       |
| Şekil 5: Organ banyosunda Tyrod solüsyonu içerisinde dikey olarak asılmış rektosigmoid doku.....                                                            | 35       |
| Şekil 6: Organ banyosunda asılı dokularda kasılma çalışmalarının yapıldığı ve verilerin kaydedildiği aygıtların görünümü.....                               | 35       |
| Şekil 7: Karbamilkolin uyarısıyla oluşan ortalama kasılma yanıtları (KCl Kasılmasının %'si) .....                                                           | 38       |
| Şekil 8: Deney gruplarında karbamilkolin yanıtlarının poligrafda demonstratif görüntüleri .....                                                             | 39       |
| Şekil 9: Gruplarda NSE ortalama değerleri.....                                                                                                              | 41       |
| Şekil 10: Gruplarda Sp100 ortalama değerleri .....                                                                                                          | 41       |
| Şekil 11: Gruplarda VIP ortalama değerleri.....                                                                                                             | 41       |
| Şekil 12: Kontrol grubu rektosigmoid düz kası NSE boyanması (Işık Mikroskopu x 400).....                                                                    | 42       |
| Şekil 13: ETU grubu rektosigmoid düz kası NSE boyanması (Işık Mikroskopu x 40).....                                                                         | 43       |
| Şekil 14: ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kası NSE boyanması (Işık Mikroskopu x 40) .....                                                                    | 43       |
| Şekil 15: Kontrol grubu rektosigmoid düz kası Sp100 boyanması (Işık Mikroskopu x 40) .....                                                                  | 44       |
| Şekil 16: ETU grubu rektosigmoid düz kası Sp100 boyanması (Işık Mikroskopu x 40) .....                                                                      | 44       |
| Şekil 17: ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kası Sp100 boyanması (Işık Mikroskopu x 40) .....                                                                  | 45       |
| Şekil 18: Kontrol grubu rektosigmoid düz kası VIP boyanması (Işık Mikroskopu x 40) .....                                                                    | 45       |
| Şekil 19: ETU grubu rektosigmoid düz kası VIP boyanması (Işık Mikroskopu x 40).....                                                                         | 46       |
| Şekil 20: ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kası VIP boyanması (Işık Mikroskopu x 40).....                                                                     | 46       |

## KISALTMA LİSTESİ

|       |                                            |
|-------|--------------------------------------------|
| ARM   | : Anorektal malformasyon                   |
| ÇÜ    | : Çukurova Üniversitesi                    |
| EAS   | : Eksternal anal sfinkter                  |
| ESS   | : Enterik sinir sistemi                    |
| ETU   | : <i>Ethylenethiourea</i>                  |
| GİS   | : Gastrointestinal sistem                  |
| HH    | : <i>Hirschsprung's</i> Hastalığı          |
| İAS   | : İnternal anal sfinkter                   |
| KCl   | : Potasyum klorür                          |
| NANK  | : Non adrenerjik non kolinergik            |
| NSE   | : Nöron spesifik enolaz                    |
| OSS   | : Otonom sinir sistemi                     |
| PM    | : P Maddesi                                |
| PSARP | : <i>Posterior sagittal anorectoplasty</i> |
| SSS   | : Santral sinir sistemi                    |
| VİP   | : Vazoaktif intestinal peptid              |
| HE    | : Hematoksilen eozin                       |



## ÖZET

### Anorektal Malformasyonlu Fötal Sıçanlarda Rektosigmoid Düz Kas Fonksiyonu ve Nörotransmitter Dağılımı

**Amaç:** Anorektal malformasyonlu olgularda cerrahi tedavi sonrasında, kabızlık, gaitanın hissedilmemesi ve inkontinans sıkça karşılaşılan sorunlardır. Cerrahi tedavideki gelişmelere rağmen sorunların devam etmesi, anorektal malformasyonlarda yapısal bozukluklar düzeltilse bile, anal sfinkter ve barsak fonksiyon bozukluklarının devam ettiğini düşündürmektedir. Çalışmamızda, deneysel anorektal malformasyon sıçan modelinde, rektosigmoid düz kas dokularında kasılma fonksiyonları ve nöron spesifik enolaz, PM, vazoaktif intestinal peptid yoğunlukları araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Wistar Albino türü gebe sıçanlara gebeliğin 11. gününde, serum fizyolojik verilerek elde edilen yavrulardan kontrol grubu, *ethylenethiourea* verilerek elde edilen yavrulardan anorektal malformasyon gelişmemiş olanlardan *ethylenethiourea* grubu, anorektal malformasyon gelişmiş olanlardan *ethylenethiourea*-anorektal malformasyon grubu oluşturuldu. Her bir gruptaki on yavrunun rektosigmoid dokularının organ banyosunda düz kas kasılma ve gevşeme yanıtları incelendi. Her bir gruptaki 15 yavrunun rektosigmoid düz kas dokularında, nöron spesifik enolaz, P Maddesi ve vazoaktif intestinal peptid'in immünohistokimyasal antikor boyalarıyla boyanma sonuçları gruplar arasında karşılaştırmalı olarak analiz edildi.

**Bulgular:** Organ banyosunda karbamilkolin uygulanmasıyla kontrol ve *ethylenethiourea* grubunda kasılma yanıtları alınırken, *ethylenethiourea*-anorektal malformasyon grubunda kasılma yanıtı alınamadı. *Ethylenethiourea*-anorektal malformasyon grubunda diğer gruplara göre nöron spesifik enolaz ve P Maddesi yoğunluğu düşük bulunurken, vazoaktif intestinal peptid yoğunluğu yüksek bulundu.

**Tartışma ve Sonuç:** *Ethylenethiourea*-anorektal malformasyon grubunda barsak düz kasında kasılma yanıtı alınamaması ve vazoaktif intestinal peptid düzeyinin yüksek bulunması, anorektal malformasyonlarda rektosigmoid düz kasında kasılma yanıtsızlığı olarak ortaya çıkan intrinsik sinir sistemi bozukluklarının olduğunu ve bu durumdan vazoaktif intestinal peptid düzeyi yüksekliğinin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, anorektal malformasyonlarda cerrahi tedavi sonrasında ortaya çıkan barsak ve sfinkter fonksiyon bozukluklarının nedenlerini açıklayabilecek gibi gözükmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Anorektal malformasyon, Barsak düz kası, Nöron spesifik enolaz, P Maddesi, Vazoaktif intestinal peptid.

## ABSTRACT

### **The Rectosigmoid Smooth Muscle Functions and Distributions of Neurotransmitters in Fetal Rats with Anorectal Malformation**

**Aim:** Constipation, fecal insensitivity and fecal incontinence are frequently encountered problems in cases with anorectal malformation after surgical treatment. Despite improvements in surgical treatment, continuance of problems leads us to think that the dysfunctions of bowel and anal sphincter continue even structural disorder is treated in anorectal malformation. In our study, in experimental anorectal malformation rat model, contraction functions in rectosigmoid smooth muscle tissues and neuron specific enolase, substance P and vasoactive intestinal peptide densities have been investigated.

**Material and Method:** The control group has been formed from fetal rats obtained by giving normal saline to Wistar Albino type pregnant rat on 11<sup>th</sup> day of pregnancy, the *ethylenethiourea* group has been formed by those whose anorectal malformation is not developed from fetuses obtained by giving *ethylenethiourea* and the *ethylenethiourea*-anorectal malformation group was constituted by those whose anorectal malformation is developed. Smooth muscle contraction and relaxation responses have been measured in the organ bath of rectosigmoid tissues of ten fetuses in each group. The immunohistochemical antibody staining results of the neuron specific enolase, substance P and vasoactive intestinale peptide at rectosigmoid smooth muscle tissues of 15 fetuses in each group have comparatively been analyzed among the groups.

**Results:** Contraction responses have been received from the control and the *ethylenethiourea* groups with charbamylcholine application in the organ bath, whereas contraction response has not been received from the *ethylenethiourea*-anorectal malformation group. Neuron specific enolase and substance P densities have been found lower in the *ethylenethiourea*-anorectal malformation group when compared to the other groups, whereas vasoactive intestinal peptide densities have been found high in this group.

**Discussion and Conclusion:** Absence of contraction response and high level of vasoactive intestinal peptide densities at bowel smooth muscle in *Ethylenethiourea*-anorectal malformation group leads us to think that there are intrinsic nervous system disorders that appear as contraction non-response at rectosigmoid smooth muscle at anorectal malformations, and this is caused by high level of vasoactive intestinal peptide. In anorectal malformations, these findings appear to explain reasons of bowel and sphincter dysfunctions which occurrence following surgical treatment.

**Keywords:** Anorectal malformation, Bowel smooth muscle, Neuron specific enolase, Substance P, Vasoactive intestinal peptide.

# 1. GİRİŞ

Anorektal bölgenin embriyonik ve anatomik oluşum anormallikleri olan “Anorektal Malformasyon” (ARM), tipleri ve eşlik eden anomaliler yönünden oldukça çeşitlidir. Anal stenoz, ektopik anüs, tek başına veya rektoüriner, rekto vestibüler fistülle birlikte olan anal atrezi ve kloakal anomalileri kapsayan ARM’ler, Çocuk Cerrahisi uygulamasının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. ARM’lerin anlaşılması ve tedavisinde önemli gelişmeler kaydedilmiş olmasına rağmen, ameliyat sonrasında kabızlık ve inkontinans gibi sorunlar hala devam etmekte olup, %30-70 oranında görülmektedir.<sup>1,2</sup> Sakral sinirlerdeki gelişim defektleri, cerrahi işlem sırasında oluşan zararlanma, myenterik pleksuslardaki anormalliklerle izah edilen bu sorunların tedavisinde, diyet düzenlemesi, oral laksatif, lavman tedavileri uygulansa da problemler hala çözülememiştir.

Sindirim sisteminin peristaltik ve sfinkter fonksiyonları oldukça karmaşık olup, tam olarak anlaşılamamıştır. Sindirim sistemi fonksiyonları intrinsik ve ekstrinsik olmak üzere iki farklı sinirsel yolla yönetilir ve bu iki sistemin koordineli çalışmasıyla sağlanır. Bu mükemmel ve o derece karmaşık sisteme “Barsakların Beyni” veya “Enterik Sinir Sistemi” (ESS) adı verilmektedir. Ekstrinsik sinir sistemini otonom sinir sistemi (OSS) oluştururken, intrinsik sinir sistemi, “Auerbach-Myenterik Pleksusu”, “Henle’nin Derin Submukozal Pleksusu” ve “Meissner Yüzeyel Submukoza Pleksusu” olmak üzere üç gangliyonik pleksustan oluşur.<sup>3,4</sup>

ARM’lerde klinik yaklaşım ve cerrahi tedavi konularında son 20 yılda önemli gelişmeler sağlanmıştır. Pena<sup>5</sup> tarafından geliştirilen, popüler hale getirilen ve dünyada yaygın olarak uygulanagelmekte olan, *posterior sagittal anorectoplasty* (PSARP) ameliyatı sayesinde, cerrahi işlem sırasında oluşan anorektal sinir ve kas zararlanmasının en aza indirgenildiği iyi bilinmektedir. Tüm bu gelişmelere rağmen, kabızlık ve inkontinans sorunlarının devam etmesi, bu gelişim kusurunun anatomik kısımlarının düzeltilmesinin tek başına yeterli olmadığını, sorunların gerisinde henüz aydınlatılmamış anal sfinkter ve barsak fonksiyon bozukluklarının bulunabileceğini düşündürmektedir.

ARM’li olgularda cerrahi tedavi sonrası yaşanan klinik sorunlar, barsaklardaki ekstrinsik ve/veya intrinsik sinir sistemi ile sfinkter kas fonksiyon bozuklukları ile

açıklanmaktadır. Ekstrinsik sinir sistemi ve bağlantılı olarak sfinkter kas fonksiyonları üzerinde klinik ve deneysel çalışmalar yapılmışsa da, bu çalışmaların sonuçları sorunların nedenlerini açıklayabilmekten uzaktır.<sup>6-9</sup>

ESS ve barsağın motor fonksiyonlarını koordine eden diğer sistemlerin bu sorunlarda katkısı olup olmadığı henüz bilinmemektedir. “*Hirschsprung’s*” Hastalığı (HH) ve benzeri hastalıklarda barsak intrinsik sinir sistemindeki kusurun yol açtığı kabızlık ve barsak tıkanıklığı tablosu, ARM’lerde de benzer patofizyolojik mekanizmaları akla getirmektedir. Konuya açıklık getirebilmek amacıyla histopatolojik, invitro fizyolojik ve izole organ çalışmalarıyla nörotransmitterlerin araştırılması yararlı gözükmemektedir.

Çukurova Üniversitesi (ÇÜ) Araştırma Fonu’na desteklenen bu çalışma, ÇÜ Tıbbi Bilimler Araştırma ve Uygulama Merkezi’nde yapılmıştır. ARM oluşturulan fõtal sıçanların rektosigmoid düz kas dokularında, kasılma fonksiyonları ve nöron spesifik enolaz (NSE), P Maddesi (PM), vazoaktif intestinal peptid (VİP) yoğunlukları incelenerek, cerrahi tedaviyle bozuklukları düzeltilmiş olduğu düşünölen ARM’lerde, süregelen barsak ve sfinkter fonksiyon bozukluklarına ışık tutulması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. ARM Tanımı

Arka barsağın embriyolojik oluşumu ve gelişimi sırasında ortaya çıkan anormallikler, anorektal, üriner ve genital anomalilerle sonuçlanır. Anorektal bölgenin anomalilerine genel olarak anorektal malformasyon'lar adı verilir ve anal atrezi, rektal atrezi, rektoperineal fistül, rektovestibüler fistül, rektoüretal fistül, rektovezikal fistül, kloaka anomalileri gibi çeşitli defektleri kapsar. ARM'ler tek bir anomali olarak bulunabildiği gibi, birkaç anomali bir arada veya diğer organ anomalileriyle birlikte de görülebilirler.

### 2.2. ARM Tarihçesi

Hipokrat, anorektal bölge cerrahisinden ilk söz eden kişidir.<sup>10</sup> Aristo ise, ilk kez kolon kelimesini kullanmış ve konjenital malformasyonların erkeklerde kızlardan daha fazla oluştuğuna dikkat çekmiştir. Anal atreziyle ilgili ilk kayıt Ege Bölgesinde yaşayan Paul Aegina (M.S. 625-690) tarafından, anal atrezili bir olguda bistürü ile anüsün açılması ve körlemesine dilatasyonla ilgilidir.<sup>10</sup> John Arderne (1367), anorektal cerrahiyle ilgili yazılar yazmıştır. Anüsü kapalı çocuklarda, ucu sivri ve kızdırılmış demir çubukla perineyi dağlayan Amasya'lı Şerafeddin Sabuncuoğlu (1465), bu şekilde anüsü açmış ve durumu Cerrahiye-i İlhaniye adlı atlasında şematize etmiştir.<sup>11</sup> Saviard (1702), anüsü olmayan bir çocukta bistüri ucunu ilerleterek kör rektal poşa girmiş, mekonyum boşalmış ve çocuk yaşamıştır.<sup>10</sup> Litre (1710), kolonu karın sol alt kadranağızlaştırarak anal atreziiyi başarıyla tedavi etmiştir. Heister (1718), rektumu sakrumun üst hizasında sonlanan iki çocukta trokar kullanarak rektuma ulaşmış ancak çocuklar ölmüştür. Benjamin Bell (1787), ilk perineal diseksiyonu yapmıştır. Daha sonraları, anal atrezilerde trokar veya bistürü ile körlemesine delerek pasajı sağlama yönteminden uzaklaşmış ve orta hat perineal insizyon yapılarak rektumun ucu görülmeye çalışılmıştır. Callisen (1798), anal atrezi için lumbal bölgede ekstrapéritoneal kolostomi yapılmasını önermiştir.<sup>10,11</sup>

Roux (1798), tanımladığı perineal orta hat insizyonu ile anal sfinkterin eliptik kaslarını ve levator kasını geçip, kolonun distal ucunu palpe ederek kestğini, açıklığın kapanmasını önlemek için açıklık içine keten tiftiği parçası koyduğunu, iki hafta dilatasyon gerektiğini bildirmiştir.<sup>10</sup> Amussat (1835), perineal insizyonla barsak kör ucunu mobilize edip, rektum duvarını anal bölge cilt kenarına dikerek gerçek anlamdaki ilk anoplastiyi uygulamış ve pasajın korunabilmesi için açıklığın mukoza ile döşeli olması gerektiğini vurgulamıştır.<sup>10</sup> Miller (1857), mesane fistüllü anorektal agenezili bir hastayı başarıyla ameliyat etmiştir. Mc Cormac (1886), önce elektif kolostomi, daha sonra rektoplasti yapılmasını önermiştir. Mc Leord (1880), perinede barsağın bulunamaması durumunda laparotomi yapılması gerektiğini belirtmiş ve bu yöntem ilk defa Hadra (1884) tarafından uygulanmıştır.<sup>10</sup>

ARM'nin tanınabilmesi ve tipinin belirlenebilmesi amacıyla invertogram olarak bilinen radyolojik inceleme ilk kez Wangestein ve Rice isimli iki araştırmacı tarafından 1930 yılında geliştirilmiş ve halen de uygulanmaktadır.<sup>12,13,14</sup> Ladd ve Gross (1934), ARM'lerde yeni bir sınıflama oluştururken, Stephens (1953), puborektal kasın mutlaka korunmasını savunmuştur. 1980'li yıllara kadar, Swenson ve Donnellan abdominoperineal rektoplasti, Kiesewetter ve Rehbein sakroabdominoperineal rektoplasti ve submukozal rezeksiyon, Mollard ise anterior perineal rektoplasti yöntemlerini savunmuşlar ve uygulamışlardır.<sup>13,14</sup> Pena ve de-Vires<sup>5</sup> tarafından 1982 yılında geliştirilen posterior sagittal anorektoplasti tekniği, ARM'ye yaklaşım ve cerrahi tedavide bir çığır açmıştır. Georgeson<sup>15</sup> tarafından yakın zamanda uygulamaya sokulan laparoskopi yardımcı anorektoplasti tekniği ise en son yenilik olup, sonuçları tartışılmaya devam edilmektedir.<sup>1,2,13,16,17</sup>

### **2.3. ARM İnsidansı**

ARM insidansı ülkelere göre değişse de, genelde 1500-5000 canlı doğumda bir oranındadır. Görülme sıklığı erkeklerde daha fazla olup, erkek/kız oranı 1,4-1,6/1 olarak bilinmektedir.<sup>18</sup> Annenin yaşı, doğum sayısı, ırk ve genetik ilişkiden şüphelenilse de, bu ilişkiler tam olarak ortaya konulamamıştır.<sup>19,20</sup> Ancak, aynı ailenin üç jenerasyonunda ARM görülebildiği gibi, ilk çocukta ARM bulunması, sonraki çocuklarda ARM oluşma şansını önemli oranda artırmaktadır ve bu oran yaklaşık %1'dir.<sup>21</sup>

Wingspread sınıflamasına göre yüksek ve orta tip malformasyonu olan ARM olgularının yaklaşık %60'ında bazı tip genitoüriner malformasyonlar ve vezikoüreteral reflü bulunurken, alçak tip ARM'lerde genitoüriner malformasyonların sıklığı sadece %15-20'dir.<sup>22</sup> ARM'ler sınıflandırma yapılmadan değerlendirildiğinde ek anomali insidansının %25-%75 arasında değiştiği görülmüştür.<sup>23</sup> Kör sonlanan barsağın distal ucu ne kadar proksimalde ise, ek anomali görülme sıklığı ve ciddiyeti o denli fazladır. ARM'lerde özellikle sakral vertebra deformiteleri oldukça sık görülmekte olup, kötü prognozda belirleyici rol oynarlar.<sup>22,23</sup>

#### 2.4. ARM Sınıflaması

ARM anomali grubuyla ilgili olarak tarihsel süreçte Bodenhammer's (1860), Ball (1887), Keith (1908), Brenner (1915), Frazer(1926), Ladd ve Gross (1934) tarafından çeşitli sınıflamalar yapılmıştır. Stephens ve Smith (1963) tarafından embriyolojik temellere ve klinik gözlemlere dayanılarak yapılan sınıflama uzunca bir süre kullanılmıştır. Bu otörlerin öncülüğünde dünyanın değişik ülkelerinden yaklaşık 200 Çocuk Cerrahisi 1970 yılında Avusturalya'da bir araya gelerek, ARM konusunda uluslararası bir mutabakat oluşturmuşlardır. Bu mutabakat çerçevesinde 1984 yılında Wingspread'de yapılan kongrede, "Wingspread Sınıflaması" adıyla ilk uluslararası sınıflama yapılmış (Tablo 1) ve yakın zamana kadar kullanılmıştır. Rektumun kör sonlanan ucunun, levator kas gruplarıyla ilişkisine göre yapılan bu sınıflamada, *supralevator* (yüksek) tip, *infralevator* (alçak) tip ve *intermediate* (ara) tip olmak üzere ARM'ler 3 ana gruba ayrılmıştır.<sup>23,24</sup>

**Tablo 1: Wingspread Sınıflaması**

| Tip                             | Kız                                                                     | Erkek                                            |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| <i>Supralevator</i><br>(Yüksek) | Fistülsüz rektal atrezi<br>Rektovajinal fistül                          | Fistülsüz rektal atrezi<br>Rektoprostatik fistül |
| <i>Intermediate</i><br>(Orta)   | Fistülsüz anal agenezi<br>Rektovajinal fistül<br>Rektovestibüler fistül | Fistülsüz anal agenezi<br>Rektobulbar fistül     |
| <i>Infralevator</i><br>(Alçak)  | Anal stenoz<br>Anokutanöz fistül<br>Anovestibüler fistül                | Anal stenoz<br>Anokutanöz fistül                 |
| Diğer                           | Kloakal malformasyon<br>Nadir malformasyon                              | Nadir malformasyon                               |

ARM konusunda 1980 sonrasında, özellikle Pena<sup>5</sup> sayesinde anorektal bölge anatomisi daha iyi ortaya konularak yeni cerrahi teknikler geliştirilmiştir. Uzun dönem sonuçlar göz önüne alındığında, Wingspread sınıflamasının yetersiz kaldığı anlaşılmıştır. Öyle ki, yüksek, alçak ve ara tip yerine, kız, erkek ve fistül tiplerine göre sınıflamanın daha yararlı olacağı öne sürülmüştür. Bu görüşe göre, rektoprostatik ve rektovezikal fistülün her ikisi de yüksek tip olduğu halde, kontinansla ilgili cerrahi tedavi sonuçları, rektoprostatik fistülde yüz güldürücü, rektovezikal fistülde kötüdür. Öte yandan, rektal atrezi yüksek tip anomali olduğu halde, kontinans sonuçları nispeten iyidir. Bu gerekçelere dayanarak Pena,<sup>5</sup> ARM'leri, cinsiyet, fistül tipi, tedavi yaklaşımı ve klinik sonuçlara göre yeniden gruplandırmak gerektiğini savunmuştur. Bu görüş dünyanın önde gelen bilim insanlarınca 2005 yılında Almanya'nın Krickenbeck Şatosu'nda tartışılmış ve "Krickenbeck Sınıflaması" olarak (Tablo 2) kabul edilmiştir.<sup>16</sup>

**Tablo 2: Krickenbeck Sınıflaması**

| Kız                    | Erkek                                               |
|------------------------|-----------------------------------------------------|
| Rektoperineal fistül   | Rektoperineal fistül                                |
| Rektovestibüler fistül | Rektoüretral bulbar fistül<br>Rektoprostatik fistül |
| Persistan kloaka       | Rektovezikal fistül                                 |
| Fistülsüz anal atrezi  | Fistülsüz anal atrezi                               |
| Rektal atrezi          | Rektal atrezi                                       |

## 2.5. Anorektal Bölge Anatomisi

Gastrointestinal sistem (GİS) içinde sigmoid kolon'dan anüse kadar 12-15 cm'lik barsak kısmına rektum denilir. Rektum, pelvis tabanından geçerek aşağı ve arkaya 90 derecelik keskin bir açıyla anüse doğru uzanır. Anorektal bileşke koksiks ucunun aşağısında ve 1-2 cm önünde yer alır. Rektumun üst 2/3 kısmı peritonla kaplı, alt 1/3 kısmı ise peritonsuzdur. Periton, erkeklerde rektumdan mesaneye atlayarak *excavatio rectovesicalis*, kadınlarda ise vajen arka duvarını ve uterusu atlayarak *excavatio rectouterina* adlı periton çıkmazlarını oluşturur.<sup>25,26</sup>

Rektum, arkada 3., 4., 5. sakral vertebralar, koksiks, *a. rectalis superior*, *m. priformis*, *m. coccygei*, *m. levator ani*, *plexus sacralis* ve *turuncus sympathicus* ile



komşudur. Önde ise rektumun komşulukları her iki cinsten farklıdır. Erkeklerde, rektumun ön yüzü mesane fundusu ve seminal vezikül'ün üst bölümünden *excavatio rectovesicalis* çıkmazıyla ayrılmıştır. Rektumun periton kıvrımının altındaki kısmı ise, mesane ve seminal vezikülün alt bölümleri, duktus deferens'ler, üreterlerin terminal parçaları ve prostat ile komşudur. Kadında, periton kıvrımının üstünde uterus, vajenin üst parçası ve *excavatio rectouterina* rektumun önünde yer alırken, periton kıvrımları altında rektum önde vajenin alt bölümü ile komşuluk halindedir.<sup>26</sup>

Rektum arkada *ligamentum anococcygeus* ile koksiks ucuna tutunur. Koksiks'den aşağıya rektuma doğru inen kas demetleri (*m. rectococcygei*) anal kanalın arka duvarında longitudinal kas liflerine karışır. Önde, longitudinal kas liflerinden ayrılan demetler (*m. rectouretralis*) ise membranöz üretraya yapışır. Mesane'den gelen kas lifleri (*m. rectovesicalis*) de rektuma tutunur.<sup>27</sup> Anal kanal, rektumun alt ucundan başlayarak, aşağıya ve arkaya uzanarak anüse doğru devam eder ve sonlanır.

Yanlarda *fossa ischioanal* ile komşu olan anal kanalın cerrahi yönden iyi anlaşılabilmesi için, anatomik ve cerrahi olmak üzere iki kısımda ele almak faydalı olacaktır. Cerrahi anal kanal, anal girimden 4 cm ve *linea dentata*'dan 2 cm proksimalden, anatomik anal kanal ise anal girimden 2 cm proksimaldeki *linea dentata* seviyesinden başlayarak aşağı doğru uzanır ve anal girimde sonlanır.<sup>10</sup>

Anal kanal kendisini çevreleyerek saran iç ve dış iki farklı kas tabakaları sayesinde normalde kapalı durumdadır. Rektum sirküler kaslarının distale doğru kalınlaşması sonucu oluşan iç tabaka, otonom inervasyona sahiptir ve internal anal sfinkter (İAS) olarak adlandırılır. Dış tabaka ise, *M. Pubococcygealis*, *m. ileococcygei* ve *m. ischiococcygei* kaslarınca oluşturulur. İskelet kaslarından oluşan bu dış tabaka ile *m. puborectalis* arasında, rektumun longitudinal kas tabakasının devamı olan konjunktural longitudinal kaslar bulunur. Aşağıya doğru ilerledikçe bazı uç lifleri eksternal anal sfinkteri (EAS) çaprazlayarak perianal ciltle yapışmalar gerçekleştirirler ki bu kas da *m. korrugator cutis ani* olarak isimlendirilir.<sup>5,26</sup> Anal kanalın üst parçasında mukoza 6-9 vertikal kıvrım yapar ve bu kıvrımlara morgagni plikaları (*columnae anales*) denilir. *Columnae anales*'in alt uçlarını yarım ay şeklinde valvulae anales denilen mukoza kıvrımları birleştirir ve her kıvrımın üst tarafında *sinus anales* adı verilen küçük çıkmazlar vardır.

### 2.5.1. Pelvik Taban ve Anal Sfinkter Anatomisi

Pelvik taban, *m. puborectalis*, *m. pubococcygealis* ve *m. ileococcygei* kaslarından oluşan *m. levator ani* kas grubu tarafından oluşturulur.<sup>26</sup> *M. levator ani* kas grubunun bir elemanı olan *m. puborectalis*, rektumun arkasından dolanarak onu askıya alır. İçinden rektumun geçtiği halka şeklinde bir yapı oluşturan puborektal kas, anatomik olarak EAS ile ilişkilidir ve kontinansı sağlamada en önemli kas yapısı olarak kabul edilir.<sup>24</sup> *M. puborectalis*'in derin lifleri fonksiyonel açıdan EAS ile birleşir, kaynaşır ve bu birlikteliğe çizgili kas kompleksi (*muscle complex*) adı verilir.<sup>23,27,28</sup> Eksternal ve internal anal sfinkterler ayrı olarak tanımlansalar da birbirleriyle ilişkili ve uyumlu hareket ederler. Anüsü tam sarmamasına rağmen *m. puborectalis*, üçüncü bir sfinkter kası olarak kabul edilir.<sup>29,30</sup> ARM cerrahi tedavisinde puborektal kas ile EAS beraber olarak değerlendirilir ve *muscle complex* olarak adlandırılır.<sup>27,30</sup>

#### 2.5.1.1. İnternal Anal Sfinkter

Rektum düz kaslarının aşağı doğru uzanıp kalınlaşan sirküler lifleri, *linea pectinealis*'in 8-12 mm distalinde kalın olarak palpe edilebilen bir hat ile sonlanarak İAS'yi oluşturur.<sup>10</sup> İAS, düz kaslar gibi sürekli maksimum kontraksiyon durumundadır ve istemsiz gaz gaita çıkışını önlemek için bir bariyerdir. İstirahat halinde anal tonusun %50-85'inden İAS, %20-30'undan EAS, %15'den ise anal yastıkçıkların genişlemesi sorumludur.<sup>10,31-33</sup> Sempatik uyarılar sfinkteri kasarken, parasempatik uyarılar gevşetir.<sup>4</sup>

#### 2.5.1.2. Eksternal Anal Sfinkter

*M. iliococcygeus*, *m. iskiokoccygeus*, *m. pubococcygeus*, *m. puborectalis*, derin ve yüzeysel eksternal sfinkter kasları, anüsün önünde ve arkasında birleşen parasagittal kas lifleri ile birlikte EAS'yi oluşturur.<sup>10</sup> Normalde huni biçiminde olan ve rektumun çevresinden perine cildine doğru uzanan bu istemli kas yapıları defekasyon kontrolünden sorumludur. *M. levator ani*'nin üst kısmından çıkan kas lifleri rektuma paralel olarak uzanarak, parasagittal liflerle dik olarak karşılaşır. Huni şeklindeki oluşumun üst kısmı *m. Levator ani*, orta kısımdaki vertikal lifler *muscle complex*, alt kısmı ise EAS adını alır.<sup>10,27,28</sup> EAS uyku esnasında bile tonik durumda kasılıdır.<sup>31</sup>

Elektrostimülatör ile uyarıldığında *M. levator ani* rektumu öne doğru, *muscle complex* anüsü yukarı doğru çekerken, parasagittal lifler kasılarak anüsü kapatır.<sup>33</sup>

## 2.5.2. Anorektal Bölgenin Damarları

### 2.5.2.1. Arterler

Rektum ve anal kanalın beslenmesini sağlayan dört arter vardır:

*A. rectalis superior*: *A. mesenterica inferior*'un devamı olan bu arter rektumun esas arteridir. Rektumun her iki yanında aşağıya doğru uzanarak iki dala ayrılır ve dalları *valvulae anales*'e kadar inerek anastomozlar yapar.

*A. rectalis media*: *A. iliaca interna*'nın bir dalı olup, *a. rectalis superior* ve *a. rectalis inferior* ile anastomoz yapar.

*A. rectalis inferior*: *A. pudenda interna*'nın dalıdır, *valvulae anales* altındaki anal kanalı, *m. sphincter ani externus*, *m. sphincter ani internus* ve perineal deriyi besler.

*A. sacralis media*: *Aorta abdominalis*'in bifurkasyon yerinden ayrılır ve anal kanalın arka duvarında dağılır.

### 2.5.2.2. Venler

Submukozada zengin bir ağ yapan venler, rektum duvarını geçerek rektum çevresinde *plexus venosus rectalis*'i oluşturur.

*V. rectalis superior*: Pleksusun üst bölümünden çıkan venler *v. rectalis superior* olarak birleşirler ve *v. mesenterica inferior* ile devam ederler.

*V. rectalis mediae*: *Ampulla recti* submukozasından başlayan venleri alarak *v. iliaca interna* 'ya açılırlar.

*V. rectales inferior*: *Plexus venosus rectalis*'in alt bölümünden gelerek *v. pudenda interna*'ya dökülürler. Sonuç olarak, *v. mesenterica inferior* *v. porta*'ya, *v. iliaca interna* da *v. cava inferior*'a dökülür ve böylelikle portal ve kaval bağlantı kurulmuş olur.<sup>26,27</sup>

### 2.5.2.3. Lenfatikler

Rektumun üst parçasının lenf damarları *a. rectalis superior* boyunca, *nodi lymphatici pararectales* ve *mezocolon sigmoideum*'un alt parçası içindeki lenf düğümlerinden geçerek, *nodi lymphatici mesenterici inferiores*'e dökülür. Rektumun alt yarısı ve anal kanalın *zona cutanea*'ya kadar olan bölümünden gelen lenfatik damarlar, *a. rectalis media* ile birlikte seyrederek *nodi lymphatici iliaci interni*'de sonlanır. *Zona cutanea*'dan gelen lenf damarları *nodi lymphatici inguinales superficiales*'e dökülür.<sup>26</sup>

### 2.5.2.4. Sinirler

*N. Splanchnicus* (parasempatik) ve *n. hypogastricus* (sempatik) rektum duvarının alt kesimlerini inerve eder. Bu iki sinir birlikte rektal plexusu oluşturur ve endopelvik fasya ile çevrelenmiş olan rektumun alt kesiminde anterolateral yüzde bulunur.<sup>10,12</sup> İAS'nin inervasyonu pelvik *N. Splanchnicus*, EAS'in inervasyonu ise *n. pudentalis interna* ve dördüncü sakral sinirin perineal dalı ile sağlanır. *N. Splanchnicus* ve *n. hypogastricus* alt rektal duvarı inerve ederler. *M. levatör ani*, üçüncü ve dördüncü sakral sinirlerin kontrolü altındadır. *N. pudentus*'un inferior dalları *a. Rectalis inferior*'u takip eder ve perianal bölgenin duyuşal inervasyonunu sağlar.<sup>10,27</sup>

## 2.6. Anorektal Histoloji

Rektum ve anal kanalın üst kısmı, mukus salgılayan kübik epitel ile döşeli olup, anorektal bileşkeden itibaren goblet hücreli kolumnar epitel görülür ve distale doğru değışici kolumnar epitele dönüşerek, *valvulae analis*'in 4-5 cm proksimaline kadar devam eder. Kolumnar epitel, *valvulae analis* hizasında, kıl içermeyen değışici çok katlı epitele dönüşürken, İAS'nin alt sınırından itibaren pigment ve kıl folikülleri içerir. Rektumda, içte düzenli ve halkamsı olan sirküler kas tabakası, dışta ise longitudinal kas tabakası bulunur. Kas tabakaları anal kanalda kalınlaşarak İAS'yi oluşturur.<sup>10,12,26</sup>

*Valvulae anales* boyunca bulunan çizgiye *linea anorectalis* veya *pectinate line* denilir ve İAS'nin orta hizasındadır. Anal kanalın *valvulae analis*'in altında kalan 1,5 cm uzunluktaki kısmı, transizyonel bölge veya *pecten canalis* olarak bilinir ve bu geçiş bölgesinde ter bezleri yoktur. Transizyonel bölge aşağıda 'Hilton Çizgisi' de denilen ve

makroskopik olarak zor seçilen dalgalı bir çizgi ile sona erer. *Linea anocutanea* altında anal kanalın son 0,8 cm'lik bölümü, ter ve yağ bezleri bulunan deri ile örtülüdür. *Sinus analis* bölgesinde müsin salgılayan bezler, submukoza içinde yukarıya ve aşağıya doğru uzanır ve anal kanal mukozasında *cryptae anales* adı verilen küçük çukurlara açılır. Bu bölgede cerrahi işlem için en önemli işaret noktası skuamöz ve transizyonel epitel arasında yer alan *linea dentate*'dir. *Linea dentate*'nin altında epitelin yapısı çok katlı silindirik epitelden çok katlı yassı epitele dönüşür ve epitel içinde çeşitli uyarılara yanıt verilmesini sağlayan reseptörler yer alır.<sup>10,12,31</sup>

## 2.7. Anorektal Fizyoloji

Besinlerin sindirim kanalında optimal düzeyde işlem görebilmesi için, her bölümde yeterli süre kalması ve karıştırılması gerekir. Çiğnendikten sonra yutularak mideye gelen besinler, duodenumda işlenebilmek için, kimus adı verilen yarı sıvı hale gelinceye kadar midede depolanır ve mide sekresyonuyla karıştırılır. Bu sırada, pilorda kimusun geçişine karşı oluşan direnç boşalmaya karşı koyar. Pilorda sirküler kasların kalınlığı mide antrumundakinden %50 daha fazladır. Antrumun şiddetli peristaltik kontraksiyonları ile mide boşalmaya başlar. Midedeki besin miktarının artmasıyla mide duvarının gerilmesi, pilorik pompanın aktivitesini uyaran lokal myenterik refleksleri ortaya çıkarıp, piloru inhibe ederek mide boşalma hızını artırır. Duodenuma giren yağlar hormonal uyarıcı etkisi göstererek, epitel hücreleri içindeki reseptörlere bağlanıp, duodenum ve jejunum epitelinden kolesistokinin ve gastrik inhibitör polipeptid gibi değişik hormonların salgılanmasına neden olurlar.<sup>3,4,31,32</sup> İnce barsağa gelen kimus, proksimalde hızlı, distalde ise yavaş karıştırıcı ve ilerletici kontraksiyonlarla ilerler. Yemekten sonra kimusun duodenuma girmesi ve midenin gerilmesi ile tetiklenen, mide ve ince barsak duvarı boyunca myenterik pleksusla iletilen gastroenterik refleksler sayesinde ince barsağın peristaltik aktivitesi artar. Mide ve duodenumun gerilmesiyle oluşan gastrokolik ve duodenokolik reflekslerle kolon hareketleri kolaylaşır. Ekstrinsik sinirler kesildiğinde bu refleksler ya hiç oluşmaz ya da çok az oluşur.<sup>3,31-32</sup> Kolonun doluşu, terminal ileum motor fonksiyonları, ileoçekal valv ve proksimal kolon motor fonksiyonları tarafından belirlenir. Kolona gelen kimus içindeki su ve elektrolitler hücreler tarafından emilerek, geride kalan dışkı içeriği dışarı atılncaya kadar depolanır.

Sigmoid kolonda intraluminal basınç yeterince artınca gaitayı rektuma doğru ilerleten peristaltik dalgalar başlar. Rektumun genişlemesi ve rektal dolgunluk hissinin oluşmasıyla gerilmeye duyarlı baroreseptörlerce *m. levator ani* uyarılarak, rektoanal inhibitör ve rektoanal kontraktıl refleksler oluşur. Gaitanın anal kanalın proksimal kısmına geçtiğinin algılanması sonrasında, sosyal durum uygun ise defekasyon işlemi başlatılır. Diyafragma ve abdominal kasların kontraksiyonu ile karın içi basınç artırılırken *m. puborectalis* gevşer. Pelvik taban aşağıya doğru yer değiştirirken anorektal açı düzleşir, anal kanalın boyu kısalır ve gaitanın distale geçmesine izin verilir. Rektumun sirküler kas kontraksiyonlarının yardımı, karın içi basıncının daha da artırılmasıyla eksternal anal kanal basıncı yenilir ve defekasyon gerçekleşir. Boşalma sonrasında İAS, EAS ve *m. puborectalis*, tonik aktivitelerine geri dönerler.<sup>3,10,31,34</sup>

Gastrointestinal kanal düz kasları, 1000 kadar paralel liften oluşmuş demetler halindedir. Her demet kas lifleri, iyonların bir hücreden sonrakine geçişine izin veren çok sayıda *gap junctions* ile birbirleriyle elektriksel olarak bağlanmışlardır. Böylece demet içindeki elektrik sinyalleri, bir liften diğerine kolayca ulaşır. Düz kas liflerinin her demeti birbirinden gevşek bağ dokusu ile ayrılmıştır ancak, demetler birçok noktada birbiriyle birleşir ve böylece her kas tabakası bir *sinsisyum* olarak fonksiyon görür. Longitudinal ve sirküler kaslar arasında bağlantılarla, birindeki uyarılma diğerini de uyarabilir. Kas kitlesinin bir yerindeki bir aktivasyon potansiyeli kas içinde genellikle tüm yönlere yayılır. Uyarının ulaştığı mesafe kasın uyarılabilirliğine bağlı olup, bazan birkaç milimetre sonra dururken, bazan tüm ince barsak boyunca ilerleyebilir.<sup>3,4,10,31,35,36</sup>

### 2.7.1. Anal Kontinans Fizyolojisi

Anal kontinansı etkileyen faktörler şunlardır.

1. Anorektal yüksek basınç hattı
2. Anorektal aç ve flap valv
3. Rektal kompliyans, kapasite ve motilite
4. Anal ve rektal refleks mekanizmaları
5. Kolonik geçiş zamanı, gaita hacim ve kıvamı

#### 2.7.1.1. Anorektal Yüksek Basınç Hattı

Anorektal birleşim yeri ve anal kanala uygulanan ekstrinsik ve intrinsik basınçlar anal kontinansın sağlanmasında oldukça önemlidir. Ekstrinsik basınç barsak duvarından kaynaklanır ve intraabdominal basıncın arttığı ıkınma veya öksürme gibi durumlarda ekstrinsik basınç artar. İntrinsik basınç pelvik taban ile sfinkter kaslarından kaynaklanır ve İAS, EAS ve *m. puborectalis*'in kasılması intrinsik basıncı artırır. Anal kanalın manometrik incelemeleri sırasında 2-5 cm'lik fizyolojik yüksek basınç hattı saptanmıştır ve bundan %85 oranında İAS düz kaslarının kasılması sorumludur. Bu yüksek basınç hattı barsak içeriğinin rektumdan anal kanala geçmesine engel olur.<sup>10,31</sup>

#### 2.7.1.2. Anorektal Açı ve Flap Valv

*M. puborectalis*'in tonik kasılmaları anorektal bileşkeyi öne çekerek bir yandan anorektal açığı, diğer yandan anterior flap valv mekanizmasını oluşturur. Dinlenme sırasında anorektal açı 80-90 derece olup, karın içi basıncı arttığında *m. puborectalis*'in tonik aktivitesi artar ve anorektal açı daha belirgin hale gelerek, rektumun anal kanal üzerine kapanmasıyla flap valv mekanizması ortaya çıkar. *M. puborectalis*'in gevşemesinde bir yetersizlik var ise, defekasyon sırasında gaitanın anal kanala geçişi engellenir ve pelvik çıkış obstrüksiyonu gelişir. Normalde kontinansın sağlanmasında yüksek basınç hattı ve anorektal açıyla ilişkili flap valv mekanizması en önemli iki komponenttir. Hangisinin daha önemli olduğu açık değilse de, izole sfinkter yaralanmalarında anorektal açı normal olduğu halde inkontinans oluşurken, anal kanal basıncı normal ise, anorektal açı normal olmasa bile inkontinans nadiren gelişir.<sup>10,24,31</sup>

#### 2.7.1.3. Rektal Komplians, Kapasite ve Motilite

Rektum normalde boştur. Doğal rektosigmoid açı, dinlenme kontraksiyonu sırasında oluşan retrograd basınç farkı sonucu enterik içerik sigmoid kolona yönelir. Rektum düşük intraluminal basıncını sürdürürken hacimi pasif olarak artırır. Buna rektal komplians denilir. Kompliansın azaldığı durumlarda rektumun dolmasında ani defekasyon hissi oluşur. Komplians arttığında ise, rektum aşırı dolsa da defekasyon hissi oluşmaz. Rektal distansiyon, mide, ince barsak ve kolonda inhibisyona yol açar.

Bu şekilde yavaş gaita birikmesi rektumun uyum sağlayabilmesi için önemlidir. Aşırı gaita gelmesi ve hızlı kolonik geçiş zamanı, rektumun rezervuar kapasitesini aşarak anal inkontinansa yol açabilir.<sup>31,37</sup>

#### 2.7.1.4. Anorektal Refleksler

Rektumdan çıkan afferent sinir uyarıları, *n. pudentalis* ve pelvik pleksus aracılığıyla sakral 2-3'e taşınırken, anüsten kaynaklanan afferent uyarılar sadece *n. pudentalis* yoluyla iletilir.<sup>26</sup> Rektumda son duyu algılaması olduğu gösterilememişse de, *prokpektomi* sonrasında bir duyu azalması geliştiği bilinmektedir. Anal kanalda birçok son duyu organı bulunmaktadır ve bunlar ısı, dokunma ve ağrı gibi duyarların ayrımını, anüsü çevreleyen cilt dokusuna göre daha iyi yapabilmektedir.<sup>38</sup> Dinlenme sırasında İAS kendi tonusuyla kasılı pozisyonunu sürdürmeye devam eder. EAS ve *m. puborectalis* de, uykuda bile devam eden devamlı bir elektromiyografik aktivite halindedir. Ayıca submukozal damarsal yastıkçıklar da anal kanalın kapalı kalmasına yardımcı olur.<sup>10,34</sup> Rektal dolgunluğun artması İAS'nin gevşemesine, eş zamanlı olarak EAS ve *m. puborectalis* tonusunun artmasına yol açar. Böylece, rektum yeni hacmine uyum gösterirken, EAS de bazal aktivitesini arttırır. Rektumda hacim artışı büyük oranda olursa, defekasyon zorunluluğu ortaya çıkar ve düz kaslarda tam bir gevşeme meydana gelir.<sup>10,36</sup>

Rektal distansiyonun hissedilmesini sağlayan reseptörler sadece rektumda değil, aynı zamanda *m. levator ani* etrafında da bulunur. Rektal distansiyon sonucunda, intramural intrinsik nöronal yolla iletilen rektoanal inhibitör refleks aracılığıyla, İAS'de gevşeme, EAS'de kasılma oluşur. HH'de nöronal sorundan dolayı rektoanal inhibitör refleks yoktur ve rektal distansiyona karşılık gevşeme oluşmaz.<sup>32,38,39</sup> Yakın zamanda, üstte sigmoid kolonda ve altta rektumda bulunan iki düşük basınç bölgesinin arasında yüksek basınçlı bir bölge olduğu gösterilmiştir. Shafik<sup>40</sup> tarafından "sigmoidorektal bileşke inhibitör refleks" olarak adlandırılan bu refleks ile rektosigmoid bölge gevşeyerek sigmoid içeriğin rektuma geçişi sağlanır. Kolonik kitle yeterli hacime ulaşp, sigmoid kontraksiyonlar başlayana kadar rektosigmoid bölge gevşemez.



#### **2.7.1.5. Kolonik Geçiş Zamanı, Gaita Hacim ve Kıvamı**

Kolonik geçiş zamanı, gaita hacim ve kıvamı da kontinansı etkilemektedir, ancak bu faktörler doğumsal olmaktan çok, edinseldir.

### **2.8. Sindirim Sisteminin Nörofizyolojisi**

#### **2.8.1. Otonom Sinir Sistemi**

Otonom sinir sistemi santral ve periferik olarak iki kısma ayrılır. OSS, periferde en yaygın dağılım gösteren eferent, yani motor sinir sistemidir. Diğer eferent sinir sistemi olan somatomotor sinir sistemi sadece çizgili kasları inerve ederken OSS, myokardı, tüm damar yataklarını, vücuttaki tüm düz kasları ve salgı bezlerini inerve eder. Anatomik ve fizyolojik olarak OSS, sempatik ve parasempatik olmak üzere iki ayrı sistemden oluşur. Ayrı sistemler olmalarına karşın, istek dışı çalışmaları, iki sıra periferik nörondan oluşmaları ve santral sinir sistemi (SSS) dışında tek bir sinaptik bağlantıya sahip olmaları ortak özellikleridir. Sinaptik bağlantıları, SSS dışındaki ikinci sıra nöronlar olan sempatik ve parasempatik gangliyon hücreleri veya gangliyon eşdeğeri pleksuslar içindedir. Her iki alt bölümün birinci sıra nöronlarının gövdeleri SSS içindedir.<sup>3</sup>

Otonomik inervasyona sahip efektör yapıların önemli bir kısmı olan düz kaslı organların bazılarında, efektör birim tek bir düz kas hücresi değil, bir düz kas hücre kümesidir. Hücre kümeleri içindeki düz kas hücreleri, sıkı kavşak (*tight junction*) veya *neksus* denilen temas noktalarında, stoplazma köprüleri sayesinde birbirleriyle bir ağ (*sinsisyum*) biçiminde ilişkidirler. Böylece her küme tek bir ünite halinde davranarak uyarıya cevap verirler. Mide, barsak, safra yolları, üreter ve uterus düz kasları bu tek üniteli yapılardandır. Kümeler içinde bulunan tempocu myojenik bir odaktan çıkan spontan deşarjlarla inervasyondan bağımsız kasılmalar oluşur. Bazı düz kaslı organlarda ise, düz kas hücreleri birbirinden tamamiyle ayrı ve bağımsız üniteler olarak çok üniteli yapılar halinde davranırlar.<sup>3,4</sup>

Sinir hücresinin gövdesinde, akson ve dentrit uzantılarında, uyarılabilen hücrelerin membranlarının bir yerinde, elektriksel bir uyarı sonucu veya postsinaptik membranda nörotransmitterlerin eksitator postsinaptik potansiyel oluşturması sonucu oluşturulan lokal depolarizasyon, bütün hücre membranı boyunca yayılır ki, bu olaya impuls iletimi

adı verilir.<sup>4</sup> Sempatik sistemin sinirsel kısmı yanında, bu kısmın fonksiyonlarını pekiştiren ve adrenal medulladan oluşan endokrin kısmı da bulunur. Bu nedenle sempatik sisteme sempatoadrenal sistem adı da verilir. Nispeten bağımsız fonksiyonel komponentlerden oluşan parasempatik sistem bağımsız birimler olarak hareket ederken, sempatoadrenal sistem çoğu zaman tek bir birim halinde çalışır ve çeşitli yapıların sempatik inervasyonu hormonal özellikleri sayesinde aynı anda etkinliğe girer.<sup>3,4</sup> Parasempatik sistem ise, sadece sinirsel bir şebekeden ibarettir ve hormonal komponenti bulunmaz. Parasempatik sistem özellikle istirahat ve uyku sırasında etkinlik kazanır, sindirimin ve metabolik olayların düzenlenmesi, atık ve artıkların boşaltılması gibi olaylarda rol alır.<sup>3</sup> OSS'de sempatik ve parasempatik alt bölümlerin ikinci sıra nöronlarının nörokimyasal özellikleri farklıdır. Sempatik alt bölüm noradrenerjik nöronlardan oluşur ve buna adrenerjik alt bölüm denilirken, kolinerjik nöronlardan oluşan parasempatik alt bölüme kolinerjik alt bölüm adı verilir. Sempatik ve parasempatik sinir gövdeleri, gangliyonları veya plexusları içinde, adrenerjik ve kolinerjik olmayan sinir lifleri de bulunur ki, bunlara nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) sinir lifleri denilir.<sup>4,41,42</sup>

### 2.8.2. Sempatik İnervasyon

GİS'de sempatik sinirler medulla spinalisin T<sub>5</sub>–L<sub>2</sub> segmentleri arasından çıkar. Barsakları inerve eden pregangliyonik liflerin çoğu medulla spinalisi terk ettikten sonra sempatik zincir içine girer ve bu zincirleri de terk ederek çölyak gangliyon ve çeşitli mezenterik gangliyonlara doğru giderler. Postgangliyonik lifler buralardan yayılarak postgangliyonik sempatik sinirler içinde barsağın tüm kısımlarına ulaşarak enterik sinir sisteminde sonlanırlar. Postgangliyonik sempatik sinir ucu ile efektör hücreler arasındaki kavşaklarda, impuls aşırımını sağlayan temel nörotransmitter noradrenalin (adrenerjik kavşak). Bu kavşaklarda noradrenalin, kavşak sonrası (*post-junctional*) membran üzerinde yerleşmiş olan adrenerjik reseptörleri aktive ederek impuls aşırımını sağlar. Adrenerjik reseptörlerin alfa ( $\alpha$ ) ve beta ( $\beta$ ) tipleri ve onların çeşitli alt tipleri vardır. Barsaklarda,  $\alpha$  reseptörler kolinerjik (parasempatik) sinir ucu membranı üzerinde,  $\beta$  reseptörler ise düz kas membranı üzerinde bulunurlar. Uyarım sonucu sempatik sinir uçlarından noradrenalin salındığında veya ilaç halinde verildiğinde,

postsinaptik  $\beta$  reseptörleri aktive ederek veya alfa reseptörler aracılığı ile kolinerjik uçlardan asetilkolin salınmasını azaltarak barsakta gevşeme yapar. Genel olarak sempatik sinir sisteminin uyarılması gastrointestinal kanal aktivitesinde inhibisyona neden olur.<sup>3,4,43</sup>

### **2.8.3. Parasempatik İnervasyon**

GİS’de parasempatik sinirler kraniyal ve sakral bölümlere ayrılır. Kraniyal parasempatikler, ağız ve faringeal bölgeye giden birkaç lif hariç tamamen vagus siniri içinde ilerler ve kolonun ilk yarısına azalarak ulaşırlar. Sakral parasempatikler, ikinci, üçüncü ve dördüncü sakral spinal segmentlerden oluşurlar ve pelvik sinirler içinde kolonun distal yarısına ulaşırlar. Bu lifler, sigmoid kolon, rektum ve anal bölgeyi diğer barsak segmentlerine göre daha iyi inerve ederler ve sol kolonda ilerletici kasılmaları oluştururlar.<sup>44</sup>

Parasempatik sistemin postgangliyonik nöronları, myenterik ve submukozal plexus içine yerleşmiş olup, bu gangliyonlardaki sinir uçlarından salınan ve sinaptik aşırımdan sorumlu olan nörotransmitter asetilkolin’dir. Kolinerjik nörotransmitter olan asetilkolin’in OSS nöronları ve efektör hücreleri üzerine olan etkilerine nikotinik ve muskarinik reseptörler aracılık ederler. Nikotinik reseptörler, membranlardaki sodyum iyon kanalları ile kenetlendiklerinden iyon kanalı açıp kapayan reseptörler grubuna girerler ve efektör hücrelerin veya nöronların stoplazma membranı içine yerleşirler. Muskarinik reseptörler ise, esas olarak G proteini (guanin nukleotid bağlayan düzenleyici protein) ile kendi reseptörler grubuna girerler.<sup>3,41,45</sup> Parasempatik sinirlerin uyarılması, enterik sinir sisteminin tamamında genel bir aktivite artışına neden olur.<sup>4</sup>

### **2.8.4. NANK Sinir Sistemi**

Bazı organlarda sempatik ve/veya parasempatik sinirlerin elektriksel uyarımıyla oluşan cevapların, bu sistemlerin farmakolojik blokajına rağmen ortadan kalkmaması ve rezidüel olarak devam etmesi, sözkonusu sinirler içinde adrenerjik ve kolinerjik olmayan sinir liflerinin de bulunduğunu göstermiştir. Bu tür sinir lifleri ve onların nöronları, OSS içindeki üçüncü nörokimyasal sistemi oluştururlar ve aminerjik

(dopaminerjik), purinerjik, peptiderjik, nitreerjik sinir liflerini içine alır. NANK türü nöromediatörlerin bir kısmının kendilerine özgü sinir liflerinin bulunduğu gösterilememişse de, bunlar bazı kolinerjik veya adrenerjik sinir uçlarında ko-transmitter olarak sentez edilip salınırlar.<sup>3,29,41,44,46</sup>

### **2.8.5. Enterik Sinir Sistemi**

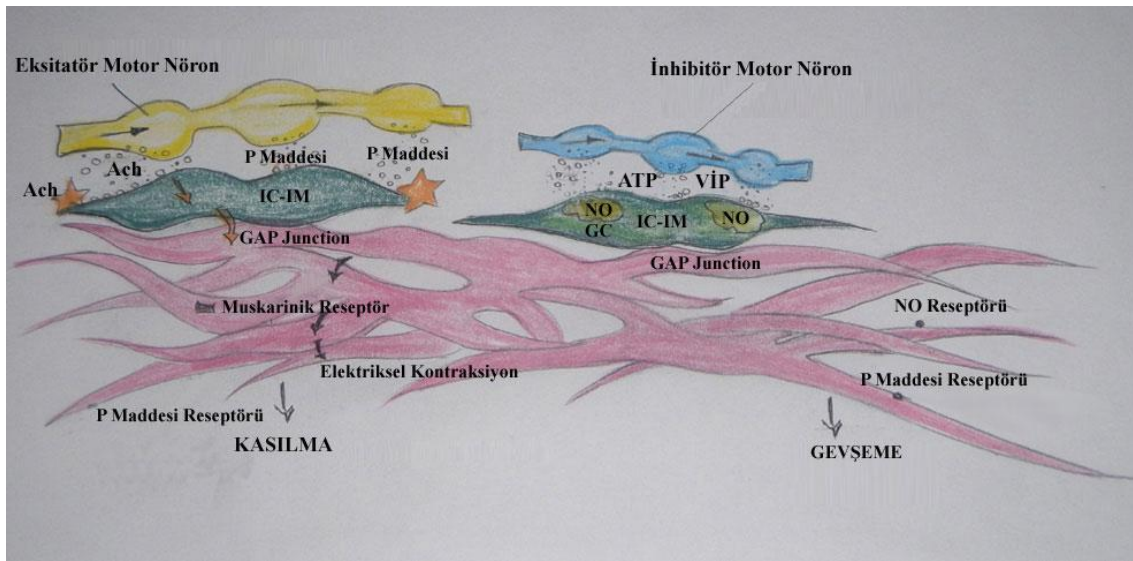
ESS, sempatik ve parasempatik sinir sistemi egemenliğinde fonksiyon gören ve GİS'deki karıştırıcı, ilerletici hareketleri ve salgı fonksiyonlarını düzenler. Barsaklardan pek çok afferent duyu sinirleri çıkar ve bazılarının hücre gövdeleri ESS içinde olup, bu sayede barsaklardan başlayıp prevertebral sempatik gangliyonlara giden ve barsaklara geri dönen refleksler oluşur. Mideden çıkan sinyallerle kolonun boşalmasının sağlayan gastrokolik refleks, ince barsak ve kolondan çıkan sinyallerle mide motilitesini ve salgılarını inhibe eden enterogastrik refleks, kolondan çıkan sinyallerle ileum içeriğinin kolona boşalmasını inhibe eden koloileal refleks, GİS fonksiyonları için gerekli olup, ESS tarafından düzenlenir. ESS, barsakların distansiyonu, barsak mukozasının iritasyonu, bazı kimyasal maddelerce oluşturulan kimyasal stimülasyonlarla uyarılırlar ve sonuçta barsak hareket ve salgılarında artış veya inhibisyon ortaya çıkar.<sup>4,32,47</sup>

Parasempatik (kolinerjik) gangliyon hücreleri olan ESS nöronları, myenterik ve submukozal olmak üzere iki pleksustan oluşur.<sup>46,48</sup> Myenterik pleksus, longitudinal ve sirküler düz kasları inerve ederek motor hareketleri kontrol ederken, submukozal pleksus, glandüler epitel, intestinal endokrin hücreler ve submüköz damarları inerve eder. Myenterik pleksus genelde uyarıcı ise de, bazen sinir lifleri terminal uçlarından VIP gibi inhibitör transmitterler salgırlar.<sup>3,4,32,49</sup> Submukozal pleksus, barsaklarda küçük segmentlerin iç duvarlarındaki kontrolden sorumludur. Örneğin; birçok duyusal sinyal gastrointestinal epitelden kaynaklanır ve daha sonra submukozal pleksusta toplanarak intestinal sekresyon, absorpsiyon ve mide mukozasının çeşitli derecelerde katlanmasına neden olan submukozal kasın segmental kontraksiyonuna yardımcı olur.<sup>32</sup>

İntrinsik nöronların üçüncü grubunu oluşturan peptiderjik nöronların aksonlarının ucundan, VIP, enkafoamin, somatostatin ve PM gibi peptid nöromediatörler salınır. PM içeren nöronların bir kısmı serotonerjik eksitator nöronlar tarafından aktive edilir ve bu nedenle PM hariç diğer peptidler motiliteyi inhibe ederler. Enkefalinergic sinirler bu

inhibisyonu, parasempatik kolinerjik sinir uçlarından asetilkolin salınmasını inhibe ederek (presinaptik inhibisyon) dolaylı bir biçimde yaparlar (Şekil 1).<sup>32,50,51</sup>

Enterik sinirlerin gastrointestinal düz kaslar üzerindeki kontrolü, nöroenterik bileşkede sinyal girişi ve sinyallerin enterik kaslardaki dağılımından sorumlu olan özelleşmiş Cajal Hücreleri tarafından sağlanır. Normal barsak motilitesi için gerekli olan Cajal Hücre şebekeleri, enterik sinirler ile düz kasların arasında yerleşmiş olup, uyarıcı ve inhibe edici motor nöronlarla ilişki içindedir. İmmünoelektronmikroskop çalışmalarında Cajal Hücreleriyle enterik nöronlar arasında sinaps benzeri ilişkiler olduğu gösterilmiştir.<sup>52</sup> Hayvanlarda yapılan çalışmalarında, nörotransmitterlerin bulunmasına ve inervasyonun normal olmasına rağmen, Cajal Hücreleri yokluğunda enterik fonksiyonun bozulduğu ve intestinal psödobstrüksiyon geliştiği gözlenmiştir.<sup>32,53,54</sup>



Şekil 1: Barsak düz kasında nöromusküler bileşke, GİS kısa ve ara nöronlarının şematik görünümü

Nöral krest, embriyonun primer organlarından biri olup, gelişimin ilerleyen aşamalarında nöral krest hücreleri değişik organlara farklılaşarak yok olurlar. Morfolojik olarak birbirlerine benzeyen ve aksiyel yerleşimli olan nöral krest hücreleri, kraniokaudal yönde göç yollarında ilerleyerek gebeliğin 5. haftasında özofagusa, 7. haftasında ince barsaklara, 12. haftasında rektuma ulaşırlar.<sup>52,55</sup> Kraniokaudal göçü

tamamlarken, önce myenterik plexusu oluşturlar, daha sonra myenterik plexustan sirküler kas tabakalarını geçerek submukozal plexusları oluşturlar. Organlarla enterik sinirler arasındaki ilişki gebeliğin 26. haftasında gelişir ve ulaştıkları son lokalizasyonlarda değişik hücre tiplerine farklılaşırlar.<sup>56-59</sup>

Ön barsak sinirleri trunkal somitlerden köken alır. ESS hücreleri nötrak krest'ten gelişirler ve vagal, sakral sinirler içinde barsağın en distaline kadar göç ederek yerleşirler. Vagal sinirler barsak sinirlerinin çoğunu oluşturmakla birlikte, distal barsaktaki sinirlerin %20'lik kısmını sakral sinir krestleri oluşturur.<sup>52,59</sup>

### 2.8.5.1. ESS Nörotransmitterleri

GİS motilitesinde son hedef organ barsak düz kasıdır. İntrinsik sinir sisteminde etkili nörotransmitterler, eksitator olan asetilkolin, inhibitör olan noradrenalin ve NANK sinirlerden salgılanan enkefalin, VIP, PM gibi peptidlerdir (Tablo 3). Barsak tonusunun sağlanmasında rol oynayan bu maddeler son yıllarda giderek daha fazla önem kazanmaktadır.<sup>60,61</sup> İntrinsik sinir sistemi, düz kas üzerinde aralıklı inhibitör etkiler oluşturarak kasların gevşemesine neden olurlar. Agangliyozis varlığında bu gevşeme etkisi oluşamaz ve agangliyonik segmentte sürekli bir kontraksiyon vardır.

**Tablo 3: GİS Düz Kas Kasılmasını Etkileyen Uyarıcı ve İnhibitörlerin Hücre İçi İkincil Mesajcıları**

| Etken                        | Etki      | Mekanizma                                     | Mesajcılar                                                                  | Sonuç                      |
|------------------------------|-----------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| NO                           | İnhibitör | Hücre içine yayılım                           | ↑cGMP                                                                       | ↓ Ca <sup>++</sup>         |
| VIP                          | İnhibitör | VIP reseptörleri (GPCR)                       | ↑cAMP                                                                       | Membran hiperpolarizasyonu |
| Asetilkolin                  | Uyarıcı   | Muskarinik reseptör (GPCR)                    | Fosfolipaz C, IP <sub>3</sub> (M <sub>3</sub> ),<br>↓cAMP (M <sub>2</sub> ) | ↑ Ca <sup>++</sup>         |
| Substans P<br>Nörokinin<br>A | Uyarıcı   | Nörokinin reseptörleri (GPCR)                 | Fosfolipaz C, IP <sub>3</sub>                                               | ↑ Ca <sup>++</sup>         |
| Mekanik<br>Gerilme           | Uyarıcı   | Gerilmeyle aktiflenen Ca <sup>++</sup> kanalı | Yok                                                                         | ↑ Ca <sup>++</sup>         |

#### **2.8.5.1.1. Kolesistokinin**

Besinlerin mideden duodenuma geçmesi sonrasında ince barsakların duvarından salgılanan bir hormon olan kolesistokinin'in yarılanma ömrü 2-7 dakika olup, çeşitli formları vardır. Fenilalanin ve triptofan en güçlü kolesistokinin uyaran aminoasitlerdir. Kolesistokinin, safra kesesini ve safra yollarını direkt etkilemek suretiyle kasıp, oddi sfinkterini gevşeterek safranin duodenuma boşalmasını sağlar. Ayrıca, mide boşalmasını geciktirir, pankreas ekzokrin salgısını ve ince barsak peristaltik hareketlerini artırır.<sup>3</sup> Kolesistokinin antagonistleri, prokinetik ajan olarak pankreatit ve gastroözofageal reflü hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır.<sup>32</sup>

#### **2.8.5.1.2. Sekretin**

Sekretin, 27 aminoasitli bir polipeptid olup, yarılanma ömrü 3-7 dakikadır ve ince barsağın üst kısmının mukoza bezlerindeki derin yerleşimli S hücrelerinden salınır. Duodenal pH 4,5'un altına düşerse sekretin salınımı uyarılır. Sekretin, pankreasın duktal hücrelerinden ve safra yollarından bikarbonat salgılanmasını artırarak, sulu ve alkali bir pankreatik sıvının salgılanmasına neden olur.<sup>32</sup> Sekretin, pankreastan sindirim enzimlerinin salgılanmasına neden olan kolesistokinin etkisini artırır. Mide asidi ise sekretin salınımını azaltır ve pilor sfinkterinin kasılmasına neden olur. Sekretin salgılanması, protein sindirim ürünlerinin artması ve ince barsağın üst kısım mukozasının asitle karşılaşması durumlarında artar.<sup>3,32</sup>

#### **2.8.5.1.3. Vazoaktif İntestinal Peptid**

Peptid yapısındaki nöromediatörlerin periferik sinirlerde en yaygın bulunanı VIP olup, 28 aminoasit'ten oluşur ve yarılanma ömrü 2 dakikadır. Barsakta distansiyon sonucu VIP salınımı artar. Bu hormon, özofagus, mide, duodenum, jejunum, ileum, kolon, rektum, safra kesesi, pankreas gibi sindirim sistemi organlarının tümünde bulunur. Barsak çeperindeki VIPerjik nöronlar motiliteyi inhibe ederler, vazodilatasyon yaparak su ve tuz transportunu kontrol ederler.<sup>3,32</sup> Bazı VIPerjik lifler barsaktan çölyak

ve inferior mezenterik gangliyonlara uzanarak, intestinointestinal reflekslerde rol oynarlar ve tüm sfinkterleri gevşetirler.<sup>62</sup>

Gastrointestinal ve genitoüriner kanallarda VIP içeren varikoziteler şeklindeki sinir uçları, düz kas hücreleri, epitel hücreleri ve küçük damarlar ile kavşak yaparlar. İnhibitör bir nöromediatör olan VIP, organ lümen duvarlarında, sfinkter ve damar düz kaslarında gevşeme yapar. Vagus sinirinin elektriksel uyarılması ile mide ve barsak kanalındaki sinir uçlarından VIP salındığı gösterilmiştir. İntestinal zedelenmelerde inflamatuvar yolak'ları aktive eden VIP, fibrozis oluşumunda da rol alır.<sup>63,64</sup>

#### 2.8.5.1.4. Taşikininler

ESS'de önemli eksitator nörotransmitterler olan PM, nörokinin A, nörokinin B gibi taşikininlerin, NK<sub>1</sub> ve NK<sub>2</sub> gibi farklı reseptörleri Cajal Hücrelerinde ve düz kas hücrelerinde bulunur. Farklı reseptörler üzerinden farklı fonksiyonlar gerçekleştiren taşikininler, gastrointestinal sistemin duyu kontrolü ve sekresyonlarında önemli görevler üstlenirler. Ayrıca, kolinerjik sinir uçlarında asetilkolinin ko-transmitteri olarak görev yaparak, barsak düz kasları kasılmasında ve ekzokrin salgılarda artışa neden olurlar. Enterik sistemin oluşumunda prodüktif etkisi bulunan taşikininler, damar düz kaslarını gevşeterek vazodilatasyon yaparlar.<sup>3,65</sup>

### 2.9. Anorektal Bölgenin Normal Embriyolojik Gelişimi

Transvers kolon'un sol 1/3 kısmı, inen kolon, sigmoid kolon, rektum, anal kanalın üst kısmı, mesane epiteli ve üretranın büyük kısmı *metenteron*'dan gelişir. Kloaka, *metenteron*'un son parçası olup, endoderm ile döşelidir. Kloaka endoderminden ve *proctodeum* ektoderminden oluşan kloakal membran aracılığıyla, yüzey ektodermiyle kloaka temas halindedir.<sup>55</sup> *Metenteron* ile *allantois* arasındaki mezenkim'den gelişen ürorektal septum'un, kloakal membrana doğru gelişen çıkıntıları ve kıvrımları, birbirlerine doğru ilerleyip birleşerek, arkada rektum ve anal kanalın proksimal parçası, önde ürogenital sinüs olmak üzere kloaka'yı iki bölüme ayırır.<sup>55</sup> Ürorektal septum, kloaka sfinkterini de ön ve arka olmak üzere iki parçaya ayırır. Kloaka sfinkterinin ön parçasından, *m. transversus perinei superficialis*,



*m.bulbospongiosis* ve *m.ischiocavernosus* gelişirken, arka parçasından, EAS gelişir. Mezenkimal hücreler çoğalarak anal membran etrafında yüzey ektodermine doğru çıkıntılar oluşturur ve böylece anal membran, ektodermal bir çöküntü olan *proctodeum*'un tabanını oluşturur.<sup>10,55,66</sup> İntrauterin yaşamın sekizinci haftasının sonuna doğru anal membran'ın yırtılması sonucu, anal kanalın cilt ile bağlantısını sağlar.<sup>10,21,55</sup> Anal kanalın üst 2/3 kısmı *metenteron*'dan, alt 1/3 kısmı *proctodeum*'dan gelişir. *Proctodeum*'un ektoderm ile birleştiği çizgi olan *linea pectineta*, anal kanalın alt sınırı olup, endodermal ve ektodermal komponentlerin birleştiği yeri gösterir. Anal kanal duvarının diğer katları splanknik mezenkimden gelişir.<sup>55</sup>

## 2.10. Anorektal Malformasyonların Embriyolojik Gelişimi

İntrauterin yaşamın 4. ve 5. haftalarında, allantois, genital (mezonefrik) kanal ve sindirim sisteminin distal ucu, U şeklindeki “kloaka” adı verilen tek bir boşluk halindedir. Kloakal boşluğun dış yüzü yüzey ektodermiyle, iç yüzü endodermle kaplıdır. Endodermle ektoderm birbiriyle temas ettiği bölge “kloakal membran” olarak bilinir.<sup>55</sup> Kloakal boşluğun ilerde dış ortama açılacağı bölge kloakal membran tarafından kapatılmıştır. *Allantois*’le arkabarsak arasında, yolk kesesi ve *allantois* çevresindeki mezenşimden köken alan ürorektal septum veya *tourneaux* plikası denilen mezenşimal bir doku bulunur.<sup>10</sup> Arkabarsağın terminal parçası kloakanın posterior bölümüne, yani primitif anorektal kanala, *wolffian* kanalları (genital sistem) ve *allantois* (üriner sistem) ise kloakanın anterior bölümüne, primitif ürogenital sinüse açılır. Her iki boşluğun ön kısımları dışarıdan ürogenital membran ve anal membran tarafından örtülüdür.<sup>55</sup>

Kloakal boşluk, embriyonun 16 mm uzunluğa eriştiği 6. haftada, yukarıdan aşağıya doğru inen ürorektal septumun yanlardan ilerleyen *rathke* plikaları ile birleşmesiyle ikiye bölünür. Böylece daha önce tek bir boşluk halinde olan kloaka, önde primitif ürogenital sinus, arkada anorektal kanal olarak, birbirinden bağımsız iki ayrı boşluk haline gelir. *Hindgut* (arkabarsak) ve genitoüriner sistemin birbirinden ayrılışlarındaki veya perineyi delişlerindeki yetersizlik anorektal malformasyonlarla sonuçlanır. Ürorektal septumun aşağı inememesi veya belirli bir evrede duraklaması sonucunda, erkeklerde rektöüriner fistüller, kızlarda ise rektokloakal veya rektovaginal fistüller oluşur.<sup>10,23,21,55</sup>

İntrauterin yaşamın 6. haftasından sonra kloakal membran ürorektal septumun oluşması ile atrofiye olmaya başlar. Atrofinin olduğu yer anal valv'ler ve *linea pectinate*'dir. Membran tamamen atrofiye olduğunda, üriner, genital ve sindirim sistemleri ayrı ayrı açıklıklar halinde eksternal kloaka ile birleşir. Bu devrede ortaya çıkan gelişim aksaklıkları sonucunda membranöz anal atrezi, anal stenoz, anterior ektopik anüs, anokütanöz fistül ve kızlarda rektovestibüler fistül gibi malformasyonlar ortaya çıkar.<sup>10,23,21,55</sup>

Ürorektal septumun gelişiminde bir bozukluk varsa kloaka, ürogenital ve anorektal parçalarına ayrılamaz. Normalde rektumla anal kanal arasında geçici bir bağlantı vardır, fakat ürorektal septum ile kloakal membran birleştiğinde bu bağlantı kesilir. Anal kanal kör olarak veya ektopik bir delikle veya genellikle perineye açılan rektoperineal bir fistülle sonlanır. Bazan kızlarda vajene, erkekte üretraya açılarak da sonlanabilir. Fistüllü ARM'ler, ürorektal septumun kloakayı tamamen bölmemesinden kaynaklanır. Ürorektal septumun kloakal membran ile birleşmek üzere kaudale doğru büyürken hafif bir sapmaya uğraması sonucu anal darlık oluşur. Sekizinci haftada anal membranın yırtılmaması sonucu anüsün membranöz atrezisi oluşur (Tablo 4, 5).<sup>8,10,55</sup>

**Tablo 4: Erkeklerde Embriyolojik Defektler ve Gelişen Anomaliler**

| Defekt                           | Anomali                       |
|----------------------------------|-------------------------------|
| <i>Tourneux</i> Septum Defekti   | Rektovezikal Fistül           |
| <i>Rathke</i> Katlantısı Defekti | Rektoprostatik Üretral Fistül |
| Perineal Çıkıntı Defekti         | Rektobulbar Üretral Fistül    |
| İç Genital Katlantı Defekti      | Anoüretral Fistül             |
| Dış Genital Katlantı Defekti     | Anokutanöz Fistül             |

**Tablo 5: Kızlarda Embriyolojik Defektler ve Gelişen Anomaliler**

| Defekt                           | Anomali                                                          |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| <i>Tourneux</i> Septum Defekti   | Rektovezikal Fistül                                              |
| <i>Rathke</i> Katlantısı Defekti | Kloakal Anomali<br>Rektovajinal Fistül<br>Rektovestibüler Fistül |
| İç Genital Katlantı Defekti      | Perineal Oluk                                                    |
| Dış Genital Katlantı Defekti     | Anokutanöz Fistül                                                |
| Anal Membran Defekti             | İmperfore Anal Membran<br>Anal Stenoz                            |
| Perineal Çıkıntı Defekti         | Anterior Anüs                                                    |
| Anal Çukur Defekti               | Anal Agenezis                                                    |

### 2.11. ARM'lerde Ek Anomaliler

ARM'lerle birlikte, sıklık sırasına göre kardiyovasküler (% 12-22); trakeoözofagial (% 10); spinal distrafizm (*Tethered Cord* vb) gibi vertebral anomaliler;<sup>8, 13</sup> vezikoüreteral reflü, renal agenezi, renal displazi, inmemiş testis ve hipospadias gibi üriner anomaliler görülebilmektedir. ARM'ye ek olarak, *vertebral*, *anal*, *cardiac*, *tracheoesophageal*, *renal* ve *limb* anomalilerinden oluşan "VACTERL Anomali Grubu"; *coloboma*, mikroftalmi, dış kulak yolu atrezisinden oluşan "Cat-Eye Sendromu"; presakral kitle ve sakral ageneziden oluşan "Currarino Triadı"; sinir sistemi anomalileri, karakteristik yüz görünümü, geniş baş parmak, kabızlık ve genital malformasyonlardan oluşan "FG Sendromu"; el ve dış kulak yolu anomalisinden oluşan "Towner-Brocks Sendromu", ARM'lerle birlikte görülen anomali gruplarıdır.<sup>6,8,12,13</sup>

### 2.12. Anorektal Malformasyona Yaklaşım

ARM'li bir hastada dikkatli yapılacak sistemik fizik muayene, malformasyonun niteliği hakkında çok ayrıntılı bilgiler sağlar ve birlikte görülen diğer anomalilerin saptanması oldukça önemlidir. ARM'li yenidoğanlardaki en sık ölüm nedenleri, birlikte görülen ek anomalilere bağlı olup, kardiyak ve renal anomaliler önde gelenlerdir. ARM tanısı ve tedavisi yanında, ek anomalilerin de öncelikli olarak ayrıntılı biçimde ortaya konulup, tedavilerine erken başlanması hayati önem taşır.

ARM cerrahi tedavisinin başarısı, mevcut ek anomaliler, uygulanacak cerrahi teknik ve özellikle de anorektal bölge invazyon durumuyla yakından ilgilidir. Bu nedenlerle ARM'li bir yenidoğan başvurduğunda, rutin incelemeler yanında, vertebral, anal, kardiyak, trakeaözofajial, renal ve ekstremiteler anomalilerinin varlığı titizlikle araştırılmalıdır. Aslında ideal olanı, prenatal dönemde fetal ultrasonografi, gerekirse fetal MR, amniosentez ve diğer incelemelerin yapılarak, doğum öncesinde ayrıntılı bilgiye sahip olunmasıdır. Gerek prenatal dönemde gerekse doğum sonrası erken dönemde özellikle merkezi sinir sistemi ve spinal distrafizm anomalileri yönünden yapılacak değerlendirmeler, prenatal dönemde postnatal cerrahi tedavi başarısının öngörülmesi ve/veya gebeliğin sonlandırılması açısından büyük önem taşımaktadır.

ARM ön tanısı konulan bir yenidoğanda, yapılacak ayrıntılı muayeneyle cinsiyet saptanmalı, anal, üretral, genital fistül açıklıkları, açıklıklardan varsa gelen kapsamın

özellikleri ve anomaliler belirlenmelidir. PA akciğer grafisinde diyafragmatik seviyeler, plevral sinüsler, kalp ve akciğer gölgeleri, vertebra ve kosta anomalileri ve olası özofagus atrezisi proksimal poşunda görülebilecek orta hat hava sıvı seviyesi görüntüsü değerlendirilmelidir. Direkt karın grafisinde pnömoperiton, barsaklara ait hava sıvı seviyeleri, lumbosakral anomaliler ve kalsifikasyonlar incelenmelidir.

Rutin kan ve biyokimya analizleri yapılmalı, oral beslenme kesilmeli, intravenöz sıvı elektrolit tedavisi, gram pozitif ve gram negatif organizmalara etkili geniş spektrumlu antibiotikler başlanılmalıdır. Doğum sonrası 24 saat geçtikten sonra anal bölgeye radyoopak işaret konularak diz dirsek pozisyonunda çekilen yan grafide, radyoopak işaret ile distal rektal poş mesafesi değerlendirilmelidir. Ek anomalileri ve rektal poş seviyesini daha net ortaya koyabilmek amacıyla USG ve gerekirse BT incelemesi yapılmalıdır.<sup>23,67</sup>

### 2.13. Anorektal Malformasyonların Tedavisi

Ayrıntılı incelemelerle ARM tipi ve anomali kombinasyonları belirlenmeli, kolostomisiz primer cerrahi girişim veya önce kolostomi, sonra geciktirilmiş cerrahi girişim kararı verilmelidir. Definitif cerrahi girişim öncesinde, kontinansı etkileyecek nöral anomaliler ve sfinkter kaslarının durumu değerlendirilmelidir. Ön arka ve yan lumbosakral grafiler, fistülografi, kolostogafi, sistoskopi, elektrostimülatör ile sfinkter kaslarının muayenesi, pelvik MR ve gerekirse EMG yapılmalıdır.

Kolostomi, ARM'li hastalarda eskiden beri uygulanagelmekte olan güvenli bir başlangıç tedavisidir ve bu sayede bebeğin beslenmesi ve gelişmesi sağlanabilir.<sup>12,36,17,68</sup> Pena ve de Vries<sup>5</sup> tarafından 1982 yılında geliştirilen ve halen tüm dünyada ARM tedavisinde standart cerrahi yöntem olarak uygulanan PSARP tekniğinde, sfinkter kasları ve perirektal sinirlerin daha iyi korunduğu iyi bilinmektedir.

Yüksek tip anal atrezilerde Georges ve ark.<sup>15</sup> tarafından geliştirilen laparoskopi yardımlı *abdominoperineal pullthrough*, son yıllarda tercih edilen ve umut vadeden bir yöntemdir. Bu yöntemde, *posterior sagittal* insizyona, sfinkter kaslarının ikiye ayrılarak tekrar dikilmesine ve orta çizgiyi kaybetme riskine gerek kalmadan *pullthrough* yapılabilmektedir. Henüz yaygın olarak uygulanmayan bu yöntemin farklı merkezlerde oluşacak uzun dönem sonuçları için zamana ihtiyaç bulunmaktadır.

## 2.14. ARM’de İzlem ve Sonuçlar

ARM tedavisindeki cerrahi işlem sırasında gösterilen maksimum titizliğe rağmen, ameliyat sırasında ve/veya ameliyat sonrasında bazı komplikasyonlar oluşabilmektedir. Ameliyat sırasında oluşabilecek komplikasyonlar, kanama, bakteriyel kontaminasyon, sfinkter kasları hasarı, perirektal invazyon hasarı, iyatrojenik üriner ve genital organ yaralanmaları ve indirilen barsakta kısmi veya total iskemi oluşmasıdır. Ameliyat sonrası komplikasyonlar ise, indirilmiş barsağın tamamının, bir kısmının veya sadece ucunun nekrozu, barsak ucunun yukarı kaçması, anal stenoz, mukozal prolapsus ve enfeksiyondur.<sup>28,69,70</sup>

ARM cerrahi tedavisi sonrası sonuçların değerlendirilmesinde, gaz-gaita kontrolünün hissedilişi, kabızlık ve külot kirlenmesi kriterleri birlikte değerlendirilmelidir.<sup>16</sup> ARM’li çocukların uzun dönem takiplerinde önceleri Wingspread Kriterleri uygulanırken, 2005 yılından bu yana Krickenbeck Kriterleri kullanılmaktadır.<sup>16,24</sup> Krickenbeck Kriterleri’ne göre sonuçlar, gaz gaita kontrolü, kabızlık ve külot kirlenmesi olmak üzere üç ana kriter açısından değerlendirilmektedir (Tablo 6).

**Tablo 6: ARM Sonuçlarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Krickenbeck Kriterleri**

|                      |           |                               |
|----------------------|-----------|-------------------------------|
| Gaz gaita kontrolü   | 1. Derece | Var                           |
|                      | 2. Derece | Yok                           |
| Kabızlık var         | 1. Derece | Diyetle çözülüyor             |
|                      | 2. Derece | Laksatifle çözülüyor          |
|                      | 3. Derece | Diyet ve laksatifle çözülüyor |
| Külot kirlenmesi var | 1. Derece | Haftada 1-2 kez               |
|                      | 2. Derece | Hergün, sosyal sorun yok      |
|                      | 3. Derece | Sürekli, sosyal sorun var     |

ARM’lerde cerrahi tedavi sonrası uzun dönem sonuçlarıyla ilgili olarak önceleri farklı merkezlerden oldukça farklı sonuçlar alınmaktaydı. Son yıllarda kullanılmakta olan Krickenbeck Kriterlerinin, Wingspread Kriterlerine göre daha daha basit, açık ve net kriterler olması nedeniyle, çeşitli merkezlerden gelen son sonuçlar birbirlerine yakın olup, tam kontinans oranı %34 ile %41 arasında değişmektedir.<sup>2,69,71</sup>

## 2.15. ARM’de Belirsizlikler ve Gelecek

Gaita kontinansının sağlanmasında istemli kasların varlığı, duyu ve barsak motilitesinin durumu önemli üç faktör olup, sakrum yapısı da büyük önem taşımaktadır. ARM’li hastalarda sakral agenezi, sakral hipoplazi ve/veya hemisakrum varlığında, anorektal bölge inervasyonu sakral 2. ve 4. sinir kökleri arasından sağlandığından, nöromusküler fonksiyon bozukluğu nedeniyle gaita ve idrar kontinansında da sorun olabilecektir. Sakral anomali ve/veya düz perinesi olan veya duyu mekanizması bozulmuş çocuklarda kontinansın sağlanmasının çok zor olacağı, belki de sağlanamayacağı, bu durumda kalıcı kolostomi yapılması gerekebileceği aileye ayrıntılı biçimde anlatılmalıdır.<sup>2,14</sup>

Kontinansın sağlanmasında perianal cildin de önemli rolü vardır. Perianal deri, özelleşmiş yoğun sinir uçları bulunması nedeniyle oldukça hassas olup, düzeltici ameliyat sırasında cilde de maksimum hassasiyet gösterilmelidir. Ayrıca, düzeltici ameliyatın daha erken dönemde yapılmasının, gaita kontinansını sağlamada kortikal düzeyde daha etkili olacağı dikkate alınmalıdır.<sup>12,13</sup>

ARM’li hastalarda hastanın zeka seviyesi, eğitim durumu, aile ve çevresel ortam büyük önem taşımaktadır. ARM’li çocuklarda kontinans daha geç gelişmekte, yaş ile artan adaptasyon yeteneğiyle nöromusküler fonksiyonda iyileşmeler olmakta ve bu duruma rektal matürasyon denilmektedir.<sup>2,39</sup> Yaş ile birlikte kas kitlesinin de artmasına nedeniyle, pelvik kasların daha iyi kontrol edilebilmesi, diyet, eğitim ve sosyal uyumun çocuğun büyümesiyle birlikte daha iyi sağlanabilmesi gibi nedenlerle kontinans için erken dönemde karar vermek doğru olmayabilir.<sup>28,39</sup>

Son yıllarda kolonik motilite üzerine yapılan çalışmalar yoğunlaşmış ve ARM’li hastalarda da yapılmaya başlanmıştır. Kronik kabızlığı olan çocukların kolonik sinir liflerinde PM ve monoklonal antinöroflament antikorlarında bir anormallik olduğu, motilin düzeylerinin düşük olduğu gösterilmişse de, bunların ne anlam taşıdığı henüz bilinmemektedir.<sup>32,62,71-73</sup>

Konjenital megakolonun embriyopatogenezinde olduğu gibi, ARM’lerde de nöral hücre elemanlarının göçünde ve/veya proliferasyonunda eksiklik olduğuna yönelik yeni çalışmalar yapılmaktadır.<sup>73,74</sup> Kolonik motiliteyle ilgili yapılmakta olan ve fizyopatolojiyle ilgili yapılacak çalışmalarla, ARM’lerde bilinmeyen birçok şeyin ortaya konulabileceği düşünülmektedir.<sup>32,73,74</sup>

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Normal ve ARM'li deneklerin rektosigmoid düz kas dokularında, kasılma gevşeme fonksiyonları ve nörotransmitter dağılım farklılığının olup olmadığını ortaya koymak düşüncesiyle planlanan bu çalışma, ÇÜ Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nca uygun bulunarak, ÇÜ Araştırma Fonu'nca desteklendi. Uluslararası hayvan hakları gözetilerek, ÇÜ Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yürütülen çalışmada, Wistar Albino türü sıçanlar kullanıldı.

Ağırlıkları 250-300 gr olan dişi sıçanlarda gebelik oluşturup, gebe sıçanlara *ethylenethiourea* (ETU) verilerek ARM'li fetal sıçanlar elde edilmesi amaçlandı. Bu amaçla, şehir suyu ve sıçan yemi ile beslenen, bakımları eğitimli teknisyenlerce yapılan, ergenliğini yeni tamamlamış ve hiç çiftleştirilmemiş dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanların her biri, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışık döngüsü sağlanan laboratuvar ortamında, çiftleştirmek amacıyla bir kafese bir erkek sıçanla birlikte yerleştirilerek, akşamdan sabaha 12 saat süre ile birlikte bırakıldılar. Sabah yapılan vajinal yaymanın mikroskopla incelenmesinde, mukus plak ve sperm görülerek çiftleştiği doğrulanan dişi sıçanlarda, ilk gün gebeliğin başladığı 0. gün, ertesi gün ise gebeliğin 1. günü olarak kabul edildi.

ARM'li fetal sıçanlar elde etmek için gebe sıçanlara, gebeliklerinin 11. gününde eter anestezisi uygulanarak, orogastrik tüp aracılığıyla midelerine 125 mg/kg dozunda %1'lik ETU verildi. Çalışmada, kontrol, ETU ve ETU-ARM grubu olmak üzere üç grup oluşturuldu. Gebeliğinin 11. gününde serum fizyolojik verilmiş gebelerin fetalüslerinden kontrol grubu, gebeliğinin 11. gününde ETU verilmiş gebelerin fetalüslerinden ARM oluşmamış olanlarından ETU grubu, ARM oluşmuş olanlarından ETU-ARM grubu oluşturuldu (Tablo 7).

**Tablo 7: Çalışmada Oluşturulan Gruplar ve Gruplardaki Fötüs Sayıları**

| Gebe sıçanlara verilen madde | Grup    | Fötüs özellikleri | Fötüs sayısı |
|------------------------------|---------|-------------------|--------------|
| Serum fizyolojik             | Kontrol | Kontrol grubu     | 33           |
| ETU                          | ETU     | ARM gelişmemiş    | 27           |
|                              | ETU-ARM | ARM gelişmiş      | 39           |

Gebe sıçanlara, gebeliğin sonlanmasına yakın dönem olan 21. günde, *halothane* anestezisiyle laparotomi yapıldı (Şekil 2-A). Uterus açılarak sezaryen ile doğurtulan fetal sıçanlar (Şekil 2-B), hızlı bir inspeksiyonla muayeneden geçirildiler.



Şekil 2: A: Laparotomi uygulanmış gebe sıçan ve uterus içindeki fütüsler; B: ARM'li bir fetal sıçan

Anne sıçanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edilirken, henüz doğurtulan fetal sıçanlar, aşikar ek anomalisi olanlar hariç tutularak, diğerleri doku canlılığının bozulmaması amacıyla içinde Tyrod solüsyonu bulunan ve içine 0,5 L/dk oksijen verilen Tyrocl Betori kabı içerisine konularak muhafaza edildiler. Her bir fetal sıçan vücudu, solüsyon içinden ayrı ayrı çıkarılıp, binoküler diseksiyon mikroskobu (Olympus A-300) kullanılarak titiz biçimde muayene edildi. Ansefalosel (Şekil 3-A) ve diğer ek anomalisi olanlar çalışma dışı bırakıldı. Dış görünüm, cinsiyet, anal, genital, kuyruk, ekstremiteler, spinal ve kranial anomali açısından değerlendirilen denekler, ARM oluşan (Şekil 3-B) ve ARM oluşmayan gruplar halinde kaydedildiler.



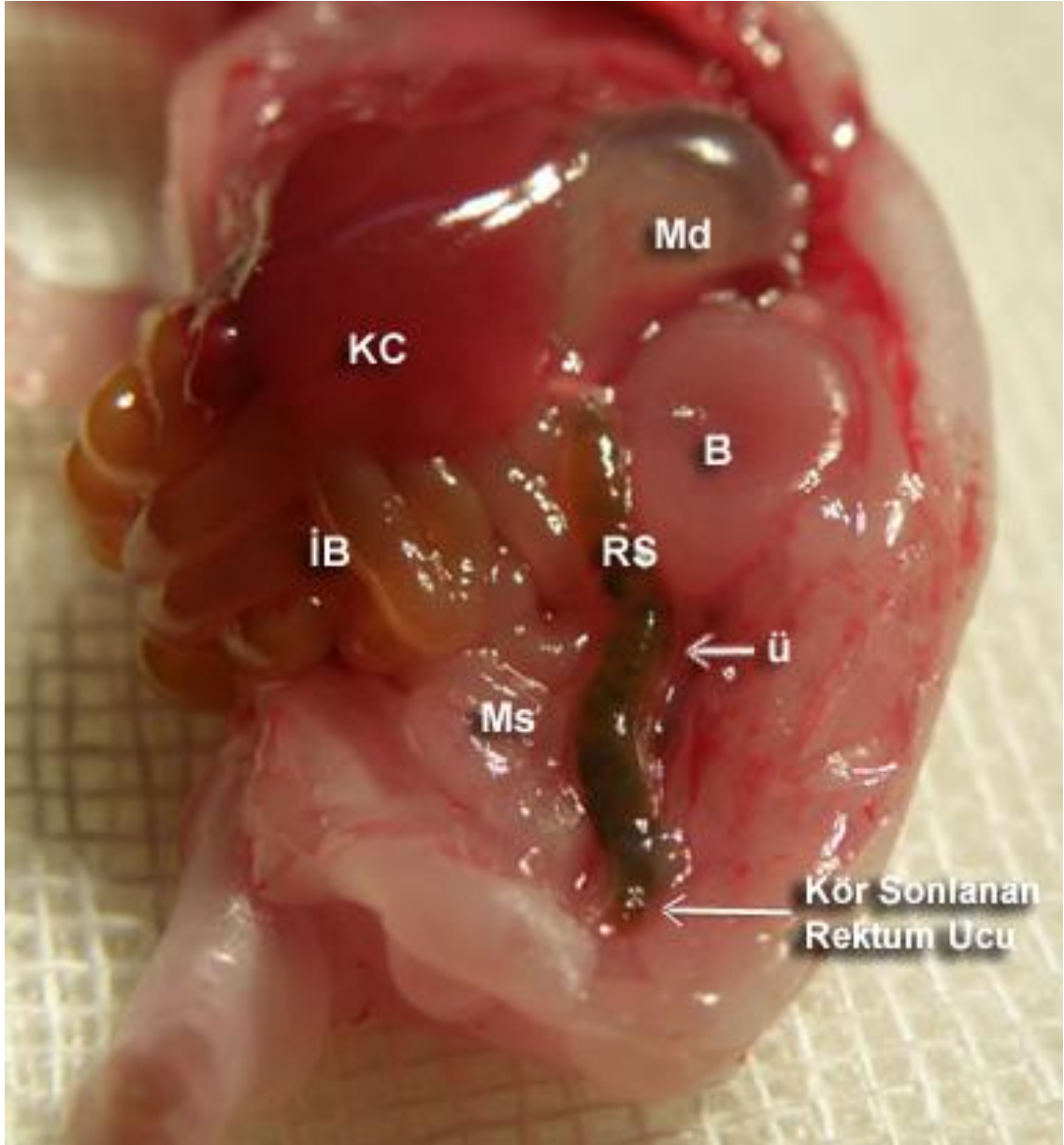


**Şekil 3: A: ARM'li bir fütüsde eşlik eden ansefalosel görünümü; B: ARM'li bir fütüste düz perine görünümü ve eşlik eden kuyruk agenezisi izlenmektedir**

İstatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar elde edebilmek ve gruplar arasında anlamlı karşılaştırma ve kıyaslamalar yapabilmek için, çalışmanın her bir grubunda en az kaç denek bulunması gerektiğini belirlemek amacıyla örneklem hesabı ve pilot çalışma yapıldı. Farmakolojik çalışmalar için en az 5, doku boyanmaları için en az 6 örnek gerektiği düşünülerek, kontrol ve ETU-ARM grubunda, altışar fütüste barsak düz kas dokularında sp100 antikor boyanma yoğunlukları incelendi.

Yüksek grade oranı, kontrol grubunda %85, ETU-ARM grubunda %30 olarak saptandı. Pilot çalışma sonuçlarına göre, %80 *power* ve %95 güvenlik aralığı elde edebilmek amacıyla her bir grupta, farmakolojik incelemeler için en az 5, doku boyanma incelemeleri için en az 10 denek olması gerektiği belirlendi. İstatistiksel yanılma payını daha da azaltmak amacıyla, farmakolojik incelemeler için 10, doku boyanma incelemeleri için 15 denek sayısı belirlenerek, gruplar bu sayılara göre oluşturuldu.

Her bir fütal sıçanda, sol ön ve arka bacaklara total amputasyon, toraks ve karın sol duvarlarına eksizyon uygulanarak karın içi organlar görünür hale getirildi ve incelendi (Şekil 4). Sigmoid kolon ve rektum rezeksiyonla çıkarıldıktan sonra, izole organ banyosuna asılmak üzere her gruptan 10 rektosigmoid doku örneği hazırlanırken, histopatolojik inceleme için her gruptan 15 rektosigmoid doku örneği formol solüsyonuna konuldu.



**Şekil 4: Mikrodiseksiyonla karın yan duvarı katmanları çıkarılmış ARM’li bir fötüste karın organlarının ve içi mekonyumla dolu kolorektal segmentin görünümü. B: Böbrek; İB: İnce barsak; KC: Karaciğer; Md: Mide; Ms: Mesane; RS: Rektosigmoid; ←Ü: Üreter.**

Elde edilen sonuçların istatistiksel açıdan anlamlı olabilmesi için, her bir grupta, farmakolojik incelemeler için 10, doku boyanma incelemeleri için 15 olmak üzere toplam 75 örnek olması gerektiği göz önüne alınarak, yeterli sayıdaki bu 75 örneği ve fetal sıçanı elde edebilmek amacıyla, sonuçta toplam 12 gebe sıçan kurbanı edilerek, bu gebeliklerin oluşturulabilmesi için ise 18 dişi ve 30 erkek sıçan kurbanı edilmeden kullanıldı.

### 3.1. Çalışmada Kullanılan Malzemeler

Bu çalışmada, orogastrik tüp, diseksiyon mikroskobu, mikrocerrahi alet seti, izole organ banyosu, transduser, kayıt sistemi, doku takip cihazı, otomatik boyama cihazı ve ışık mikroskobu gibi pek çok malzemeler kullanılmıştır (Tablo 8).

**Tablo 8: Deneyde Kullanılan Araç ve Gereçler**

| Araç Gereç              | Araç Gereç Markası                               |
|-------------------------|--------------------------------------------------|
| Hassas terazi           | Sartorius Bp 1215-Germany                        |
| Mikrocerrahi alet seti  | Martin- Germany                                  |
| Orogastrik tüp          | 5F Kaishou feeding tube-China                    |
| Serum fizyolojik        | Eczacıbaşı-Türkiye                               |
| İzole organ banyosu     | May 10 BS-99 comat-Italy                         |
| Isıticılı su banyosu    | May WBC 2044 sirkulatör commat-Italy             |
| Kayıt sistemi           | Ugo Basile 2 Channel Recorder Geminin 7070-Italy |
| Transduser              | Ugo Basile 7006 isotonic transducer-Italy        |
| Doku takip cihazı       | Leica tıp 1050-Germany                           |
| Otomatik boyama cihazı  | Leica ST 5020-Germany                            |
| Otomatik kapatma cihazı | Leica ST 5030-Germany                            |
| Diseksiyon mikroskobu   | Olympus A-300-Japan                              |
| Işık mikroskobu         | Olympus A-800-Japan                              |

### 3.2. Çalışmada Kullanılan Maddeler Solüsyonlar

ETU maddesi, başlangıçta bitki dünyasında bir fungusid olarak, günümüzde ise gıda sektörü olmak üzere pek çok sektörde değişik amaç ve oranlarda kullanılmaktadır. Çalışmamızda fetal sıçanları elde etmek için gebe sıçanlara verilen ETU maddesi, (Tablo 9), distile suda çözülerek oluşturulan %1'lik solüsyonu, günlük taze olarak hazırlanarak kullanıldı.

Epinefrin ve karbamilkolin maddeleri, stok solüsyonlarından ara solüsyonlar hazırlanıp, ışıktan korunarak +4<sup>0</sup>C'de saklandı ve gerektiğinde kullanıldı.

Doku kesitlerinin canlılığın korunması, gerekli maddelerden uygun oranlarda (Tablo 10) distile suda çözülerek günlük olarak hazırlanan Tyrod slüsyonuyla sağlandı. Doku tesbiti için ise formaldehit solüsyonu kullanıldı.

**Tablo 9: Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler**

| Kimyasal Madde                     | Katalog No       | Çalışma Dilüsyonu         | Üretici Firma                                        |
|------------------------------------|------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|
| Ethylenthiourea (ETU)              | I-50-4           | 2-imidazolidinethione %98 | Aldrich Chemical Co. Inc. Milwaukee,Wis. USA         |
| Norepinefrin                       |                  | $10^{-9}$ - $10^{-4}$ M   | Aldrich Chemical Co. Inc. Milwaukee,Wis. USA         |
| Karbamilkolin                      |                  | $10^{-9}$ - $10^{-4}$ M   | Aldrich Chemical Co. Inc. Milwaukee,Wis. USA         |
| Halotan                            |                  | % 4                       | Habaş-Türkiye                                        |
| Serum fizyolojik                   |                  |                           | %0,9 NaCl Eczacıbaşı                                 |
| Nöronspesifik enolaz (NSE)         | Rabbit (AB 951)  | 1:100                     | Chemicon International, Temecula,CA, 92590,USA       |
| Vazoaktif intestinal peptid (VIP)  | Rabbit (BMD-419) | 1:4                       | Accurate Chem.&Sci. Co. Westnury, NY, 11590, USA     |
| Substans P (SP-100)                | Rabbit (8508 I)  | 1:1000 (%1 serum)         | Auspep Pty. Ltd. Parkville Victoria, 3052, Australia |
| FITC-conjugated IgG, Sekondary Ab. | Goat (AP 132F)   | 1:100, (%1 serum)         | Chemicon İnt. Temecula CA 92590, USA                 |

**Tablo 10: Tyrod Solusyonu İçindeki Maddeler ve Değerleri**

|                                  |            |
|----------------------------------|------------|
| NaCl                             | 8 gr /L    |
| KCl                              | 0,2 gr/L   |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | 0,065 gr/L |
| CaCl <sub>2</sub>                | 0,132 gr/L |
| NaHCO <sub>3</sub>               | 1 gr/L     |
| MgCl <sub>2</sub>                | 0,213 gr/L |
| Glukoz                           | 1,1 gr/L   |

### 3.3. Organ Banyosunda Yapılan Çalışmalar

Sıçan yavrularının barsaklarının rektosigmoid bölgesine rezeksiyon uygulanarak bir bütün halinde izole edilen barsak dokusundan oluşturulan doku şeritleri, 10 ml Tyrod solüsyonu içeren izole organ banyosu ortamına ipek dikiş materyali kullanılarak dikey olarak asıldı (Şekil 5). Banyo ortamı sürekli olarak 37°C ısıda tutuldu ve %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> verilerek havalandırıldı. Doku şeritlerine 25-30 mg gerilme kuvveti uygulandı ve 15 dakikada bir yıkama yapıp, 60 dakika dinlendirilen doku örneklerinin ortama uyumları sağlandı.

Önce KCl ile maksimum referans kasılma yanıtları ölçüldükten sonra, sempatik uyarana kasılma yanıtını değerlendirmek için,  $10^{-9}$  molar konsantrasyon ile başlanarak,  $10^{-4}$  molar konsantrasyona kadar giderek artan oranlarda banyo solüsyonu içerisine norepinefrin uygulandı. Beşer dakika ara ile üç kez Tyrod solüsyonu ile yıkanan aynı dokulara,  $10^{-9}$ - $10^{-4}$  molar konsantrasyonlarda parasempatomimetik bir ajan olan

karbamilkolin uygulanarak oluşan kasılma yanıtları ölçüldü ve çift kanallı bir poligrafa (Ugo Basile Gemini 7070) izotonik transduserler (Ugo Basile 7006) aracılığıyla kaydedildi (şekil 6).



**şekil 5: Organ banyosunda Tyrod solüsyonu içerisinde dikey olarak asılmış rektosigmoid doku**



**şekil 6: Organ banyosunda asılı dokularda kasılma çalışmalarının yapıldığı ve verilerin kaydedildiğı aygıtların görünümü**

### 3.4. Histopatolojik İnceleme

Formol solüsyonu içinde patoloji laboratuvarına getirilerek kasetlenen rektosigmoid dokular, %10'luk formaldehit solüsyonunda 6-8 saat bekletildi. Doku fiksasyonu oluşması için doku takip cihazında (Leica tıp 1050-Germany) 14 saat bekletilen dokular, dikey biçimde parafine gömülerek bloklama yapıldı. Mikrotom cihazıyla her bloktan 5 mikron kalınlığında doku kesitleri alındı. Hematoksilen Eozin (HE) boyaması için lamlara yerleştirilen doku kesitlerine, otomatik boyama cihazıyla (Leica ST 5020-Germany) HE boyaması yapılarak, otomatik kapatma işlemi (Leica ST 5030-Germany) yapıldı. İmmünohistokimyasal boyama amacıyla *polysine*'li *menzel-glaser* lamlarına yerleştirilen doku kesitlerine, *Streptavidin Biotin HRP* konjuge işaretleme tekniği uygulandı.

Doku kesitleri, etüv içinde 60°C sıcaklıkta parafin eriyinceye kadar 45-60 dakika bekletildikten sonra, deparafinizasyon için üç ayrı ksilol setinde beşer dakika bekletildi. Ksilol setinden çıkarılan örnekler, ksilol ve yabancı maddelerden arındırmak amacıyla %70, %80, %96'lık alkol setlerinde beşer dakika bekletildi. Çeşme suyu ile yeterince yıkanan kesitler, parafin, ksilol ve alkolden arındırıldılar. Oluşan endojen peroksitleri yok etmek için distile sudan geçirilen doku kesitleri, %3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile beş dakika inkübe edildikten sonra, distile suda beş dakika yıkanarak hidrojen peroksit'ten arındırıldı.

Doku fiksasyonu sırasında inaktive olmuş enzimleri açığa çıkarmak amacıyla, Tris/EDTA solüsyonu ile dolu plastik şale içine konulan dokular, mikrodalganın katalizör ısı etkisinden yararlanmak için mikrodalga fırın içinde, 10 dakikada bir çevirilerek, toplam 20 dakika bekletildi. Daha sonra fırından çıkarılan şale'lerin ısısı oda ısısına gelinceye kadar beklenildi. Üzerinde doku bulunan lamlar, tampon çözelti olarak kullanılan PBS (Dako Cytomatin Phosphate Buffered Saline) solüsyonunda üç dakika süreyle yıkanıp, dokuların çevresi silindi. Daha sonra, bir doku örneği üzerine bir antikor boyası olmak üzere, NSE, SP100 ve VİP primer antikorlarından damlatılarak iki saat inkübe edildi.<sup>56</sup>

PBS solüsyonunda üç dakika süreyle tekrar yıkanıp, dokuların çevresi silindikten sonra, birincil bağlayıcı antikor olarak *Biotinglated* damlatılarak 20 dakika inkübe edildi. PBS solüsyonunda üç dakika süreyle üçüncü kez yıkanıp, dokuların çevresi silindikten sonra, ikincil bağlayıcı antikor olarak *Streptavidin-HRP* damlatılarak 20

5 dakika inkübe edildi. PBS solüsyonunda üç dakika süreyle dördüncü kez yıkanıp, çevresi silinen dokulara, üçüncül bağlayıcı olarak *AEC Chyromogen* damlatılarak optimum boyama kalitesi oluşuncaya kadar 5-20 dakika inkübe edildi.

Dokuların gereğinden fazla boyanmasını ve boyanan dokuların renginin zemin boyasıyla karışmasını önlemek amacıyla, oluşan boyanma dereceleri x 200 büyütmede mikroskopta yakından takip edildi. Boyanan kesitler distile suda yıkanarak, zemin boyasıyla zıt görüntü oluşturmak amacıyla Mayer Hematoksilen ile beş dakika inkübe edildi. Akmakta olan çeşme suyu ile beş dakika süreyle yıkanan doku kesitleri, son olarak distile sudan geçirildi. Işık mikroskobunda net olarak görülebilmesi için doku kesitleri, su bazlı kapatma maddesi olan *Immu-mount* ile kapatılarak, etüvde 60°C sıcaklıkta üç dakika bekletildikten sonra, mikroskopta incelenmek üzere hazır hale getirildi.

### 3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Deney gruplarının değişik aşamalarında, karbamilkolin uyarısıyla rektosigmoid düz kas dokularında oluşan kasılma yanıtları, aynı dokularda KCl uyarısıyla oluşan kasılma yanıtlarına oranlanarak, KCl kasılmasının yüzdesi olarak kaydedildi. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) ve bonferroni *post-hoc* testi<sup>75</sup> kullanıldı.

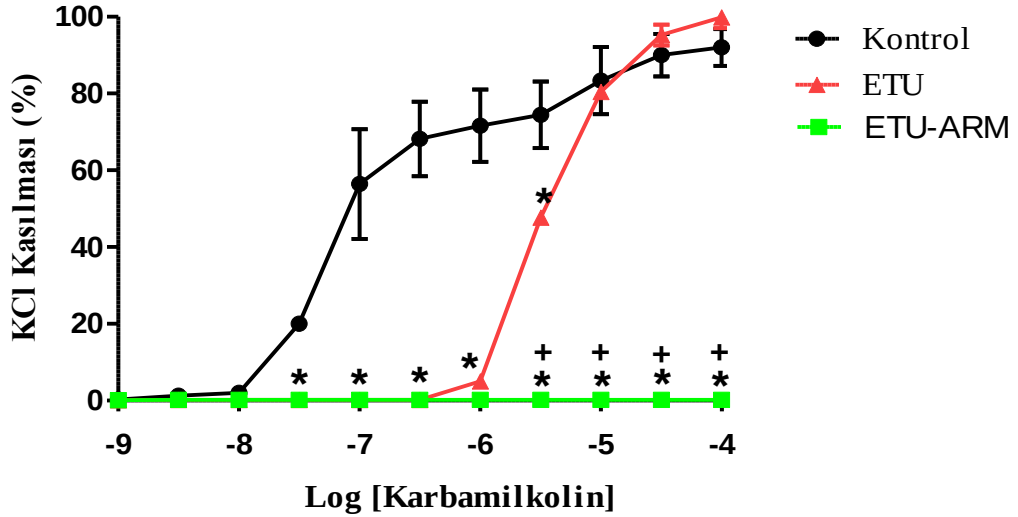
Histopatolojik incelemelerde gruplar arasındaki boyanma oranları, deneyimli üç patolog tarafından değerlendirildi. Doku kesitlerinin boyanma dereceleri, hiç boya tutmayan 0 ve en çok boya tutan 4 olmak üzere derecelendirildi. Gruplarda alınan sonuçlar, SPSS istatistik paket programı kullanılarak kendi aralarında karşılaştırıldı<sup>76</sup> ve gruplar arası anlamlılıklar *Mann-Whitney* testi ile değerlendirildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Kasılma Yanıtları

Organ banyosunda uygun hazırlıklar yapıldıktan sonra, verilecek uyaranlarla alınacak kasılma yanıtlarına referans oluşturmak amacıyla banyo solüsyonu içine 80 milimol KCl karıştırılarak maksimum kasılma yanıtı oluşturuldu ve bu değer %100 olarak kabul edildi (Şekil 7). Deneklerden izole edilen rektosigmoid düz kas dokularına norepinefrin uygulandığında tüm gruplarda kasılma yanıtı alınmadı. Karbamilkolin uygulandığında, kontrol grubunda doza paralel kasılma yanıtları alındı ve maksimum kasılma, KCl kasılmasının  $90.0 \pm 5.52$ 'i oranındaydı (Tablo 11). ETU grubunda maksimum kasılma yanıtları önceleri yok denecek kadar az izlenirken, zamanla dozun logaritmik artışıyla, kontrol grubu kasılma yanıtını da geçerek, KCl kasılmasının  $99.80 \pm 2.9$ 'u oranına ulaştı. ETU-ARM grubunda ise, ölçülebilir bir yanıt alınmadı ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $P < 0.001$ ) (Şekil 7, 8).



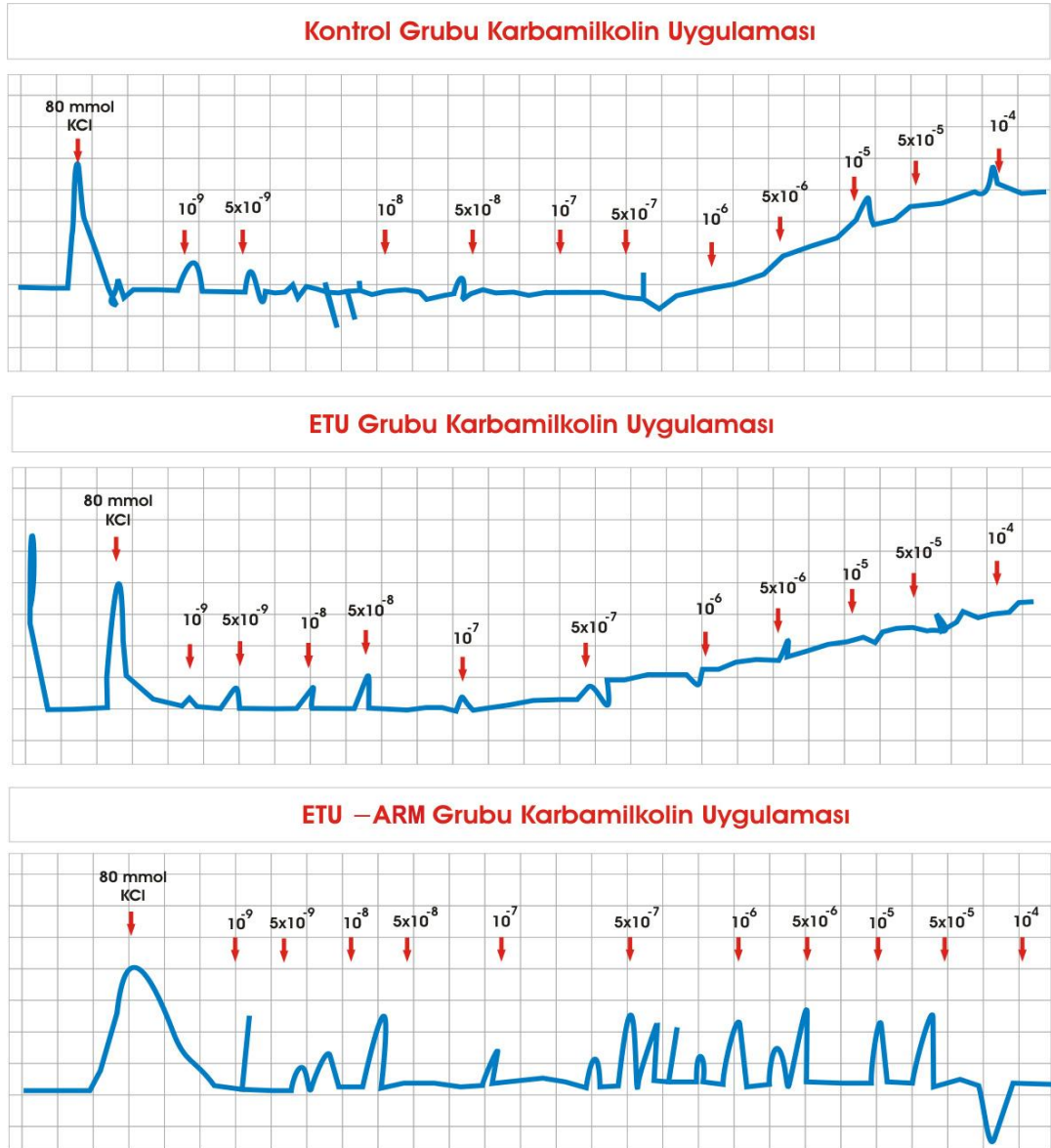
Şekil 7: Karbamilkolin uyararıyla oluşan ortalama kasılma yanıtları (KCl Kasılmasının %'si)

● semboller kontrol grubunu, ▲ semboller ETU grubunu, ■ sembollerle gösterilen eğri ise ETU-ARM grubuna ait karbamilkolin yanıtlarını temsil etmektedir. \* kontrole göre, ETU-ARM grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ( $P < 0.001$ ).



**Tablo 11: Karbamilkolin Uyararıyla Oluşan Ortalama Kasılma Yanıtları ve Standart Hataları**

| Karbamilkolin Konsantrasyonu | Kontrol Grubu Kasılma Yanıtları $\pm$ Standart Hata (n=7) | ETU Grubu Kasılma Yanıtları $\pm$ Standart Hata (n=7) | ETU-ARM Grubu Kasılma Yanıtları $\pm$ Standart Hata (n=8) |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| $5 \times 10^{-10}$          | $0,33 \pm 0,33$                                           | $0,14 \pm 0,02$                                       | $0,15 \pm 0,01$                                           |
| $10^{-9}$                    | $1,28 \pm 0,85$                                           | $0,18 \pm 0,02$                                       | $0,20 \pm 0,02$                                           |
| $5 \times 10^{-9}$           | $2,00 \pm 1,14$                                           | $0,20 \pm 0,03$                                       | $0,18 \pm 0,01$                                           |
| $10^{-8}$                    | $20,00 \pm 1,11$                                          | $0,22 \pm 0,02$                                       | $0,18 \pm 0,01$                                           |
| $5 \times 10^{-8}$           | $56,42 \pm 14,30$                                         | $0,20 \pm 0,03$                                       | $0,18 \pm 0,01$                                           |
| $10^{-7}$                    | $68,19 \pm 9,71$                                          | $0,22 \pm 0,04$                                       | $0,18 \pm 0,01$                                           |
| $5 \times 10^{-7}$           | $71,61 \pm 9,40$                                          | $5,00 \pm 0,03$                                       | $0,18 \pm 0,01$                                           |
| $10^{-6}$                    | $74,65 \pm 8,65$                                          | $47,72 \pm 1,73$                                      | $0,18 \pm 0,01$                                           |
| $5 \times 10^{-6}$           | $83,37 \pm 8,73$                                          | $80,42 \pm 1,75$                                      | $0,18 \pm 0,01$                                           |
| $10^{-5}$                    | $90,00 \pm 5,52$                                          | $95,25 \pm 2,67$                                      | $0,18 \pm 0,01$                                           |



**Şekil 8: Deney gruplarında karbamilkolin yanıtlarının poligrafda demonstratif görüntüleri**

## 4.2. Histopatolojik İncelemeler

Her bir grup rektosigmoid düz kas dokularındaki NSE, Sp100 ve VIP antikor miktarlarını göstermek amacıyla uygulanan immünohistokimyasal boyanma derecelerinin, ortalama ve medyan değerleri tablo 12’de görülmektedir. Dokuların boyanma dereceleri ortalama değerleri incelendiğinde:

- NSE boyanma dereceleri, kontrol ve ETU grubunda sırasıyla 3,53 ve 3,60, ETU-ARM grubunda ise 1,53 olduğu (Şekil 9);
- Sp100 boyanma dereceleri, kontrol ve ETU grubunda sırasıyla 3,40, 3,40, ETU-ARM grubunda ise 1,87 olduğu (Şekil 10);
- VIP boyanma dereceleri, kontrol ve ETU grubunda sırasıyla 0,60 ve 0,53, ETU-ARM grubunda ise, 2,33 olduğu (Şekil 11) görülmektedir.

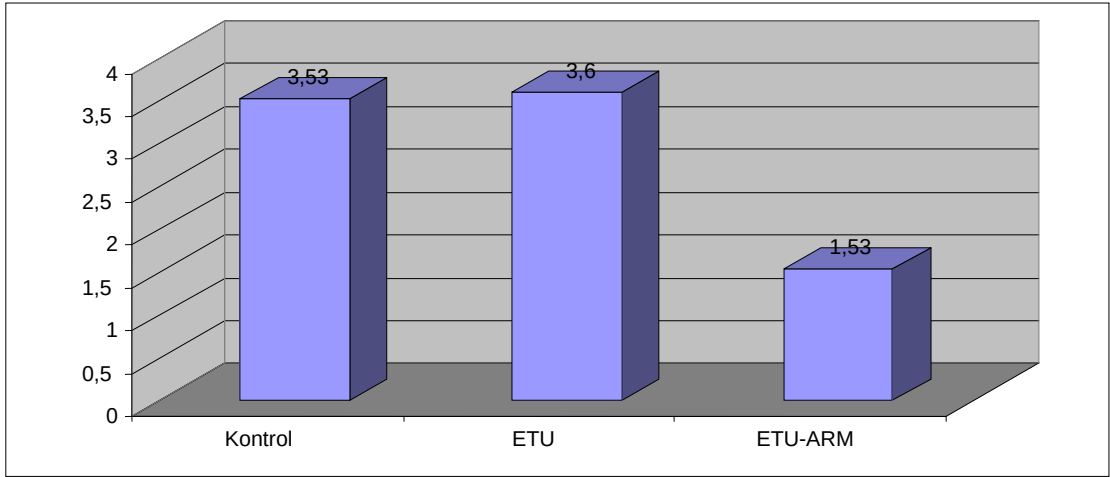
ETU grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken, ETU-ARM grubunda, kontrol ve ETU grubuna göre NSE ve Sp100 boyanma dereceleri ortalaması anlamlı derecede düşük, VIP boyanma derecesi ortalaması ise, anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 13) ve bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu dikkati çekti ( $p<0.0001$ ).

**Tablo 12: İmmünohistokimyasal Boyanma Derecelerinin Ortalama ve Medyan Değerleri**

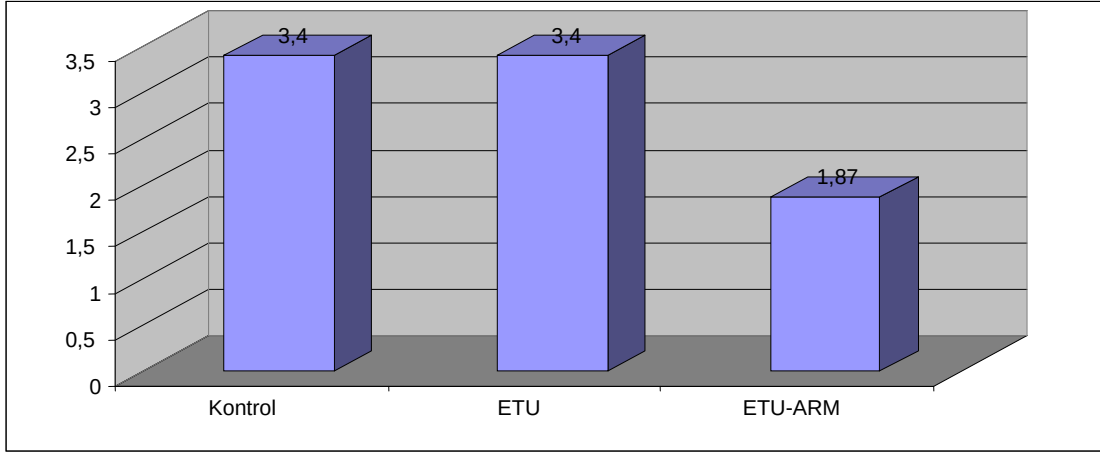
| Grup/ Ortalama $\pm$ SS, Medyan |                   | NSE             | Sp100           | VIP              |
|---------------------------------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| Kontrol                         | Ortalama $\pm$ SS | 3,53 $\pm$ 0,51 | 3,40 $\pm$ 0,73 | 0,60 $\pm$ 0,63  |
|                                 | Medyan            | 4               | 4               | 1                |
| ETU                             | Ortalama $\pm$ SS | 3,60 $\pm$ 0,63 | 3,40 $\pm$ 0,73 | 0,53 $\pm$ 0,64  |
|                                 | Medyan            | 4               | 4               | 0                |
| ETU-ARM                         | Ortalama $\pm$ SS | 1,53 $\pm$ 0,64 | 1,87 $\pm$ 0,83 | 2,33 $\pm$ 0,816 |
|                                 | Medyan            | 1               | 2               | 3                |
| <i>P</i>                        |                   | <0,0001         | <0,0001         | <0,0001          |

**Tablo 13: İmmünohistokimyasal Boyanma Derecelerinin İkili Karşılaştırmalardaki *p* Değerleri**

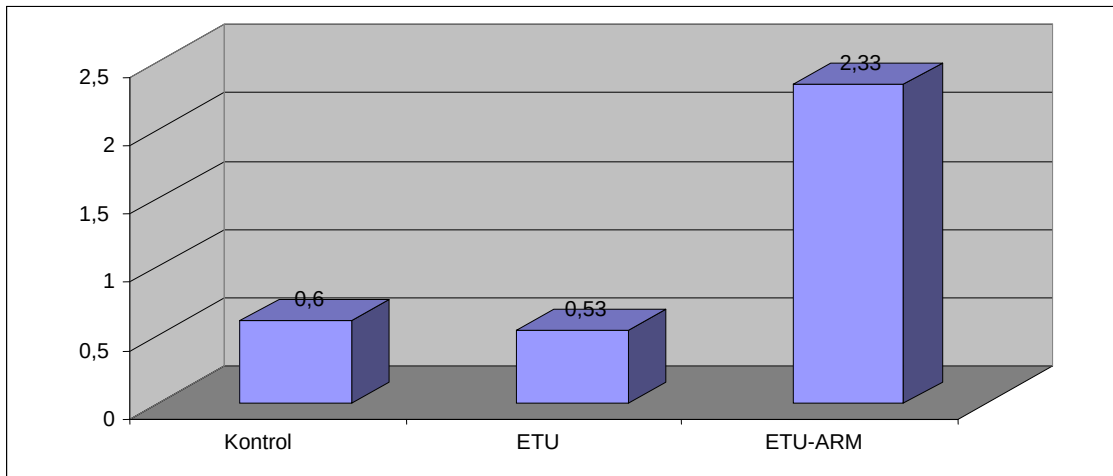
| Antikor Boyası/Grup |         | ETU     | ETU-ARM |
|---------------------|---------|---------|---------|
| NSE                 | Kontrol | 0,578   | <0,0001 |
|                     | ETU-ARM | <0,0001 |         |
| Sp100               | Kontrol | 1       | <0,0001 |
|                     | ETU-ARM | <0,0001 |         |
| VIP                 | Kontrol | 0,745   | <0,0001 |
|                     | ETU-ARM | <0,0001 |         |



**Şekil 9: Gruplarda NSE ortalama değerleri**



**Şekil 10: Gruplarda Sp100 ortalama değerleri**



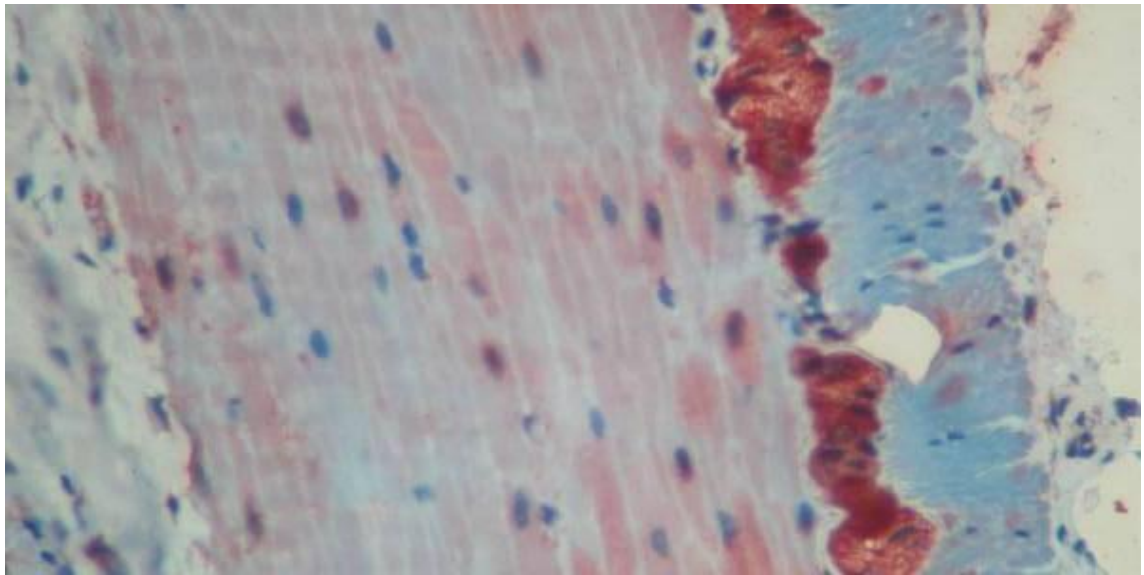
**Şekil 11: Gruplarda VİP ortalama değerleri**

Her bir grupta 15 ve toplam 45 rektosigmoid dokunun immünohistokimyasal yöntemle incelendiği çalışmada, dokuların NSE, Sp100 ve VİP antikor boyalarıyla 0-4 arasında derecelendirilen boyanma miktarları, hiç boyanmayan, fakir boyanan ve zengin boyanan olmak üzere üç ana dereceye ayrılmış olarak tablo 14’de gösterilmiştir. Dokulardaki NSE ve Sp100 boyanması, kontrol ve ETU grubunda yüksek, ETU-ARM grubunda düşük oranda bulunmuştur. VİP boyanması ise, kontrol ve ETU grubunda çok düşük, ETU-ARM grubunda oldukça yüksek oranda oluşmuştur ( $p<0,0001$ ).

**Tablo 14: Dokuların İmmünohistokimyasal Boyanma Derecelerinin Karşılaştırılması**

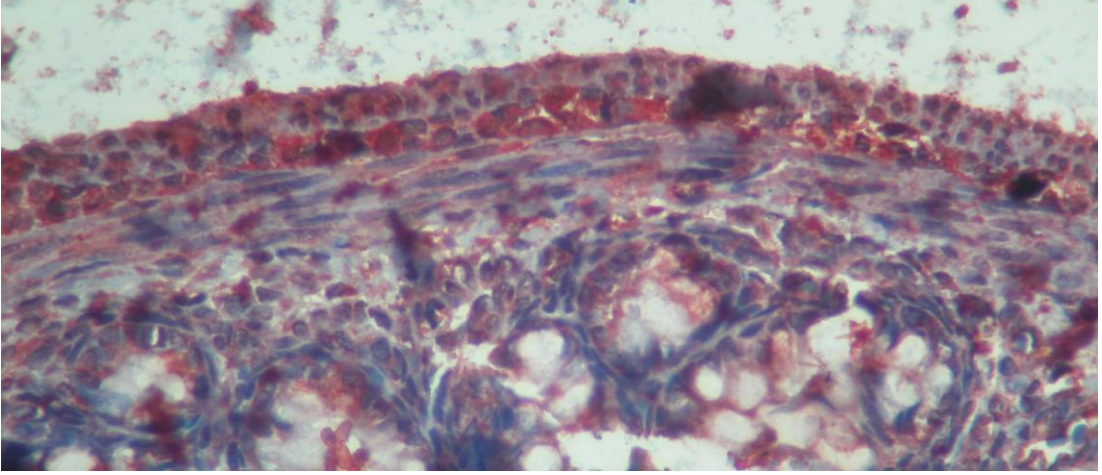
| Antikor | Kontrol    |            |             | ETU        |            |             | ETÜ-ARM |             |            | p       |
|---------|------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|---------|-------------|------------|---------|
|         | 0          | Fakir      | Zengin      | 0          | Fakir      | Zengin      | 0       | Fakir       | Zengin     |         |
| NSE     | 0          | 0          | 15<br>%100  | 0          | 1<br>%6,6  | 14<br>%93,3 | 0       | 14<br>%93,3 | 1<br>%6,6  | <0,0001 |
| Sp100   | 0          | 2<br>%13,3 | 13<br>%86,6 | 0          | 2<br>%13,3 | 13<br>%86,6 | 0       | 11<br>%73,3 | 4<br>%26,6 | <0,0001 |
| VİP     | 7<br>%46,6 | 8<br>%53,3 | 0           | 8<br>%53,3 | 7<br>%46,6 | 0           | 0       | 9<br>%60    | 6<br>%40   | <0,0001 |

Kontrol grubu NSE boyanmasının ışık mikroskopu incelemesi referans olarak belirlendi ve boyanma şiddeti gangliyon hücrelerinin tümünde zengin bir biçimde görüldü (Şekil 12).



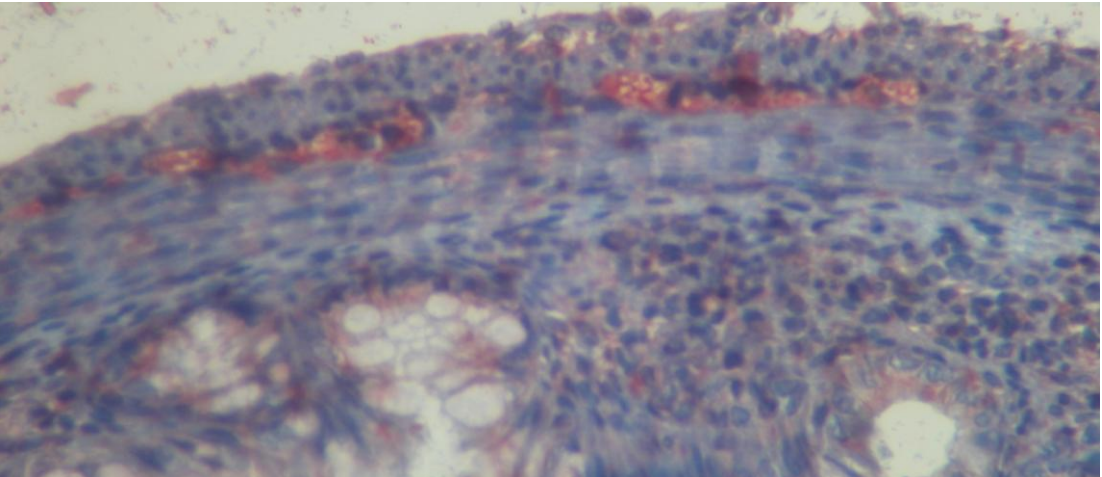
**Şekil 12: Kontrol grubu rektosigmoid düz kası NSE boyanması (Işık Mikroskopu x 400)**

ETU grubu NSE boyanmasının ışık mikroskopi incelemesinde boyanma şiddeti kontrol grubundakine benzer biçimde, gangliyon hücrelerinin tümünde yaygın ve zengin görünümdeydi (Şekil 13).



**Şekil 13: ETU grubu rektosigmoid düz kası NSE boyanması (Işık Mikroskopu x 40)**

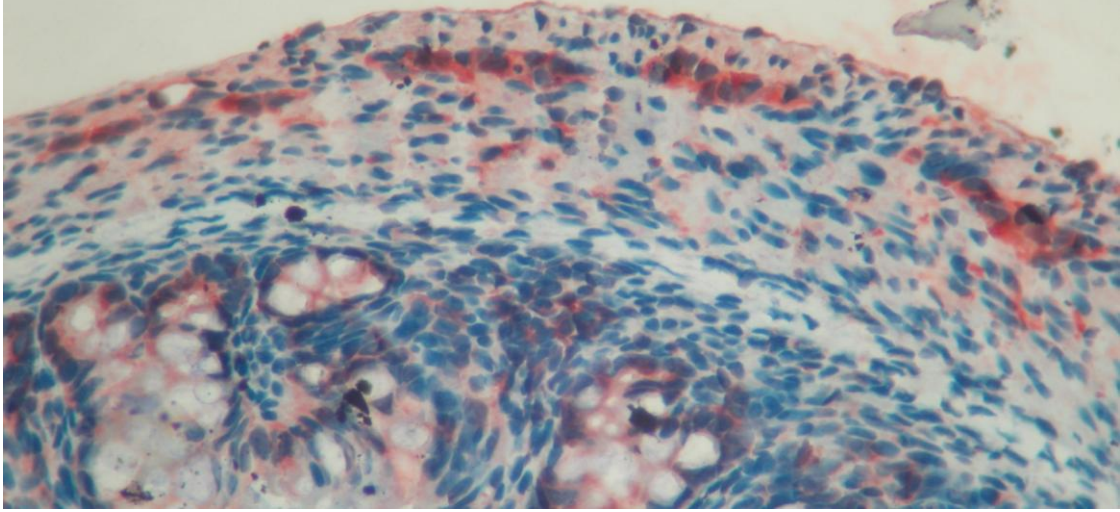
ETU-ARM grubu NSE boyanmasının ışık mikroskopi incelemelerinde, gangliyon hücrelerinin çoğunda az ve düzensiz boyanma görülürken, pek azında normale yakın, bazılarında ise hiç boyanma görülmedi (Şekil 14). Distal kesitlerdeki boyanma şiddeti, proksimal kesitlerdekine göre derecede daha azdı.



**Şekil 14: ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kası NSE boyanması (Işık Mikroskopu x 40)**

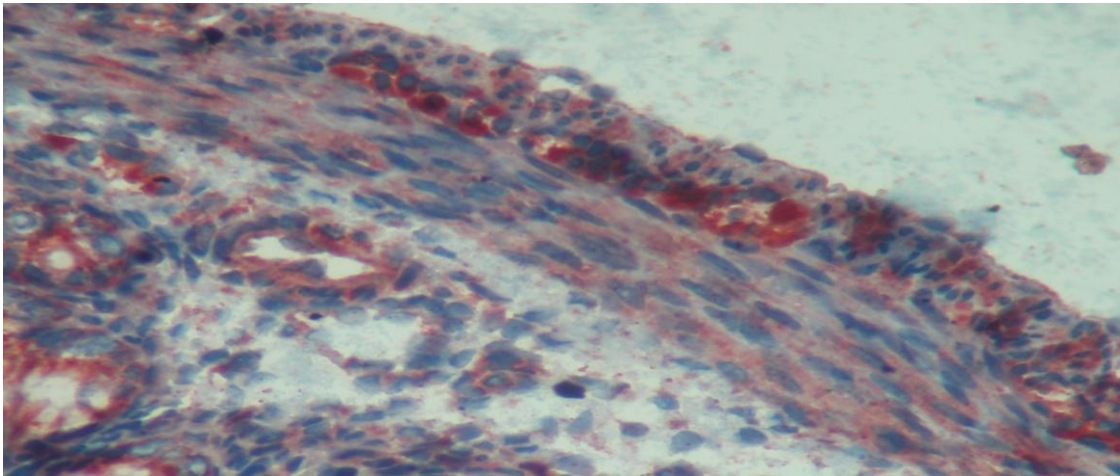


Kontrol grubu Sp100 boyanmasının ışık mikroskopi incelemesinde, tüm gangliyon hücrelerinin boyandığı, boyanma şiddetinin tüm kesitlerde zengin olduğu, proksimal ve distal barsak kesitlerinde boyanma şiddetinde farklılık olmadığı görüldü (Şekil 15).



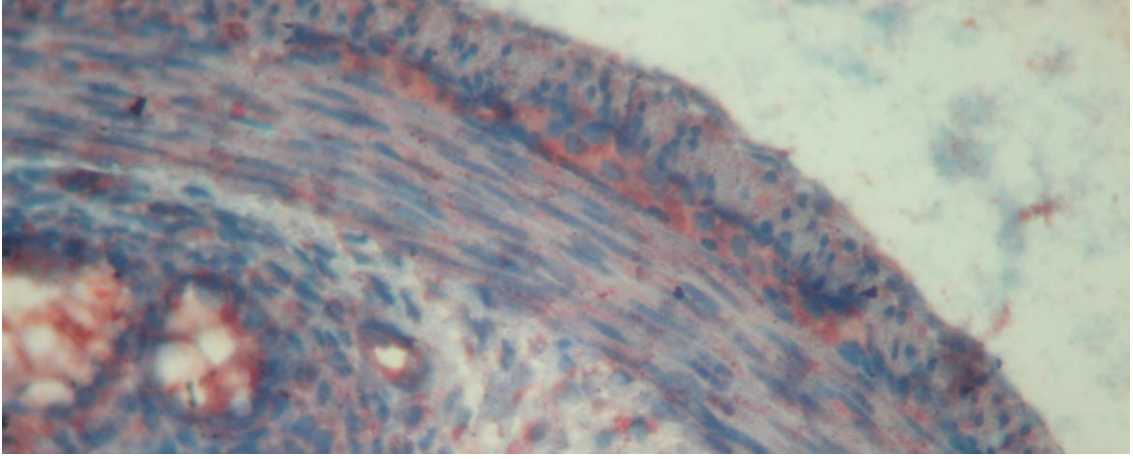
**Şekil 15: Kontrol grubu rektosigmoid düz kası Sp100 boyanması (Işık Mikroskopi x 40)**

ETU grubu Sp100 boyanmasının ışık mikroskopi incelemesinde, boyanma şiddeti kontrol grubu kadar zengin olmasa da ortalamaya yakın ve düzenli olup, proksimal ve distal kesitlerde farklılık yoktu (Şekil 16).



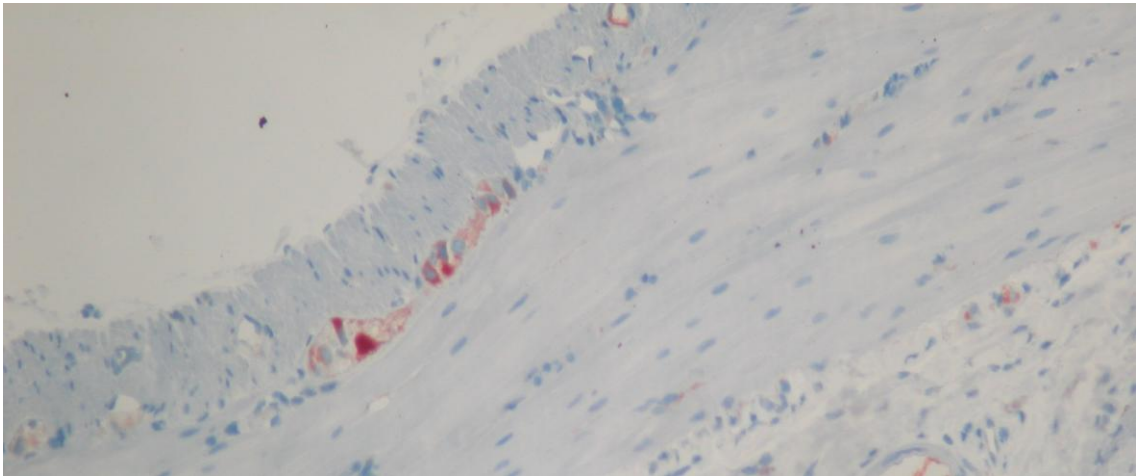
**Şekil 16: ETU grubu rektosigmoid düz kası Sp100 boyanması (Işık Mikroskopi x 40)**

ETU-ARM grubu Sp100 boyanmasının ışık mikroskopi incelemesinde, gangliyon hücrelerindeki boyanma şiddetinin belirgin derecede az olduğu dikkati çekti (Şekil 17).



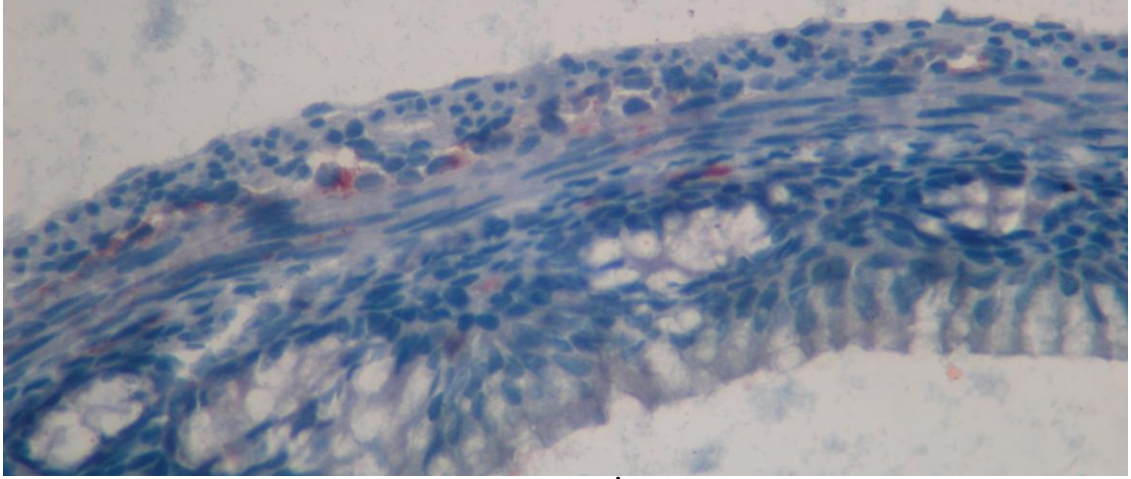
**Şekil 17: ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kası Sp100 boyanması (Işık Mikroskopi x 40)**

Kontrol grubu VIP antikor boyanmasının ışık mikroskopi incelemesinde, gangliyon hücrelerinin büyük kısmının boyanmadığı, boyanan kesitlerin de fakir boyandığı, proksimal ve distal kesitler arasında boyanma farklılığı olmadığı görüldü (Şekil 18).



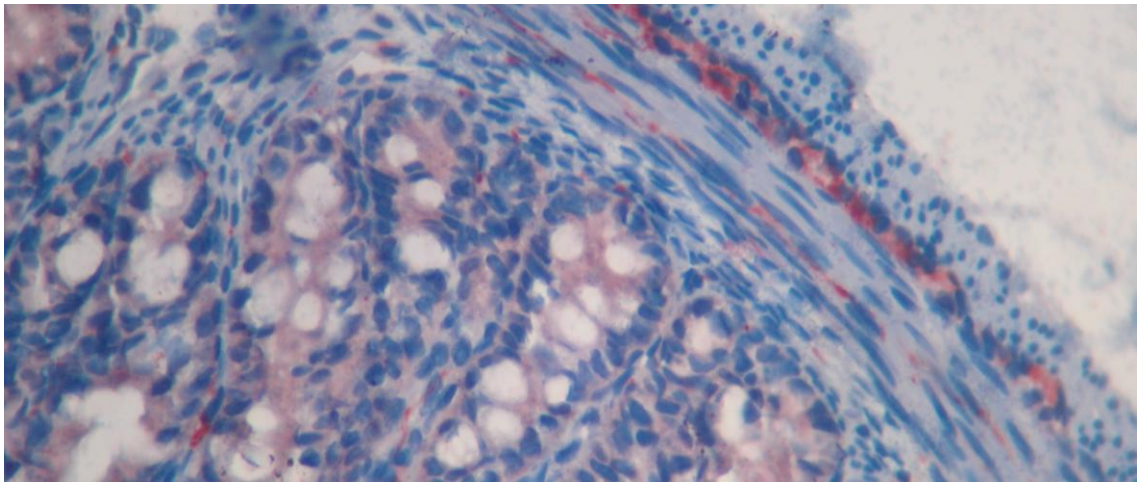
**Şekil 18: Kontrol grubu rektosigmoid düz kası VIP boyanması (Işık Mikroskopi x 40)**

ETU grubu VIP antikor boyanmasının ışık mikroskopi incelemesinde, gangliyonların büyük kısmının boyanmadığı, boyananların kontrol grubuna göre daha iyi boyandığı, proksimal ve distal kesitler arasında farklılık olmadığı görüldü (Şekil 19).



**Şekil 19: ETU grubu rektosigmoid düz kası VIP boyanması (Işık Mikroskopi x 40)**

ETU-ARM grubu VIP antikor boyanmasının ışık mikroskopi incelemesinde, gangliyon hücrelerinin tümünün yaygın ve zengin olarak boyandığı, proksimal kesimlerden distal kesimlere doğru boyanma şiddetinin giderek arttığı görüldü (Şekil 20).



**Şekil 20: ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kası VIP boyanması (Işık Mikroskopi x 40)**



## 5. TARTIŞMA

Anorektal malformasyon olarak bilinen anorektal bölgenin anatomik oluşum defektleri, anomali tipleri ve eşlik eden anomaliler yönünden oldukça çeşitli olup, Çocuk Cerrahisi uygulamasının önemli bir kısmını oluştururlar. ARM'lerin cerrahi tedavisinde özellikle son 25 yılda sağlanan önemli gelişmelere rağmen, düzeltici ameliyat sonrasında kabızlık, külot kirlenmesi, inkontinans gibi sorunlar %30-70 oranında görülmekte ve hala devam etmekte olup, hastaların yarıdan fazlası, fiziksel, psikolojik ve sosyal sorunlara neden olan barsak bozukluklarıyla birlikte yaşamaktadırlar.<sup>1,2</sup>

ARM cerrahi tedavisi sonrasında en önemli sorun olarak görülen, sfinkter yetersizliğine bağlı inkontinans hala büyük sorun teşkil etse de, PSARP yönteminin sağladığı avantajlar nedeniyle günümüzde, kabızlık, kabızlığa bağlı taşma inkontinansı ve barsak motilite bozuklukları gibi sorunlar daha ön plana çıkmıştır.<sup>1,17,56,57,60</sup> Sakral sinirlerdeki gelişim defektleri, cerrahi sırasında anorektal bölge inervasyonunda oluşan zararlanma ve rektosigmoid bölgenin myenterik pleksuslarında anormalliklerle açıklanan bu sorunların tedavisinde, diyet düzenlemesi, laksatif ve lavman gibi tedavi uygulamaları halen önemli bir başarı sağlayamamıştır.<sup>16,69</sup>

ARM cerrahi tedavisinde Pena<sup>5</sup> tarafından geliştirilen, popüler hale getirilen ve yaygın olarak uygulanmakta olan, PSARP ameliyatı ile cerrahi işlem sırasındaki sinir ve anorektal sfinkter kas zararlanmasının en aza indirildiği iyi bilinmektedir. Tüm bu gelişmelere ve son yıllarda yapılan embriyolojik ve fizyolojik çalışmalara rağmen, ARM'nin oluşma mekanizması, tedavi sonrası görülen kabızlık ve inkontinansın patofizyolojisi henüz açıklığa kavuşturulamamıştır.<sup>6,9,77,78</sup>

Son yıllarda kolonik motiliteyle ilgili yapılan çalışmalarda, kronik kabızlığı olan çocukların kolon sinir liflerinde PM immünoreaktivitesi ve monoklonal antinöroflament antikorlarında anormallik, motilin düzeyinde azalma olduğu gösterilmiş, ancak bunların ne anlam taşıdıkları henüz ayrıntılarıyla ortaya konulamamıştır.<sup>32,39,62,71,73</sup> HH'nin embriyopatogenezinde olduğu gibi, ARM'lerde de nöral hücrelerin göçünde duraklama ve/veya proliferasyonunda eksiklik olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.<sup>20,73,74</sup>

ve ARM'li hastalarda kolonik motilite ile nöral hücreler üzerine yapılacak çalışmalarla patogenezin anlaşılabilceğı düşünölmektedir.<sup>32,73,74,79</sup>

HH'le ilgili yapılan çalışmalarda, agangliyonik segmentde NSE, PM, VIP ve S100 proteininde azalma, nöropeptid Y'de artma olduğı, öte yandan agangliyonik segmentte ve anal sfinkter bölgesinde Cajal Hücrelerinin bulunmadığı gösterilmiştir.<sup>66,80-82</sup> Buna karşın bu bulguların ne anlama geldiğı ve klinik olarak nelere yol açtığı tam olarak anlaşılamamıştır. NSE, PM ve VIP gibi nörotransmitterlerle ilgili yapılacak çalışmalarla bu maddelerin kolonik motiliteye etkileri ve ilişkili patolojiler aydınlatılabilecektir.

Etik olarak insanlar üzerinde yapılacak çalışmaların kısıtlılığı nedeniyle ARM oluşum mekanizmalarını ortaya koyacak çalışmalar zorunlu olarak hayvan modellerinde yapılmaktadır. Hayvan deneylerinde ARM modeli oluşturmak için iki temel yöntem geliştirilmiştir. Birincisi, genetik yollarla değişik türlerde ARM oluşan mutant canlıların elde edilmesidir. İlk kez 1930 yılında Danfort tarafından birçok anomalisi olan SD-mutant ev faresi elde edilmiş olup, bu model daha sonra domuzlarda da uygulanmıştır.<sup>83</sup> Üretim güçlüğü, maliyet yüksekliğı ve insanda görölen ARM anomalilerinden önemli farklılıklar göstermesi, genetik yollarla oluşturulan hayvan modelinin her laboratuvar ortamında kullanılabilmesine engel oluşturmaktadır.

Hayvanlarda ARM modeli oluşturmak için geliştirilen ikinci yöntem ise, gebe hayvanlara teratojenik ajanlar verilmesidir. Hayvanlarda deneysel ARM modeli oluşturmak için adriamisin, etretinat ve ETU gibi teratojenik ajanlar kullanılmaktadır. Sıçanlarda gebeliğın 6.-9. günlerinde adriamisin, 8.-11. günlerinde etretinat ve 10-11. günlerinde ETU verilerek fötüslerde ARM oluşturulabilmektedir.<sup>6,83</sup> ETU ve etretinat'ın embriyolardaki teratojenik etkilerinin zaman aralıkları benzer olsa da, ETU için tek günlük bir dozun bile yeterli oluşu, etki mekanizmasının oldukça seçici olduğunu ortaya koymaktadır. Bu farklılıklar, teratojenlerin farmakodinamiğıyle ilişkili olabileceğı gibi, etki mekanizmaları veya organogenezis aşamasındaki farklı duyarlılıktaki süreçleri etkilemelerinden de kaynaklanıyor olabilir.

Hiari ve Kuwabara 1990 yılında, bitkiler için fungusid olarak kullanılan ETU maddesini gebe sıçanlara vererek, yavru sıçanlarda ARM modeli oluşturmuşlardır.<sup>77,83</sup> Bu model, günümüzde sıçanlarda uygulanan standart bir ARM modeli olarak kullanılmaktadır.<sup>6,56</sup>

Karbon, azot ve kükürt atomlarından oluşan bir kimyasal ajan olan ETU, önceleri sadece bitkisel fungusid olarak kullanılırken, günümüzde lastik sanayinde ve dondurulmuş gıdalarda koruyucu olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Ayrıca sigara dumanında doğal olarak bulunmaktadır. Yapılan analizlerde ETU ve kimyasal metabolitlerinin sanayi atıklarıyla kirlenmiş sularda, yaş sebze ve meyvelerde yüksek miktarlarda bulunabildiğinin anlaşılması sonucunda, su ve yiyeceklerde bulunabilecek üst sınır Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından belirlenmiştir. Özellikle ETU ile ilaçlama yapılan bitkilerde, kullanım öncesi analiz yapılması zorunlu hale getirilmiştir. ETU'nun teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etkileri olduğunun gösterilmesinden sonra, Almanya'da 3B sınıfına sokularak sadece hayvan çalışmalarında kullanılmasına izin verilmiştir.

İnsan yaşamında sıklıkla karşılaşılabilen bir madde olması ve teratojenik etkisinin oldukça etkili ve seçici olması nedeniyle çalışmamızda ARM deney modelini oluşturmada ETU kullanılmıştır. Riskli sanayi ve tarım bölgelerinde yaşayan gebeler ve doğumsal anomalilerle doğan çocukların, bu tür teratojen ajanlara maruz kalıp kalmadıklarının anlaşılması açısından tarama programlarına alınmaları gerektiğini düşünmekteyiz.

Değişik hayvan modellerinde yapılan gastrointestinal motilite çalışmalarıyla çeşitli hastalıkların patofizyolojileri aydınlatılmaya çalışılmaktadır. İnsanlarda kolon motilitesini anlamaya yönelik olarak, geçiş zamanı ölçümü, lümen içi basınç ölçümü ve elektromyografik yöntemler kullanılmaktaysa da, rutinde kullanılabilecek ve motilite bozukluklarını ortaya koyabilecek bir yöntem bulunmamaktadır. Manometrik çalışmalarla yapılacak basınç ölçümleriyle lümeni daraltan fazik kasılmaların ortaya konulması amaçlansa da, ölçüm yapacak kateterlerin kolona yerleştirilmesi oldukça zordur.<sup>10,12,23,84</sup> Ayrıca, manometrik incelemeler öncesinde kolon temizliği yapılması gerekmektedir ve bu da kolonun normal fizyolojisini bozacaktır.

Kolon motilitesinin belirlenmesinde kullanılan fekal pellet çıkışı, defekasyon sıklığı ve kolon geçiş zamanı hesaplanması gibi yöntemler ARM deney modellerinde pasaj devamlılığının olmaması nedeniyle kullanılamamaktadır. Kolon motilitesiyle ilgili erişkinlerde yapılan çalışmalarda, anorektal manometri, radyolojik ve sintigrafik yöntemlerle kolon geçiş zamanının ölçümü gibi yöntemler kullanılmaktadır. ARM'lerde duyuşal reseptörlerin eksikliği ve internal anal sfinkterin oluşmamış olması

nedenleriyle, ARM'li çocuklarda anorektal manometrinin yeri bulunmamaktadır. Erişkinlerde radyolojik ve sintigrafik yöntemlerle yapılan kolon geçiş zamanı ölçüm çalışmalarının çocuklarda uygulanabilmesi, radyasyon nedeniyle kısıtlı olmaktadır. Kolon geçiş zamanının ölçümü erişkinlerde görülen hastalıklarda bir bilgi verirken, ARM'li çocuklarda görülen kabızlık ve inkontinansı açıklamada bir faydası bulunmamaktadır.<sup>32,85-87</sup>

İnsan ve hayvan vücudunda sistemik bir etki yaratmadan doku ve organlarda bilimsel çalışma yapılabilmesi ancak izole doku ve organ çalışmalarıyla sağlanabilmektedir. Doku ve organ banyosu amacıyla vücut dışına alınan dokunun yaşamını sürdürebilmesi için optimum fizyolojik koşullar gereklidir. Bu fizyolojik koşulların sağlanabilmesi için, fizyolojik tuz çözeltisi, optimum ısı ve havaya gereksinim vardır ki bu gereksinimler organ banyosuyla sağlanır. Yaklaşık yüz yıldır bilinen izole doku ve organ çalışmalarında, izole doku hazırlığı genelde ikili, dörtlü, sekizli veya daha fazla doku gruplarında yapılır. Sistemik etkiler yaratmadan biyolojik modeller üretilmesi sayesinde, veri toplamak ve kontrollü değişiklikler yapmak kolay olup, normal ve patolojik dokular veya genetik özellikler ortaya konulabilir. Kolon itici hareketleri, barsak düz kas kasılma gevşeme faaliyetleri ölçülerek, ülseratif kolit, irritabl kolon, HH ve kronik kabızlık vakalarında, barsaklardan alınan doku örnekleriyle in vitro deneysel çalışmalar yapılabilir.<sup>4,43</sup>

Özofagustan anüse kadar tüm gastrointestinal dokularda bulunan Cajal Hücreleri'nin oluşturduğu pacemaker aktiviteyle başlayan spontan ritmik kasılmalarla ilgili değişik farmakolojik çalışmalar yapılabilir. Düz kas kasılmasına aracılık eden hormon, nörotransmitterler, sinyal ileti mekanizmaları ve ilaçların etkileri incelenebildiği gibi, epitel hücreleri iyon transportu, ishal ve kabızlığın detayları da incelenebilir.<sup>3,35,87,88</sup>

Memelilerin gastrointestinal kanalının intrinsik ve ekstrinsik inervasyonunda görev alan çok sayıda nörotransmitter bulunduğu ve sinir impulslarının düz kaslarda postgangliyonik nöronlardan bu spesifik kimyasal nörotransmitterlerin salınımına yol açarak etki ettikleri ortaya konulmuştur.<sup>35,43,88-90</sup> Paton'un 1955 yılında elektriksel uyarıların postgangliyonik sinir uçlarından asetilkolin salınımına yol açtığını göstermesinden sonra, izole düz kas dokularında elektriksel uyarıyla tetiklenen kasılma yanıtları, nörotransmitter salınımı ve nöromusküler ileti süreçleri çalışılabilmiş ve bu

yöntemler temel elektrofizyolojik model haline gelmiştir. Bu model kullanılarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla, gastrointestinal fizyolojinin birçok karanlık noktası aydınlatılabilmiş, ancak ARM'lerdeki barsak fonksiyonlarıyla ilgili standart bir model henüz oluşturulmamıştır.

Bu çalışma, ARM'li yavru sıçanlarda izole organ deneylerinin uygun bir model olup olmadığını anlamak, intrinsik inervasyonun, uyarıcı PM, inhibitör VIP ve NANK nörotransmitterlerin rektosigmoid düz kas dokuları kasılmasına etkilerini ortaya koymak amacıyla planlanmıştır. Kontrol, ETU ve ETU-ARM gruplarının sonuçları karşılaştırılarak, ARM patolojisinde intrinsik inervasyonda nörotransmitter etkinliği araştırılmıştır.

Çalışmamızdaki organ banyosunda rektosigmoid düz kas dokularının kasılma aktiviteleri incelendiğinde, kontrol ve ETU grubunda bu aktivitelerin belirli amplitüd aralıklarında olduğu ve düzenli olduğu, ETU-ARM grubunda ise, amplitüdlere değişken ve kasılmaların düzensiz olduğu görülmüştür. Kontrol ve ETU grubu barsak düz kas dokularında, proksimaldeki kasılmayı distaldeki gevşemenin izlediği ve bunun dengeli olduğu, ETU-ARM grubunda ise kasılma ve gevşemelerin düzenli olmadığı, proksimalde kasılma olurken distalde buna uygun zamanda gevşeme oluşmadığı dikkati çekmiştir.

Bir sonraki kasılma zamanı, kontrol ve ETU grubunda belirli, ETU-ARM grubunda gelişigüzel izlenmiştir. Tüm bu bulgular, normalde barsak ekstrinsik inervasyonu ortadan kalksa bile, intrinsik sinirsel aktivitenin çalıştığını ve barsak peristaltizminin devam ettiğini, ETU-ARM grubunda intrinsik sinir sisteminde bozukluklar olduğunu göstermektedir. Bu durum, ARM'lerde cerrahi düzeltme sonrasında görülen kabızlık ve inkontinans gibi sorunların rektosigmoid intrinsik motilite bozukluğuna bağlı olduğunu düşündürmekte olup, deneysel olarak ilk kez ortaya konulmaktadır. İzole organ çalışmalarında organ banyosuna KCl uygulanarak her üç gruptan elde edilen bulgular incelendiğinde, KCl ile oluşan kasılma yanıtı refereans aralıklarının birbirine yakın olması, myojenik etkinliğin sağlam olduğunu ve dokuların doğrudan kasılabildiğini göstermektedir.

Çalışmamızdaki karbamilkolin uygulanmasında, kontrol grubunda dozun giderek artırılmasına paralel olarak artan kasılma yanıtlarının elde edilmesi, dokuda parasempatik etkinliğin varlığını göstermektedir. Karbamilkolinin kontrol grubundaki

bu etkisi, presinaptik muskarinik reseptörleri etkileyerek depolarizasyon gelişmesi ve bunun sonucu olarak transmisyon basamağının sorunsuz bir şekilde oluştuğunu göstermektedir. ETU grubundaki karbamilkolin yanıtları kontrol grubuyla kıyaslandığında, kümülatif olarak benzer sonuçlar elde edilmişse de, bu yanıtların artan konsantrasyonlarda geç olarak ortaya çıktığı görülmektedir. Burada karbamilkoline karşı bilinmeyen bir mekanizmayla reseptör duyarsızlığı veya yarışmalı bir inhibisyon olduğu ve dozun artmasıyla birlikte bu etkinin ortaya çıktığı düşünülebilir. Karbamilkoline karşı yanıtın geç alınmasının diğer bir açıklaması ise, postsinaptik etkinin uygulamaya bağlı olarak azalmış olabileceği, bunun da karbamilkolinin aksiyon potansiyelinin presinaptik uca varış süresiyle başka bir nörotransmitterin salınımında uyarma veya dokuda bulunan değişik nörotransmitterlerin bu etkiyi engellemesi sonucu oluşabileceğidir. PM ve VIP düzeylerinin kontrol ve ETU grubunda benzer olması nedeniyle, bu nörotransmitterlerin ilk aşamadaki yanıt gecikmesinden sorumlu olamayacakları düşünülebilir.

Kontrol ve ETU grubunda kasılma yanıtları, karbamilkolin dozunun logaritmik artışına paralel olarak KCl kasılmasına göre %92-%99 oranında saptanırken, ETU-ARM grubunda ölçülebilir bir kasılma yanıtı alınamamıştır. Dokulara KCl uygulanmasıyla, hücre içi kalsiyum oranının artması sonucu kasılma yanıtı olduğu dikkate alındığında, ETU-ARM grubunda karbamilkolin'le kasılma yanıtı alınamaması, bu grupta reseptör etkileşiminde, ikincil habercide, kalsiyum kanallarında veya kalsiyum salınımında bozukluk olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda, kolinerjik ve adrenerjik sinirlerin yanı sıra, gevşemede rol aldığı düşünülen NANK nörotransmitterlerin varlığı da immünohistokimyasal boyanma yöntemiyle ortaya konulmaktadır. Bu nörotransmitterler, sempatik veya parasempatik uyarılardan bağımsız olarak düz kas membranlarında kasılma ve gevşemeye yol açmaktadırlar. Nörotransmitterlerin bazıları uyarıcı bazıları ise inhibitör etki gösterirler. Asetilkolin, PM, norepinefrin, serotonin ve histamin uyarıcı nörotransmitterler olup, membran depolarizasyonuna neden olurken, dopamin, glisin ve VIP inhibitör nörotransmitterlerdir ve hiperpolarizasyon başlatırlar. Ter, tükürük, bronş ve barsak salgı bezlerine giden kolinerjik sinir uçlarında asetilkolin yanında ayrı veziküller içinde VIP de bulunur ve salıverilirler.<sup>3,32,90,91</sup> Norepinefrin verilmesiyle tüm gruplarda oluşan

kasılma yanıtızlığının ve sempatik etkinliğin nörotransmitterler tarafından sağlandığını göstermektedir.

NSE, beyin için özđül proteinlerden biri olup, glikolitik yolda 2-fosfogliseratın fosfoenolpurivata dönüşümünü katalize eden enolaz enziminin bir izoenzimidir. İnsanda tüm nöral ve nöroendokrin hücrelerde, pankreas ve kolon dokularında bulunabilen bir enzim olan NSE'nin dokulardaki varlığı immünohistokimyasal boyalarla gösterilebilir.<sup>66</sup> Nöronal farklılaşmanın son safhasında oluşan NSE, sinaptik fonksiyonun da belirleyicisi olup, sinir sistemi yanında nöroendokrin tümörlerde de yüksek oranda bulunduğundan, klinik uygulamalarda bir tümör belirleyicisi olarak kullanılmaktadır. NSE akut nöronal hasarda nöron gövdelerinin incelenmesinde de kullanılabilir. Çalışmamızda kolon düz kas dokularındaki NSE enziminin varlığı, anti NSE antikoru etiketlenmesi kullanılarak gösterilmiştir.

ARM'li çocukların distal rektum dokularında %96 oranında disgangliyonozis saptanmış olup, bu açıdan ARM ve HH arasında bir ilişki olduğu düşünölmektedir.<sup>38-39</sup> Bu nedenle ARM'lerde *pull-through* ameliyatlarında aşadı indirilen barsağın distal kesiminden biyopsi alınması ve gangliyon hücrelerinin değerlendirilmesi önerilmektedir.<sup>38,39,71</sup> Rektovestibuler fistüllü ARM'lerde fistöl bölgesinde gangliyon hücrelerinin bulunmadığı<sup>2,56,71</sup> iyi bilinmekte olup, buralardan alınacak biyopsilerle gangliyon hücrelerinin durumunun belirlenmesi, cerrahi tedavi sonrasında ortaya çıkabilecek sorunların açıklanmasında faydalı olacaktır. ARM'lerde cerrahi tedavi sonrasında oluşabilecek sorunların anlaşılmasında rutin biyopsi yapılmasının ve NSE boyamasıyla gangliyon matürasyonunun değerlendirilmesi yararlı ve gerekli olacaktır.

ARM konusunda yapılan bir deneysel çalışmada, kontrol grubunda gangliyon hücrelerinin yoğun olduğu, düzgün bir dağılım gösterdiği ve NSE boyanmasının myenterik pleksus hücre gövdelerinde bol miktarda göröldüğu, yüksek tip ARM'lerde ise, anorektal bileşkede gangliyon sayılarının azaldığı, myenterik pleksusların dağınık ve düzensiz yayılım gösterdiği izlenmiştir.<sup>56</sup> Tüm nöral ve nöroendokrin hücrelerde bulunan NSE, sinirlerdeki sinaptik fonksiyonun belirleyicisi olduğu gibi, bu çalışmada nöronal gelişimin bir göstergesi olarak kullanılmıştır. Gruplardaki dokuların NSE boyanması karşılaştırıldığında, kontrol ve ETU grubuna göre ETU-ARM grubunda NSE boyanmasının daha az oluştuğu ve dağılımının düzensiz olduğu dikkati çekmiştir. Bu bulgular, ARM'lerde sadece makroskopik yapısal anomalilerin oluşmadığını, ayrıca

nöronal hücresel elemanların gelişiminde mikroskobik düzeyde de bozukluklar olduğunu göstermektedir. NSE, nöronal hücrelerin gelişimini ve farklılaşmasını göstermesi açısından önemli bir parametredir. NSE dağılımının ETU-ARM grubunda özellikle mukozal tabakalarda daha az olması veya hiç görülmemesi, nöronal göçte bir duraksama ve ARM'lerde enterik sinir sisteminde gelişim bozukluğu olduğunu düşündürmektedir. NSE boyanması klinik uygulamalarda rahatlıkla kullanılacak bir teknik olduğundan, PSARP sırasında kolonun distal kısmından alınacak biyopsilerde NSE dağılımı incelenerek barsaktaki nöronal matürasyonun durumu hakkında prognostik bilgiler edinilebilecektir.

Enterik sinir sisteminde etkili taşıkininlerden birisi olan PM, önemli bir uyarıcı nörotransmitter olup, NK<sub>1</sub> ve NK<sub>2</sub> gibi farklı reseptörleri barsak düz kası ve Cajal Hücrelerinde bulunur. Diğer taşıkininler gibi farklı reseptörler üzerinden farklı fonksiyonlar gerçekleştiren PM, gastrointestinal sistemin duyu kontrolü ve sekresyonlarında önemli görevler üstlenir. Kolinerjik sinir uçlarında asetilkolinin kotransmitteri olarak görev yapan PM, barsak düz kasları kasılması ve barsak ekzokrin salgıları artışına neden olur.<sup>3,65</sup>

Kronik kabızlıkla başvuran çocukların manometrik çalışmalarında kolon kontraksiyonlarının belirgin derecede azaldığı, laparoskopik kolon biyopsilerinin patolojik incelemelerinde PMnin azalmış olduğu ortaya konulmuştur.<sup>91</sup> Bir başka çalışmada ise, nöronal intestinal displazi tanısı alan çocukların %80'inde PMnin azaldığı gösterilmiştir.

Her ikisi de uyarıcı olan karbamilkolin ve PMnin hücresel düzeydeki reseptörlerinin aynı reseptörler olduğu, dokularda cAMP düzeyini azaltıp hücre içi kalsiyum oranını artırarak kasılmaya neden oldukları iyi bilinmektedir.<sup>3,32,92</sup> İnhibitör nörotransmitterler, postsinaptik veya kavşak sonrası membranlarda hiperpolarizasyon oluşturup inhibitör potansiyel meydana getirerek membranın uyarıcı uyarılara yanıtlarını güçleştirirler.<sup>3,4,32</sup> Ayrıca, inhibitör bir nörotransmitter olan VIP, aktif potasyum kanallarını kullanarak membran hiperpolarizasyonuna ve gevşemeye yol açmaktadır.<sup>65,91</sup>

Çalışmamızda PMnin kontrol ve ETU grubuna göre, ETU-ARM grubu rektosigmoid dokularında düşük olduğu dikkati çekmiştir. Barsak kasılmasında uyarıcı etkiye sahip bir nörotransmitter olan PMsin azalmış veya eksik olmasının, rektosigmoid



motiliteyi azaltarak motilite bozukluğuna yol açmış olduğu düşünölebilir. Bu durum, ARM'lerde cerrahi tedavi sonrasında görölen ve sebebi bilinmeyen barsak fonksiyon bozukluklarının sebeplerini izah etmekte yardımcı olabilir. Konu daha geniş boyutta irdelendiğinde, çalışmamızda ETU-ARM grubunda kasılmanın çok yetersiz ve düzensiz olması, bir yandan bu grupta uyarıcı PMnin azalmış olmasına bağlı olabileceği gibi, diğer yandan bu grupta bir inhibitör nörotransmitter olan VIP'in artmış olmasına da bağlı olabilir. İngilizce literatürde ARM'li hayvan modellerinde yapılmış benzer çalışma bulunmadığından, literatür bağlamında konuya bir açıklık getirilememektedir.

Konu, çalışmamızdaki mevcut bulgular çerçevesinde değerlendirildiğinde, ETU-ARM grubundaki kasılma azlığı sadece dokudaki PM eksikliğine bağlı olsaydı, PMyle aynı reseptörlere etkili olan karbamilkolin verildiğinde eksikliğin ortadan kalkarak kasılmanın yeterli olması gerekirdi. Karbamilkolin verildiğinde de kasılma olmaması ve inhibitör bir nörotransmitter olan VIP düzeyinin yüksek bulunması, ETU-ARM grubundaki kasılma yetersizliğinden, PM eksikliğinin değil, VIP düzeyi yüksekliğinin sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızdaki izole organ deneyi sonuçlarımız, ARM oluşmuş deneklerdeki rektosigmoid dokulardaki kasılma yetersizliği ve bozukluklarında VIP'in dominant derecede sorumlu nörotransmitter olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda ETU-ARM grubunda alınan kasılma yetersizliğinin, uyarıcı PM eksikliği veya inhibitör VIP yüksekliği ile ilgili olmayıp, barsak düz kas dokularındaki reseptörlerdeki bir bozukluk nedeniyle olduğu iddia edilebilirse de, karbamilkolin (asetilkolin) ve VIP'in aynı reseptörler üzerinden etki göstermesi ve karbamilkolin uygulanmasıyla kasılma yanıtı alınmaması, bu iddiayı ortadan kaldırmaktadır.

Çalışmamızdaki VIP antikor boyanması sonuçları değerlendirildiğinde, kontrol ve ETU grubunda gangliyon hücrelerinin büyük kısmı boyanmazken, proksimal ve distal rektum doku kesitleri arasında boyanma farklılığı oluşmazken, ETU-ARM grubunda gangliyon hücrelerinin tümünün VIP antikor boyasıyla yaygın ve zengin olarak boyandığı, rektum distal kesimlerine doğru boyanma şiddetinin giderek arttığı dikkati çekmiştir. ETU-ARM grubunda rektumun, özellikle de distal rektum ve internal anal sfinkter bölgesinin VIP antikor boyasıyla yaygın ve zengin olarak boyanmış olması, bir başka ifadeyle bu bölgelerde inhibitör bir nörotransmitter olan VIP'in

yüksek olması, artmış inhibitör etki nedeniyle internal anal sfinkterin kasılmamasını açıklayabilir.

Klinik uygulamada sfinktere yönelik elektriksel uyaran verildiğinde kaydedilen kasılma yetersizliğinden sadece ekstrasik inervasyonun değil, aynı zamanda VIP'in baskın inhibitör etkisi nedeniyle oluşan intrinsik inervasyon bozukluğunun da sorumlu olabileceği akla gelmektedir. Bu bulgular, ARM'lerde düzeltici ameliyatlar sonrasında görülen gaz ve gaita kaçırma, külot kirlenmesi gibi sorunları açıklayabileceği gibi, anal kas stimülatörüyle yapılan incelemelerde görülen kasılma yetersizliklerini de izah edebilir.

ARM'lerde düzeltici ameliyatlar sonrasında neoanüste daralma sıkça görülmektedir ve rutin dilatasyon programı uygulanma zorunluluğu doğmaktadır. Bu daralma, genelde anorektal bölgedeki dolaşım ve beslenme bozukluklarıyla veya oluşan fibrozis le izah edilse de, bu açıklama tam olarak tatmin edici değildir. İnhibitör bir nörotransmitter olan VIP, aynı zamanda inflamatuvar yolakta da rol almaktadır. VIP'in, inflamatuvar yolağın bir etkeni olarak fibroziste rol oynadığı yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.<sup>41,92</sup> ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kas dokularındaki VIP düzeyinin yüksek bulunması ve rektum distaline doğru giderek artmış bulunması, ARM'lerde düzeltici ameliyat sonrasında anorektal bölgede oluşan ve rutin dilatasyon gerektiren fibrozisin, aşağı çekilerek indirilen neorektumdaki VIP yüksekliği nedeniyle oluşmuş olabileceğini düşündürmektedir.

Gastrointestinal sistemin embriyonik gelişmesinde nöral krest hücre göçünün olduğu ve bu göçün proksimalden distale doğru kronolojik olarak ilerlediği genel kabul gören bir görüştür. HH, proksimalden distale doğru olan bu gangliyon göçünün bir bölgede duraksaması ve sonlanması sonucu, barsağın en distalinden proksimaline doğru görülen agangliyonozisle karakterize bir hastalık olarak bilinmektedir. Öte yandan, ARM'li çocukların distal rektum dokularında %96 oranında disgangliyonozis olduğu<sup>71,91</sup> ve rektovestibüler fistüllü ARM'lerde fistül bölgesinde gangliyon hücrelerinin bulunmadığı<sup>1,71</sup> gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında HH etyopatogenezinde genel kabul gören görüş olan, gangliyon göçünün bir seviyede duraksaması ve durması görüşü tartışılabilir hale gelmektedir.

Konu bu açıdan değerlendirildiğinde, çalışmamızda ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kas dokularında VIP düzeyinin yüksek bulunması, VIP'in

inflamatuvar yolakta fibrozis etkeni olarak rol oynadığı bilgisiyle ilişkilendirildiğinde, HH etyopatogenezinin tartışılması gerektiğini düşündürmektedir. Bu konuda genel kabul gören görüş olan, gangliyon göçünün bir seviyede kendiliğinden veya sebebi bilinmeyen biçimde duraksaması görüşünden farklı olarak, VIP'in inflamatuvar yolları aktive ederek yoğunlaştırdığı fibrozis nedeniyle, gangliyonların tahrip veya yok olmuş olabilecekleri düşünülebilir.

Çalışmamızda ortaya çıkan sonuçların değerlendirilmesi ve irdelenmesiyle, ARM'lerde düzeltici ameliyat sonrasında görülen kabızlık, kaka kaçırma, külot kirlenmesi, inkontinans gibi sorunların temelinde, ekstrinsik inervasyon bozukluklarının ve cerrahi işlem sırasında istenilmeden oluşan nöromusküler hasarlar yanında, eksik veya artmış bazı nörotransmitterlerin neden olduğu intrinsik inervasyon bozukluklarının da etkili olabileceği ortaya konulmaktadır. Bu veriler ışığında konuyla ilgili olarak gelecekte yapılacak çalışmalarla, ARM etyopatogenezinin daha da aydınlatılabileceği düşünülmektedir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Organ banyosuna asılı rektosigmoid düz kas dokularındaki spontan kasılmalar, kontrol ve ETU grubunda düzenliyken, ETU-ARM grubunda düzensizdi.

Organ banyosunda KCI uygulanmasıyla kontrol, ETU ve ETU-ARM gruplarının tümünde kasılma yanıtı alınmıştır.

Organ banyosunda norepinefrin uygulanmasıyla kontrol, ETU ve ETU-ARM gruplarının tümünde kasılma yanıtı alınmamıştır.

Organ banyosunda karbamilkolin uygulanmasıyla kontrol ve ETU grubunda kasılma yanıtları alınırken, ETU-ARM grubunda kasılma yanıtı alınmamıştır.

ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kas dokuları, NSE ve SP100 antikor boylarıyla, kontrol ve ETU grubuna göre daha az boyanmıştır.

ETU-ARM grubu rektosigmoid düz kas dokuları, VIP antikor boyasıyla, kontrol ve ETU grubuna göre daha çok boyanmıştır.

Normal barsak motilitesinin incelenmesinde kullanılan fizyolojik çalışmalar, deneysel olarak ARM'li barsak dokularında da uygulanabilir.

ARM'li fetal sıçanların rektosigmoid düz kas dokularında egemen nörotransmitterin VIP olduğu söylenebilir.

NSE boyanmasının ETU-ARM grubunda diğer gruplara göre daha az olması, ARM'li olgularda makroskopik yapısal anomalilere ek olarak, nöronal hücrelerin gelişiminde mikroskopik düzeyde bozukluklar olduğunu düşündürmektedir.

Normal barsak motilitesi için nörotransmitterlerin dağılımının dengeli olması gerektiği söylenebilir. Kronik kabızlıkta eksitator nörotransmitterlerin eksikliği yanında, inhibitör nörotransmitterlerin fazla olması da etkili olabilir.

ARM'li olgularda rektosigmoid düz kas dokularında intrinsik sinir sisteminde de bozukluklar oluşmaktadır. Bu bağlamda, düzeltici cerrahi tedavi sonrası tatminkar sonuçların alınamaması durumlarında, bundan intrinsik sinir sistemi bozukluğunun sorumlu olabileceği düşünülebilir.

ARM'li olgularda düzeltici cerrahi tedavi sonrasında ortaya çıkan barsak ve sfinkter fonksiyon bozukluklarının anlaşılması açısından, nörotransmitter dağılımının rutin olarak incelenmesi yararlı olabilir.

## KAYNAKLAR

1. **Rintala RJ, Lindhal HG, Rasanen M.** Do children with repaired low anorectal malformations have normal bowel function. *Journal of Pediatric Surgery* **1997**; 32:823-826.
2. **Rintala RJ, Mikko P, Pakarinen MP.** Imperforate anus: long- and short-term outcome. *Seminars in Pediatric Surgery* **2008**; 17:79-89.
3. **Kayaalp SO, Ulus İH.** Otonom Sinir Sistemi Nörotransmitterleri ve İlaçları Hakkında Temel Bilgiler. Kayaalp SO, Eds. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 10. Baskı, Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık, **2002**:1044-1074.
4. **Yeğen B, Erdal S, Alican İ, Genç O, Pekcan M.** Gastrointestinal Fizyoloji. Çavuşoğlu H. *Guyton Hall Tıbbi Fizyoloji Ders Kitabı*. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, **2001**:718-770.
5. **De Vries, Pena A.** Posterior sagittal anorectoplasty. *Journal of Pediatric Surgery* **1982**; 17:638-643.
6. **Bai YZ, Chen H, Yuan ZW, Wang WL.** Normal and abnormal embryonic development of the anorectum in rats. *Journal of Pediatric Surgery* **2004**; 39:587-590.
7. **Kluth D, Hilen M, Lambrecht W:** The principles of normal and abnormal hindgut development. *Journal of Pediatric Surgery* **1995**; 30:1143-1147.
8. **Nievelstein RA, van der Werff JF, Verbeek FJ, et al:** Normal and abnormal embryonic development of the anorectum in human embryos. *Teratology* **1998**; 57:70-78.
9. **Van der Putte SCJ.** Normal and abnormal development of the anorectum. *Journal of Pediatric Surgery* **1986**; 21:434-440.
10. **Skandalakis, J.E, Skandalakis P.N., Skandalakis L.J.,** *Surgical Anatomy and Technique*. 2<sup>nd</sup> Ed., New York: Springer-Verlog Inc. **2000**: 457-529.
11. **Uzel İ. Şerafettin Sabuncuoğlu Cerrahiyetü'l-Haniyye**, 1. Baskı, Ankara: Türk Tarih Kurumu Basımevi, **1992**.
12. **Pena A, Levitt Marc A.,** Imperforate Anus and Cloacal Malformations. In: Ashcraft K, Holcomb G, Murphy JP, Eds. *Pediatric Surgery*. 4<sup>th</sup> Ed., Philadelphia: Elsevier Saunders Company, **2007**: 496-517.
13. **Başaklar AC, Demiroğulları.** Anorektal malformasyonlar. Başaklar AC,. Eds. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları*. 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, **2006**.
14. **Pena A.** The surgical treatment of anorectal Malformations. A three day intensive workshop and teaching course. İstanbul, April 18-21, **1990**.
15. **Georgeson KE, Inge TH, Albenese CT.** Laparoscopically assisted anorectal pull-through for high imperforate anus a new technique. *Journal of Pediatric Surgery* **2000**; 35:927-931.
16. **Holschneider A, Hutson J, Pena A.** Preliminary report on the international conference fort the development of standarts fort the treatment of anorectal malformations. *Journal of Pediatric Surgery* **2005**; 40:1521-1526.

17. **Belizon A, Levitt MA, Shoshany G, Rodriguez G, Pena A.** Rectal prolapse following posterior sagittal anorectoplasty for anorectal malformations. *Journal of Pediatric Surgery* **2005**; 40:192-196.
18. **Fernandez X, Azpiroz F, Malagelda JR.** Significance of pelvic floor muscles in anal incontinence. *Gastroenterology* **2002**; 123:1441-1450.
19. **Carson JA, Barnes PD, Tunell WP, Ide Smith E, Jolley SG.** Imperforate anus: The neurologic implication of sacral abnormalities. *Journal of Pediatric Surgery* **1984**; 19:838-842.
20. **Ishihara N, N, Tashimada A, Kato J, Nimi Naka S, Miura K, Suzuki T, Wakamatsu N, Nagaya M.** Variations in aganglionic segment length of the enteric neural plexus in Moat-Wilson syndrome. *Journal of Pediatric Surgery* **2005**; 40:1411-1419.
21. **Paidas CN, Morreale RF, Holoski KM, Lund RE, Hutchins GM.** Septation and differentiation of the embryonic human cloaca. *Journal of Pediatric Surgery* **1999**; 34:877-884.
22. **McLorie GA, Sheldon CA, Fleisher M, Churchill BM.** The genitourinary system in patients with imperforate anus. *Journal of Pediatric Surgery* **1987**; 22:1100-1104.
23. **Paidas NC, Levitt MA, Pena A.** Rectum and Anus. Oldham K, Colombani PM, Foglia RP, Skinner MA. *Principles and Practice of Pediatric Surgery*, Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, **2005**:1347-1436.
24. **Stephens FD, Smith ED.** Classification, identification and assesment of surgical treatment of anorectal anomalies. *Pediatric Surgery International* **1986**; 1:200-205.
25. **Haricharan RN, MBBS, MPH, Georgeson KE.** Hirschsprung disease. *Seminars in Pediatric Surgery* **2008**; 17:266-275.
26. **Çimen A.** *Anatomi Ders Kitabı*. 5. Baskı. Uludağ Üniversitesi basım evi. Bursa **1995**: 408-413.
27. **Dere F.** *Anatomi*. 4. Baskı, Manet Kitabevi, Adana **1996**: 615-630.
28. **Pena A, Hong A.** Advances in the management of anorectal malformations. *American Journal of Surgery* **2000**; 180:370-376.
29. **Başaklar AC, Demiroğulları B.** Kabızlık. Başaklar AC, Eds. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları*. 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, **2006**.
30. **Pena A, Behery M.** **Megasigmoid:** A source of pseudoincontinence in children with repaired anorectal malformations. *Journal of Pediatric Surgery* **1993**; 28:199-203.
31. **Sökmen S, Canda E,** Anorektal Hastalıklar. Sivri B., Gönen Ö. Eds, *Current Gastroenterology: Tanı ve Tedavi*, 2. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 452-480, **2000**.
32. **Walker A.W.,** Pediatric Gastroenterology Disease, 4<sup>th</sup> Ed: Pathophysiology, Diagnosis, Management, (CD-ROM) **2004**.
33. **Pena A, Levitt MA, Hong A.** Surgical management of cloacal malformations a review of 339 patients. *Journal of Pediatric Surgery* **2004**; 39:470-479.
34. **Yuan Z, Bai Y, Zhang Z, Ji S, Wang W.** Electrophysiological studies on the external anal sphincter in children with anorectal malformation. *Journal of Pediatric Surgery* **2000**; 35:1052-1057.

35. **Schemann M, Reiche D, Michel K.** Enteric pathways in the stomach. *The Anatomical Record* **2001**; 262:47-57.
36. **Weinberg G, Boley SJ.** Anorectal Continence and Management of Constipation. In: Ashcraft K, Holcomb G, Murphy JP, Eds. *Pediatric Surgery*. 4<sup>th</sup> Ed., Philadelphia: Elsevier Saunders Company, **2007**; 518-532.
37. **Sarnart HB, Case ME, Graviss R.** Sakral agenesis. *Neurology* **1976**; 26:1124-1129.
38. **Başaklar AC, Demiroğulları.** Hirschsprung Hastalığı. Başaklar AC, Eds. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları*. 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, **2006**.
39. **Holschneider A, Koebke J, Ruge WM, Land N, Jesch NK, Pfrommer W.** Pathophysiology of chronic constipation in anorectal malformations. *European Journal of Pediatric Surgery* **2001**; 11:305-310.
40. **Shafik A.** The Anterolateral Abdominal Wall Muscles During Vesical Filling and Evacuation: Electromyographic Study, *Urology*, **2008**; 71:621-624.
41. **Ergün Y.** Enterik sinir sistemi: nitrik oksit ve vazoaaktif intestinal polipeptid arasındaki ilişki. *Arşiv* **2007**; 16-111.
42. **JJ. Vanderwinden JM, De Laet MH, Schiffmann SN, Mailleux P, Lowenstein CJ, Snyder S Vanderhaeghen.** Nitric oxide synthase distribution in the enteric nervous system of Hirschsprung's Disease. *Gastroenterology* **1993**; 105:969-973.
43. **Radomirov R, Ivancheva C, Brading AF, Itzev D.** Ascending and descending reflex motor activity of recto-anal region- cholinergic and nitergic implications in a rat model. *Brain Research Bulletin* **2009**; 79:147-155.
44. **Başaklar AC, Demiroğulları** Nöronal İntestinal Malformasyonlar. Başaklar AC, Eds. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları*. 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, **2006**.
45. **Johnson PJ, Bornstein JC, Burcher E.** Roles of neuronal NK<sub>1</sub> and NK<sub>3</sub> receptors in synaptic transmission during motility reflexes in the guinea-pig ileum. *British Journal of Pharmacology* **1998**; 124:1375-1384.
46. **Koronkiewicz ED, Debek B, Sulkowska M, Chyczewski L.** Suitability of selected markers for identification of elements of the intestinal nervous system. *European Journal of Pediatric Surgery* **2002**; 12:397-401.
47. **Sang Q, Williamson S, Young HM.** Projections of chemically identified myenteric neurons of the small and large intestine of the Mouse. *Journal of Anatomy*. **1997**; 190:209-222.
48. **Sand E, Themner A, Ekblad E.** Mast cells reduce survival of myenteric neurons in culture. *Neuropharmacology* **2009**; 56:522-530.
49. **Rettenbacher M, Reubi JC.** Localization and characterization of neuropeptide receptors in human colon. *Naunyn-Schmiedeberg's Archive Pharmacology* **2001**; 364:291-304.
50. **Treepongkaruna S, Hutson J, Hughes J, Cook D, Smith AC, Chow CW, Oliver MR.** Colonic substance p deficiency. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* **2001**; 16:624-630.

51. **Tixier E, Galmiche J.P, Neunlist M.** Acidity induces c-Fos expression in a subpopulation of human colonic submucosal neurons. *Neuroscience Letters* **2006**; 404:23-27.
52. **Burns AJ.** Disorders of interstitial cells of Cajal. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **2007**; 45:103-106.
53. **Macedo M, Martins JL, Meyer KF, Soares IC.** Study of density of interstitial cells of Cajal in the terminal intestine of rats with anorectal malformation. *European Journal of Paediatric Surgery* **2008**; 18:75-79.
54. **Yamataka A, Ohshiro K, Kobayashi H, Lane GJ, Yamataka T, Fujiwara T, Sunagawa M, Miyano T.** Abnormal distribution of intestinal pacemaker (c-kit-positive) cells in an infant with chronic idiopathic intestinal pseudoobstruction. *Journal of Pediatric Surgery* **1998**; 33:859-862.
55. **Ertem D.** Sindirim Sistemi. Yıldırım M, Okar M, Dalçık H., Eds. *İnsan Embriyolojisi*. 6. Baskıdan çeviri, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2002**:271-302.
56. **Mandhan P, Qi BQ, Beasley SW.** Aberrations of the intrinsic innervation of the anorectum in fetal rats with anorectal malformations. *Journal of Pediatric Surgery* **2005**; 40:397-402.
57. **Favre A, Briano S, Mazzola C, Brizzolara M, Torre M, Cilli M, Sanguineti M, Martucciello G.** Anorectal malformations associated with enteric dysganglionosis in danforth's tail (sd) mice. *Journal of Pediatric Surgery* **1999**; 34:1818-1821.
58. **Ramanth NH, MBBS, MPH, Georgeson K.** Hirschsprung's Disease. *Seminars in Pediatric Surgery* **2008**; 17:266-275.
59. **Young HM, Ciampoli D, Southwell BR.** Origin of interstitial cells of Cajal the mouse intestine *Developmental Biology* **1996**; 180:97-107.
60. **Mandhan P, Sullivan M, Quan B, Beasley S.** The contribution of the sonic hedgehog cascade in the development of the enteric nervous system in fetal rats with anorectal malformations. *Journal of Pediatric Surgery* **2007**; 42:2080-2085.
61. **Southwell BR, Furness JB.** Immunohistochemical demonstration of the NK<sub>1</sub> tachykinin receptor on muscle and epithelia in guinea pig intestine. *Gastroenterology* **2001**; 120:1140-1151.
62. **Wheatly JM, Hutson JM, Chow CW, Oliver M, Hurley MR.** Slow-transit constipation in childhood. *Journal of Pediatric Surgery* **1999**; 34:829-833.
63. **Katsoulis S, Schmidt WE, Schwarzhoff R, Folsch UR, Jin JG, Grider JR, Makhlof GM.** Inhibitory transmission in guinea pig stomach mediated by distinct receptors for pituitary adenylate cyclase-activating peptide. *The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics* **1996**; 278:199-204.
64. **Southwell BR, King SK, Hutson JM.** Chronic constipation in children: organic disorders are a major cause. *Journal of Paediatric Children Health* **2005**; 41:1-15.
65. **Prasad S, Mathur A, Jaggi M, Mukherjee S, Mukherjee R.** Substance P analogs containing  $\alpha$ ,  $\alpha$ -dialkylated amino acids with potent anticancer activity. *Journal of Peptide Science* **2007**; 13:544-548.



66. **Gershon MD, Ratcliffe EM.** Developmental biology of the enteric nervous system: pathogenesis of Hirschsprung's Disease and other congenital dysmotilities. *Seminars in Pediatric Surgery* **2004**; 13:224-235.
67. **Tander B, Rızalar R, Arıtürk E, Bıçakçı B, Kırdar B, Başkaya H, Çadır ÖF, Bernay F.** Anorektal malformasyonlarda ürogenital sistem ve kardiyak anomaliler. 12. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi. Kuşadası, **1992**:TP42.
68. **Schmiedeke E, Busch M, Stamatopoulos E, Lorenz C.** Multidisciplinary behavioural treatment of fecal incontinence and constipation after correction of anorectal malformation. *World Journal of Pediatrics* **2008**; 4:206-210.
69. **Demiroğulları B, Ozen IO, Karabulut R, Türkyılmaz Z, Sönmez K, Kale N, Başaklar AC.** Colonic motility and functional assesment of the patients with anorectal malformations according to Krickenbeck consensus. *Journal of Pediatric Surgery* **2008**; 43:1389-1843.
70. **Henry W, Grosfeld JL.** The atonic baggy rectum: A cause of intractable obstipation after imperforate anus repair. *Journal of Pediatric Surgery* **1992**; 27:1071-1074.
71. **Holschneider A, Ure BM, Pfrommer W, Ruge WM.** Innervation patterns of the rectal pouch and fistula in anorectal malformations: a preliminary report. *Journal of Pediatric Surgery* **1996**; 31:357-362.
72. **Grider JR.** Neurotransmitters mediating the intestinal peristaltic reflex in the mouse. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2003**; 307:460-467.
73. **Youssef N, Pensabene L, Barksdale E, Lorenzo C.** Is there role for surgery beyond colonic aganglionosis and anorectal malformations in children with intractable constipation. *Journal of Pediatric Surgery* **2004**; 39:73-77.
74. **Kenny SE, Connell MG, Rintala RJ, Vaillant C, Edgar DH, Lloyd DA.** Abnormal colonic interstitial cells of Cajal in children with anorectal malformations. *Journal of Pediatric Surgery* **1998**; 33:130-132.
75. **GraphPad** istatistik programı. Prism 5 for Windows. [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com), **2009**.
76. **SPSS Inc.** SPSS for Windows. Version 6.0, Chicago:SPSS INC., **1993**.
77. **Qi BQ, Beasley SW, Frizelle FA.** Clarification of the processes that lead to anorectal malformations in the ETU induced rat model of imperforate anus. *Journal of Pediatric Surgery* **2002**; 37:1305-1312.
78. **Qi BQ, Beasley SW, Williams AK, Frizelle F.** Apoptosis during regression of the tailgut and septation of the cloaca. *Journal of Pediatric Surgery* **2000**; 35:1556-1561.
79. **Bassotti G, Villanacci V, Nascimbeni R, Asteria CR, Fisogni S, Nesi G, Legrenzi L, Marina M, Tonelli F, Morelli A, Salerni B.** Colonic neuropathological aspects in patients with intractable constipation due to obstructed defecation. *Modern Pathology* **2007**; 20:367-374.
80. **Barshack I, Fridman E, Goldberg I, Chowers Y, Kopolovic J.** The loss of calretinin expression indicates aganglionosis in Hirschsprung's Disease. *Journal of Clinical Pathology* **2004**; 57:712-716.

81. **Tam PKH.** An immunohistochemical study with neuron spesific enolase and substance P of human enteric inervation: the normal developmental pattern and abnormal deviations in Hirschsprung's Disease and pyloric stenosis. *Journal of Pediatric Surgery* **1986**; 21:227-232.
82. **Tixier E, Galmiche JP, Neunlist M.** Acidity induces c-fos expression in a subpopulation of human colonic submucosal neurons. *Neuroscience Letters* **2006**; 404:23-27.
83. **Tsuto T, Okamura H, Fukui K, Hiroko L, Tsuto O, Terubayashi H, Yanagihara J, Iwai N, Majima S, Yanaihara N, Ibata Y.** Immunohistochemical investigations of gut hormones in the colon of patients with Hirschsprung's Disease. *Journal of Pediatric Surgery* **1985**; 20:266-270.
84. **Mortell A, Montedonico S, Puri P.** Animal models in pediatric surgery, *Pediatric Surgery International* **2006**; 22:11-128.
85. **Dağlı T, Kıyan G, Gürmen N, Ulukaya Ç.** Anorektal malformasyonların definitif ameliyat öncesi ve sonrası radyolojik değerlendirilmesinde manyetik rezonans görüntülemenin yeri. 12. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi, Kuşadası, **1992**: TP31.
86. **Straub RH, Grum F, Strauch U, Capellino S, Bataille F, Bleich A, Falk W, Schölmerich J, Obermeier F.** Anti inflammatory role of sympathetic nerves in chronic intestinal inflamation. *Gut* **2008**; 57:911-921.
87. **Van den Berg M, Hogan M, Caniano D, Lorenzo C, Benniga M, Mousa H.** Colonic manometry as predictor of cecostomy success in children with defecation disorders. *Journal of Pediatric Surgery* **2006**; 730-736.
88. **Zuccarello B, Romeo C, Scalfari G, Impellizzeri P, Montalto AS, D'Oppido D, Campenni A, Formica I, Baldari S.** Scintigraphic evaluation of colonic motility in patients with anorectal malformations and constipation. *Journal of Pediatric Surgery* **2006**; 41:310-313.
89. **Guarino MPL, Carotti S, Cogliandro R, Stanghellini V, De Giorgio R, Barbara G; Alloni R, Altomare A, Tarquini E, Coppola R, Corinaldesi R, Cicala M.** Impaired contractility of colonic muscle cells in a patient with chronic intestinal pseudo-obstruction. *Digestive and Liver Disease* **2008**; 40:225-229.
90. **Shono T, Nagasaki A, Hirose R, Ohgami H, Yakabe S.** Acetylcholinesterase stainig shows the abnormal innervation of a pulled-through rectum in a case of repaired anorectal malformation. *European Journal of Pediatric Surgery* **1997**; 7:248-251.
91. **Sanders KM, Ördög T, Ward SM.** Physiology and pathophysiology of the interstitial cells of Cajal: from bench to bedside IV. Genetic and animal models of GI mottility disorders caused by loss of interstitial cells of Cajal. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal Liver Physiology* **2002**; 282:747-756.
92. **Tomita R, Tanjoh K, Fujisaki S, Ikeda T, Fukuzawa M.** Regulation of the enteric nervous system in the colon of patients with slow transit constipation. *Hepatogastroenterology* **2002**; 49:1540-1544.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı : Merdan TÜRKER

Doğum Yeri, Tarihi : Mersin, 1973

Medeni Durumu : Evli

Adres : Toros Mah., PTT Cad., Baskın Safir Apt., K:8, D:16  
Çukurova, Adana

Telefon : 0 (322) 338 60 60-3106

E-Mail : mturker@cu.edu.tr

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

Görev Yerleri: : 1996-1999: Devecipınar Sağlık Ocağı  
Boğazlayan, Yozgat

1999-2001: 25. Mekanize P. Tug. Komutanlığı, Sıhhiye  
Blk. Komutanlığı, Ardahan

2001-2003: İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü

2003-2009: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk  
Cerrahisi Anabilim Dalı

Yabancı Diller : İngilizce