

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**PREOPERATİF RADYOTERAPİ ALMIŞ
KOLONDAKİ ANASTOMATİK YARA
İYİLEŞMESİNE YENİ BİR NF- κ B İNHİBİTÖRÜ
OLAN CELASTROL'ÜN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Özlem SAMUR

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ

**ANKARA
2010**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**PREOPERATİF RADYOTERAPİ ALMIŞ
KOLONDAKİ ANASTOMATİK YARA
İYİLEŞMESİNE YENİ BİR NF- κ B İNHİBİTÖRÜ
OLAN CELASTROL'ÜN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Özlem SAMUR

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. ABDULKADİR BEDİRLİ

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01-200740 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
2010**

**T. C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**GENEL CERRAHİ Ana Bilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde
yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak
kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : ../../2007

BAŞKAN

**İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi
Jüri Başkanı**

**ÜYE
İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi**

**ÜYE
İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi**

**ÜYE
İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi**

**ÜYE
İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
.... Üniversitesi**

TEŞEKKÜRLER

Başta Gazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Çağatay ÇİFTER olmak üzere;

Bu çalışmanın planlanması ve sürdürülmesinde her aşamada rehberlik eden ve hiçbir desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ'ye;

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan Anabilim Dalında görev yapan diğer saygıdeğer hocalarıma;

Biyokimyasal çalışmaları yürüten Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU ve Araştırma Görevlisi Ayşe Fıtnat TUNCEL, Canan Yılmaz DEMİRTAŞ'a;

Patoloji değerlendirmelerini yapan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nalan AKYÜREK'e;

Bu çalışmada bana yardımcı olan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Diclehan KILIÇ;

İhtiyaç duyduğum her durumda yardımı ve desteği için arkadaşlarım Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Ramazan KOZAN ve Harun KARABACAK'a;

İhtisasım boyunca beraber çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim eşime;

Teşekkür Ederim...

Dr. Özlem SAMUR

İÇİNDEKİLER	Sayfa
RESİM VE ŞEKİLLER	IV
KISALTMALAR	VI
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİLER	5
2.1 Yara İyileşmesi	5
2.2 GİS Yara İyileşmesi	8
2.2.1 Mukozal iyileşme	11
2.2.2 Submukozal ve serozal iyileşme	12
2.3 Anastomoz İyileşmesini Etkileyen Faktörler	14
2.3.1 Lokal faktörler:	15
2.3.2 Sistemik faktörler	21
2.4 Anastomoz İyileşmesini İnceleme Yöntemleri	24
2.4.1 Mekanik inceleme yöntemleri	25
2.4.2 Biyokimyasal yöntemler	26
2.4.3 Histopatolojik değerlendirme	27
2.5 Radyoterapi	28
2.5.1 Radyasyonun hücre üzerindeki biyolojik etkileri	29
2.5.2 Radyasyonun dokular üzerindeki etkileri	30
2.6 Nükleer Faktör Kappa - B	33
2.6.1 Tarihçe	33
2.6.2 NF-κB'nin yapısı	34

2.6.3	NF-κB'nin işlevi ve aktivasyonu	34
2.6.4	NF-κB aktivasyon yolağı	35
2.6.5	Fizyolojik ve patolojik olaylardaki önemi	36
2.6.6	NF-κB inhibisyonu yapan doğal bileşikler	39
2.7	Celastrol	39
2.7.1	Celastrol fonksiyonları	40
2.7.2	Kimyasal formül:	41
3	MATERYAL VE METOD	43
3.1	Radyasyon Tekniğı	43
3.2	Celastrol Uygulanışı	44
3.3	Operatif Prosedür	44
3.4	Patlama Basıncı Ölçümü	48
3.5	Preparatların Hazırlanması	48
3.6	Hidroksiprolin Ölçümü	49
3.7	NF-κB Tayini	49
3.8	Histopatolojik Değerlendirme	50
3.9	İstatistiksel Analizler	51
4	BULGULAR	52
4.1	Morbidite	52
4.2	Mortalite Oranları	52
4.3	Anastomozların Patlama Basınçları	53
4.4	Dokuda Hidroksiprolin Tayini	54
4.5	NF-κB Aktivitesinin Ölçümü	56

4.6	Anastomotik Dokuda Yara İyileşmesinin Histopatolojik Analizi	57
5	TARTIŞMA	62
6	SONUÇLAR	68
7	KAYNAKLAR	69
8	ÖZET	84
9	SUMMARY	87
10	EKLER	90
11	ÖZGEÇMİŞ	91

RESİM VE ŞEKİLLER

Resim 2.1. Tripterygium Wilfordii	41
Resim 3.1. Radyoterapi uygulanması (Ciris Cobalt 60 cihazı)	44
Resim 3.2. Rat'ın karın medial insizyonu	45
Resim 3.3. Anastomoz için hazırlanmış olan distal kolon	47
Resim 3.4. Rezeksiyon ve uç uca anastomoz	47
Resim 4.1. Kontrol grubu 7. gün reepitelizasyon görünümü	59
Resim 4.2. Radyoterapi uygulanan ratta 3. gün reepitelizasyon görünümü	60
Resim 4.3. Radyoterapi uygulanan ratta 7. gün reepitelizasyon görünümü	60
Resim 4.4. Radyoterapi ve celastrol verilenlerde reepitelizasyon görünümü	61
Şekil 2.1. NF- κ B aktivasyonunun klasik ve alternatif yolları	38
Şekil 2.2. NF- κ B'nin ilgili olduğu fizyolojik ve patolojik olaylar	38
Şekil 2.3. Celastrol'ün kimyasal formülü	42
Şekil 4.1. Anastomozlardaki ortalama patlama basınçları	54
Şekil 4.2. Ortalama hidroksiprolin değerleri	55
Şekil 4.3. NF- κ B düzeyleri	56

TABLO VE GRAFİKLER

Grafik 2.1. Yara iyileşmesinde zamana bağlı değişiklikler	8
Tablo 2.1. Anastomoz iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler	15
Tablo 3.1. Reepitelizasyon skarlama sistemi	50
Tablo 3.2. Muskularis propria rejenerasyonu	51
Tablo 4.1. Anastomotik dokuda histopatolojik analiz değerleri	58

KISALTMALAR

°C	: Santigrad derece
µg/mg	: Mikrogram/miligram
5- FU	: 5-Flurourasil
cGy	: Centigray
Co	: Cobalt
COX -2	: Siklooksijenaz – 2
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ELİSA	: Enzim ilişkili immün test
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
GİS	: Gastrointestinal sistem
Gy	: Gray
HCl	: Hidroklorik asit
IL-8	: Interlökin 8
IL-1	: Interlökin 1
Mg	: Miligram
MHC II	: Majör histokompatibilite kompleks II
ml	: Mililitre
MMPs	: Matriks metalloproteniazlar
mmHg	: Milimetre civa

NaOH	: Sodyum bikarbonat
NAP-II	: Nötrofil aktive edici peptit II
NF-κB	: Nükleer Faktör- Kappa B
Nm	: Nanometre
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PDGF	: Trombositten kaynaklanan büyüme faktörü
PF4	: Trombosit faktör 4
pO₂	: Parsiyel oksijen basıncı
RT	: Radyoterapi
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü -β
TNF-α	: Tümör nekroz edici faktör-α

1 GİRİŞ

Kolorektal kanserler, gastrointestinal sistemin en sık rastlanan tümörleri olup, özellikle gelişmiş ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. Kolon kanserlerinin yaklaşık olarak yarısı rektum ve rektosigmoid bileşkede bulunur. Erkeklerde akciğer, kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sıklıkla görülmektedir.

Rektal kanserlerin cerrahi tedavisi %30'a ulaşan lokal rekürrens ile sonuçlanmaktadır. Bu rekürrenslerin çoğu rezeksiyondan sonra ilk 2 yıl içinde meydana gelmektedir. Lokal rekürrensler ile ilgili semptomlar çok değişik olabilir ve şiddetli pelvik ağrıyı, ülser, perineal lezyonları, barsak tıkanmasını, enterokutanöz fistülleri veya alt ekstremitelerin ileri derecede ödemi de içerebilir. Lokal rekürrens oranını etkilediği gösterilen faktörler cerrahi teknik, tümör evresi ve derecesi, primer tümörün yeri ve negatif cerrahi sınırın sağlanamamasıdır.

Son zamanlarda bu hastalarda optimal cerrahi teknik olan total mezorektal eksizyon ile rekürrens oranlarında dramatik bir düşme sağlanmıştır. Alternatif olarak preoperatif düşük doz radyoterapi hem lokal rekürrens oranlarını azaltmış hem de ortalama sağ kalım sürelerini arttırmıştır. Ayrıca yüksek doz radyoterapi ile lokal ileri evre (T4) kanserlerde evre azaltılması etkin bir şekilde elde edilebilir (1). Kanser enstitülerince Dukes B ve C tümörlerde ve kötü prognostik faktörlere sahip hastalarda; hem primer tümör yatağına, hem de internal iliak, rektosakral, obturator ve a.iliaca communis çevresindeki lenf nodüllerine preoperatif

rad्यoterapi verilmesi önerilmektedir. Yine radyoterapi ile eşzamanlı 5- flurourasil (5-FU) tedavisinden hastaların daha çok yarar göreceklərini bildiren yayınlar da mevcuttur. Günümüzde preoperatif radyoterapi, tümör rezektabilitesini arttırmak (2, 3), nüksleri ve lenf bezi metastazlarını azaltmak (2, 3, 4, 5) ve surviyi uzatmak (3, 4, 6) amacıyla özellikle rektosigmoid kanserlerin tedavisinde artan bir kabul görmektedir. Ayrıca rektum 1/3 alt kısmına yerleşim gösteren tümörlerde preoperatif radyoterapi sonrası tümörün evresinde gerileme elde edilmekte ve bir kısım hastaya aşağı anterior rezeksiyon uygulanıp bu hastalarda kalıcı kolostomiye ihtiyaç duyulmamaktadır. Ancak yüksek doz radyoterapi ile kombine total mezorektal eksizyon kolon anastomozlarının iyileşmesini bozabilir. Deneysel çalışmalar preoperatif radyoterapi uygulanan ratlarda anastomoz patlama basınçlarında ve hidroksiprolin seviyelerinde belirgin bir azalma olduğunu göstermiştir. Radyasyonun anastomoz iyileşmesi üzerine olan olumsuz etkilerini azaltabilmek amacıyla çeşitli madde ve yöntemler denenmiştir.

Kolon anastomozlarının iyileşmesi, ekstrasellüler matriksin parçalanmasını içeren organize ve kompleks bir dizi hücresel ve biyokimyasal olaylar kaskadını gerektirir. Yaralanmanın ardından doku bütünlüğünü sağlamak amacıyla inflamasyon, hücresel göç ve bölünme, konnektif doku artışı ve yeniden şekillenmeyi içeren bir siklus başlar. Yara kuvvetini belirleyen en önemli faktörler yeni sentez edilen ve depolanan kollajenin kalitesi ve miktarı ile birlikte önceden oluşan kollajenin parçalanmasıdır. Bu olay ekstrasellüler matriks'in tüm komponentlerinin parçalanmasını sağlayan ve bir enzim ailesi olan matriks metalloproteinazlar (MMPs) tarafından gerçekleştirilir. MMPs'in aktivitelerindeki

artış morbidite ve mortaliteye neden olabilen anastomotik ayrışma ile sonuçlanabilirken, yetersiz MMP aktivitesi fibrozis ve striktür ile sonuçlanır. Kollajenaz aktivitesi tüm gastrointestinal kanalda uygulanan transeksiyon ve re-anastomoz sonrası artış göstermektedir. Önceki çalışmalar normal kolon mukozasında MMP-1, MMP-2, MMP-3 ve MMP-9'un olmadığını, ancak anastomozu takiben sadece sütür hattı üzerinde oluştuklarını göstermiştir. Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8 ve MMP-13) iyileşmenin ilk birkaç gününde anastomotik bütünlüğün sağlanmasında ve sütürlerin tutma kapasitesinde önemli rol oynarlar. Kollajenazların aktivitesi kolon anastomozlarından 3 gün sonra belirgin artış gösterir. Bu süreçte makrofajlar, nötrofiller gibi inflamatuvar hücreler MMPs'ın asıl kaynağıdır (7).

Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) sitokinler, protein kinaz C aktivatörleri, oksidanlar ve virüsler gibi birçok farklı uyarı ile aktive olmaktadır. NF- κ B'in aktivasyonu inhibitör κ B (I κ B)'e spesifik kinazlar tarafından I κ B'in fosforilasyonu ile olmaktadır. Aşırı NF- κ B aktivasyonu inflamatuvar proses ile karakterize birçok patofizyolojik durumda karşımıza çıkmaktadır. Bu yüzden hiçbir yan etki yapmaksızın NF- κ B'in spesifik blokajı yoğun bir araştırma konusu haline gelmiştir. NF- κ B'in yara iyileşmesindeki rolünü ortaya koyan sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bond ve arkadaşları tavşan cilt fibroblastlarında MMP-1 ve MMP-3 salınması için NF- κ B'in önemli bir faktör olduğunu göstermişlerdir (8). Saika ve arkadaşları kanlanması son derece sınırlı bir organ olan kornea üzerinde alkali ajanlarla yaralanma oluşturmuşlar ve topikal uygulanan NF- κ B inhibitörlerinin iyileşme üzerine olumlu etkilerini bildirmişlerdir (9). Schreiber ve

arkadaşları ise ilk olarak cilt yara modelinde adenovirüs aracılığı ile NF- κ B aktivasyonunun önlenmesinin yarada kollajen depolanmasında artışa yol açtığını ve inflamasyonu azalttığını göstermişlerdir (10). Daha önce yapmış olduğumuz deneysel bir çalışmada farklı NF- κ B inhibitörleri kullanarak NF- κ B'nin anastomotik kolon yara iyileşmesine olan olumsuz etkilerinin ortadan kaldırıldığını tespit ettik (11). Ancak, radyoterapiye maruz kalmış ratlarda kolon anastomozu sonrası yara iyileşmesinde NF- κ B'in rolünü ortaya koyan bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Biz ratlarda deneysel olarak preoperatif radyoterapi sonrası kolon transeksiyonu ve re-anastomozu ile oluşturulan anastomotik yara iyileşmesi modelinde NF- κ B aktivasyonunun bloke edilmesinin anastomoz üzerine olumlu etkileri olabileceğini varsaydık.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesinin cerrahi yönden önemli aşamaları şöyle sıralanabilir;

- a) Hemostaz ve inflamasyon fazı: (0–4 gün)
- b) Proliferasyon fazı: (4–14 gün)
- c) Olgunlaşma ve yeniden yapılanma (Rejenerasyon) fazı: (14–180 gün)

Bu aşamaları kısaca aşağıdaki gibi detaylandırabiliriz:

a) Hemostaz ve inflamasyon fazı: Yaralanma sonucu hasara uğrayan damarlarda vazokonstriksiyon meydana gelir ve koagülasyon kaskadı başlar. Trombosit α granüllerinin degranüle olması ile fazla miktarda transforming growth factor (TGF)- β salınır. TGF- β , makrofaj ve lenfositlerin kemotaksisini hızla uyarır. Lenfositler ve monositler de, platelet-derived growth faktör (PDGF), TGF- β , Platelet Factor 4 (PF4), kompleman, protein C5a, lökotrien B4 ve platelet activating factor (PAF) gibi diğer trombosit kökenli yangı hücreleri tarafından yaraya çekilirler. Trombositlerin subendotelyal kollajen ile teması sonucu intrinsek koagülasyon kaskadı başlar. Oluşan pıhtı nötrofil, monosit ve fibroblast gibi hücrelerin yara ortamında toplanması için bir ağ gibi görev yapar. Hemostazı takiben plazma ve doku kaynaklı enflamasyon mediatörleri (histamin, serotonin, prostaglandinler gibi) vazodilatasyon ve permeabilitede artışa neden olur. Yara ortamından salınan kemotaktik ajanlar (kompleman faktörleri, Interlökin I (IL-I),

tümör nekrotizan faktör- α (TNF- α), TGF- β , trombosit faktör IV ve bakteriyel ürünler gibi) hücre migrasyonunu stimüle eder.

Yarada başlangıçta polimorfonükleer lökositlerin hakimiyeti söz konusu iken 24 saatte monositlerin yara alanına girmesiyle bu hakimiyet yavaşça azalır. Normal yara iyileşmesinde görev alan diğer inflamatuvar hücreler plazma hücreleri ve mast hücreleridir.

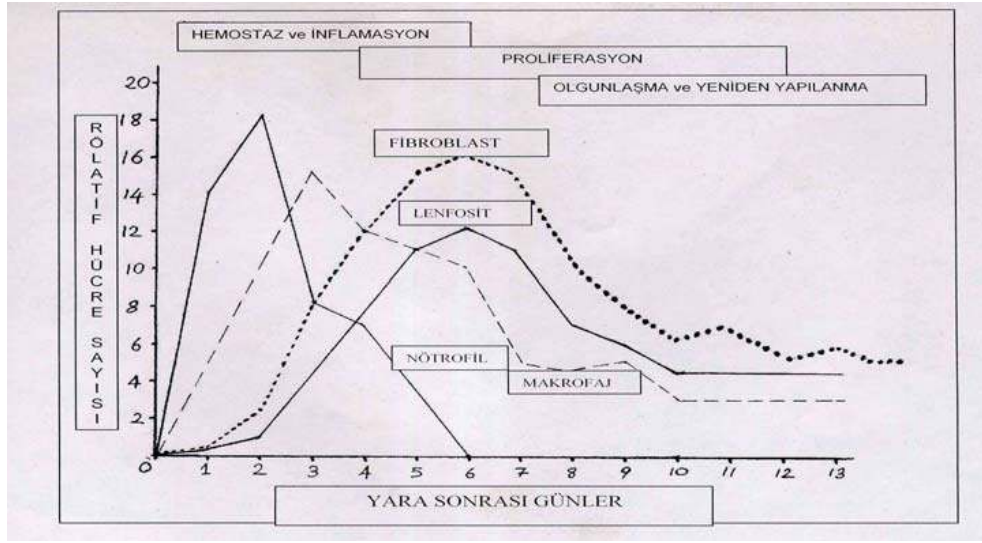
Nötrofiller yaraya doğru göç eden ilk hücre grubudur. Fibroblast growth faktör (FGF) ve PDGF nötrofillerin yaraya infiltrasyonunu uyarır. İnflamasyon süresince nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler baskın durumdadır. Yara alanına olan hücre kemotaksisini, hücrelerin fonksiyonel aktivasyon kazanması takip eder. Bunun sonucunda sitokinler ve büyüme faktörlerinin üretim ve salınımında artma olur. Aktive olan makrofajlar; debridman, matriks sentezi ve anjiogenez gibi yara iyileşmesini birçok yönden ilgilendiren önemli görevleri yerine getirir. Başlangıçta trombositlerden salınan faktörler makrofaj aktivasyonu için ilk ve güçlü bir uyarım sağlar. Fibronektin ve kollajen gibi bazı hücrel ürünlerin fagositozu da makrofajların aktivasyonunu şiddetlendirir ve sitokinler salgılar (4, 12, 13)

b) Proliferasyon fazı: Fibroblastik proliferasyon, TGF- β ve interlökin 1 (IL-1) ile stimüle edilir. Anjiogenez epidermal growth factor (EGF) ve IL-8 ile aktive edilir, nötrofillerin yaraya infiltrasyonu TNF- α ve nötrofil aktive edici peptit-II (NAP-II) ile tetiklenir (13). Fibroblastlar ve endotelial hücreler bu faz sırasında proliferen olan temel hücrelerdir. Yara iyileşmesinde yaranın ana direnci ve sağlamlığını sağlayan kollajen fibroblastların esas ürünüdür. Kollajenin başlangıç formu olan Tip 3 kollajen, iyileşen yaralarda sentezlenir. Kollajen yara

matriksinin son ve kalıcı bileşenidir. Fibroblastlar yaraya çevre dokulardan göç ederler, PDGF, EGF gibi bazı büyüme faktörleri fibroblastların kemotaksisini tetiklerler.

Kollajen sentezi için lizin ve prolinin hidroksilasyonu gereklidir. Hidroksilasyon için kullanılan kofaktörler ise ferröz demir, moleküler oksijen, alfa-ketoglutarat ve askorbik asittir. İntakt venüllerden endotelial hücre proliferasyonu sonucu yeni kapiller damarlar, yara alanı içine doğru ilerler ki bu olay neovaskülarizasyon olarak adlandırılır (14) .

c) Olgunlaşma ve yeniden yapılanma fazı: Bu fazın en önemli özelliği yarada kollajenin yıkım ve sentezinden sorumlu olan kollajenaz aktivitesi, sitokinlerin sıkı kontrolü altındadır (15). Kollajen yıkımı iyileşmenin erken dönemlerinde başlar ve özellikle hemostaz ve inflamasyon fazında iyice hızlanır. Yaradaki kollajenaz kaynakları inflamatuvar hücreler, endotel hücreleri, fibroblastlar ve keratinositlerdir. Yara iyileşmesinde zamana bağlı olarak değişiklikler gösteren rölatif hücre sayıları Grafik 2.1’de gösterilmiştir. Olgunlaşma ve yeniden yapılanma fazı 1 yıla kadar sürer (3).



Grafik 2.1. Yara iyileşmesinde zamana bağlı değişiklikler

2.2 GİS Yara İyileşmesi

Histolojik olarak incelendiğinde gastrointestinal kanal, mukoza, submukoza, muskularis propria ve serozadan oluşan dört tabakadan ibarettir. Her bir tabaka farklı işlevli hücre tiplerini içermektedir. Tüm dokularda hasar sonrası hemostaz ve inflamasyon, proliferasyon, olgunlaşma ve yeniden yapılanma fazları ortak olmasına karşın, her doku aynı şekilde iyileşmemektedir. GİS’de yara iyileşme süreci bazı farklılıklara sahip olup bunlar iyileşmenin yapısını, hızını ve sonucunu etkilemektedir (16). Ayrıca gastrointestinal yara iyileşmesi fetal ve erişkinlik dönemlerinde de farklılıklar göstermektedir.

Normal koşullar altında gerilme kuvveti bağırsakta, deri yaralarına göre çok daha hızlı kazanılır. Bunun nedeni cilt yaralarının aksine barsak yaralarında fibroblastlara ek olarak düz kas hücreleri de kollajen sentezler. Ayrıca bağırsakta iyileşmeye mukoza, submukoza ve serozal tabakaların katkısı da farklılık gösterir.

Bağırsaktaki submukoza tabakası dikiş tutma yeteneği ve gerilime karşı direnç gösterme kapasitesi nedeniyle özelliğidir. Örneğin; GiS'deki geniş mikroorganizma spektrumu, serozal tabakanın dikiş hattının kapatılmasındaki etkisi ve hipovolemi veya hipoperfüzyon durumunda azalan kanlanmayı destekleyecek özel damarsal beslenme kaynağı gibi, diğer farklı faktörlerde yara iyileşmesi açısından bağırsağı deriden ayırmaktadır.

GiS'te lümeninden gayta geçişi için bağırsak peristaltizmi anastomozu ayırıcı kuvvet uygulayabilirken, deride iskelet hareketleri dikiş hattına stres uygular, ancak ağrı aşırı hareketi engelleyici ve koruyucu bir mekanizma oluşturur.

GiS ve deri yara çevresi açısından da farklılık gösterir. Ortam pH'ı deride sabitken, GiS'te değişkendir. Anastomoz sonrası GiS'de kollajenaz aktivitesinde artış görülürken, kollajenaz aktivitesinin kutanöz yarada çok önemli role sahip olmadığı düşünülmektedir (17).

GiS'de insizyon sonrası ilk aşama normal yara iyileşmesinde olduğu gibi hemostaz amaçlı vazokonstrüksiyondur. Bu aşamayı kininler tarafından tetiklenen bir vasküler geçirgenlik artışı izler. Bu yüzden dikiş atılırken bağırsak ödeme dikkat edilmelidir. Ödemli dokuya dikiş atılarak sıkılması dolaşım bozukluğuna ikincil doku nekrozlarına yol açabilmektedir (16).

İnsizyon veya yaralanma sonrası üçüncü saatte polimorfonükleer nötrofiller bölgeye göç etmeye başlar ve 24–48. saatte yara bölgesinde en yüksek düzeye ulaşırlar. Monosit ve fibroblastların yara yerinde görülmesi 48–96. saatlerde olmaktadır. Nekrotik dokunun enzimatik olarak parçalanması ve kollajen

yıkımı bu hücrelerce salınan mediatörler tarafından gerçekleştirilir. Kollajen MMPs ile yıkılır, bunlar içinde proteinazlar, elastaz, katepsin G ve nötral proteinazlar sayılabilir. Bunun dışında cerrahi travmaya bağlı oluşan lokal inflamatuvar reaksiyon kollajen yıkımına yol açabilir (18). Bu inflamatuvar reaksiyon yaklaşık yedi gün sürer (19). Fibroblastlar 2. günden itibaren kollajen sentezlemeye baslar. Kollajen lizisi nötrofil, makrofaj ve intralüminal bakterilerce üretilen kollajenaz tarafından gerçekleştirilir. Kollajenaz aktivitesi iyileşme processinde erken dönemde oluşur ve ilk 3-5 günde kollajen yıkımı sentezden daha fazladır. Net yara kollajeni, kollajenolizis ve kollajen sentezi arasındaki dengenin sonucudur. Erken dönemde kollajen yıkımının spesifik bir segment lokalizasyonu olmaksızın artmasının, ameliyat travmasına bağlı genel bir reaksiyon olduğu görüşü hakimdir. Beşinci günden sonra anastomoz hattında kollajen artışı ise anastomoz iyileşmesinin işareti olarak değerlendirilmektedir (18, 20). Fibroblastlar ameliyat sonrası 5–7. günden itibaren anastomoz içeren bağırsak segmentinin submukozasında anastomozun onarım dokusunda baskın hücre popülasyonudur.

Anastomoz gerilim kuvveti açısından günler içerisinde belirgin değişiklik göstermektedir. İlk üç gün zarfında gerilim kuvveti kollajen içeriğine paralel olarak azalırken, ameliyat sonrası 3-5. günden sonra yeniden eski düzeyine gelmeye başlar (21). Kollajen düzeyi postoperatif 7. gününde normalin %50-60'ına, 10. gününde %100'e ulaşır. Anastomoz bölgesinde görülen granülasyon dokusu iyileşmenin proliferasyon safhasının başladığını gösterir (21, 22, 23).

GIS yara iyileşmesinde mukozal iyileşme ile submukozal ve serozal iyileşme, içerdikleri farklı hücre popülasyonları nedeniyle farklı olarak incelenmelidir.

2.2.1 Mukozal iyileşme

Bağırsak epiteli, başta enterosit ve kolonositlerden oluşan kolumnar hücreler olmak üzere goblet hücreleri, daha az oranda entero-endokrin ve Paneth hücreleri ile diğer küçük hücre grupları gibi değişik epitelyal hücre topluluklarından oluşur. Bağırsak mukozal yüzeyi, yaşam boyu devam eden hızlı bir döngüye sahiptir. İnce ve kalın bağırsak epitel yüzeyi vücudun en hızlı hücre döngüsüne sahip olup, her 24–96 saatte bir bu döngü tekrarlanarak hücreler yenilenir. Bağırsağın tek tabakalı epiteli mikroorganizmalar, antijenler, diyetel maddeler ve sindirim enzimlerinden oluşan dış ortama karşı bir bariyer görevi görür (24).

Gastrointestinal kanaldaki epitelyal hasarın üç farklı mekanizma ile giderildiği gösterilmiştir;

1) Yaralanmanın komşuluğunda bulunan canlı epitel hücreleri bu bölgeden hasarlı bölgeye doğru göç ederek lezyonun üzerini örter. In vivo ve in vitro olarak da gerçekleştiği gösterilen bu mekanizma “mukozal yeniden yapılanma” olarak isimlendirilir ve daha derin mukozal hasarlanmayı önleyen ilk mekanizma olarak gösterilmiştir (25). Epitelyal devamlılığın mukozal yeniden

yapılanma ile temini, hücre çoğalması için gerekenden çok daha az bir süre olan dakikalar ya da saatler içinde tamamlanabilir.

2) İkinci mekanizma olarak, yüzey epitel devamlılığının tekrar yapılandırılmasından sonra hücre proliferasyonu ile kaybedilen hücrelerin yerine konması gerekmektedir. Bu olayın yaralanmadan 12-16 saat sonra başladığı ve birkaç gün içinde tamamlandığı öngörülmektedir (25).

3) Üçüncü mekanizma ise, andiferansiye epitel hücrelerinin diferansiyasyonu ve maturasyonudur. Bu değişim ve olgunlaşma mukozal epitelin çeşitli fonksiyonel aktivitelerinin devamı için gerekmektedir (26).

2.2.2 Submukozal ve serozal iyileşme

Submukoza bağırsağın daha çok bağ dokusu ve damarlardan oluşan diğer bir tabakasıdır. Gastrointestinal kanalda kollajenin en çok bulunduğu ve bağırsağın yapısal bütünlüğünün sağlandığı yerdir. Submukozanın en fazla gerilim kuvvetine ve en fazla dikiş tutma kapasitesine sahip tabaka olması anastomoz yapılırken göz önünde bulundurulması gereken bir özelliğidir. Submukoza sağlam bağırsaktaki gerilim kuvvetinin en önemli kaynağı olduğundan anastomotik uçları bir araya getiren dikişlerin tutunduğu başlıca katmandır (16). Deriden oldukça farklı olarak %68 tip I, %20 tip III ve %12 tip V kollajen içermektedir. Bağırsak düz kas hücrelerinde tip V kollajeni bağlayan reseptörlerinin bulunması, bu tabakada bulunan kollajenin muskularis mukoza ve muskularis propriadaki düz kas hücreleri tarafından salgılandığını göstermektedir (27). Olgunlaşma ve

yeniden yapılanma fazında düzgün yara iyileşmesinin sağlanması kollajen yapımı ve yıkımı arasındaki net dengeye bağlıdır. Benzer biçimde, GİS anastomozlarının iyileşme periyodunda da en önemli faktör, anastomozdaki kollajen miktarıdır.

Anastomozlardaki iyileşmenin ilk günlerinde doku kollajen miktarını gösteren hidroksiprolin düzeylerinde %20'ye varan azalma görülürken, 3. ve 4. günde anastomoz gerginliğinde giderek artan bir azalma tespit edilmiştir (28). Takip eden günlerde yara bölgesinde kollajen yapımı ve birikimi belirginleşmeye başlar. Bu artışla birlikte anastomoz kuvvetinde de yükselme meydana gelir. Deneysel incelemeler anastomoz yapıldıktan 2 gün sonra protein sentezinde artış olduğunu ve tüm segmentlerde kollajen miktarının yükseldiğini göstermiş, ameliyat sonrası 4–7. günler arasında ise kollajen birikiminin en fazla anastomoz uygulanan bağırsak segmentinde olduğunu göstermiştir (16, 18).

Ameliyat sonrası ilk 3-4 gün boyunca anastomozun bütünlüğü yaradaki açıklığın fibrin tıkaçı ile tıkanmasına ve bölgeyi sızıntıyı giderecek hale getirmesine bağlıdır. Bu dönemde anastomozun gerilme kuvveti, dikiş kuvvetine ve bağırsak duvarındaki submukozanın dikişleri tutma kapasitesine bağlıdır (29). Sol kolon rezeksiyonu ve anastomozunu takiben erken dönemde anastomoz hattında ve bu bölgenin 2 cm proksimali ile 0.5 cm distalindeki kolon duvarında kollajen düzeyinde belirgin bir düşüş görülmüştür (30). Hawley ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada da anastomoz hattına komşu bölgede daha fazla olmak kaydıyla, tüm kolonik segmentte kollajenolitik aktivitede artış saptanmıştır (31).

Diğer bir çalışmada kollajenolitik aktivitede artışa cevaben ortaya çıktığı öngörülen, anastomoz sonrası bağırsakta kollajen sentezinde erken bir artış olduğu bildirilmiştir (32).

2.3 Anastomoz İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler anastomoz iyileşmesini de etkilemektedir. Anastomoz hattında yetersiz kan akımı, anastomotik kaçak ve ayrılmasının en sık nedenlerinden biridir. Ameliyat sırasında bağırsak renginin gözlenmesi, mezenterik pulsasyonun ve bağırsağın kesilen kenarlarından yeterli kanamanın izlenmesi gibi bulgular anastomoz güvenilirliğinin değerlendirilmesinde her zaman yeterli olmamaktadır.

Anastomoz hattında kollajen yapım ve matürasyonunu etkileyen faktörler anastomoz iyileşmesini de etkilerler. Anastomozda komplikasyona sebep olan faktörlerin tümü submukozal bağ dokusunun da bozulmasına yol açar. Anastomoz iyileşmesini pozitif veya negatif yönde etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır.

Bunlar lokal ve sistemik faktörler olarak iki grupta incelenebilir.

Tablo 2.1. Anastomoz iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler

LOKAL FAKTÖRLER	SİSTEMİK FAKTÖRLER
Kan akımının yeterliliği	Yaş
Cerrahi teknik	Malnütrisyon
Lokal enfeksiyon	Hipoksi, anemi, hipoperfüzyon
Hematom	Hipovolemi
Denervasyon	Malign hastalıklar
İyonize radyasyon	Metabolik bozukluklar (sarılık, üremi, diabetes mellitus)
Mekanik travma	Steroid ve kemoteröpatik ajan kullanımı
Dikiş materyali ve tekniği	Alkolizm
Doku tipi	Kalıtsal kollajen doku bozuklukları
Drenler ve yabancı cisimler	Avitaminozlar
Mekanik bağırsak temizliği	Enfeksiyon
Hipertermi	Kan transfüzyonu
Bakteriyel kontaminasyon	Şok, sepsis, asidoz
Anastomoz gerginliği	İmmün yetmezlik
Sağlıklı doku uçları	Karaciğer hastalığı ve yetmezliği
Anastomoz distalinde obstrüksiyon	Sarılık
	Şişmanlık
	İlaçlar

2.3.1 Lokal faktörler:

a) Kan akımı

Anastomoz iyileşmesinde, anastomoz bölgesinin kan akımı ve oksijenizasyonu ile cerrahi teknik en önemli faktörler olarak sayılabilir. Kaba cerrahi teknik, aşırı mobilizasyon ve dikiş ile staplerin çok sıkı konulması

anastomoz perfüzyonunu, buna bağılı olarak da yara iyileşmesini bozan faktörlerdir (16).

Kollajen sentezinde kullanılan lizin ve prolinin hidroksilasyonunu gerçekleştiren hidroksilazlar, oksijen ve demire kofaktör olarak ihtiyaç duyarlar (21).

Matür kollajen oluşumu, parsiyel oksijen basıncı (pO₂) 40 mmHg'nın altına düştüğünde bozulur. 10 mmHg'nın altında ise büyüme faktörleri, damarlanma ve epitelizasyon zarar görür. Anemi, perfüzyon yeterli olduğu sürece yara iyileşmesine zarar vermez. Hastalarda kardiyak output yeterli oldukça ve periferik vazokonstriksiyon olmadıkça, normal değerlerin %15 aşağısına kadar hematokrit değerleri tolere edilebilir (33).

Hipovolemi yaraya oksijen iletimini ciddi olarak azaltacağından iyileşmeyi geciktirir. Dolaşan kan hacminin ameliyat sırasında %10'luk kaybı durumunda ameliyat sonrası üçüncü günde kolonik ve ileokolik anastomozlarda anlamlı düzeyde kollajen azalması tespit edilmiştir (34). Kan viskozitesinin artışı da kolonun vasküler dolaşımına zarar verir.

b) Cerrahi teknik

Anastomoz yapılırken bağırsağın aşırı ve kaba mobilizasyonu beslenmede kritik damarlara hasar vererek anastomozun bütünlüğüne zarar verebilir. Yetersiz mobilizasyon nedeniyle gergin anastomozlarda ise azalmış perfüzyona bağılı inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma görülür (35). Gerilime bağılı lokal mikro dolaşımın azalmasının en az tolere edildiği yer kolondur (16).

Cerrahi teknik, her ameliyatta başarılı sonuç alınmasını sağlayan en önemli faktörlerden biridir. Anastomoz kaçaklarını önlemek amacıyla çeşitli anastomoz teknikleri denenmiş ve sonuçlar araştırılmıştır. Lümen içine doğru katlanmaya yol açan seroza-seroza sütürü (inversiyon tekniği) ile lümen dışına katlanmaya yol açan mukoza-mukoza (eversiyon tekniği) ile anastomoz yapılabilir. Eversiyon tarzı sütür inversiyona göre daha az oranda lümen daralmasına ve daha az ödem oluşumuna neden olur. Buna karşılık iki yöntemde de mikroskopik olarak iyileşme süreci aynıdır (35, 36).

İlk kez Halsted, kolon anastomozlarında tek kat inversiyon sütürü önermiştir. Bu teknik ile daha az stenoz izlenmektedir. Ancak invert edilen doku miktarının en aza indirilmesine dikkat edilmelidir.

Anastomoz dikişlerinin tek veya çift kat olması açısından farklı görüşler ortaya konmuştur. Her iki teknik arasında anlamlı fark olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (37). Ancak çift kat anastomozun iskemiye ve doku hasarına neden olarak kaçak riskini arttıracak da düşünülmektedir (16). Kolon anastomozlarında aralıklı dikiş tekniğinin devamlı dikiş tekniğine göre daha olumlu sonuçlar verdiği de bildirilmiştir (30). Devamlı sütürde kollajen konsantrasyonunun anastomoz ile anastomozun proksimalinde daha az olduğu ve bu tip sütürün daha yüksek oranda komplikasyona yol açtığı gösterilmiştir (5). Peritoneal refleksiyon üzerindeki anastomozlarda tek veya çift kat anastomozlar arasında kaçak riski açısından fark olmadığı saptanmıştır (38). Bağırsak anastomozunda cerrahi tekniğe bağlı hatalar 4. ve 7. günlerde kaçak riskini artırır. Ancak kollajen sentezinin bozulması veya çeşitli nedenlerle bloke edilmesi daha

sonraki günlerde ortaya çıkan kaçaklara neden olabilir. Gerilim kuvveti ve ayrılma direncinin artmasında en önemli faktör, ihtiva ettiği kollajen miktarından daha çok, mevcut kollajenin intramoleküler ve intermoleküler kovalen bağlarının artmasıdır. Leslie ve arkadaşları, aralıklı serosubmukozal yapılan anastomozun altın standart olduğunu vurgulamışlardır (39).

c) Lokal enfeksiyon

Lokal enfeksiyon oluşması anastomoz kaçaklarının en önemli nedenlerinden biri olarak gösterilmektedir (31). Bakteri sayısı açısından kolon diğer GIS bölümlerine göre oldukça yüksek sayıda bakteri içerir. Bakteri sayısı midede milimetrede 10^3 iken, kolonda bu sayı 10^{11} olarak bildirilmektedir. Peritonun koruyucu fonksiyonu nedeniyle kolonda mikroorganizma sayısındaki yüksekliğe karşın, ortamda yabancı cisim olmaması halinde, anastomoz çevresinde enfeksiyon oluşturmak oldukça zordur. Periton bakterilerin fagosite edilmelerini hızlandırmaktadır (40). Lokal enfeksiyon inflamatuvar fazı uzatarak ve doku proteazlarının salgılanmasının artışı uyararak, yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler. Doku proteazlarındaki artış büyüme faktörlerinin yıkılmasına neden olur ve böylece epitelizasyonda ve kollajen birikiminde gecikme ortaya çıkar (33). Enfeksiyon yarada kollajenaz aktivitesini arttırarak kollajen miktarında da azalmaya neden olur (31).

d) Kan transfüzyonu

Kan transfüzyonları immün yanıtı baskılar ve anastomotik yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Kan transfüzyonunun iyileşmeye olumsuz etkisinin

peritoneal sepsiste artışa bağı olarak mı, yoksa iyileşme sürecinde direkt bozulmaya yol açarak mı olduğu açık değildir (16).

e) Dikiş materyalleri

Anastomoz iyileşmesi açısından hangi dikiş materyalinin ideal olduğu bilinmemekle birlikte, dikiş materyalinin ameliyat edilecek GİS parçasına göre seçilmesi önerilir. Dikiş, anastomoza yeterli mekanik destek sağlayacak kadar güçlü, fakat dokudan geçerken travmayı azaltacak ölçüde ince olarak seçilmelidir.

Emilebilir dikişler olan kromik katgüt, poligalaktin, poliglikolik asit ve polidioksanon, emilmeyen dikişler olan ipek, polipropilen, pamuk ve çelik GİS anastomozlarında kullanılmış ve anastomoz iyileşmesi ile aralarındaki ilişki hakkında farklı sonuçlar bildirilmiştir (16).

Çok lifli bir dikiş materyali olan poliglikolik asitin yıkım ürünleri antibakteriyeldir. Poliglikolik asit dışında çok lifli dikiş materyalleri, tek lifli materyallere göre daha fazla yara enfeksiyonuna neden olurlar (41).

GİS'te emilmeyen monofilaman dikiş materyalleri, başarılı anastomoz iyileşmesi sağlamada ideale en yakın olanlardır. Cerrahi staplerlerde kullanılan paslanmaz çelik minimal doku reaksiyonuna neden olur.

f) Hematom

Hematom ve yabancı cisimler özellikle ekstraperitoneal anastomozlarda enfeksiyon riskini artırarak iyileşmeyi olumsuz etkilemektedir (31).

g) İyonize radyasyon

Özellikle genel cerrahi ve jinekolojik cerrahide giderek artan radyoterapi kullanımı, beraberinde yara iyileşmesinin bozulması, enfeksiyon, anastomoz

kaçağı, anastomoz ayrılması, spontan perforasyon, fibrozis, striktür ve endarteritis obliteransa bağlı iskemi gibi erken ve geç komplikasyonların görülme oranını da arttırmıştır (16, 42). Neoadjuvan radyoterapiden sonra elektif cerrahi için 4-6 hafta ve postoperatif radyoterapi içinde en az 2 hafta beklemek gerekmektedir (43).

h) Mekanik bağırsak temizliği

Kolorektal cerrahide komplikasyonların önlenmesi açısından etkili mekanik bağırsak temizliği ile fekal yükün azaltılması uzun yıllar en önemli faktör olarak değerlendirilmiştir (44). Ancak son yıllarda farklı görüşler de bildirilmektedir. Burke ve arkadaşları kolorektal cerrahi öncesi bağırsak temizliği yapılan ve yapılmayan hasta gruplarında komplikasyon açısından anlamlı fark olmadığını vurgulamışlardır (45). Ayrıca Contant ve arkadaşları tarafından yapılan çok merkezli randomize bir çalışmada, elektif kolorektal cerrahi öncesi mekanik bağırsak temizliği uygulamasının terk edilebileceği sonucuna varılmıştır (46). Bağırsak temizliğinin anastomoz iyileşmesine etkisiyle ilgili Slim ve arkadaşları tarafından yapılan meta analizde, elektif kolorektal cerrahi öncesi bağırsak temizliği yapılmamasının ameliyat sonrası anastomoz kaçağı oluşumunda etkisinin olmadığı; üstelik subgrupların analizinde polietilen glikol ile yapılan mekanik bağırsak temizliğinin anastomoz kaçağı riskini arttırdığı bildirilmiştir (47). Sözü edilen meta analizde yer almayan iki randomize çalışma da bu bulguları desteklemiştir (48, 49).

i) Batın drenleri

Yumuşak, esnek ve doku reaksiyonu gelişmeyen malzemelerden olmalıdır. Dren yerleştirilirken dikkat edilmeli organ ve damar erozyon ihtimali akılda

tutulmalıdır. Uzun süre bırakılan drenlerde enfeksiyon, fistül ve çevre dokuda striktür, tıkanma oranı artar (50).

2.3.2 Sistemik faktörler

a) Yaş

Kolon cerrahisini ileri yaşta yapılması anastomoz kaçak riskini arttırmaktadır. 60 yaş üstü hastalarda anastomoz kaçak riski anlamlı düzeyde yükselmektedir (51). İleri yaş grubu hastalarda görülen kardiyak, respiratuar veya malnütrisyon gibi yandaş sorunlar ile bu grup hastada ilaç kullanımının sıklığı anastomoz kaçaklarında, bu faktörlerin de etkili olabileceği görüşünü akla getirmiştir. Bununla birlikte Stoop ve arkadaşları sıçan modellerinde yaptıkları deneysel bir çalışmada, ileri yaştan tek başına ileal ve kolon anastomozlarında kollajen içeriğini ve dayanıklılığını etkilemediğini göstermişlerdir (52).

b) Hipovolemi

Hipovolemi doku perfüzyonunu azaltarak yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler (51). Düzgün yara iyileşmesi için yeterli doku perfüzyonu vazgeçilmez olup, kan kaybının hızla yerine konulması gerekmektedir. Schrock ve arkadaşları tarafından yapılan klinik bir çalışmada ameliyat sırasında 15 dakikalık düzensiz hipotansiyonun anastomoz kaçak riskini arttırdığı bildirilmiştir (43).

c) Anemi

İyileşen yarada, oksijen ve beslenme elementlerinin temini açısından mikrosirkulasyon çok önemlidir. Hipoksi ve hipovolemi ile beraber olan ciddi

anemi yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Anemik hastada yara yeri iyileşmesi gecikir ve yara ayrışması daha sık görülür.

d) Malnütrisyon

Hipoproteinemi, malnütrisyonlu hastalarda kollajen yapımını bozarak anastomoz iyileşmesinde belirgin düzeyde gecikmeye neden olur (53). Ameliyat sonrası erken dönemde katabolizmanın artışı ve protein tüketimi nedeniyle, yara iyileşmesinde duraklama meydana gelmektedir. Daly ve arkadaşları protein kısıtlaması uygulanmış sıçanlarda anastomoz sonrası kolonik patlama basıncında azalma olduğunu ve bunun en önemli nedeninin protein kısıtlaması ile aminoasit kullanımının bozulması olduğunu bildirmişlerdir (54). Diyetle yer alan lifli gıdaların fermentasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitlerinin epitelyal hücre proliferasyonunu uyardığı ve bunların direk olarak intralüminal infüzyonunun kolonik anastomoz iyileşmesini hızlandığı da bildirilmiştir (16).

e) Vitamin eksiklikleri

Yara iyileşmesi için enerjiye ve hastanın yeterli beslenmesine ihtiyaç vardır. Hastanın malnütre olması onarım için gerekli olan vitamin ve minerallerde yetersizliğe yol açtığından, yara iyileşmesinde problemler için predispozandır. Bunlar çinko ve bakır gibi kollajen sentezi ve çapraz bağlar için gerekli olan A, C ve B6 vitaminleridir (33, 55).

f) İlaçlar

- Kortikosteroidler: Yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkisi uzun yıllardır bilinmektedir. Kollajen sentezini ve fibroblast

proliferasyonunu baskırlar. Yara gerilim kuvvetini azaltır, kontraksiyonu inhibe eder.

- Nonsteroid anti-inflamatuar (NSAİ) ilaçlar: Kollajenolizi azaltarak ilk başlarda yara iyileşmesinde geciktirici rol oynarlar (16).
- Kemoterapötikler: İmmun baskılayıcı ve kollajen sentezini azaltıcı etkilerinden dolayı yara iyileşmesi üzerine olumsuz etki yaparlar (16). Tüm kemoterapötikler antimetabolit ajanlar erken hücre proliferasyonunu baskılayıp yarada DNA ve protein sentezini kısıtlayarak yara iyileşmesinde olumsuz sonuçlar doğurmaktadır (56).

g) Metabolik hastalıklar

- Diabetes mellitus: Yarada enfeksiyon oranını arttırmaktadır (57). İnflamasyonda görev alan nötrofil, makrofaj ve lenfosit fonksiyonlarının bozulmasına ve fibroblast proliferasyonunu bozarak, kollajen depolanmasının azalmasına yol açmaktadır. Diabetik sıçanlarda bağ dokusu yapımındaki eksikliğe paralel olarak yara gücünün azaldığı gösterilmiştir (58). Lökositlerin kemotaksis, fagositoz ve hücre içi bakteri öldürme fonksiyonlarını azaltarak, enfeksiyona ve tıkalıcı periferik vasküler hastalıklara yatkınlığı artırır. Verhofstad ve Hendriks tarafından yapılan deneysel bir çalışmada diyabetik sıçanlarda ameliyat sonrası 3. günde anastomoz iyileşmesinin olumsuz etkilendiği ancak hidroksprolin konsantrasyon ve içeriğinin değişmediği gösterilmiştir (58).

- Sarılık: Sarılık varlığında yara ayrışması ve insizyonel herni ihtimali yüksektir. Bu hastalarda fibroblastlar geç ortaya çıkar, damarların oluşması gecikir ve yara direnci düşer (16).
- Siroz ve üremi: Karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu protein sentezi ve immün sistem üzerinde negatif etki yaparlar. Bu da yara iyileşmesinde gecikme ve enfeksiyon riskinde artmaya yol açar (43, 59).
- Sepsis: Kollajen yıkımı artar yapım azalır. Bu da anastomoz iyileşmesini bozar.
- Obezite: Cilt altı yağ dokusunu fazla olması, ölü boşluğun kapatılması ve hemostaz güçlüğüne yol açarak enfeksiyon riskini artırır (60).

h) Isı

Fazla sıcak ve soğuk, doku hasarı ve vasküler tromboz yapabileceği için iyileşmeyi geciktirir. Çevre ısısı 20°C'den 12 °C'ye düşürülürse yaranın gerilme direnci % 20 azalır (61).

2.4 Anastomoz İyileşmesini İnceleme Yöntemleri

Anastomoz iyileşmesinin parametreleri mekanik, biyokimyasal ve histolojik olarak incelenebilir.

2.4.1 Mekanik inceleme yöntemleri

a) Anastomoz patlama basıncı

Patlama basıncı, artan intraluminal basınca karşı duvar direncini gösteren bir parametredir. Bu yöntemin esası, patlama basıncı ölçülecek barsak parçasının su banyosu içerisinde hava veya boya ilave edilmiş sıvı ile şişirilmesi ve manometre aracılığı ile basıncın kaydedilmesidir. Bu yöntemin kullanımının Clumsky'e dayanan 90 yıllık bir geçmişi vardır.

İntraluminal basıncın uygun hızda arttırılmasının (2-12 ml H₂O/dk) sonucu daha güvenilir kıldığı saptanmıştır. Bu parametre kullanılarak yapılmış birçok deneysel çalışma incelendiğinde, patlama basıncı değerlerinin çalışmalar arası kıyaslamanın uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Çalışmalardaki patlama basınçları ancak aynı çalışmanın kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı ve güvenilir değerlendirmeler yapılabilmiştir. Literatürde belirli bir modelde (enfeksiyon, lavaj, nutrisyon vs.) ve belirli bir segmentte (ileum, çıkan kolon, sigmoid vs.) yapılmış anastomozlar için birer ortalama değer vermenin doğru olmayacağı gösterilmiştir (113, 114).

b) Kopma direnci (Ayrılma kuvveti)

Barsak segmentinin uzun eksenine paralel olarak kesip çıkartılan bir barsak şeridinin iki ucuna zıt yönde uygulanan ve kopmaya yol açan kuvvettir. Bu işlem ölçüm için geliştirilen "tensiometer" (gerilim ölçer) cihazı ile yapılmaktadır. Postoperatif 4-9 günden itibaren başlayan yeni kollajen sentezi ile paralellik gösterir. Anastomozdan 10 gün sonra anastomozun kopma direnci, opere

edilmemiş kolonun yaklaşık % 50'sidir. Patlama basıncından daha yavaş olarak yeniden kazanıldığı için yara iyileşmesinin geç dönem belirticidir. Bu yöntem, uygulanan kuvvetin tüm duvara eşit olarak dağılmasının mümkün olmayacağı varsayılarak birçok araştırmacı tarafından eleştirilmiş ve güvenilir kabul edilmemiştir (114).

2.4.2 Biyokimyasal yöntemler

Anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal parametresi kollajen konsantrasyonudur.

a) Hidroksiprolin tayini:

Kollajen submukozal dokudadır ve barsak duvarının devamlılığını ve mekanik kuvvetini oluşturur. Hidroksiprolin omurgalıların dokularında hemen hemen yalnızca kollajende (kollajende % 14 ve elastinde % 2) bulunur, diğer hayvan proteinlerinde önemli miktarda yoktur. Hidroksiprolin dağılımının tek tipliliği; bu aminoasidi iyileşme sürecinin gözlenmek istendiği dokulardaki kollajen metabolizması çalışmalarında yararlı bir belirteç yapar (115).

Hidroksiprolin düzeyi birim yaş dokuda ağırlık olarak ($\mu\text{g}/\text{mg}$ yaş doku) verilmektedir. Bu değer nonkollajenöz matriks materyallerini de içermektedir. Ancak bu ihmal edilebilir bir değerdir ve hidroksiprolin düzeyinin bire bir kollajen içeriğini yansıttığı kabul edilmiştir.

Anastomoz iyileşmesinde kollajen içeriği kadar kollajenin kalitesi ve çaprazlaşma yeteneği de önemlidir; ancak bunu direkt olarak belirleyen bir yöntem yoktur (113, 114).

b) İntramural pH ölçümü:

Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesini değerlendiren bir diğer biyokimyasal yöntem de intramural pH ölçümüdür. Teknik olarak zor olmasına rağmen anastomoz bölgesinin kanlanması ve dolayısıyla yara iyileşmesi açısından kantitatif veriler elde edilebilir (114).

2.4.3 Histopatolojik değerlendirme

İnflamatuvar göç, nekrozun derecesi, kapiller ve mukozal onarımın durumu semikantitatif olarak belirlenmiş ve çeşitli skorlamalara tabi tutularak anastomoz iyileşmesinin belirteci haline getirilmiştir. Nekrozun ve inflamatuvar göçün fazla oluşu granülosit kökenli kollajenaz aktivitesinin artması ve dolayısıyla daha zayıf iyileşme ile sonuçlanmaktadır (116).

Bu çalışmada daha öncede bahsedildiği gibi radyoterapinin kolondaki anastomotik yara iyileşmesine olan olumsuz etkilerini NF- κ B inhibitörü olan celastrol ile azaltılabileceği düşünülerek, celastrol'un radyoterapi uygulanmış anastomozdaki etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla preoperatif radyoterapi uygulanan ve sonrasında kolon rezeksiyonu ve re-anastomoz yapılan ratlara celastrol verilmiş ve barsak anastomozunu içeren kolon segmentinde daha öncede bahsedilen yöntemler kullanılarak, patlama basıncı ölçülmüştür. Ayrıca

anastomozu içeren kolon segmenti rezeke edilerek histopatolojik olarak değerlendirilip, dokuda hidroksiprolin ve NF-κB düzeyi araştırılmıştır.

2.5 Radyoterapi

1895 yılında X ışınlarının Wilhelm Conrad Roentgen tarafından keşfinden sonra 1898 yılında Marie ve Pierre Curie radyumu keşfetmişlerdir. İyonizan radyasyonun hücreler üzerine öldürücü etkileri bulunması üzerine ilk defa 1899'da kanserli bir hastada radyoterapiye bağlı kür bildirilmiştir (62).

1951'de radyoaktif cobalt (Co-60) ile tedavi dönemi başlamış ve sonrasında yüksek enerjili (megavoltaj) ışın üreten lineer cihazlar geliştirilmiş. Bu sayede toraks ve batin içi derin dokulardan kaynaklanan habis tümörlerde başarı sağlanmıştır (63).

İyonizan radyasyon, dokular tarafından absorbe edildiğinde atomlardan elektronlar ayırarak iyonizasyonuna neden olan radyasyon olur ve iki gruba ayrılır.

- Elektromanyetik dalgalar, foton denilen enerji yığınlarından meydana gelir.
- Partiküler radyasyon ise elektronlar, beta partikülleri, pozitronlar, alfa tanecikleri, nötronlar ve yüksek enerjili ağır iyonlardır (64).

Radyoterapinin, eksternal radyoterapi ve brakiterapi olmak üzere iki ana uygulama şekli vardır.

A-External radyoterapide hasta ile cihaz arasında birkaç cm ile birkaç metre arasında değişen aralık mevcuttur.

B-Brakiterapide ise radyasyon kaynağı tel iğne, plak şeklinde direkt dokunun içine (interstisyel) veya intrakaviter olarak yerleştirilir. Brakiterapinin avantajı, komşu normal dokulara fazla zarar vermeden tümör dokusuna daha kısa zamanda daha yüksek doz radyasyon verebilmesidir (64).

Uluslararası sistemde iyonize radyasyon birimi Gray'dir. Bir Gray (Gy), dokunun birim ünitesi tarafından absorbe edilen enerji miktarıdır. Bir Gy=100 cGy (CentiGray) olup 1 cGy=1 rad'dır. Pratikte genellikle cGy ve rad birimleri kullanılır (64).

2.5.1 Radyasyonun hücre üzerindeki biyolojik etkileri

Radyasyon, bir moleküle isabet edince ilk ve en önemli etkisi, molekülün dış yüzeyindeki elektronları ayırarak molekülü iyonlaştırmaktır. Yüksek doz (letal doz), DNA zinciri üzerindeki onarılması mümkün olmayan kırıklar oluşturarak hücre ölümüne yol açar. Letal dozun altındaysa hücre bölünmesi duraklar. Doz düşükse bölünme bir süre sonra yeniden başlar. Doz arttıkça bölünmenin başlama zamanı uzar, mitoz sayısı azalır, anormal mitoz şekilleri ve dejenere hücreler ortaya çıkar, gen mutasyonları ortaya çıkar (64).

Radyasyonun hücreye etkisi iki yolla olur.

- Birinci etki, hücrede su moleküllerinin iyonizasyonu sonucu serbest radikallerin oluşması ve bunların birleşmesiyle oluşan hidrojen peroksitin DNA zincirinde parçalanmaya yol açmasıdır.

- İkinci etki biçimi ise, iyonizan partiküllerin direkt DNA molekülüne çarpması ve onda kopmalar meydana getirmesidir. Kopma ciddi bir bölgedense hücre ölür, değilse sakat hücre tipleri ortaya çıkar (64).

Radyasyonun etkisi hücre siklus fazına göre farklıdır. Mitoz (M) ve ikinci dinlenme fazı (G2) radyosensitifken, birinci dinlenme (G1) ve sentez (S) fazları radyorezistandır (65).

2.5.2 Radyasyonun dokular üzerindeki etkileri

Radyasyonun dokular üzerindeki etkileri, belirtilerin ortaya çıkış zamanına göre erken ve geç dönem olmak üzere iki aşamalıdır (64).

- Erken dönem etkileri: gastrointestinal mukoza, kemik iliği, testisin germinatif hücreleri gibi hızlı çoğalan dokularda proliferasyona olumsuz etki nedeniyledir. Radyoterapiden saatler ya da günler sonra ortaya çıkar ve geçicidir.
- Geç dönem etkileri: tedaviyi takip eden 6 ay ile 6 yıllık bir dönemde ortaya çıkar ve ilerleyicidir. Geç dönemde dokularda meydana gelen değişiklikler üç grupta incelenebilir (64).

1) Epitelyal ve parankimal değişiklikler

- a) Atrofi
- b) İskemik nekroz
- c) Metaplazi

- d) Atipi
- e) Displazi
- f) Neoplazi

2) Stromal değişiklikler

- a) Fibrozis
- b) Atipik fibroblastlar
- c) Fibrinöz eksuda
- d) Nekroz

3) Vasküler değişiklikler

Radyoterapide amaç, en az komplikasyon ve en etkin dozla tedavidir. Toplam dozun fraksiyone verilmesi cilt ve mukozalarda kompensatuar proliferasyona neden olacağından daha az komplikasyona yola açar. Bu nedenle çoğu zaman, akut reaksiyon şiddeti ile geç dönem komplikasyonları arasında direkt bir ilişki yoktur.

Cerrahinin başarısını arttırmak amacıyla radyoterapi preoperatif, intraoperatif veya postoperatif uygulanabilir. Preoperatif radyoterapide amaç;

1) Cerrahi rezeksiyon sınırlarının çevresindeki subklinik seyreden hastalığı ortadan kaldırmak ve lokal nüksü önlemek (66, 67),

2) Operasyon sahasındaki canlı tümöral hücre sayısını azaltarak tümör implantasyon olasılığını azaltmak (68, 69),

3) Operasyon alanının dışındaki lenf bezi metastazlarını ortadan kaldırmak (69, 70, 71),

4) Tümördeki klon oluşturabilen hücre sayısını azaltarak, uzak metastaz olasılığını azaltmak (70),

5) Tümör rezektabilitesini arttırmak (68, 71),

6) Sürviyi uzatmak (68, 70, 72).

Preoperatif radyoterapinin en büyük dezavantajı ise, radyasyon hasarının oluşturduğu dokuların iyileşme problemidir (70, 73). Radyoterapi yapılan bölgede fibroblast hasarı ile birlikte meydana gelen kollajen hasarı ve stromadaki düzensizlik nedeniyle iltihabi ve mezenkimal hücrelerin bölgeye göçü engellenir (64). Mikrovasküler alanda gelişen hipoksi enfeksiyona zemin hazırlar (74). Radyasyonun tüm bu olumsuz etkileri nedeniyle yara iyileşmesi gecikir. Radyasyon, çoğunlukla doza bağlı olarak intestinal mikrosirkülasyonda bozulmalar yaparak anastomoz kaçağı oranındaki artıştan da sorumlu tutulmuştur (64).

Postoperatif radyoterapide tümör hücrelerinin operasyon sırasında operasyon alanının dışına dağılarak radyasyon alanın dışında kalması ve cerrahi rezeksiyon sonrasında nisbeten hipoksik olması nedeniyle bu dokuların kısmen radyorezistan hale gelmeleri postoperatif radyoterapinin dezavantajını oluşturmaktadır (64).

2.6 Nükleer Faktör Kappa - B

2.6.1 Tarihçe

İlk kez 1986 yılında Sen ve Baltimore tarafından keşfedilen Nükleer Faktör-KappaB (NF-κB) bir transkripsiyon faktörüdür. NF-κB başlangıçta, farelerde B lenfositlere özgü immunoglobulin K hafif zincir (light chain) geninin ekspresyonunu düzenleyen bir protein olarak tanımlanmıştır. Başlangıçta bu transkripsiyon faktörünün sadece B hücrelerinin olgunlaşması ve gelişimi için önemli olduğu düşünüldüğünden NF-κB olarak adlandırılmıştır. İleriki çalışmalarda ise NF-κB'nin B ve T lenfositler, fibroblastlar, keratinositler ve monositik makrofaj soyları gibi çeşitli hücre tiplerinde eksprese edilen ve birçok genin uyarılabilir ekspresyonu için önemli bir düzenleyici protein olduğu saptanmıştır (75). Devam eden çalışmalar, NF-κB'nin aslında tek bir protein olmadığını, transkripsiyon faktörü olarak rol oynayan bir protein kompleksi olduğunu anlaşılmıştır. İlk olarak nükleer ekstraktlardaki varlığıyla tanımlanan NF-κB'nin moleküler özellikleri EMSA adı verilen bir değerlendirme yöntemiyle açığa çıkarılmıştır (76). Araştırmalar, NF-κB'nin sadece B hücresine spesifik bir protein olmayıp gerçekte bir pleiotropik ve latent sitoplazmik transkripsiyon faktör prototipi olduğunu göstermiştir (77).

2.6.2 NF- κ B'nin yapısı

Sirke sineği, *Drosophila melanogaster*'den insana kadar tüm omurgalı canlılarda varlığı gösterilen NF- κ B proteinleri, retroviral onkoprotein v-Rel ile yapısal homoloji gösterdiğinden Rel ailesi proteinleri olarak da bilinmektedirler.

NF- κ B tüm canlı hücrelerin sitoplazmasında inaktiftir ve aktive edildiğinde hızla nükleusa gidip, bir kaskad aktifleşmesine neden olur. NF- κ B yapısal olarak akraba beş memeli proteininden oluşmaktadır. Bunlar: NF- κ B1 (p50 ve prekürsörü p105), NF- κ B2 (p52 ve prekürsörü p100), p65 (RelA), c-Rel ve RelB'dir. NF- κ B inhibitör proteinler; I κ B α , I κ B β , I κ B γ , I κ BNS, I κ B ϵ , bcl-3 ve prekürsör proteinler olan p105 ile p100'dür (78). NF- κ B/I κ B kompleksi, NF- κ B'nin aktivasyonunda hız kısıtlayıcı basamak olarak bilinmektedir (79, 80).

2.6.3 NF- κ B'nin işlevi ve aktivasyonu

NF- κ B protein kompleksleri, immün ve inflamatuvar yanıt da dahil olmak üzere, hücre yaşamının devamı, proliferasyonu, anjiogenez ve apoptozisle ilişkili 400'den fazla farklı gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Normal hücrelerde NF- κ B'nin aktivasyonu sıkı kontrol altındadır. Bununla birlikte, patojenler, oksidan maddeler, enflamasyon mediyatörleri ve büyüme faktörleri NF- κ B aktivasyonuna neden olmaktadır. NF- κ B aktivasyonunun oksidatif stresle ilişkisinden dolayı NF- κ B, redoks duyarlı transkripsiyon faktörü olarak da tanımlanmaktadır (81, 82).

2.6.4 NF-κB aktivasyon yolağı

NF-κB sinyal yolu, klasik ve alternatif olarak iki şekilde olabilmektedir (83) (Şekil 2.1).

Klasik yolda; örneğin proinflatuvar sitokin TNF α , IKK kompleksinin β alt ünitesini uyararak aktive eder. IKK kompleksi, NF-κBIA ($I\kappa B\alpha$) molekülünün N-terminal yakınındaki 2 spesifik serin (Ser32 ve Ser34) bölgesini fosforile eder. Böylece hedef $I\kappa B$ molekülü 26S proteosom aracılığıyla yıkılır 26S proteosom, ökaryotik organizmaların çekirdek ve sitoplazmasında bulunan, esas görevi proteinleri yıkmak olan, büyük (1500-2000 kDa) multikatalitik bir enzim kompleksidir (84). Bu enzim çeşitli hücre düzenleyicilerin ve p53, Bcl-2, p21, p27 gibi apoptozisi indükleyici faktörleri ve A, B, D, E siklinlerinin yıkılmasını sağlar (85).

Alternatif yolda; IKK kompleksinin α alt ünitesi aktive edilir ve p100 veya p105 proteininin C-terminal ucundan fosforile eder. Fosforile edilmiş olan p100 ubiquitin ligaz mekanizması tarafından tanınır. Ubiquitin ligazlarca polibiküitinasyona uğrayan p100 proteinleri bunun sonucunda C-terminalinden proteozomlarca yıkılım meydana gelir (86). Bunun sonucunda p105'in amino-terminal yarısından oluşan p50 meydana gelir .

2.6.5 Fizyolojik ve patolojik olaylardaki önemi

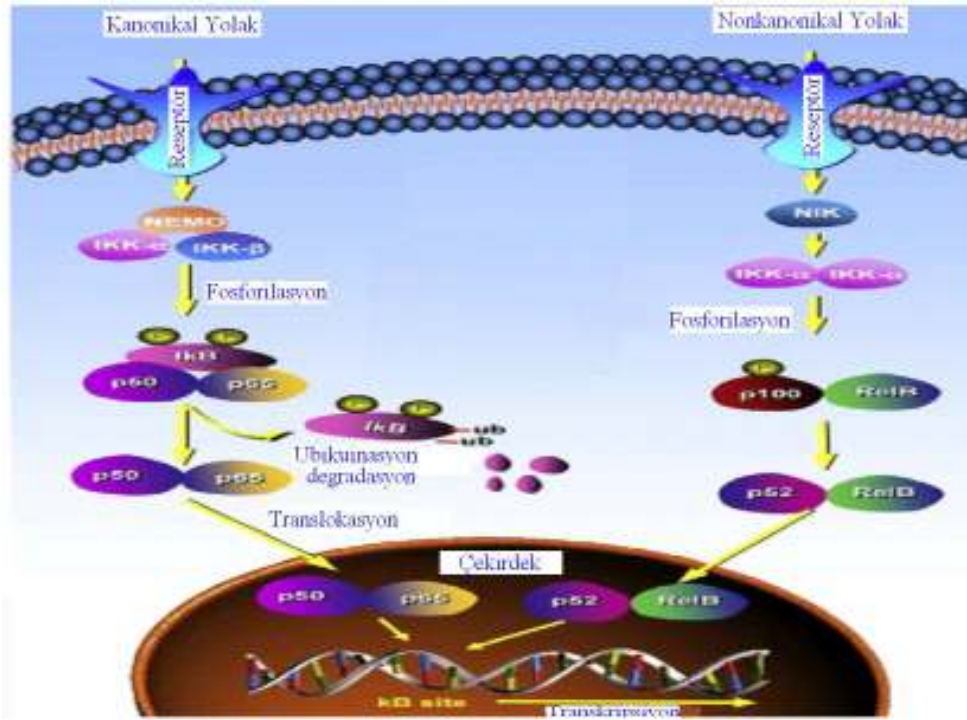
NF- κ B'yi aktive edebilen uyaranların sayısının şaşırtıcı derecede fazla olması ve aktive ettiği fonksiyonel κ B alanında bulunan yaklaşık 100 gen, NF- κ B'nin normal canlı fizyolojisinde ve hastalıkların oluşumunda önemli bir role sahip olduğunu düşündürmektedir (87, 88).

Nitekim çok sayıda araştırmanın sonuçları NF- κ B aktivitesindeki artışın, insanlarda pek çok kanser türünün gelişiminde ve devamında önemli bir rol oynadığını göstermektedir (89, 90, 91) Bunun dışında son yıllarda insülin direnci, kaşeksi, Alzhemier hastalığı, transplant toleransı/greft reddi, iskemi/reperfüzyon hasarı, inkontinensia pigmenti ve çeşitli inflamatuvar hastalıkların, NF- κ B deregülasyonu ile ilişkisi kurulmuştur (92, 93). NF- κ B'nin ilgili olduğu fizyolojik (yeşil renkle) ve patolojik olaylar (sarı renkle) Şekil 2.2'de gösterilmiştir (94).

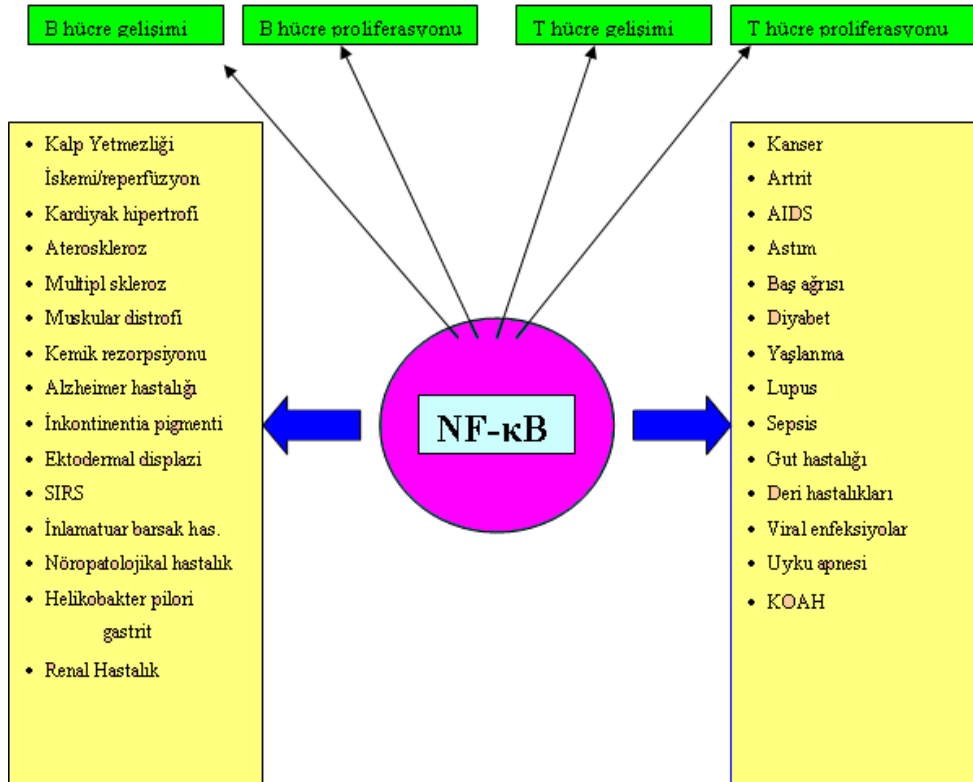
IL -1 ve TNF- α gibi pek çok enflamatuvar araç NF- κ B'nin aktivasyonun akabinde nükleer translokasyonuna yol açar. Bu durum inflamatuvar yanıt, gelişim (angiogenez) ve hücre adezyonunu içeren gen ürünlerinin transkripsiyonunu sağlar. NF- κ B hücre adhezyon moleküllerinin (intercellular adhesion molecule [VCAM]-1, E selectin, tenascin C), vasküler endotelial büyüme faktör ve MMP-2 ve MMP-9 (extracellular matrix'in yıkımından sorumlu)'un ekspresyonunu teşvik eder (95). NF- κ B ayrıca indüklenbilir nitrik oksit sentaz, siklooksijenaz, (COX)-2, 5- ve 12-lipooksijenaz, kemokinler ve sitokinler (IL-1 ve TNF- α) gibi enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu da kapsamaktadır. COX-2'nin agresif kolorektal kanserlerde upregüle edildiği ve angiogenesisi desteklediği

saptanmıştır. Nitrik oksit, prostaglandinler, IL-1 ve TNF- α gibi aracılar kan basıncı, trombosit agregasyonu ve vücut ısısı regülasyonunda görev alırlar (96).

NF- κ B aktivitesinin enflamatuvar barsak hastalığı, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, romatoid artrit ve astım gibi kronik enflamatuvar hastalıklarda rol aldığı saptanmıştır (96). Kronik enflamasyonda NF- κ B'nin devamlı aktivasyonu tümör başlangıcına katkısı olabilir. Transkripsiyon faktörünce aktive edilen antiapoptotik genler nedeniyle, hücreler apoptozise gidecekken, tam tersi hücrelerin hayatta kalmaları ve o sebeple de prekanseröz lezyonların oluşumuna izin verilmiş olunur. Örneğin, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ya da IL-1 geninin devamlı aktivasyonu (ki; her ikisi de NF- κ B aktivasyonu ile tetiklenir) gastrik kanserin gelişimi için risk oluşturan faktörlerdir. Devamlı NF- κ B aktivasyonu, enflamatuvar barsak hastalığı, ülseratif kolit ya da Crohn hastalığı olan hastalarda, kolit ilişkili kanser gelişiminden de sorumlu olabilir (97).



Şekil 2.1. NF-κB aktivasyonunun klasik ve alternatif yolları



Şekil 2.2. NF-κB'nin ilgili olduğu fizyolojik ve patolojik olaylar

2.6.6 NF-κB inhibisyonu yapan doğal bileşikler

NF-κB'nin antiinflamatuvar olarak, otoimmünite ve malign hastalıklarda rolü anlaşılmaya başlanınca son zamanlarda ilaç olarak kullanılmak NF-κB inhibitörü olarak fonksiyon görececek birçok bitki derivesi elde edilmeye başlandı.

Bunlar:

- Lignans (manassantins, saucernetin, saucerneol methyl ether),
- Sesquiterpenes (costunolide, parthenolide, celastrol, celaphanol A),
- Diterpenes (excisanin, kamebakaurin),
- Triterpenes (avicin, oleandrin),
- Polyphenols (resveratrol, epigallocatechin gallate, quercetin) (98).

2.7 Celastrol

Tripterin olarak da bilinen yüzyıllardır geleneksel olarak Çin'de 'Thunder of God Vine' olarak adlandırılan ilaştır. Celastraceae bitki ailesine ait olan Güney Çin'de yetişen *Tripterygium Wilfordii*'nin ekstresidir (99). İlk kez 1981'de Kutney tarafından elde edilmiştir (100). Thunder of God Vine Çin'de yüzyıllardır ateşli hastalıklarda eklem ağrılarında ve ödem tedavisinde kullanılmıştır.

2.7.1 Celastrol fonksiyonları

Hayvan modellerinde antiinflamatuvar özelliğinden dolayı Alzheimer (101), astım (102), sistemik lupus eritematozus (83, 103) ve romatoid artrit (2) kullanılmıştır. Ayrıca prostat kanserlerinde (104), glioma (105) ve lösemide (106) tümör hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etmiştir.

Proinflamatuvar stokinlerin (107), MHC II antijeninin (101), inducible nitrik oksit sentazın (108), endotelial hücrelerde adezyon moleküllerinin (109), proteaz aktivitesinin (104), topoizomeraza (106), K kanallarının (61) ekspresyonunda rol alır. TNF ile oluşan apoptozu potansiyelize eder, NF- κ B ile regüle olan antiapoptotik gen üretimini down regülasyon ile inhibe eder (100). TNF ile oluşan tümör hücre invazyon aktivitesini inhibe eder. NF- κ B'yi inhibe eder, ancak yapmış olduğu inhibisyon hücre tipine özgü değildir. Heat shock transkripsiyon faktörü inhibisyonu ile heat shock protein gen ekspresyonuna neden olur (110).

NF- κ B inhibitörleri (plumbagin, herbimisin A, kafeik asit gibi) NF- κ B'yi DNA'sına bağlanarak inhibe ederler. Celastrol ise NF- κ B'yi DNA'sına bağlanmaksızın inhibe eder (100). Mitokondrial membranda negatif yüzey oluşturarak potansiyel bir lipid peroksidasyon inhibitörüdür (111, 112). Antiperoksidatif fonksiyonunda dienonefenol ve aniyonik karboksil grubu rol alır. Fenol kısmı direkt olarak radikalleri temizler. Yazarlar celastrolün mitokondri membranında negativiteyi artırarak oksijen radikallerinin oluşumunu engellediğini savunmuşlardır.

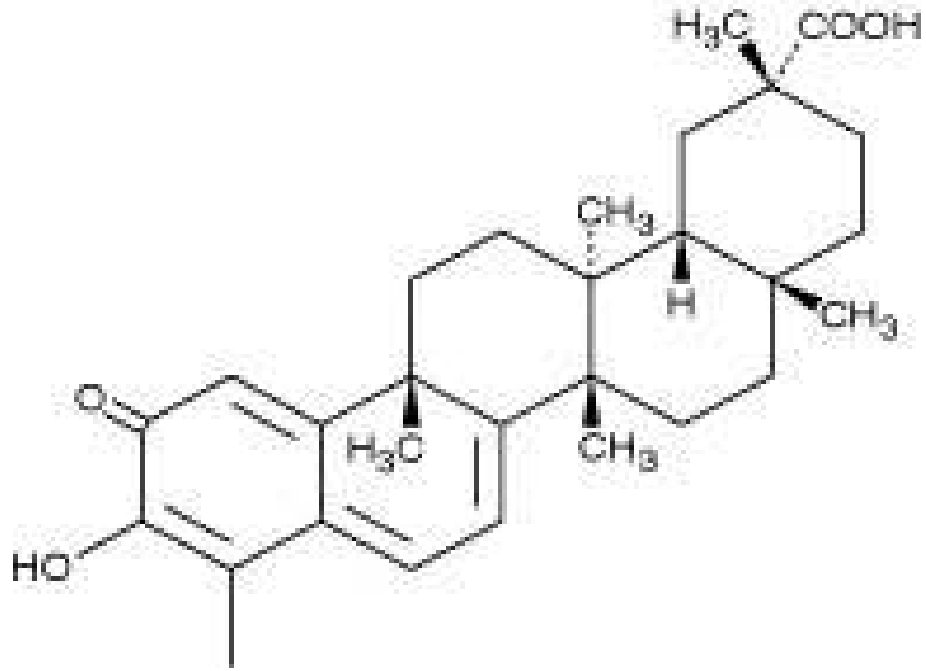


Resim 2.1. Tripterygium Wilfordii

2.7.2 Kimyasal formül:

C₂₉H₃₈O₄

Tripterin; Tripterine; 3-Hydroxy-24-nor-2-oxo-1(10),3,5,7-friedelatetraen-29-oic acid;(2R,4aS,6aS,6aR,14aS,14bR)-10-hydroxy-2,4a,6a,6a,9,14a-hexamethyl-11-oxo-1,3,4,5,6,13,14,14b-octahydronicene-2-carboxylic acid



Şekil 2.3. Celastrol'ün kimyasal formülü

3 MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM)’nden elde edilen ağırlıkları 250-300 gr olan 64 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Hayvanlar ameliyattan 1 hafta önce laboratuvar koşullarına alınarak, 21°C’de barındırılarak, standart rat yemeği ile beslendi. Çalışma hayvan etik kurul onayı ve Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) desteği alındıktan sonra yapıldı.

Ratlar randomize olarak dört gruba ayrıldı;

Kontrol grubu (n=20): Kolon rezeksiyonu + re-anastomoz

RT grubu (n=20): Preoperatif radyoterapi + Kolon rezeksiyonu + re-anastomoz

Celastrol grubu (n=20): Celastrol + Kolon rezeksiyonu + re-anastomoz

RT + Celastrol grubu (n=20): Preoperatif radyoterapi + Celastrol + Kolon rezeksiyonu + re-anastomoz

3.1 Radyasyon Tekniği

Radyoterapi öncesi kontrol grubundaki ratlar dahil olmak üzere tüm hayvanlara laparotomi. Çekum sağ üst karına suture edilerek proksimal barsağın radyasyon alanından uzaklaştırılması sağlandı. Anastomoz öncesi radyoterapi 6-MV ışın üreten bir lineer akseleratör kullanılarak 5 gün ve her gün 5 Gy standart fraksiyonlarda toplam 25 Gy verildi (Resim 3.1).



Resim 3.1. Radyoterapi uygulanması (Cirrus Cobalt 60 cihazı)

3.2 Celastrol Uygulanışı

Celastrol, 1:10 oranındaki dimethyl formamide (DMF):PBS (pH 7.2) solüsyonunda 1 mg/ml olacak şekilde çözüldü. Ratlara preoperatif radyoterapi süresince yani 5 gün boyunca 3 mg/kg/gün dozunda intraperitoneal (i.p.) olarak verildi.

3.3 Operatif Prosedür

Ameliyatlara steril olmayan ancak temiz koşullarda gerçekleştirildi. Anestezi 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Alfamin, Egevet Hayvancılık San. Ve

Tic. Ltd. Şti) ve 8 mg/kg xylazin (Alfazin, Egevet Hayvancılık San. Ve Tic. Ltd. Şti) karışımı ile intraperitoneal enjeksiyon yolu ile uygulandı. Deneklere herhangi bir kolon temizliği yapılmadı. El becerisinin sonuçları etkilememesi için, her gruptan denekler karışık olarak aynı cerrah tarafından ameliyat edildi. Sırt üstü yatar pozisyonda ameliyat masasına tespit edilen ratların karın tüylerinin temizlenmesinin ardından karın derisi %10'luk povidon iyodür (İsosol, Merkez Lab, Türkiye) solüsyonu ile temizlendi Steril koşullarda karın 3-4 cm'lik medial insizyonla ile açıldı (Resim 3.2).



Resim 3.2. Rat'ın karın medial insizyonu

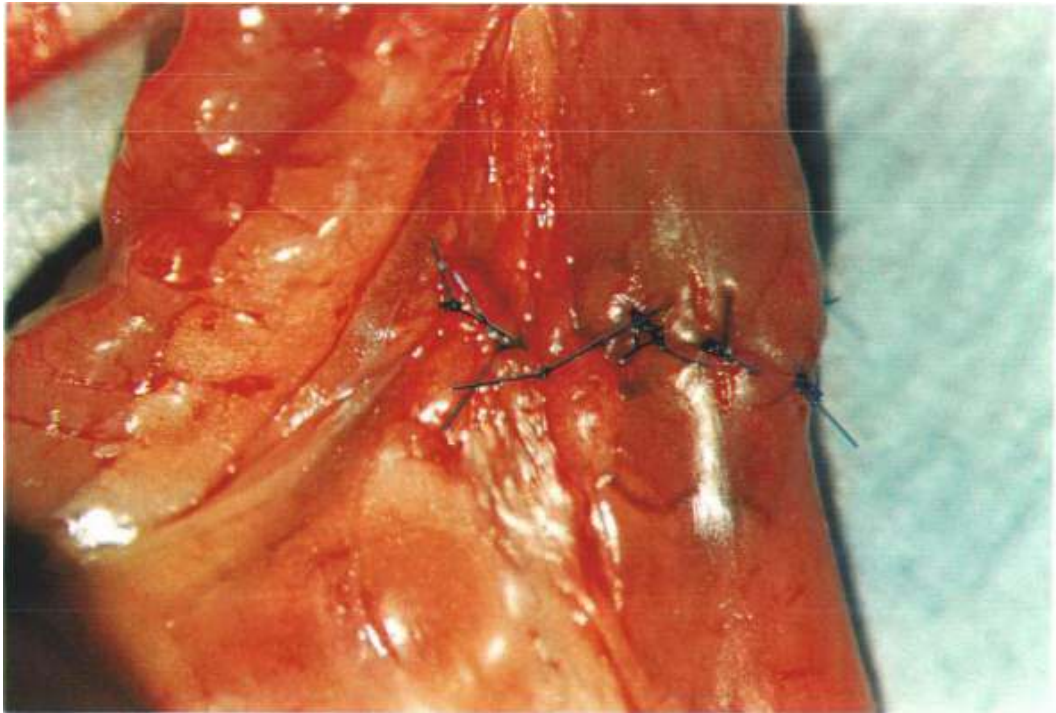
Kan akımına zarar vermeden peritoneal refleksiyonun yaklaşık 3 cm üzerinden 1 cm'lik kolon segmenti rezeke edildi (Resim 3.3) Uç-uca kolonik anastomoz 8/0 vicryl (Ethicon, Johnson & Johnson) sütürler kullanılarak tek tek uygulandı (Resim 3.4). İpek sütürlerle devamlı olacak şekilde musk lofasiyal tabaka kapatıldı ve ardından cilt 4/0 ipek sütürlerle kapatıldı. Cerrahi sonrası 10 ml saline solüsyonu sıvı resüsitasyon için cilt altına uygulandı. Tüm ratlara operasyondan sonraki ilk gün sadece su, ikinci gün standart rat yemeği verilecek. Hiçbir rata ilave antibiyotik verilmedi. Her dört gruptaki ratlardan 10'ar tanesi postoperatif 3. gün ve 7. gün kanatılma yolu ile sakrifiye edildiler.

Ratlarda araştırılan parametreler:

1. Morbidite; Diare, anastomotik stenoz, obstrüksiyon, anastomoz ayrışması
2. Mortalite oranları
3. Anastomozların patlama basınçları
4. Dokuda hidroksiprolin tayini
5. Anastomotik dokuda yara iyileşmesinin histopatolojik analizi
6. ELISA yöntemi ile NF- B p50 aktivitesinin  l  m 



Resim 3.3. Anastomoz için hazırlanmış olan distal kolon



Resim 3.4. Rezeksiyon ve uç uca anastomoz

3.4 Patlama Basıncı Ölçümü

Postoperatif 3. ve 7. günlerde karın açıldıktan sonra anastomoz yapılan segment bulundu. Anastomozun bütünlüğünün korunmasına özen gösterildi. Anastomozun 2 cm distalinden kolon 3/0 ipek ile bağlandı ve 2 cm proksimalinden kolon kesildi. Mevcut fekal içerik serum fizyolojik ile yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra infüzyon pompası proksimalindeki açık uca tespit edildi. Patlama basıncı ratlarda in situ olarak anastomoz yerinde bırakılarak ölçüldü. Ölçüm için, sabit ölçüm pompası (perfusor, Braun) ve kullanıldı. Piyes su altına konduktan sonra sabit ölçüm pompasıyla 6 ml/dk hızla hava verilerek uygulandı. Hava kabarcıklarının ilk görüldüğü basınç değeri, kolon patlama basıncı olarak belirlendi. Patlama basıncı değerleri mmHg olarak kaydedildi.

3.5 Preparatların Hazırlanması

Patlama basıncının ölçülmesinden sonra anastomozu içine alan 1 cm'lik segment ile hem proksimal hem de distalden 1'er cm'lik barsak segmenti çıkarıldı. Çıkarılan kolon segmentleri uzun eksenleri boyunca (anastomoza dik olacak şekilde) eşit üç parçaya ayrıldı. Parçalardan biri rutin histopatolojik inceleme için %10'luk formalin içerisine konuldu. Diğer segment 1 ml PBS buffer solüsyonu içerisinde homojenize edildi ve supernatant ölçüm gününe kadar -20°C'de saklandı. Kalan son doku hidroksiprolin tayini için gelatin ile sarılarak -700°C'de işlem gününe kadar saklandı.

3.6 Hidroksiprolin Ölçümü

Doku hidroksiprolin düzeyleri Jamall IS ve arkadaşlarının tarifledikleri metod dikkate alınarak ölçüldü (117). Tartılıp (100 mg) hidroklorik asit (HCl) ile digesyon yapılan dokulardan 25 µl alınarak desikatörde iyofilize edildi (NaOH ile 18 saat). Sonra 1.2 ml % 50 (v/v) isopropil alkolde çözülüp üzerine 0.2 ml Kloramin T (Chloramine T) eklenerek 10 dk. beklendi. Ardından numunelere 1ml Erlich Reaktifi eklenerek su banyosunda 50 °C’de 90dk. inkübe edildi. Reaksiyon sonucu oluşan renk değişimi 560 nm dalgaboyu altında spektrofotometrede ölçüldü. 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.2, ve 1.6 µg olan hidroksiprolin standartları aynı yöntemle çalışıldı. Bu standartlara göre oluşturulan eğri kullanılarak numune konsantrasyonları bulundu ve sonuçlar µg /mg doku olarak hesaplandı.

3.7 NF-κB Tayini

Doku örnekleri otomatik homojenizatör ile 10 cc soğuk 0.01 M Tris-HCl Buffer (pH 7.4) kullanılarak homojenize edildi. Dokuda NF-κB aktivitesi üretici firma önerilerine uygun olan enzim bağlı immunosorbent assay (ELİSA) kiti (Panomics Inc., Redwood City, USA) kullanılarak belirlendi. Tüm örnekler 2 kez test edildi.

3.8 Histopatolojik Değerlendirme

Doku örneklerinin histopatolojik incelemesi Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda tek bir patolog tarafından yapıldı.

Tüm bağırsak doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda fiksle edildi. Doku örnekleri rutin takip işlemleri uygulandıktan sonra, parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Histopatolojik değerlendirmede Ray Van Zuidewijn'in kullandığı skorlama sistemi kullanıldı (118, 119). Bu skorlama sisteminde; mukozanın reepitelizasyonu ve muskularis propria rejenerasyonu incelendi.

1. Mukozanın Reepitelizasyonu;

Tablo 3.1. Reepitelizasyon skorlama sistemi

	REEPİTELİZASYON
1	Yok
2	Az miktarda tek sıra kübik hücre
3	Çok miktarda tek sıra kübik hücre
4	Tama yakın tek sıra kübik hücre
5	Tamamlanmış tek sıra kübik hücre
6	Bir sıra glandüler hücre (+)
7	Normal glandüler mukoza

2. Muskularis propria rejenerasyonu; pozitif (+) veya negative (-) olarak değerlendirildi. Epitelizasyon, nekroz, inflamatuvar eksuda, granülasyon dokusu, granülasyon dokusunda granüositler, makrofajlar, fibroblastlar incelendi.

Tablo 3.2. Muskularis propria rejenerasyonu

	Epitelizasyon, nekroz, inflamatuvar eksuda, granülasyon dokusu, granülasyon dokusunda granüositler, makrofajlar, fibroblastlar
0	Yok
1	Az
2	Orta dereceli
3	Yüksek dereceli

3.9 İstatistiksel Analizler

Tüm veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. İstatistiksel analizler SPSS 10.0 programı ile yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında ANOVA testi kullanıldı. Post ANOVA için Newman Keuls testi kullanıldı. Fark gözleendiğinde, spesifik olarak değerlendirilmesi Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Histopatolojik analiz için Mann-Whitney testi kullanıldı. $P < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4 BULGULAR

4.1 Morbidite

Ratlar operasyondan hemen sonra ayıldılar ve birkaç saat sonra su alımına başladılar. Ratların sakrifikasyondan sonraki nekropsilerinde gruplar arasında peritonit, intra-abdominal abse yönünden fark gözlenmedi. Kontrol grubundaki 2 ratta, RT grubundaki 2 ratta ve celastrol grubundaki 1 ratta anastomoz hattı ile omentum ve çevre dokular arasında kolay ayrılabilen, sınırlı sayıda adezyon gözlemlendi. RT grubundaki 4 ratta ve RT + celastrol grubunda 2 ratta anastomozda belirgin bir darlık izlendi. Sadece radyoterapi uygulanan 1 rat ile radyoterapi ile birlikte celastrol uygulanan 1 ratta anatomotik bölgede kaçak ve kontaminasyon izlendi. Radyoterapi alan tüm ratlarda minimal bir diare tespit edildi.

4.2 Mortalite Oranları

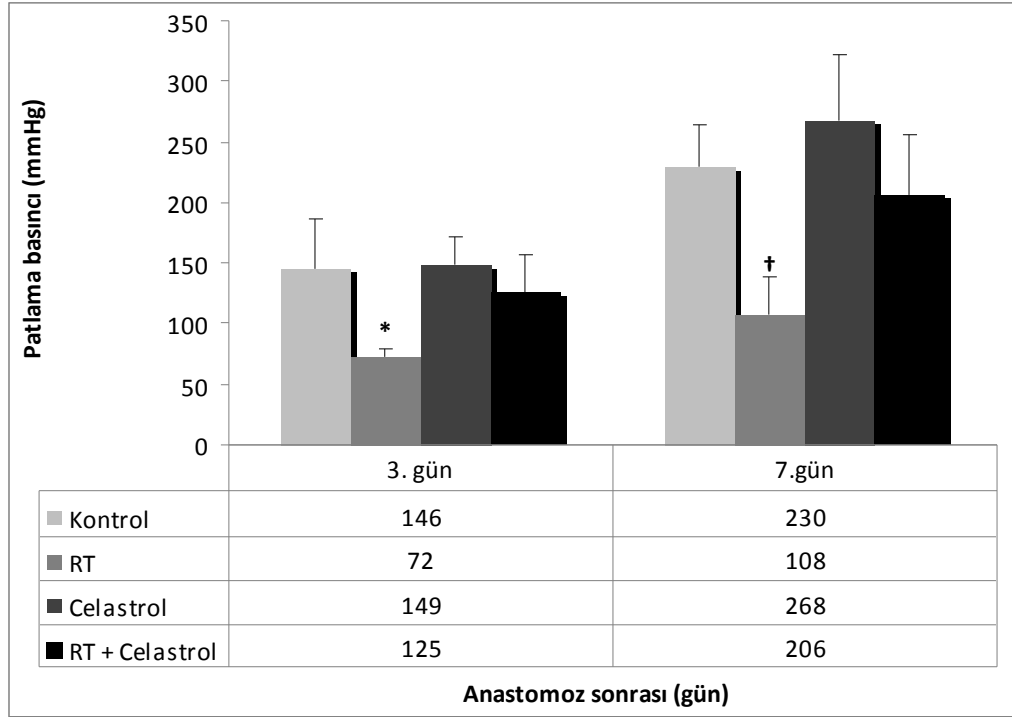
Kontrol grubunda 1 rat, RT grubunda 2 rat, RT + celastrol grubunda 1 rat olmak üzere toplam 4 rat sakrifiye edilmeden önce kaybedildiler. Mortalite ile sonuçlanan ratların yerine alınan yeni ratlarda deneyler uygulanıp gruplar eksiksiz tamamlandı. Sonuç olarak tüm hayvanlarda sakrifikasyon planlanan zamanda uygulandı.

4.3 Anastomozların Patlama Basınçları

Anastomozlardaki ortalama patlama basınçları Şekil 4.1’de gösterilmektedir. Kontrol grubunun 3. gündeki patlama basınçları, sadece radyoterapi uygulanan grupta 3. gün tespit edilen patlama basınçlarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($P < 0.05$). Oysa celastrol grubu ile RT + celastrol gruplarında postoperatif 3. günde elde edilen ortalama anastomoz patlama basınçlarının kontrol grubu ile kıyaslanmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($P > 0.05$).

Kontrol grubunun postoperatif 7. gündeki ortalama patlama basınçları, sadece radyoterapi uygulanan grupta 7. gün tespit edilen patlama basınçlarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($P < 0.01$). Kontrol grubu ile celastrol verilen ve celastrol + radyoterapi uygulanan grupların 7. gün patlama basınçları karşılaştırıldığında patlama basınçları arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($P > 0.05$).

Postoperatif, 3.gündeki rüptürlerin yaklaşık yarısı (%45) anastomoz hattında gözlemlendi. Ancak 7 gündeki rüptürlerin tümü anastomoz hattından farklı bir yerden oldu.



Şekil 4.1. Anastomozlardaki ortalama patlama basınçları
(* $P < 0.05$, † $P < 0.01$)

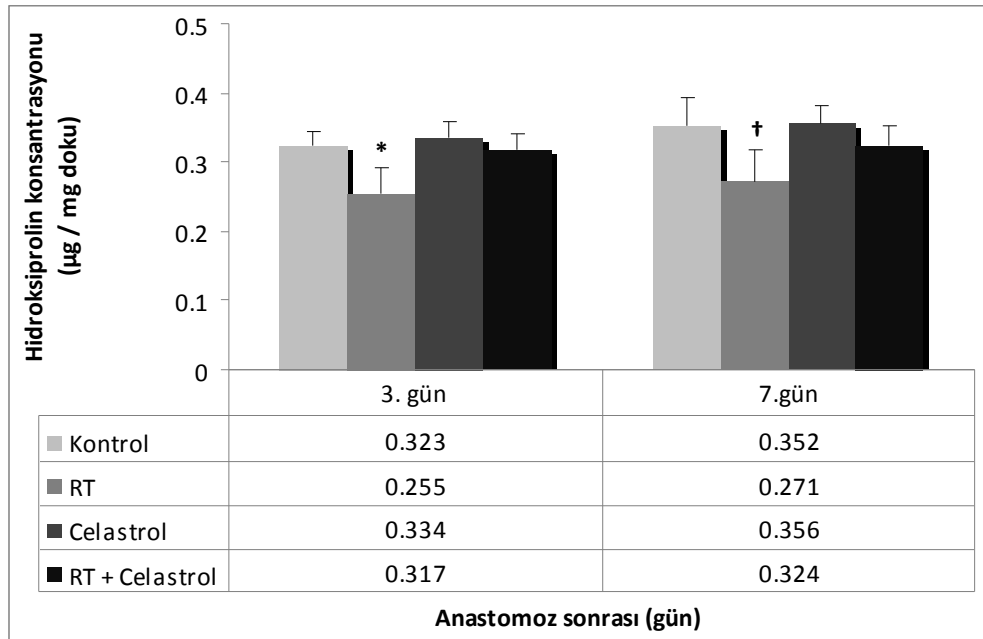
4.4 Dokuda Hidroksiprolin Tayini

Hidroksiprolin, anastomotik segmente kollajen düzeyini kantitatif olarak tayin etmede kullanılan bir yöntemdir. Tüm gruplardaki kollajen yapımının günlere göre dağılımı benzerlik göstermekte idi ve maksimum seviyelerine 7. günde ulaştı (Şekil 2).

Grupların ortalama hidroksiprolin değerleri Şekil 4.2’de gösterilmektedir. Kontrol grubunda 3. günde tespit edilen hidroksiprolin düzeyleri, radyoterapi uygulanan grupta 3. gün tespit edilen hidroksiprolin düzeylerine göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($0.323 \mu\text{g} / \text{mg}$ ’e karşın $0.255 \mu\text{g} / \text{mg}$; $P < 0.05$).

Kontrol grubu ile celastrol ve RT + celastrol grupların 3. gün hidrokspirolin düzeyleri karşılaştırıldığında üç grup arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P > 0.05$).

Kontrol grubunda 7. günde tespit edilen hidrokspirolin düzeyleri, RT grubunda 7. gün tespit edilen hidrokspirolin düzeylerine göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($0.352 \mu\text{g} / \text{mg}$ 'e karşı $0.271 \mu\text{g} / \text{mg}$; $P < 0.01$). Kontrol grubu ile celastrol ve RT + celastrol gruplarının 7. gün hidrokspirolin düzeyleri karşılaştırıldığında üç grup arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P > 0.05$).

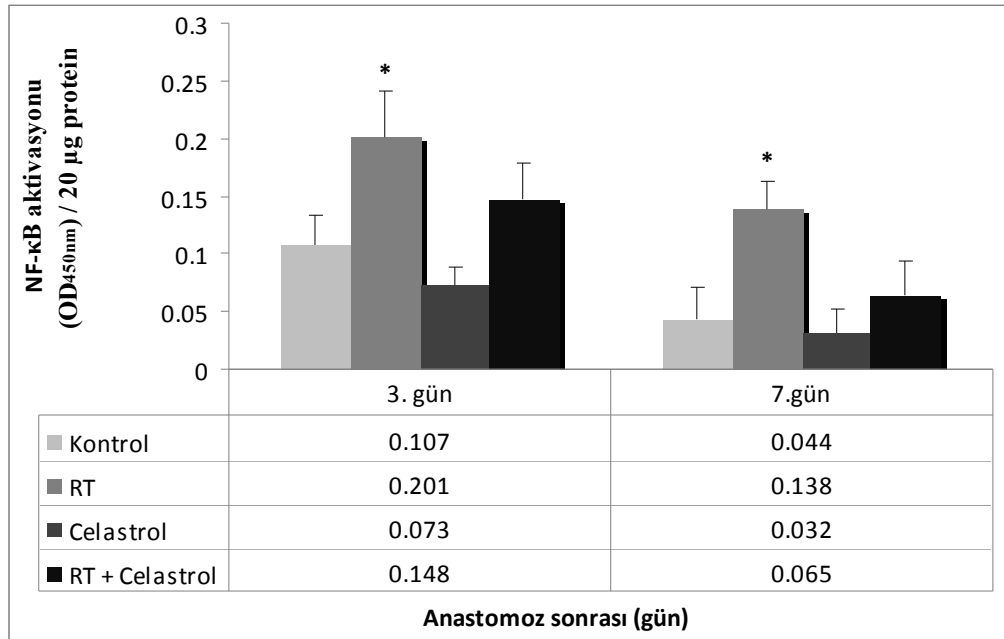


Şekil 4.2. Ortalama hidrokspirolin değerleri
(* $P < 0.05$, † $P < 0.01$)

4.5 NF-κB Aktivitesinin Ölçümü

Postoperatif 3. ve 7. günlerde tespit edilen NF-κB düzeyleri şekil 4.3'te gösterilmiştir. Radyoterapi uygulanan grupta 3. günde tespit edilen NF-κB düzeyleri, kontrol grubu 3. gün tespit edilen NF-κB düzeylerine göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($P < 0.05$). Kontrol grubu ile celastrol ve RT + celastrol gruplarının 3. gün NF-κB düzeyleri karşılaştırıldığında üç grup arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P > 0.05$).

RT grubunda 7. günde tespit edilen NF-κB düzeyleri, kontrol grubunda 7. gün tespit edilen NF-κB düzeylerine göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($P < 0.05$). Kontrol grubu ile celastrol ve RT + celastrol gruplarının 7. gün NF-κB düzeyleri karşılaştırıldığında üç grup arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P > 0.05$).



Şekil 4.3. NF-κB düzeyleri
(* $P < 0.05$, † $P < 0.01$)

4.6 Anastomotik Dokuda Yara İyileşmesinin Histopatolojik Analizi

Çalışmadaki histopatolojik inceme sonuçları tablo 4.1’de, preparat görüntüleri ise resim 4.1 - resim 4.4’de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile radyoterapi uygulanan grup karşılaştırıldığında; 3. gün tespit edilen epitelizasyon değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmemesine ($P>0.05$) rağmen, 7. gün epitelizasyon değerlendirildiğinde kontrol grubunda epitelizasyonun anlamlı oranda daha iyi olduğu izlendi ($P<0.05$). Kontrol grubu ile radyoterapi uygulanan grup, m. muskularis propria rejenerasyonu açısından kıyaslandığında; 3. gün tespit edilen rejenerasyon değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmemesine ($P>0.05$) rağmen, 7. gün rejenerasyon değerleri arasında anlamlı fark tespit edilmiştir ($P<0.05$). Kontrol grubu ile celestrol verilen grup karşılaştırıldığında; 3. gün tespit edilen epitelizasyon değerleri, m. muskularis propria rejenerasyonu, nekroz, eksuda açısından istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmemesine ($P>0.05$) rağmen, 7. gün epitelizasyon değerleri, m. muskularis propria rejenerasyonu, nekroz, eksuda epitelizasyon değerlendirildiğinde istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($P<0.05$). Kontrol grubu ile celestrol+RT uygulanan grup 3. ve 7. gün epitelizasyon değerleri açısından karşılaştırıldığında; istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ($P<0.05$). Kontrol grubu ile celestrol+RT uygulanan grup 3. gün m. muskularis propria rejenerasyonu, nekroz, eksuda ve granülasyon dokusu açısından karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı fark tespit edilmemesine ($P>0.05$)

rağmen; 7. gün mskularis propria rejenerasyonu, nekroz, eksuda ve granulasyon dokusu açısından anlamlı fark tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Tablo 4.1. Anastomotik dokuda histopatolojik analiz değerleri

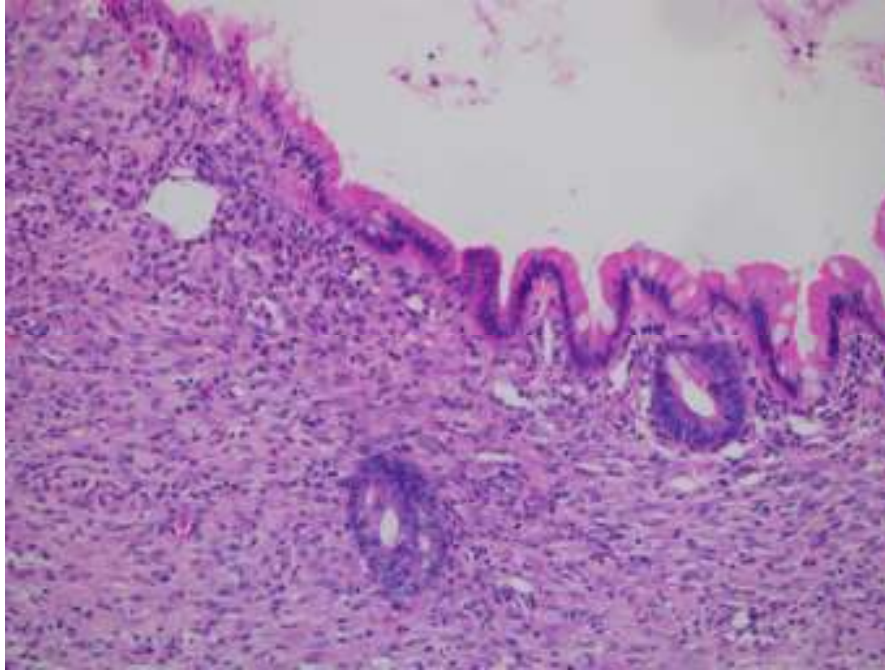
	Grup	3. Gün (Mean $\pm$ SD)	7. Gün (Mean $\pm$ SD)
Epitelizasyon	Grup-1	3,20 $\pm$ 2,16	3,00 $\pm$ 0,70
	Grup-2	1,60 $\pm$ 0,54	1,60 $\pm$ 0,54
	Grup-3	2,60 $\pm$ 0,54	4,80 $\pm$ 1,09
	Grup-4	2,00 $\pm$ 1,00	2,60 $\pm$ 1,14
Muscularis Propria Rejenerasyonu	Grup-1	0,20 $\pm$ 0,44	0,00 $\pm$ 0,70
	Grup-2	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
	Grup-3	0,40 $\pm$ 0,54	1,00 $\pm$ 0,00
	Grup-4	0,40 $\pm$ 0,54	1,00 $\pm$ 0,00
Nekroz	Grup-1	1,20 $\pm$ 0,83	2,00 $\pm$ 0,00
	Grup-2	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
	Grup-3	2,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
	Grup-4	3,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00
Eksuda	Grup-1	2,60 $\pm$ 0,54	3,00 $\pm$ 0,00
	Grup-2	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
	Grup-3	2,20 $\pm$ 0,44	2,00 $\pm$ 0,00
	Grup-4	2,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
Granulasyon Dokusu	Grup-1	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00
	Grup-2	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00
	Grup-3	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
	Grup-4	0,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00
Granulosit	Grup-1	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
	Grup-2	3,00 $\pm$ 0,00	2,40 $\pm$ 0,54
	Grup-3	2,80 $\pm$ 0,44	2,00 $\pm$ 0,00
	Grup-4	1,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
Makrofaj	Grup-1	1,00 $\pm$ 0,00	1,60 $\pm$ 0,54
	Grup-2	1,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
	Grup-3	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
	Grup-4	0,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
Fibroblast	Grup-1	1,20 $\pm$ 0,44	1,00 $\pm$ 0,00
	Grup-2	1,00 $\pm$ 0,00	2,40 $\pm$ 0,89
	Grup-3	3,00 $\pm$ 0,00	2,80 $\pm$ 0,44
	Grup-4	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00

Resim 4.1.'de anastomoz hattında çok miktarda tek sıralı kübik hücreler içeren reepitelizasyon izlenmiştir. (H&E X 200)

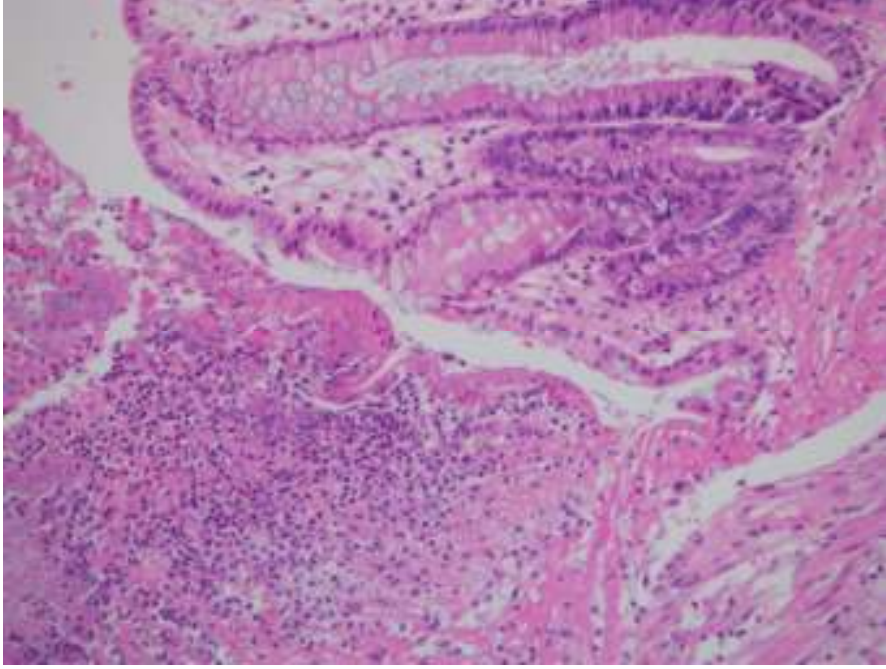
Resim 4.2.'de anastomoz hattında reepitelizasyon izlenememiştir. (H&E X 200)

Resim 4.3.'de anastomoz hattında çok az miktarda tek sıralı kübik hücrelerden oluşan reepitelizasyon. (H&E X 100)

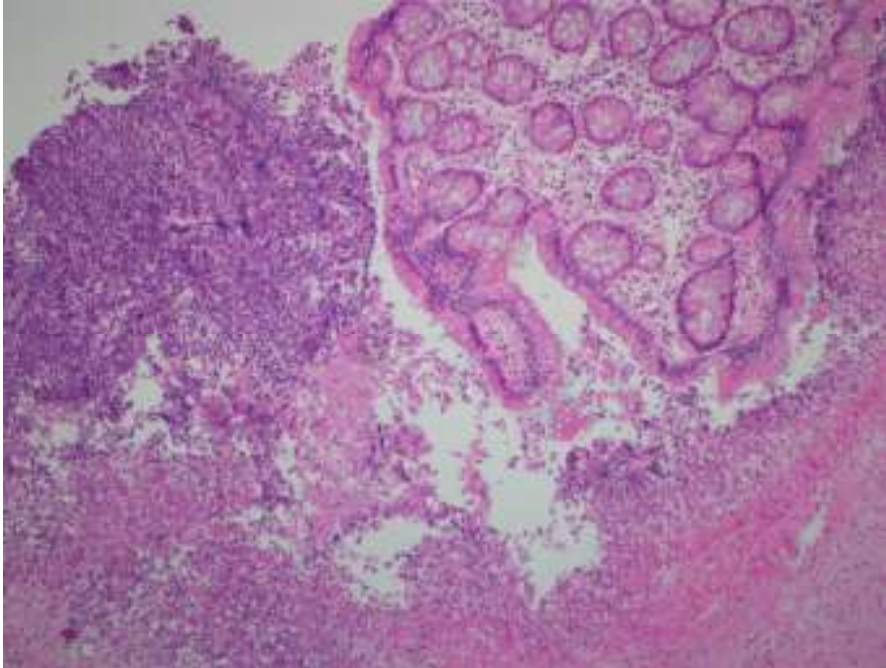
Resim 4.4.'de anastomoz hattında tama yakın tek sıralı kübik hücrelerden oluşan reepitelizasyon izlenmiştir. (H&E X 200)



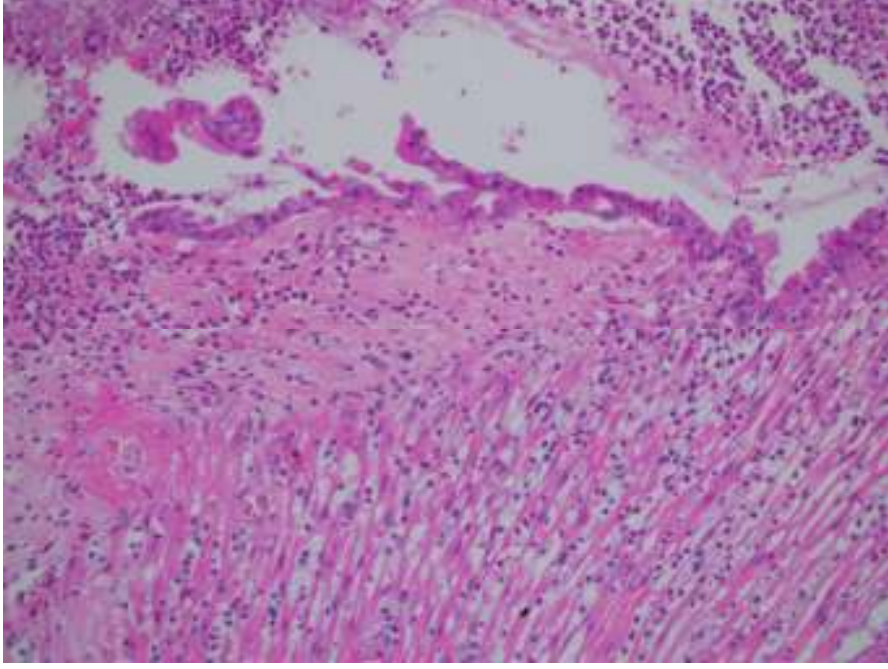
Resim 4.1. Kontrol grubu 7. gün reepitelizasyon görünümü



Resim 4.2. Radyoterapi uygulanan ratta 3. gün reepitelizasyon görünümü



Resim 4.3. Radyoterapi uygulanan ratta 7. gün reepitelizasyon görünümü



Resim 4.4. Radyoterapi ve celastrol verilenlerde reepitelizasyon görünümü

5 TARTIŞMA

Kolorektal kanserlerdeki altın standard, cerrahi rezeksiyondur. Rezeksiyonu sonrası lokal rekürrens oranları için genellikle %30'ye yakın rakamlar bildirilmektedir (28). Rekürrenslerin %71'i ilk iki yılda meydana gelmektedir. Tümörün evresi ilerledikçe lokal rekürrens oranları da yükselmektedir. 5 yıllık takiplerde Evre-1 tümörlerde %8.5 olan lokal rekürrens oranı Evre-2'de %16.3'e, Evre-3'de ise %28.6'ya çıkmaktadır (28). Rektum tümörlerinde gözlenen bu lokal rekürrenslerin nedeni tümörün lateral, longitudinal ve lenfo-vasküler yayılma özelliğine bağlıdır. Bunlardan lateral yayılım, lokal rekürrense etki eden en önemli özellikmiş gibi görünmektedir.

Rektum kanserlerinde preoperatif radyoterapi uygulamasının günümüz tedavi protokollerinde artan bir kabul görmektedir. Birçok çalışmada preoperative radyoterapinin rektum tümörlerinde rezektabiliteyi arttırdığı, lenf nodu metastazı insidansını ve lokal nüksü azalttığı gösterilmiştir (4, 5, 6, 50). Preoperatif radyoterapi ile lenf bezleri içindeki tümör hücreleri yok edildiğinden Dukes C'deki tümörler Dukes B'ye indirgenirler, böylece rezeksiyon sonrası daha iyi bir prognoza yol açarlar (69).

Ancak uygulanan radyoterapinin de olumsuz etkileri bulunmaktadır. Radyoterapi epitel ve parankimde atrofi, iskemik nekroz, metaplazi, atipi, displazi, neoplazi, stromada fibrozis, eksuda ve nekroza yol açar. Radyoterapi uygulanan bölgede fibroblast hasarı ile birlikte meydana gelen kollajen hasarı ve stromadaki düzensizlik nedeniyle iltihabi ve mezenkimal hücrelerin bölgeye göçü engellenir

(64). Mikrovasküler alanda gelişen hipoksi enfeksiyona zemin hazırlar (74). Kapillerler ve sinuzoidlerin esasını endotel oluşturur ve endotelin radyosensitivitesi çok yüksektir. Damarlarda hyalen dejenerasyonu meydana gelir. Radyasyon yaralanmalarının temelinde yatan patoloji esas olarak endotelde hasara neden olan kapiller ve arteriollerde oluşan fibrin trombüslerdir (120).

Pelvik ışınlama sonucunda gelişebilecek radyasyona bağlı komplikasyonlar; proktit, rektal ülser, striktür, rektovaginal fistül, fibrozis, kolit, ileit, ileal obstrüksiyon, radyasyon sistiti, üretra striktürü, vulvit (36). Diabet, hipertansiyon, ve daha önce yapılmış özellikle alt batin cerrahi girişimler radyasyon hasarını arttırmırlar (121). Radyasyonun tüm bu olumsuz etkileri nedeniyle yara iyileşmesi gecikir. Radyasyon, çoğunlukla doza bağlı olarak intestinal mikrosirkülasyonda bozulmalar yaparak anastomoz kaçağı oranındaki artıştan da sorumlu tutulmuştur (64).

Gastrointestinal cerrahisinde en temel girişimlerinden olan “barsak anastomozu”, gerek iyileşme süreci, gerekse de neden olduğu morbiditeler nedeniyle çok önemli bir konudur. Yara iyileşmesinde olduğu gibi anastomoz iyileşmesinde de süreci iyi veya kötü yönde etkileyen pek çok lokal ve sistemik faktörler bulunmaktadır. Düzenli ve komplikasyonsuz iyileşmenin temel şartı, yara iyileşme fazlarının uygun ve optimal koşullar altında ve öngörülen süreler içinde gerçekleşmesidir Yara iyileşmesi inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon olmak üzere üç fazda incelenmektedir. İnflamasyon fazı, iyileşmenin esansiyel fazı olup, artmış damar geçirgenliği, sistemik dolaşımdan yaraya hücrelerin kemotaksisi, stokin ve büyüme faktörlerinin salınımı ve migrasyona uğrayan

hücrelerin aktivasyonunu içerir. Yaralanmadan hemen sonra polimorfonükleer lökosit ve lenfositler bölgeye göç eder ve artmış damar geçirgenliği prostaglandinler, interlökin-1,TNF- α ve doku faktörleri tarafından nötrofil göçü uyarılır. Böylece ilk 48 saat içinde özellikle polimorfonükleer lökosit göçü devam eder. Daha sonra makrofaj göçü başlar ve 72. saatte polimorfonükleer lökosit ve makrofaj sayıları eşitlenir. Sağlam venül endotel hücreleri proliferer olur. Anjiogenetik aktivite 3. günde artar ve kapiller formasyon 5.-6. günde belirginleşir. Fibroblastların 3. günde yarada görünmeye başladığı ve 5. günde baskın hücre tipinin fibroblast olduğu belirtilmiştir. 4-14.günler arası proliferatif fazdır. Bu dönemde kollajen sentezi artar. Sentezlenen kollajen lifleri 14. günden sonra yeniden yapılır ve olgunlaşma dönemi başlar.

Anastomotik iyileşmenin biyokimyasal tayini, kollajen miktarını yansıtan doku hidroksiprolin seviyesi ile mümkündür. Ekstraselüler matriks, kollajen, proteoglikanlar, ve glikoproteinleri içerir. Yara iyileşmesi ile ilgili çalışmalar, ekstraselüler matriksin yeniden yapılanması ve şekillenmesini içerir.

Barsak anastomozu çok sık uygulanmasına ve bu konudaki yoğun deneyim birikimine rağmen, anastomoz kaçağı halen % 0-35 sıklıkta ortaya çıkmaktadır. Hastada ciddi morbiditeye neden olan kaçaklar, büyük oranda anastomozun anal verge olan mesafesine, operasyon tipine ve cerrahın tecrübesine bağlı olarak % 2-19 oranları arasında değişmektedir. Kaçak sonrası mortalite sıklığı ise (%25-50) tüm yandaş tedavilere rağmen çok yüksektir. Mortalite ile sonuçlanmayan olgularda bile ortaya çıkan ciddi morbidite yaşam kalitesinde bozulmaya, hastanede kalış süresinde artışa neden olmaktadır (122, 123, 124).

Stevens ve arkadaşları (125), 5000 rad'lık preoperatif radyoterapiyi takiben yaptıkları anterior rezeksiyon olgularını, radyoterapisiz grupla karşılaştırmışlar ve radyoterapili grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek anastomoz kaçağı saptamışlardır.

Pleskovic ve arkadaşları 20 köpek üzerinde yaptıkları çalışmada kombine radyoterapi+kemoterapi uygulanmış sonuçta kolon mukozasında erken dönemde enterosit ve lenfosit kaybını tesbit etmiş, bunun da mukozal bariyerde bozulma, malabsorbsiyon sendromu, stenoz, inflamasyona yol açabileceğini ifade etmişlerdir (126).

Blake ve arkadaşları köpekler üzerinde yaptıkları araştırmada 6000 rad radyasyondan sonra stapler ya da elle yaptıkları anastomozlarda her iki grupta da anastomoz kaçağı oranını yüksek olarak gözlemlemişlerdir (127).

Winsey ve arkadaşları sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada 200 rad radyasyondan sonra postoperatif 7.günde yaptığı ölçümlerde patlama basıncı ve hidroksiprolin düzeylerinin önemli derecede düştüğünü ifade etmişlerdir (128). Özet olarak tüm bu çalışmalarda (126, 128) radyasyonun uygulanan doza ve süreye bağlı olarak barsak anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilediği bildirilmektedir.

Bizim çalışmamızda, sıçanlara anastomoz öncesi radyoterapi 6-MV ışın üreten bir lineer akseleratör kullanılarak 5 gün ve her gün 5 Gy standart fraksiyonlarda toplam 25 Gy verildi. Daha önceki yapılan çalışma sonuçlarına uygun olarak bu çalışmada da radyoterapi uygulanan ratlarda patlama basınçları ve hidroksiprolin düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük olduğu

tespit edildi. Sonuçta çalışmamızda literatürlerle uyumlu olarak radyasyonun anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilediğini gözlemledik.

Preoperatif radyoterapinin anastomoz iyileşmesini bozduğu yönündeki genel görüş, araştırmacıları radyasyon uygulanmış anastomozu korumaya yönelik arayışlara itmiştir. Bu amaçla bu çalışmada yeni tanımlanmış olan NF- κ B inhibitörü olan celastrol'un radyoterapi uygulanmış bağırsak anastomozunda etkileri araştırılmıştır.

NF- κ B/Rel protein ailesinin, transkripsiyon faktörlerinin farklı bileşimlerinden oluşan heterodimerik bir protein kompleksi olduğu anlaşılmıştır. NF- κ B; normal hücrelerde, I-kappa-B proteinleri (I κ B α , β ve γ) adı verilen inhibitör proteinlere bağlı şekilde, sitoplazmada inaktif halde bulunmaktadır. Ekstrasellüler sinyaller sonucu I κ B kinaz (IKK) enzimlerinin düzenleyici altüniteleri uyarılır ve sinyalleri algılayarak katalitik altünitelerine iletir. Bu durum inhibitör proteinlerin fosforilasyonu ve yıkılımına yol açmaktadır. I κ B proteininin yıkılımı ile aktif hale gelen NF- κ B çekirdeğe taşınmaktadır (95, 129). İşte bu çalışmada araştırdığımız celastrol, NF- κ B'yi inhibe eder. Ayrıca celastrol, TNF ile oluşan apoptozu potansiyelize eder. TNF ile oluşan tümör hücre invazyon aktivitesini inhibe eder, potansiyel bir lipid peroksidasyon inhibitörüdür (101).

Sadece RT alan grupta basınç, hidroksiprolin düzeyleri anlamlı bozulurken celastrol ilavesi RT'nin bu olumsuz etkilerini ortadan kaldırmıştır. Bu da NF- κ B'nin anastomotik yara iyileşmesinde önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.

Celastrol; Tripterygium Wilfordii'n ekstresi olan ve yüzyıllardır geleneksel bir ilaç olarak Çin'de kullanılan Celastrol (99) hayvan modellerinde antiinflamatuvar özelliğinden dolayı Alzheimer (101), astım (102), sistemik lupus eritematozus (83, 103) ve romatoid artrit, ayrıca prostat kanserlerinde (104), glioma (105) ve lösemide (106) kullanılmıştır.

Bu çalışmada radyoterapinin kolondaki anastomotik yara iyileşmesine olan olumsuz etkilerini NF- κ B inhibitörü olan celastrol ile azaltılabileceği düşünülerek, celastrol'un radyoterapi uygulanmış anastomozdaki etkileri araştırılmıştır. Celastrol verilen grupta patlama basınçlarını yüksek olduğu, radyoterapi alan grup ile celastrol alan grup değerlendirildiğinde sadece radyoterapi alan gruba göre celastrol grubunun patlama basınçlarının ve hidroksiprolin düzeylerinin anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir.

6 SONUÇLAR

Çalışmamızda radyoterapinin literatürle uyumlu olarak anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilediği gözlemlendi. Radyoterapi alan grupta patlama basınçları, doku hidrokspirolin değerleri düşük, NF-κB değerleri ise yüksek olarak tespit edildi. Histopatolojik olarak yara yeri iyileşmesinin kötü olduğu izlendi.

Celastrol'un anastomoz iyileşmesi üzerine olumlu etkilediği, anastomoz patlama basınçları, hidrokspirolin ölçümü ve histopatolojik incelemelerle tespit edildi.

Kontrol grubu ile radyoterapi uygulanan grup karşılaştırıldığında, hidrokspirolin ve patlama basıncının kontrol grubunda anlamlı düzeyde yüksek, NF-κB değerinde ise radyoterapi uygulanan grupta anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edildi. Celastrol ve celastrol + radyoterapi uygulanan gruplar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında patlama basınçları, hidrokspirolin değerleri ve NF-κB değerleri açısından anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, celastrol'un özellikle kolorektal cerrahide preoperatif veya postoperatif radyoterapi sonrası anastomoz iyileşmesine destek olabileceği sonucuna varılmıştır.

7 KAYNAKLAR

1. Ceelen W, El Malt M, Cardon A, et al. Influence of preoperative high-dose radiotherapy on postoperative outcome and colonic anastomotic healing. *Dis Colon Rectum* 2001; 44:717-721.
2. Tao X, Younger J, Fan FZ, Wang B, Lipsky PE. Benefit of an extract of *Tripterygium wilfordii* hook F in patients with rheumatoid arthritis: a doubleblind, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum.* 2002;46:1735-1743.
3. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am.* 1997 Jun; 77(3):509-28.
4. Beezhold DH, Personius C. Fibronectin fragments stimulate tumor necrosis factor secretion by human monocytes. *J Leukoc Biol.* 1992 Jan;51(1):5964.
5. Ballantyne, G.H.: The Experimental Basis of Intestinal Suturing. *Dis colon Rectum* 1984; 27:61-71.
6. Bark S., Rettura G., Goldman D., Seifter E., Levenson S.M., Demetriou A.A. Effect of Supplemental Vitamin A on The Healing of Colon Anastomosis. *Journal of Surgial Research* 1984; 36:470-474.
7. Kumar A, Collins HM, Scholefield JH, et al. Increased type-IV collagenase (MMP- and MMP-9) activity following preoperative radiotherapy in rectal cancer. *Br J Cancer* 2000; 82:960-965.
8. Bond M, Baker AH, Newby AC. Nuclear factor kappaB activity is essential for matrix metalloproteinase-1 and -3 upregulation in rabbit dermal fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 264:561-567

9. Saika S, Miyamoto T, Yamanaka O, Kato T, Ohnishi Y, Flanders KC, et al. Therapeutic effect of topical administration of SN50, an inhibitor of nuclear factor-kappaB, in treatment of corneal alkali burns in mice. *Am J Pathol.* 2005; 166:1393-1403
10. Schreiber J, Efron PA, Park JE, Moldawer LL, Barbul A. Adenoviral gene transfer of an NF-kappaB super-repressor increases collagen deposition in rodent cutaneous wound healing. *Surgery* 2005; 138:940-946.
11. Bedirli A, Salman B, Paşaoğlu H, Ofluoğlu E, Şakrak O. Effects of nuclear factor- κ B inhibitors on colon anastomotic healing in rats. *J Surg Res.* (Halen baskıda)
12. Syk I, Agren MS, Adawi D, Jeppsson B. Inhibition of matrix metalloproteinases enhances breaking strength of colonic anastomoses in an experimental model. *Br J Surg.* 2001; 88(2):228-234.
13. Henry G, Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing. *Surg Clin North Am.* 2003; 83(3):483-507.
14. Thompson SK, Chang EY, Jobe BA. Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part I. *Microsurgery* 2006; 26(3):131-136.
15. Ma C, Tarnuzzer RW, Chegini N. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in mesothelial cells and their regulation by transforming growth factor-beta1. *Wound Repair Regen.* 1999; 7(6):477-485.
16. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin NorthAm* 1997;77:549–73.

17. Martens MF, Huyben CM, Hendriks T. Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. *Gut*. 1992;33(12):1664-70.
18. Brasken P, Renvall S, Sandberg M. Fibronectin and collagen gene expression in healing experimental colonic anastomoses. *Br J Surg*. 1991;78(9):1048-1052.
19. Mandai R, Eguchi Y, Tanaka M, Sai Y, Nosaka S. Effects of profound hemodilution on small-intestinal wound healing in rabbits. *J Surg Res*. 2001;99(1):107-113.
20. Jonsson K, Jiborn H, Zederfeldt B, Martens MF, Hendriks T. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. *Gut*. 1991;32(12):1482-1487.
21. Chowcat, N.L., Savage, F.J., Hembry, R.M., Boulos, P.B. Role of Collagenase in Colonic Anastomoses: An appraisal. *Br J Surg* 1998;75:330-334.
22. Chen L.W., Hsu, C.M., Huang J.K., Chen, J.S., Chen S.C.: Effects of bombesin on gut mucosal immunity in rats after thermal injury. *J Formos Med Assoc* 2000; 99(6):491-498.
23. Cho W.K., Mennore A., Rydberg S.A., Boyer J.L. Bombesin stimulates bicarbonate secretion from rat cholangiocytes: implication for neural regulation of bile secretion. *Gastroenterology* 1997; 113:3113-21.
24. Blikslager AT, Roberts MC. Mechanisms of intestinal mucosal repair. *J Am Vet Med Assoc*. 1997;211(11):1437-1441.
25. Moore R, Carlson S, Madara JL. Rapid barrier restitution in an in vitro model of intestinal epithelial injury. *Lab Invest*. 1989;60(2):237-244.

26. Sturm A, Dignass AU. Modulation of gastrointestinal wound repair and inflammation by phospholipids. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1582(1-3):282-288.
27. Grotendorst GR, Seppa HE, Kleinman HK, Martin GR. Attachment of smooth muscle cells to collagen and their migration toward platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(6):3669-3672.
28. Mast BA. Healing in other tissues. *Surg Clin North Am*. 1997;77(3):529-547.
29. Jönsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Breaking strength of small intestinal anastomoses. *Am J Surg*. 1983 Jun;145(6):800-3.
30. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. IV. Effect of suture technique on collagen metabolism in the colonic wall. *Am J Surg*. 1980 Mar;139(3):406-13.
31. Hawley PR, Faulk WP, Hunt TK, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastro-intestinal tract. *Br J Surg*. 1970 Dec;57(12):896-900.
32. Jönsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Comparison of healing in the left colon and ileum. Changes in collagen content and collagen synthesis in the intestinal wall after ileal and colonic anastomoses in the rat. *Acta Chir Scand*. 1985;151(6):537-41.
33. Robson MC, Steed DL, Franz MG. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg*. 2001;38(2):72-140.
34. Foster ME, Laycock JR, Silver IA, Leaper DJ. Hypovolaemia and healing in colonic anastomoses. *Br J Surg*. 1985 Oct;72(10):831-4.

- 35.** Hogstrom H, Haglund U, Zederfeldt B. Tension leads to increased neutrophile accumulation and decreased laparotomy wound strength. *Surgery* 1990;107(2):215-219.
- 36.** Khoury GA, Waxman BP. Large bowel anastomoses. The healing process and sutured anastomoses. A review. *Br J Surg.* 1983;70:61-63.
- 37.** Goligher JC, Lee PW, Simpkins KC, Lintott DJ. A controlled comparison one and two-layer techniques of suture for high and low colorectal anastomoses. *Br J Surg.* 1977 Sep;64(9):609-14.
- 38.** Yesilkaya Y, Soyhan N, Bengisu N, Sen M, Aritas Y. The effects of different suture techniques on collagen metabolism in experimental distal colonic anastomoses. *Br J Surg.* 1985 Dec;72(12):987-9.
- 39.** Leslie A, Steele RJ. The interrupted serosubmucosal anastomosis - still the gold standard. *Colorectal Dis.* 2003 Jul; 5(4):362-366.
- 40.** Uluocak K. Kolon anastomoz yetmezliklerinin sebepleri ve önlenmesi. *Dirim* 1992;67 sayı 1-2:34-42.
- 41.** Braskén P. Healing of experimental colon anastomosis. *Eur J Surg Suppl.* 1991; (566):1-51.
- 42.** Corman ML. Carcinoma of rectum, In: Corman ML, editor. *Colon and Rectal Surgery*, 3rd ed. Philadelphia. J.B. Lippincott Co. 1993; 596-720.
- 43.** Schrock TR, Deveney CW, Dumphy JE. Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. *Ann Surg* 1973; 177:513-8.
- 44.** Zmora O, Pikarsky AJ, Wexner SD. Bowel preparation for colorectal surgery. *Dis Colon Rectum.* 2001 Oct; 44(10):1537-49.

- 45.** Burke P, Mealy K, Gillen P, Joyce W, Traynor O, Hyland J. Requirement for bowel preparation in colorectal surgery. *Br J Surg.* 1994 Jun; 81(6):907-10.
- 46.** Contant CM, Hop WC, Van't Sant HP, Oostvogel HJ, Smeets HJ, Stassen LP, et al. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2007 Dec 22; 370(9605):2112-7.
- 47.** Slim K, Vicaud E, Panis Y, Chipponi J. Meta-analysis of randomized clinical trials of colorectal surgery with or without mechanical bowel preparation. *Br J Surg.* 2004; 91(9):1125-1130.
- 48.** Ram E, Sherman Y, Weil R, Vishne T, Kravarusic D, Dreznik Z. Is mechanical bowel preparation mandatory for elective colon surgery? A prospective randomized study. *Arch Surg.* 2005; 140(3):285-288.
- 49.** Bucher P, Gervaz P, Soravia C, Mermillod B, Erne M, Morel P. Randomized clinical trial of mechanical bowel preparation versus no preparation before elective left-sided colorectal surgery. *Br J Surg.* 2005; 92(4):409-414.
- 50.** Manz CW, La Tendresse C. The detrimental effects of drains on colonic anastomoses; an experimental study. *Dis Colon and Rectum*, 1970; 13:17-25
- 51.** Irvin TT, Goligher JC. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses. *Br J Surg.* 1973 Jun; 60(6):461-4.
- 52.** Stoop MJ, Dirksen R, Hendriks T. Advanced age alone does not suppress anastomotic healing in the intestine. *Surgery* 1996; 119(1):15-19.
- 53.** Karahasanoglu T, Altinli E, Hamzaoglu I, Paksoy M, Yesildere T, Alemdaroglu K. Effect of growth hormone treatment on the healing of left colonic anastomoses in protein-malnourished rats. *Br J Surg.* 1998 Jul; 85(7):931-3.

- 54.** Daly JM, Vars HM, Dudrick SJ. Effects of protein depletion on strength of colonic anastomoses. *Surg Gynecol Obstet.* 1972 Jan; 134(1):15-21.
- 55.** Dubay DA, Franz MG. Acute wound healing: the biology of acute wound failure. *Surg Clin North Am.* 2003;83(3):463-481.
- 56.** Ferguson MK. The effect of antineoplastic agents on wound healing. *Surg Gynecol Obstet.* 1982 Mar; 154(3):421-9.
- 57.** Cruse PJ, Foord R. A five-year prospective study of 23,649 surgical wounds. *Arch Surg.* 1973 Aug; 107(2):206-10.
- 58.** Verhofstad MH, Hendriks T. Diabetes impairs the development of early strength, but not the accumulation of collagen, during intestinal anastomotic healing in the rat. *Br J Surg.* 1994 Jul; 81(7):1040-5.
- 59.** Ravitch MM, Brolin R, Kolter J. Studies in the healing of intestinal anastomoses. *World J Surg.* 1981;5:627.
- 60.** Rolando H.R., Koruda M.J., Settle R.G., et al. The effect of enteral feedings supplemented with pectin on the healing of colonic anastomoses in the rat. *Surgery* 1986; 99:703-708.
- 61.** Sun H, Liu X, Xiong Q, Shikano S, Li M. Chronic inhibition of cardiac Kir2.1 and HERG potassium channels by celastrol with dual effects on both ion conductivity and protein trafficking. *J Biol Chem.* 2006;281:5877-5884.
- 62.** Hall, EJ., Cox, JD. Physical and biologic of radiation therapy. In: Moss, WT.,Cox, JD.,eds.Radiation Oncology:Radionale, Technique, Results.6th ed.St Louis:The C.V. Mosby Company 1998;1-57.

- 63.** Prudy JA., Glasgow GP., Lightfoot DA. Principles of radiologic physic, dosymetri, and treatment planning. In: Perez, CA., Brady, LW.,eds.Principles and practice of radiation oncology 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company 1992.
- 64.** Withers RH. Biologic basis of radiation therapy. Principles and practice of radiation oncology. Perez, C, Brady, L, ed. Lippincott Co. Philadelphia,1992;64-98.
- 65.** Marx ER., Ehler JW., Tayapongas P. Relationship of oxygen dose to angiogenesis induction in irradiated tissue. Am.J.Surg.,1990;160:519-524.
- 66.** Staffan W, Hasse J, Bengt Z. Preoperative radiation and colonic healing. Eur. J.Surg. 1994;160:47-51.
- 67.** Lange, E., Fechner, R., Spaulding, C. Rectal carcinoma treated by preoperative irradiation. Am.J.Surg.,1992;158:287-292.
- 68.** Whiting JF, Howes A, Osteen RT. Preoperative radiation for unresectable carcinoma of the rectum. Surg.Gynecol.Obstet. 1993;176:203-207.
- 69.** Higgins, GA.,Conn, JH., Jordan, PH. Preoperative radiotherapy for colorectal cancer. Ann.Surg.,1975;181:624-630.
- 70.** Cummings, BJ. Adjuvant radiation therapy for colorectal cancer. Cancer Suppl 1992;70:1372-1383.
- 71.** Friedman P, Garb JL, McCabe DP. Intestinal anastomosis after preoperative radiation therapy for carcinoma of the rectum. Surg. Gynecol.Obstet. 1987;64:257-260.

72. Pahlmann L. Initial report from a swedish multicentre study examining the role of preoperative irradiation in the treatment of patients with resectable rectal carcinoma. *Br. J. Surg.* 1993;80:1333-1336.
73. Bedirli A, Kerem M, Karahacioglu E, Ofluoglu E, Yilmaz TU, Pasaoglu H, et al. Effects of two conventional preoperative radiation schedules on anastomotic healing in the rat colon. *Eur Surg Res.* 2007;39(3):141-7.
74. Wellwood, JM., Jackson, BT. The intestinal complications of radiotherapy. *Br.J.Surg.*,1973;60:814-818.
75. Li YQ, Zhang ZX, Xu YJ, Ni W, Chen SX, Yang Z, et al. N-Acetyl-L-cysteine and pyrrolidine dithiocarbamate inhibited nuclear factor-kappaB activation in alveolar macrophages by different mechanisms. *Acta Pharmacol Sin* 2006;27:339-46.
76. Doyle SL, O'Neill LA. Toll-like receptors:from the discovery of NF kappa B to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochem pharmacol* 2006;72:1102-13.
77. Collins T, Read MA, Neish AS, Whitley MZ, Thanos D, Maniatis T. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF- κ B and cytokine-inducible enhancers. *FASEB J* 1995;9:899-909.
78. Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev* 2004 15; 18:2195-224.
79. Buzzelli MD, Nagarajan M, Radtka JF, Shumate ML, Navaratnarajah M, Lang CH, et al. Nuclear factor κ B (NF- κ B)mediates the inhibitory effects of tumor

necrosis factor-alpha(TNF) on growth hormone (GH)-inducible gene expression in liver. *Endocrinology* 2008;149:6378-88.

80. Amin RH, Schlissel MS. NF-kappa B comes home. *Immunity* 2005; 22:401-2.

81. Ahn KS, Sethi G, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B: from clone to clinic. *Curr Mol Med* 2007; 7:619-37.

82. Li X, Stark GR. NFkappa B-dependent signaling pathways. *Exp Hematol* 2002; 30:285-96 .

83. Li H, Zhang YY, Huang XY, Sun YN, Jia YF, Li D. Beneficial effect of tripterine on systemic lupus erythematosus induced by active chromatin in BALB/c mice. *Eur J Pharmacol.* 2005; 512:231-237.

84. Brooks, P., Fuertes, G., Murray, R.Z., Bose, S., Knecht, E., Rechsteiner, et al. Subcellular localization of proteasomes and their regulatory complexes in mammalian cells. *Biochem. J.* 2000; 346 (1): 155–161.

85. Chadebech, P., Bricese, L., Baldin, V., Vidal, S., Valette, A. Phosphorylation and proteasome-dependent degradation of Bcl-2 in mitotic-arrested cells after microtubule damage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999;262: 823–827.

86. Karin, M., Ben-Neriah, Y. Phosphorylation Meets Ubiquitination: The Control of NF-κB Activity. *Annual Review of Immunology* 2000; 18: 621-663.

87. Chariot A. 20 years of NF-kappaB. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1051-3.

88. Dixit V, Mak TW. NF-kappaB signaling many roads lead to madrid. *Cell* 2002; 111:615-9.

89. Courtois G, Gilmore TD. Mutations in the NF-κB signaling pathway: implications for human disease. *Oncogene* 2006; 25: 6831-43

- 90.** Cortes SM., Rodriguez FV., Sanchez PI., Perona R. The role of the NF-kappaB signaling pathway in cancer. *Clin Transl Oncol* 2008; 10:143-7.
- 91.** Garg A, Aggarwal BB. Nuclear factor-kB as a target for cancer drug development. *Leukemia* 2002; 16:1053-68.
- 92.** Smahi A, Courtois G, Rabia SH, Döffinger R, Bodemer C, Munnich A, et al. The NF-kappaB signalling pathway in human diseases: from incontinentia pigmenti to ectodermal dysplasias and immune-deficiency syndromes. *Hum Mol Genet* 2002;11:2371-5.
- 93.** Courtois G. The NF-kappaB signaling pathway in human genetic diseases. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62:1682-91.
- 94.** Kumar A, Takada Y, Boriek AM, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease. *J Mol Med* 2004; 82:434-48
- 95.** Pahl, H.L. Activators and target genes of Rel/NF-kB transcription factors. *Oncogene* 1999;18: 6853–6866.
- 96.** Delhalle, S., Blasius, R., Dicato, M., Diederich, M. 2004. A Beginner's Guide to NF-B Signaling Pathways. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1030: 1–13.
- 97.** Rogler G., Brand K., Vogl D., Page S., Hofmeister R., Andus T., et al. Nuclear factor kB is activated in macrophages and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa. *Gastroenterology* 1998; 115: 357–369.
- 98.** Nam NH. Naturally occurring NF-kappaB inhibitors. *Mini Rev Med Chem.* 2006 Aug;6(8):945-51. Review

- 99.** Calixto JB, Campos MM, Otuki MF, Santos AR. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II: modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Med.* 2004; 70:93-103.
- 100.** Gautam S, Kwang S.A, Manoj K, Pandey B, Bharat B. Celastrol, a novel triterpene, potentiates TNF-induced apoptosis and suppresses invasion of tumor cells by inhibiting NF- κ B regulated gene products and TAK1-mediated NF- κ B activation *Blood* 2007;109: 7.
- 101.** Allison AC, Cacabelos R, Lombardi VR, Alvarez XA, Vigo C. Celastrol, a potent antioxidant and anti-inflammatory drug, as a possible treatment for Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2001;25:1341-1357.
- 102.** Liu RL, Liu ZL, Li Q, et al. The experimental study on the inhibitory effect of tripterine on airway inflammation in asthmatic mice. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* 2004;27:165-168.
- 103.** Xu X, Wu Z, Xu C, Ren Y, Ge Y. Observation on serum anti-double stranded DNA antibodies of tripterine in systemic lupus erythematosus of (NZB $\times$ W)F1 mice. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:377- 378.
- 104.** Yang H, Chen D, Cui QC, Yuan X, Dou QP. Celastrol, a triterpene extracted from the Chinese "Thunder of God Vine," is a potent proteasome inhibitor and suppresses human prostate cancer growth in nude mice. *Cancer Res.* 2006;66:4758-4765.

- 105.** Zhou YX, Huang YL, Xu QN, Ye M, Sun CF, Zhou D. Several monomes from *Tripterygium wilfordii* inhibit proliferation of glioma cells in vitro. *Ai Zheng*. 2002;21:1106-1108.
- 106.** Nagase M, Oto J, Sugiyama S, Yube K, Takaishi Y, Sakato N. Apoptosis induction in HL-60 cells and inhibition of topoisomerase II by triterpene celastrol. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003; 67: 1883-1887.
- 107.** Huang FC, Chan WK, Moriarty KJ, et al. Novel cytokine release inhibitors. Part I: triterpenes. *Bioorg Med Chem Lett*. 1998; 8:1883-1886.
- 108.** Jin HZ, Hwang BY, Kim HS, Lee JH, Kim YH, Lee JJ. Antiinflammatory constituents of *Celastrus orbiculatus* inhibit the NF-kappaB activation and NO production. *J Nat Prod*. 2002;65:89-91.
- 109.** Zhang DH, Marconi A, Xu LM, et al. Tripterine inhibits the expression of adhesion molecules in activated endothelial cells. *J Leukoc Biol*. 2006; 80:309-319.
- 110.** Westerheide SD, Bosman JD, Mbadugha BN, et al. Celastrols as inducers of the heat shock response and cytoprotection. *J Biol Chem*. 2004; 279:56053-56060.
- 111.** Sassa H, Kogure K, Takaishi Y, Terada H. Structural basis of potent antiperoxidation activity of the triterpene celastrol in mitochondria: effect of negative membrane surface charge on lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1994; 17:201-7.
- 112.** Sassa H, Takaishi Y, Terada H. The triterpene celastrol as a very potent inhibitor of lipid peroxidation in mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 172:890-7.

- 113.** Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses (review). *J Surg Res.* 1990; 48(5):504-515 .
- 114.** Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension. *Br J Surg.* 1985;72(8):606-609.
- 115.** Hesp WL, Hendriks T, Schillings PH. Histological features of wound repair: a comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. *Br J Surg.* 1985; 66(5):511-518.
- 116.** Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses: parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990;33(10): 891-901.43.
- 117.** Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues. *Anal Biochem* 1981;15:70–5.
- 118.** Roy van Zuidewijn DB, Schillings PH, Wobbles T, DeBoer HH. Histologic evaluation of wound healing in experimental intestinal anastomoses: effect of antineoplastic agents. *Int J Exp Pathol* 1992; 73: 465–84.
- 119.** Salman B, Kerem M, Bedirli A, Katircioglu H, Ofluoglu E, Akin O, et al. Effects of *Chlorella* sp. microalgae extract on colonic anastomosis in rats with protein-energy malnutrition. *Colorectal Dis.* 2008 Jun;10(5):469-78. Epub 2007 Dec 5.
- 120.** Nakada, T., Kutoba, Y., Sasagawa, I. Therapeutic experience of hyperbaric oxygenation in radiation colitis. Report of a case. *Dis. Colon&Rectum* 1993;36: 962-965.
- 121.** Picolo, EV., Shellito, CP. Surgery for radiation injury to the large intestine. *Dis.Colon&Rectum* 1994;37:675-84.

- 122.** Tasdelen A, Algin C, Ates E, Kiper H, Inal M, Sahin F Effect of leptin on healing of colonic anastomoses in rats. *Hepatogastroenterology* 2004 Jul-Aug; 51(58):994-997.
- 123.** Rudinskaite G, Tamelis A, Saladzinskas Z, Pavalkis D. Risk factors for clinical anastomotic leakage following the resection of sigmoid and rectal cancer. *Medicina (Kaunas)* 2005; 41(9):741-746.
- 124.** Matthiessen P, Hallbook O, Rutegard J, Sjodahl R. Population-based study of risk factors for postoperative death after anterior resection of the rectum. *Br J Surg.* 2006; 93 (4):498-503.
- 125.** Stevens KR, Fletcher WS, Allen CV. Anterior resection and primary anastomosis following high dose preoperative irradiation for adenocarcinoma of the rectosigmoid. *Cancer* 1978,41:2065-71.
- 126.** Pleskovic A, Zorc-Pleskovic R, Uraspir-Porenta. Colon mucosal cell after combined radiotherapy and chemotherapy. *Folia Biol(praha)*. 2001;47:156-162 .
- 127.** Blake DP, Bubrick MP, Kochsiek GG. Low anterior anastomotic dehiscence following preoperative irradiation with 6000 rads. *Dis colon and rectum* 1984;27: 176.
- 128.** Winsey K, Simon RJ, Levenson S. Effect of supplemental vit A on colon anastomotic healing rats given preoperative irradiation. *Am J Surg.* 1987;153.
- 129.** Gilmore, T.D. The Rel/NF-kappa B/I kappa B signal transduction pathway and cancer. *Cancer Treat. Res.* 2003; 115: 241–265.

8 ÖZET

Preoperatif radyoterapi almış kolondaki anastomotik yara iyileşmesine yeni bir NF-κB inhibitör'ü olan celastrol'ün etkileri.

Kolorektal kanserlerdeki altın standard, cerrahi rezeksiyondur. Rezeksiyonu sonrası lokal rekürrens oranları için genellikle %30'ye yakın rakamlar bildirilmektedir (28). Rektum kanserlerinde preoperatif radyoterapi uygulamasının günümüz tedavi protokollerinde artan bir kabul görmektedir. Birçok çalışmada preoperative radyoterapinin rektum tümörlerinde rezektabiliteyi arttırdığı, lenf nodu metastazı insidansını ve lokal nüksü azalttığı gösterilmiştir (1, 6, 8, 72). Ancak uygulanan radyoterapinin de olumsuz etkileri bulunmaktadır. Radyasyonun bu olumsuz etkileri nedeniyle yara iyileşmesi gecikir ve anastomoz kaçağı oranlarında artış tespit edilmiştir (82). Anastomoz kaçağı %0-35 sıklıkta ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada ağırlıkları 250-300 gr olan 64 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Grup 1 (Kontrol grubu); kolon rezeksiyonu ve re-anastomoz yapıldı. Grup 2 (RT grubu); anastomoz öncesi radyoterapi 6-MV ışın üreten bir lineer akseleratör kullanılarak 5 gün ve her gün 5 Gy standart fraksiyonlarda toplam 25 Gy verildi. Grup 3 (Celastrol grubu) ratlara 5 gün boyunca 1:10 oranındaki dimethyl formamide (DMF):PBS (pH 7.2) solüsyonunda 1 mg/ml olacak şekilde çözüldü. Ratlara preoperatif radyoterapi süresince yani 5 gün boyunca 3 mg/kg/gün dozunda intraperitoneal olarak verildi. Grup 4 (RT + Celastrol grubu)

5 gün preoperatif radyoterapi ve celastrol verildi. Her dört grupta postop 3. ve 7. günlerde patlama basınçları ölçüldü, anastomozdan örnek alındı. Sonrasında ratlar sakrifiye edildi. 3. gün sakrifiye edilen gruplar "a", 7. gün sakrifiye edilen gruplar "b" olarak isimlendirildi.

Ratlarda; morbidite, mortalite oranları hesaplandı. Anastomozların patlama basınçları, dokuda hidrokspirolin düzeyi ölçüldü. anastomotik Dokuda yara iyileşmesinin histopatolojik analizi yapıldı. ELISA yöntemi ile NF-κB aktivitesinin ölçümü yapıldı.

İstatistik değerlendirme için ANOVA yöntemi kullanıldı ve $P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Kontrol grubunun 3. ve 7. gündeki patlama basınçları, sadece radyoterapi uygulanan grupta elde edilen patlama basınçlarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu (3. gün $P < 0.05$ ve 7. gün $P < 0.01$). Oysa celastrol grubu ile RT + celastrol gruplarında elde edilen ortalama anastomoz patlama basınçlarının kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($P > 0.05$).

Kontrol grubunda 3. ve 7. günde tespit edilen hidrokspirolin düzeyleri, radyoterapi uygulanan grupta tespit edilen hidrokspirolin düzeylerine göre anlamlı oranda yüksek bulundu (3. günde $0.323 \mu\text{g} / \text{mg}$ 'e karşın $0.255 \mu\text{g} / \text{mg}$; $P < 0.05$ ve 7. günde $0.352 \mu\text{g} / \text{mg}$ 'e karşın $0.271 \mu\text{g} / \text{mg}$; $P < 0.01$). Kontrol grubu ile celastrol ve RT + celastrol gruplarının 3. ve 7. gün hidrokspirolin düzeyleri karşılaştırıldığında üç grup arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P > 0.05$).

Radyoterapi uygulanan grupta 3. ve 7. günde tespit edilen NF- κ B düzeyleri, kontrol grubunda tespit edilen NF- κ B düzeylerine göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($P < 0.05$). Kontrol grubu ile celastrol ve RT + celastrol gruplarının 3. ve 7. günde tespit edilen NF- κ B düzeyleri karşılaştırıldığında üç grup arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P > 0.05$).

Sonuç olarak çalışmamızda, celastrol'un özellikle kolorektal cerrahide preoperatif veya postoperatif radyoterapi sonrası anastomoz iyileşmesine destek olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Anastomotik yara iyileşmesi, Celastrol, Preoperatif radyoterapi

9 SUMMARY

Effects of celastrol, a novel NF- κ B inhibitor, on anastomotic wound healing in previously irradiated colon radiation bursting pressure, hydroxyproline levels

Surgical resection is the gold standard procedure in colorectal cancer. After surgical resection, local recurrence rate is mainly declared as about %30 (28). Nowadays preoperative radiotherapy is becoming commonly accepted in rectum cancer treatment protocols. In lots of study it is shown that preoperative RT can perform rectum cancer to resectable form and can decrease the rate of metastases of lenf nods and local recurrence (1, 6, 8, 72). On the other hand this method have some side affects. Due to these side affects, wound healing can be delayed and an increase in anastomotic leakage rate is noted (82). Anastomotic leakage rates emerges between %0 and % 35.

In this study we used 64 wister albino male rat (main weight 250-300 gr). Colon resection and re-anastomose is performed in Group I, the control group. By using a lineer accelerator that produces 6MV ray in pre-anastomose radiotherapy, for five days, 5 Gy per day, totally 25 Gy, in standart fractions, is given in Group II, RT group. For 5 days 1/10 dimethyl formamide (DMF), that dissolved in the PBS (pH: 7,2) solution , 1mg/ml is applied to rats in Group III, celastrol group. It is given to rats, 3mg/kg/days by the introperitoneal way during preoperative radiotherapy process, for five days. Preoperative radiotherapy and celastrol is given for 5 days in Group 4, RT+ celastrol group. In each group, on 3rd and 7th

days postoperative bursting pressures are measured and samples are taken from anastomose and rats are sacrificed. The ones sacrificed on day 3 are named as 'a', and the others sacrificed on day 7 are named as 'b'.

The rate of morbidity and mortality in rats are calculated. Anastomose bursting pressures and the hydroxyproline levels and histopathologic evaluations are measured. The histopathologic analyse of wound healing in anastomotic tissue is made, and the activity of NF- κ B by ELISA is measured.

For statistical evaluation the method of ANOVA is used and $P < 0.05$ is taken as significant.

When we compared the group 1 with group 2 on the 3th and 7th days, bursting pressures are statistically significant, group 1 levels are higher than group 2 ($P < 0.05$ and $P < 0.01$). On the other hand, when we compared the group 1 with the group 3 and 4, there are no statistically significant difference ($P > 0.05$).

When we compared the group 1 with group 2 on the 3th and 7th days, hydroxyproline levels are statistically significant, group 1 levels are higher than group 2 (on the 3rd day, to 0.323 $\mu\text{g} / \text{mg}$, 0.255 $\mu\text{g} / \text{mg}$; $P < 0.05$ and on the 7th day, to 0.352 $\mu\text{g} / \text{mg}$, 0.271 $\mu\text{g} / \text{mg}$; $P < 0.01$) . On the other hand, when we compared the group 1 with the group 3 and 4, there are no statistically significant difference ($P > 0.05$).

When we compared the group 1 with group 2 on the 3th and 7th days, NF- κ B levels are statistically significant, group 2 levels are higher than group 1 ($P < 0.05$). On the other hand, when we compared the group 1 with the group 3 and 4, there are no statistically significant difference ($P > 0.05$).

As a result, in our study, it is obtained that celastrol can be supportive especially in colorectal surgery, in anastomose healing after peroperative or postoperative radiotherapy.

Keywords: Anastomotic wound healing, celastrol, preoperative radiotherapy

10 EKLER



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Kararları

27.12/2006

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/ 137-18800

KONU:

Sayın

Doç.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi ABD Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-06.090 kod numaralı ve *"Preoperatif radyoterapi almış kolondaki anastomotik yara iyileşmesine yeni bir NF-κB inhibitör'ü olan celastrol'un etkileri"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-06.090 and entitled *"Effects of celastrol, a novel NF-κB inhibitor, on anastomotic wound healing in previously irradiated colon"* is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.

Prof.Dr.Gökhan ALPAŞLAN
Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı
Chairman
Gazi University Experimental Animals Ethical Council

Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER

Prof.Dr.Nedret KILIÇ

Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN

Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN

Prof.Dr.Deniz ERBAŞ

Prof.Dr.Fatma AKAR

Prof.Dr.Altan DOĞAN

Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU

Uz. Vet. Hek.Şeyda DİKER

11 ÖZGEÇMİŞ

Adı: Özlem

Soyadı: SAMUR

Doğum Yeri Ve Tarihi: Akşehir-04.09.1976

Eğitimi: Uzmanlık: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2004-2010, Ankara.

Yüksek Öğrenim: Selçuk Ün. Tıp Fakültesi, 1994-2000, Konya.

Orta Öğrenim: Konya Gazi Lisesi, 1991-1994, Konya.

Konya Anadolu Ticaret Lisesi, 1987-1991, Konya.

İlk Öğretim: İnkılâp İlkokulu, 1982-1987, Konya.

Yabancı Dili: İngilizce

Uluslararası Dergide Yayımlanan Çalışmalar

1. Akın M., Bozkırlı B., Leventoğlu S., Samur Ö., Akyürek N., Şare M.,
“Incidentally Discovered Liver Schwannoma in a Patient with Breast Cancer,”
18th World Congress of the International Association of Gastroenterologists and
Oncologists, İstanbul, 2008