

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA İSKEMİK KOLON ANASTOMOZUNUN
İYİLEŞMESİNE PAPAVERİNİN ETKİSİ**

Dr. Salim İlksen BAŞÇEKEN

**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Atıl ÇAKMAK**

**ANKARA
2012**

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan

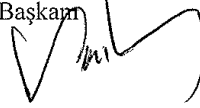
**“RATLARDA İSKEMİK KOLON ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNDE
PAPAVERİN ETKİSİ ”**

başlıklı,

Dr. Salim İlksen BAŞÇEKEN 'e ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

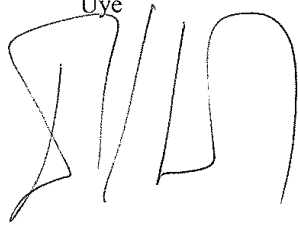
Tez Savunma Tarihi: 04.01.2013

Prof. Dr. Semih Başkan
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Jüri Başkanı

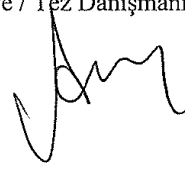


Prof. Dr. Hilmi Kocaoğlu
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Cerrahi Onkoloji Bilim Dalı

Üye



Doç. Dr. Atıl Çakmak
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Üye / Tez Danışmanı



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimi aldığım kliniğimizi daha güzel ve daha verimli hale getirmeyi kendine görev edinen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, değerli hocam, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. M.Semih Baskan'a,

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, tezimin gerçekleşmesinde büyük yardım ve katkıları olan, akademik ve insani yönleri ile örnek aldığım değerli hocalarım Prof. Dr. Selçuk Hazinedaroğlu, Doç. Dr. Atıl Çakmak ve Doç. Dr. Volkan Genç'e,

Eğitimime katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı' ndaki tüm hocalarıma,

Asistanlık sürem boyunca her konuda yardımlarını gördüğüm ve bir cerrah olarak yetişmemde büyük katkıları olan Doç. Dr. İlknur Kepenekçi Bayram, Doç. Dr. Bülent Erkek, Op. Dr. Cihangir Akyol, Op. Dr. Erkinbek Orazokunov, Op. Dr. Bülent Aksel ve Op. Dr. Oğuzhan Özşay'a;

Biyokimyasal verileri elde etmemizde büyük emekleri olan Gazi Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu ve Dr. Özge Tuğçe Paşaoğlu'na,

Patolojik incelemeleri yapan AÜTF Patoloji Tıp Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Serpil Dizbay Sak, Dr. Ayça Karabörk, Dr. Cevriye Cansız Ersöz ve Ankara Yüksek İhtisas Hastanesi Patoloji Bölölümü'nden Dr. Nesrin Turhan'a,

İstatistiksel değerlendirmeyi gerçekleştiren AÜTF Biyoistatistik Anabilim Dalından Doç. Dr. Derya Gökmen Öztuna ve Dr. Can Ateş'e,

Deneyler sırasında yardımlarını esirgemeyen Hasan Ferah, Dr. Ferit Aydın, Dr. Egemen Çiçek, Dr. Utku Tantoğlu, Dr. Ebru Esen, Dr. Ferah Çakır, Dr. Elif Nergiz Adıgüzel ve Başhemşire İlker Gül'e,

Beş yıllık asistanlık yaşantımı güzelleştiren, birlikte çalışmaktan zevk aldığım tüm asistan ve öğrenci arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum kliniğimiz ve ameliyathane hemşire ve tüm personeline,

Hayatım boyunca sonsuz desteklerini benden esirgemeyen, her türlü fedakarlığı ve özveriyi gösteren, varlıklarıyla bana her zaman güç veren aileme,

En içten teşekkürlerimle.

Dr. Salim İlksen BAŞÇEKEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. KOLON ANATOMİSİ.....	2
2.2. YARA İYİLEŞMESİ.....	4
2.2.1. İnflamasyon Fazı	5
2.2.2. Proliferasyon Fazı.....	6
2.2.3. Remodeling Fazı (Maturasyon Fazı)	8
2.3. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİ.....	8
2.4. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER.....	9
2.5. İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI.....	12
2.5.1. Serbest Radikaller.....	14
2.5.2. Polimorfonükleer Lökositler (PMNL).....	15
2.5.3. Komplemanlar	17
2.5.4. Endotel Hücreleri.....	18
2.6. ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİ DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ	18
2.6.1. Mekanik İnceleme Yöntemleri	19
2.6.2. Biyokimyasal Yöntemler	19
2.6.3. Histopatolojik Değerlendirme	20
2.6.4. Diğer Yöntemler	20
2.7. PAPAVERİN.....	20

3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. DENEY HAYVANLARI VE DENEY ORTAMI	22
3.2. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI.....	22
3.3. AMELİYAT PROSEDÜRÜ	23
3.4. ANASTOMOZ PATLAMA BASINCI ÖLÇÜMÜ	24
3.5. HİDROKSİPROLİN DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ	24
3.6. PATOLOJİK İNCELEME	25
3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	25
4. BULGULAR.....	29
4.1. ANASTOMOZ PATLAMA BASINÇLARI.....	29
4.2. HİDROKSİPROLİN DÜZEYLERİ	29
4.3. ANASTOMOZ HATTI YARA İYİLEŞMESİ SKORLARI	30
4.4. GRUPLARIN İSTATİSTİKSEL KARŞILAŞTIRMASI.....	31
4. TARTIŞMA	32
ÖZET.....	36
SUMMARY	38
KAYNAKLAR	40

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
ADP	: Adenozin difosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
C	: Kompleman
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ET	: Endotelin
Fe ⁺²	: Demir
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
G- CSF	: Granülosit koloni stimüle edici faktör
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
gr	: Gram
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
ICAM	: İnterselüler adezyon molekülü
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
İMA	: İnferior mezenterik arter
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İ/R	: İskemi-reperfüzyon
KDH	: Ksantin dehidrogenaz
KO	: Ksantin oksidaz
LT	: Lenfokin
mcg/mg	: Mikrogram/miligram
MIP	: Makrofaj inflamatuvar protein

ml	: Mililitre
NADPH	: Nikotin amid adenin dinucleotit fosfat
NF-kB	: Nükleer faktör-kB
NK	: Doğal öldürücü
NO	: Nitrik oksit
NO ₃ ⁻	: Nitrat
O ₂	: Oksijen
OH ⁻	: Hidroksil radikali
PA	: Protein Aktivatör
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PDGF	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
PECAM	: Trombosit endotel hücresi adezyon molekülü
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
PSGL	: P-selektin glikoprotein
SMA	: Süperior mezenterik arter
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
Th	: Yardımcı T hücre
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TxA ₂	: Tromboksan A ₂
SOD	: Süperoksit dismutaz enzimi
SOR	: Süperoksit radikalleri
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü
Zn ²⁺	: Çinko

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. İnflamatuvar Sitokinler	7
Tablo 2. Kolon anastomozunun iyileşmesi etkileyen lokal ve sistemik faktörler	10
Tablo 3. Deney Gruplarının Oluşturulması	23
Tablo 4. Anastomoz patlama basınçlarının ortanca ve min-max değerleri	29
Tablo 5. Hidroksiprolin düzeylerinin ortanca ve min-max değerleri	30
Tablo 6. Anastomoz hattı yara iyileşme skorlarının ortanca ve min-max değerleri.....	30

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Deney İçin Hazırlanmış Rat	26
Resim 2.	Ratlarda Kolonun Vasküler Ağı	26
Resim 3.	Ratın Çekum Ve Sağ Kolonu	26
Resim 4.	Çıkan Kolonun Mezosu Ve Kollaterallerinin Klemplenmesi	27
Resim 5.	Kolon Transeksiyonu	27
Resim 6.	Anastomoz Yapılmış Çıkan Kolon Segmenti	27
Resim 7.	Anastomoz Patlama Basıncı Ölçüm Düzenegi.....	28
Resim 8.	İnfüzyon Pompası.....	28
Resim 9.	Monitör.....	28

1. GİRİŞ

Günümüzde kolorektal cerrahi operasyonları; kolorektal kanserler, iskemik kolit, ülseratif kolit, Crohn hastalığı, mekanik bağırsak tıkanıklığı, travma ve rekürren divertikülit başta olmak üzere birçok hastalıkta sıklıkla uygulanmaktadır (1). Diğer majör cerrahilerde olduğu gibi kolon cerrahisinde de birçok ciddi ve ölümcül komplikasyonla karşılaşılabilir. Komplikasyon görülme insidansı %10-30 arasında değişmektedir (2).

Anastomoz kaçakları, kolorektal cerrahinin en önemli komplikasyonlarından biri olmakla beraber yüksek morbidite ve mortalite oranlarıyla seyrederek. Anastomoz kaçaklarının olası nedenleri arasında iskemi, cerrahi teknik, anastomoz hattında gerginlik olması, lokalize enfeksiyon ve anastomoz distalinde obstrüksiyon sayılabilir (3). Cerrahi teknikteki ilerlemelere rağmen halen kolorektal cerrahi sonrası %5-15 arasında komplikasyon görülmektedir (4). Tüm cerrahi teknik gelişmelere rağmen literatürde anastomoz kaçaklarının mortalitesi halen %10 ile %32 arasında değişmektedir (5,6,7).

İskemi, anastomoz iyileşmesini bozan en önemli faktörlerden biridir. Bilindiği gibi kolon gastrointestinal sistemde iskemiye en müsait organdır (8). Kolon iskemisi her yaşta görülebilmekle beraber kolon damarlarının yaşa bağlı uzaması ve aterosklerozu nedeniyle genellikle (%90) yaşlı hastalarda görülür. Kolorektal ameliyatların da genellikle ileri yaş hastalara uygulanıyor olması, yapılan anastomozların iskemiye maruz kalma olasılıklarını arttırmaktadır (9).

Anastomozların iskemik koşullarda yapılmasını gerektiren bir diğer durumda mezenter iskemidir. Mezenter iskemi kliniği arteriyel veya venöz obstrüksiyon sonucunda ortaya çıkabilir. İskemiye oluşturan neden ortadan kaldırıldıktan sonra yapılan anastomozlar ayrıca reperfüzyon hasarıyla da karşı karşıyadırlar (10).

Çalışmamızda papaverinin iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası oluşan mikrovasküler yatakta vazokonstriksiyon kısır döngüsünü bozarak ve kollaterallere olan kan akımını arttırması ve güçlü vazodilatör etkinliği nedeniyle anastomoz iyileşmesi üzerine olan etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KOLON ANATOMİSİ

Kolon, ileumdan anüse dek uzanan yaklaşık 150-200 cm. uzunluğunda değişken çaplı bir organdır. Başlangıçtan itibaren sırasıyla çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur. Çıkan kolon ve inen kolon arka yüzleri, splenik fleksura ve hepatic fleksura retroperitoneal yerleşimlidir. Kolon histopatolojik olarak 3 tabakadan oluşmuştur. Bunlar; içten dışa mukoza, muskularis propria ve serozadır. Kolon, ince bağırsaklardan haustra koli denilen boğumlarıyla, appendiks epiploica denen yağ kesecikleriyle ve tenyalarıyla ayrılır. Longitudinal kas lifleri biraraya gelip kolon duvarında ‘tenya’ adı verilen bantları oluştururlar. Tenyaların uzunluğu kolonun uzunluğundan kısa olduğundan kolon büzülerek ‘haustra’ denen kesecikleri oluşturur. Kolon tenyaları distalde rektumun longitudinal kas tabakasıyla birleşerek kaybolurlar. Apendiks epiploicalar ise tenyalara tutunarak karın boşluğuna doğru çıkıntı yapan yağ dokularıdır (11,12).

Çekum kalın bağırsağın ilk parçasıdır ve ortalama çapı 4-8 cm. arasındadır. Terminal ileum; çekuma ‘ileoçekal valv’ adı verilen kalınlaşmış bir invajinasyon yoluyla boşalır. İleoçekal valv mekanizmasıyla ileum içeriğinin kolona hızlı geçişi ve regürjitasyonu önlenmiş olur. Appendix, ileoçekal valvin yaklaşık 3 cm. aşağısından çekumdan çıkan ve kör sonlanan bir yapıdır. Ortalama uzunluğu 6-10 cm. dir. Kolonun tenyaları, appendiks lokalizasyonunda birleşir. Apendiks, distal ucunun yerleşimine göre; retroçekal(%65), pelvik(%31), subçekal(%2.3), preilial(%1) ve retroileal(%0.4) olarak sınıflandırılırlar (13).

Çıkan kolon, çekumdan karaciğerin sağ lobunun alt yüzüne kadar uzanan yaklaşık 15–20 cm’lik kolon segmentidir. Karaciğer alt yüzünde sola doğru dönerek hepatic fleksurayı yapar. Arka yüzü retroperitona yapışırken lateral ve anterior yüzleri peritonla kaplı retroperitoneal bir yapıdır. Ön yüzde incebarsaklar, omentum majus karın ön duvarı ile arkada duodenum ile komşuluğu vardır (12,14).

Transvers kolon ortalama 40-50 cm. olup kolonun en mobil ve en uzun olan kısmıdır. Hepatic ve splenik fleksuralar arasında uzanır ve intraperitonealdır. Omentum majus transvers kolonun üst kesimine tutunur (13).

İnen kolon, splenik fleksuradan aşağıya doğru uzanan 25 cm.lik kolon segmentidir. İnen kolon çap olarak çıkan kolondan daha dardır. Arkada sol böbrek ile komşuluğu vardır. Önde ise ince barsaklar, omentum ve karın ön duvarı ile komşudur (12).

İnen kolon distalde daha kalın ve daha hareketli olan sigmoid kolonla birleşir. Sigmoid kolon, Kolonun minör pelvis giriminden başlayan, 3. sakral vertebra düzeyinde rektumla sonlanan ortalama 15-50 cm uzunluğundaki kısmını oluşturur. Sigmoid kolon uzun ve sarkık mezosu üzerinde oldukça mobil bir kolon segmentidir (13).

Rektum, sigmoid kolondan anüse dek uzanan ortalama 12-15 cm. uzunluğunda kolon segmentidir. Rektum ve sigmoid kolon beraber fekal rezervuar olarak görev yaparlar. Rektumun haustraları, epiploik çıkıntıları ve teniaları yoktur. Rektum pelviste sakrum konkavitesine oturmuştur ve tamamen ekstrapéritonealdir. Rektumun proksimal 1/3 kısmının ön yüzü visceral peritonla örtülüdür. Öndeki bu peritonla kaplı alana 'Douglas çıkmazı' adı verilir. Bu bölge karın içi tümörlerin dökülme yeri olması nedeniyle önemlidir. Bu peritoneal metastazların rektal muayene ile hissedilmesine 'Bloomer rafi bulgusu' adı verilir. Peritoneal refleksiyon anal kanaldan erkeklerde 7-9 cm, kadınlarda 5-8 cm mesafededir (13).

Sağ kolonun arteryel beslenmesini süperior mezenterik arter (SMA) sağlar. SMA, L1 seviyesinde Trunkus Çöliakus'un distalinden aortun ön yüzünden çıkar. A.kolika media, A.kolika dekstra ve A.ileokolika adlı dallarına ayrılır. A.kolika media, transvers kolonun 2/3 proksimalini besler. A.kolika dekstra, hepatik fleksura ve çıkan kolonu besler. A. ileokolika ise çekumu ve appendiküler arter dalı ile appendiksi besler (12,13).

Sol kolonun ve transvers kolonun 1/3 distalinin arteryel beslenmesini inferior mezenterik arter (İMA) sağlar. İMA aort bifurkasyonunun 2-4 cm proksimalinden, L2-L3 hizasından, aortun ön yüzünden çıkar. Sol kolik arter, sigmoidal arterler ve superior rektal arter İMA'nın dallarıdır (13).

Superior rektal arter, İMA'nın son dalıdır ve rektosigmoid bölgeyi besler. Orta ve inferior rektal arterler, superior rektal arterle beraber rektumun ve anal kanalın beslenmesinden sorumludurlar. Orta rektal arter internal iliak arterin inferior rektal arter ise internal iliak arterin dalı olan pudental arterin dalıdır. Kolonu

besleyen arterler arasında birçok kollateral bulunur. Drummond'un marjinal arteri, kolonun mezenterik sınırını paralel olarak takip eden kollaterallerden oluşur. Bu arterden kısa aralıklarla çıkan vasa rectalar direkt olarak bağırsak duvarını beslerler. Riolan arkı; proksimal SMA ile proksimal İMA'yı direkt olarak birleştiren kollateral bir arterdir.

Kolonun venleri arterleri izler, superior ve inferior mezenterik venlere dökülürler. Rektumun ve anal kanalın çevresindeki ven pleksusundan çıkan dalların bir kısmı, superior rektal ven vasıtasıyla inferior mezenterik vene, bir kısmı da medial ve inferior rektal venler vasıtasıyla internal iliak vene dökülürler (11-13).

Kolonun lenfatik akımı arteryel anatomiyi izler. Kolon ve üst rektum lenf nodları paraaortik lenf düğümlerine oradan da sisterna şiliye drene olurlar. Alt rektum lenf nodları ise hem iliak sistem aracılığıyla yüzeyel inguinal lenf nodlarına hem de paraaortik lenf düğümlerine drene olurlar (11,13).

Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun sağ tarafı sempatiklerini çöliak pleksustan (T6-12), parasempatiklerini nervus vagustan alırlar. Transvers kolonun sol kısmı, inen kolon, sigmoid kolon, rektum ve anal kanalın üst kısımları sempatiklerini, lumbal splanknik pleksustan (L1-3) ve superior hipogastrik pleksustan, parasempatiklerini pelvik splahnik sinirlerden, inferior hipogastrik pleksustan alırlar (11,13).

2.2. YARA İYİLEŞMESİ

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasıdır. Yaranın iyileşmesi, yaralı dokunun yapı ve fonksiyonunun düzeltilmesidir. İyileşme süreci yaralanma anından itibaren başlar günler, aylar ve hatta yıllarca sürebilir (15,16). Yara iyileşmesi, yaralanma anında başlayan birbirini takip eden ve iç içe geçmiş 3 evrede incelenir (17). Yara iyileşmesinin evreleri şöyle sıralanabilir;

1. İnflamasyon (0-6 gün)
2. Proliferasyon (3-14 gün)
3. Remodeling (14-300 gün)

2.2.1. İnflamasyon Fazı

İnflamasyon fazı hemostaz ve inflamasyon evrelerinden oluşur. Yaralanma sonucu kan damarlarının hasarı sonucunda zedelenen damarda vazokonstriksiyon oluşur ve koagülasyon kaskadı başlar. Yara bölgesinde lokal olarak bulunan trombin ve açığa çıkan fibriler ile plateletler aktive olur. Trombositlerin aktivasyonunu adezyon ve agregasyon izler. Kollajende bulunan prolin ve hidroksiprolin aminoasitleri platelet aktivasyonunun başlangıcında önemli faktörler olarak görev alır (16). Aktive plateletler granüllerinde bulunan birçok mediatörü serbestleştirir. Bunlar; adenosin difosfat (ADP), von Willebrand faktör, tromboksan A₂, 5-hidroksitriptofan, fibrinojen, fibronektin ve trombospondindir. Bu mediatörlerce aktive olan kompleman ve kinin yolakları sonucunda birçok vazoaktif ve kemotaktik faktör açığa çıkar. Bu olaylar trombosit tıkaçı ve pıhtı oluşumu ile sonlanır (16). Pıhtının içerdiği kollajen, trombosit, trombin ve fibronektin birçok büyüme faktörü ve sitokinin salınımına neden olur (Tablo1) (17,18). Hasarlanan kan damarlarından çıkan plazma ve diğer kan elemanları intrinsik ve ekstrinsik yollar aracılığıyla trombin oluşumunu ve pıhtılaşmayı başlatır (17). Lokal damar cevabı ilk olarak tromboksan ve prostaglandin 2- α 'nın da etkisi ile vazokonstriksiyondur. Daha sonra prostaglandinlerin etkisi ile vazodilatasyon cevabı oluşur (17,18).

İnflamasyon sırasında kemotaktik faktörlerin etkisi ile nötrofiller yaralanma bölgesine ilk ulaşan hücrelerdir. İnflamasyonun neden olduğu artmış damar geçirgenliği komplemanlar, IL-1, TNF- α , TNF- β gibi kemotaktik maddeler nötrofil kemotaksisini uyarır (19,20). Nötrofiller yaralanmayı takiben 6 saat içinde yaralanma bölgesinde görülürler ve maksimum seviyeye 1-2. günlerde ulaşırlar (16). Nötrofillerin asıl görevi; ölü dokuların temizlenmesi ve enfeksiyonun önlenmesidir. Ayrıca elastaz ve kollejenaz salgılayarak hücresel elemanların damar duvarından geçmesini kolaylaştırırlar. Nötrofillerden sonra yara yerine gelen lenfositler salgıladıkları lenfokinlerle fibroblast migrasyonunu uyarırlar. Daha sonra monositler ve makrofajlar yara yerine göç ederler ve baskın hücre haline gelirler (48-72 saat). Makrofajlar yara iyileşmesinde fagositoz amaçlı ve antimikrobiyal faktör olarak görev yaparken ayrıca anjiogenetik faktörlerin ve büyüme faktörlerinin ana kaynağını oluştururlar (17).

2.2.2. Proliferasyon Fazı

Epitelizasyon, anjiogenez, granülizasyon ve kollajen birikimi proliferasyon fazının ana basamaklarıdır. Yara onarımından önce epitelizasyon olur. Eğer bazal membran sağlamısa epitelizasyon normal şartlarda olduğu gibi yukarı doğru olur. Epitelyal progenitör hücreler epidermisi 2-3 gün içerisinde yeniden oluştururlar. Ancak bazal membran hasarlanmış ise yara dudaklarındaki epitel hücreleri proliferasyon olarak ve çıkıntılar oluşturarak biraraya gelmeye ve koruyucu bir bariyer oluşturmaya çalışırlar (21,22). TNF- α tarafından stimüle edilen anjiogenezle birlikte epitelyal hücre göçü ve yeni kapiller oluşumu gözlenir. Granülasyon fazı ve kollajen oluşumu için bu kapillerlerden gelen nutrientler çok önemlidir. Epitelyal hücre artışı, doku kaybı olan yaralarda sıvı kaybını engeller ve enfeksiyona karşı direnç sağlar. Aktive trombositler ve makrofajlardan salınan TGF- α ve epidermal büyüme faktörü(EGF) epitelyal proliferasyon ve kemotaksis için önemli uyarınlardır (21,22).

Granülasyon aşamasında ise fibroblastlar yara kenarlarına göç ederler ve çoğalarak kollajen sentezlemeye başlarlar. Trombositler ve makrofajlardan sentezlenen trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) ve EGF fibroblastlar için ana uyarınlardır. Yara kenarlarında bulunan fibroblastlar kollajen sentezlemeleri dışında miyofibroblastlara dönüşerek yara kontraksiyonuna da katkıda bulunurlar (23,24). Cerrahiden sonraki ilk 24 saat içinde anastomoz kenarında görülen fibroblastlar, 3.-5. günde en fazla düzeye ulaşırlar (25).

Tablo 1. İnflamatuvar Sitokinler (17)

Sitokinler	Salgılandığı Hücre	Fonksiyonu
EGF	Trombositler, makrofajlar	Fibroblastlar için mitojenik
FGF	Makrofajlar, T lenfositler, endotelial hücreler	Anjiogenetik, fibroblastlar için kemotaktik ve mitojenik
IFN'lar (α , β ve γ)	Lenfositler, fibroblastlar	Makrofaj aktivasyonu, fibroblast proliferasyonunun inhibisyonu
IL'ler (1,2,6 ve 8)	Makrofajlar, lenfositler, mast hücreleri	IL-1: ateş oluşumu, ACTH salınım induksiyonu, TNF- α ve IFN- γ salınımı, granülosit ve endotelial hücre aktivasyonu, hematopoetik etki IL-2: Makrofaj, doğal öldürücü hücre ve T hücre aktivasyonu, aktive B ve T hücre proliferasyon stimülasyonu, ateş induksiyonu IL-6: Ateş induksiyonu ve karaciğerden akut faz reaktanlarının salınmasının uyarılması IL-8: Nötrofillerin kemotaksis, yapışma ve granül salınımı fonksiyonlarını arttırma
PDGF	Trombositler, makrofajlar, endotelial hücreler	Kemotaktik etki, fibroblastlar için mitojenik etki, anjiogenez stimülasyonu, yara kontraksiyonu artışı
TGF- α	Makrofajlar, T lenfositler,	Fibroblastlar için mitojenik
TGF- β	Trombositler, T lenfositler, makrofajlar, endotelial hücreler	Kemotaktik etki, anjiogenez ve fibroplazi stimülasyonu
Tromboksan A2	Hasarlı doku	Potent vazokonstriktör etki
TNF	Makrofajlar, mast hücreleri, T lenfositler	Makrofaj aktivasyonu, fibroblastlar için mitojenik etki, anjiogenez stimülasyonu

EGF: Epidermal büyüme faktörü, FGF: Fibroblast büyüme faktörü, IFN: İnterferon, IL: İnterlökin, PDGF: Trombosit kökenli büyüme faktörü, TGF: Transform edici büyüme faktörü, TNF: Tümör nekrozis faktör

2.2.3. Remodeling Fazı (Maturasyon Fazı)

Klinik olarak en önemli evreler matürasyonun ve proliferasyonun gerçekleştiği evrelerdir. Bu evrenin en önemli özelliği kollajen birikimi ve organizasyonudur. Kollajen birikimi yaralanmadan itibaren 4-5. haftaya kadar devam eder. Kollajen birikimindeki artış sadece fibroblast sayısındaki artışla değil aynı zamanda hücre başına düşen kollajen üretimi artışıyla da ilişkilidir. Kollajen birikimi yaralanmadan 2-3 hafta sonra en yüksek düzeylere ulaşır. Bütün bu süreçler sırasında kollajen yapımı ve yıkımı dengeli bir biçimde devam eder (26,27).

Gerilme kuvveti kollajen fibrillerinin organize olması ve aralarındaki çapraz bağların sayısının artmasıyla yükselir. Kollajenin gerilim gücü yaralanmadan 3 hafta sonra %30'una ve 3 ay sonra da %80'ine ulaşır. Ancak gerilim gücü yaralanmadan önceki gücün %80'inden fazlasına ulaşamaz (28).

Yara iyileşmesinde bütün bu evrelerle beraber yara kontraksiyonu, epitelizeasyon ve bağ dokusu birikimi olur. Böylelikle yara iyileşmesi tamamlanmış olur (17).

Kollajen vücuttaki tüm canlı dokuların yapı proteindir. Temel olarak 3 aminoasitten (glisin, prolin, lizin) oluşur. Prolin, prolin hidroksilaz enzimi ile hidroksiprolin'e dönüşür. Bu reaksiyonda, demir (Fe^{+}), moleküler oksijen, alfa ketoglutarat ve C vitamini rol alır. Kollajen fibrilleri arasındaki çapraz bağlar dokunun sağlamlığında önemlidir. Yarada, en sık Tip 1 kollajen bulunur ve yıkımı kollajenaz enzimi aracılığıyla olur (29).

2.3. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİ

Gastrointestinal sistemde de anastomoz iyileşmesi temel yara iyileşme prensiplerine uygun olmakla beraber bazı farklılıklar mevcuttur. Sağlam gastrointestinal sistemde gerilim gücünü sağlayan ana tabaka submukozadır. Gastrointestinal sistemdeki kollajenin büyük bir kısmı bu tabakadadır. Aynı şekilde anastomoz yapılmış bağırsakta sütürleri tutan tabaka da submukozadır (30, 31, 32). Normal yara iyileşmesinden farklı olarak gastrointestinal sistemde düz kas hücreleri de fibroblastlarla beraber kollajen sentezine katkı da bulunur (31). Gastrointestinal sistemde anastomoz iyileşmesi 3 evrede incelenebilmektedir (30).

Evre 1: 0-4 gün, inflamasyon ve ödem evresi

Evre 2: 3-14 gün, proliferasyon ve onarım evresi

Evre 3: 10-180 gün, remodeling ve matürasyon evresi

İlk olarak anastomoz dudaklarında vazokonstriksiyon gelişir. Ardından vazodilatasyon ve kapiller permeabilite artışı görülür. Yaralanmadan 3 saat sonra bölgeye nötrofiller gelir ve 12-24 saat içerisinde maksimum düzeye ulaşırlar. Ardından makrofajlar ve fibroblastlar yara yerine ulaşır. Makrofajlardan salınan sitokinler fibroblastlar ve düz kas hücrelerinde kollajen sentezini ve neovaskülarizasyonu uyarır. 3-4 gün süren bu evrede inflamasyon ve ödem gözlenir. Kollajen sentezinin başlamasıyla proliferasyon evresine geçilir (30, 33, 34). Postoperatif 4. günden başlayarak anastomozda kollajen miktarı artar ve anastomoz kuvveti artmaya başlar (35). Submukozada sentezlenen kollajen ile yara dudakları arasında köprüler ve çapraz bağlar oluşmaya başlar. İnflamasyon evresinde anastomozu birarada tutan sütürlerin bu dönemde artık bir önemi kalmaz (7.-14. günler) (34).

Remodeling döneminde de granülasyon dokusu azalır ve yerini düzenli hücre gruplarına, düz kas hücrelerine ve normal dokuya bırakır. Bu evre 10-180 gün arası sürebilir. Anastomoz bütünlüğü, kollajen sentez ve yıkımı arasındaki hassas dengeye dayanır (34). Anastomoz iyileşme süreci çok sayıda lokal ve sistemik faktörden etkilenir (Tablo 2) (30, 33).

2.4. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER

İyileşme enerji gerektiren bir süreçtir ve bu enerji gereksinimi ATP aracılığıyla giderilir. Başlangıçta ATP gereksinimi anaerobik şartlarda glikoliz ile karşılanabilir. Ancak çok yüksek miktarlarda enerjiye ihtiyaç duyulan proliferasyon fazında ATP'nin primer kaynağı oksidatif fosforilasyondur. Bu da ancak yeterli oksijen ve glukoz sağlayabilen kan akımı varlığında gerçekleşebilir. Hipoksi veya yetersiz glukozun yara iyileşmesini bozduğu gösterilmiştir (36). Bu nedenle anastomoz iyileşmesinde en önemli lokal faktörün yeterli kan akımı olduğu söylenebilir. Bununla beraber birçok lokal ve sistemik faktör anastomoz iyileşmesini etkilemektedir (Tablo 2) (30, 33).

Cerrahi teknikte; anastomoz iyileşmesi için önemli bir faktördür. Kaba cerrahi teknik, aşırı mobilizasyon ve dikiş veya staplerin çok sıkı konulması; anastomoz perfüzyonunu ve yara iyileşmesini bozan faktörlerdir (37). Bununla birlikte yetersiz mobilizasyon da gerginliğe neden olacağı için anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilemektedir. Anastomoz esnasında hemostaz için aşırı koter kullanımı, kontaminasyonun engellenmesi için konulan klempelerin uzun süreli ve sıkı olması, sıkı sütürler ve staplerler kritik damarları hasarlayabilir ve dokuda iskemi oluşur (37). Ayrıca invert edilen anastomozların evert edilenlere göre daha iyi iyileştiği bilinmektedir (38). Tek tek atılan anastomoz dikişlerinin devamlı olanlara göre daha az lokal iskemi oluşturduğu ve anastomoz kaçağı riskini azalttığı bildirilmiştir (39, 40).

Tablo 2. Kolon anastomozunun iyileşmesi etkileyen lokal ve sistemik faktörler

Lokal Faktörler	Sistemik Faktörler
Kan Akımının Yeterliliği	Yaş
Cerrahi Teknik	Malnutrisyon
Hematom	Hipovolemi
Doku Tipi	Asidoz
Mekanik Travma	Malignite
Anastomoz Gerginliği	Şok veya Sepsis
Dikiş Materyalinin Cinsi	Hipoksi
Mekanik Travma	Enfeksiyon
Radyasyon Hasarı	Avitaminozlar
Yabancı Cisimler	Kan Transfüzyonları
Drenler	Obesite
Denervasyon	Steroid veya Kemoterapotik Ajan Kullanımı
	Karaciğer Yetmezliği
	Diabet
	İmmun Yetmezlik

Hipovolemi doku perfüzyonunu azaltarak iyileşmeyi geciktirir (41). Dolaşan kan hacminin ameliyat sırasında %10'luk kaybı durumunda ameliyat sonrası üçüncü günde kolonik ve ileokolik anastomozlarda anlamlı düzeyde kollajen azalması tespit edilmiştir (42). Kan viskozitesinin artışı da anastomoz vasküler dolaşımına zarar verir (43). Yeterli oksijen dağılımı kollajen sentezi sırasında lizin ve prolin hidroksilasyonu, nötrofil ve fibroblast fonksiyonları için gereklidir (44). İskemik dokular; daha zayıf iyileşir ve daha kolay enfekte olurlar (42).

İdeal sütür materyali, anastomotik bütünlük sağlanıncaya kadar gücünü korumalı, minimal doku reaksiyonu oluşturmali ve enfeksiyonu önlemelidir (30, 33).

Lokal enfeksiyonlar anastomoz kaçaklarının en önemli nedenlerinden biridir. Kolon florasının zengin oluşu ve operasyon sırasında bulaş olması lokal enfeksiyonun nedeni olarak gösterilmektedir (45). Enfeksiyon yara dokusunda kollajenaz aktivitesini arttırarak kollajen miktarında azalmaya neden olur (46).

Kan transfüzyonları immun cevabı baskılar, enfeksiyona yatkınlığı arttırır ve intraperitoneal sepsis insidansını arttırarak kolon anastomozu iyileşmesini bozarlar (30). Kemoterapötikler, fibroblast proliferasyonu inhibe ederek kollajen sentezini azaltır. Ayrıca kemoterapotik ilaçlar yarattıkları nötropeni ile de yara iyileşmesini bozabilir ve yara enfeksiyonuna neden olabilirler (30, 33). Kortikosteroidler; antienflamatuar etkileri ile hücresel fonksiyonları baskılayarak yara iyileşmesini geciktirirler (47). İmmun sistemi baskılanmış insanlarda polimorfonükleer lökositlerin azlığı inflamatuvar fazı bozarak yara iyileşmesini geciktirir (30).

Malnütrisyon ve hipoproteinemi kollajen sentezini bozarak yara iyileşmesini geciktirir (30). Kollajen sentezi için gerekli olan A, B6, C, E vitaminleri, demir (Fe^{+2}), çinko (Zn^{+}), selenyum ve bakır eksikliklerinde de iyileşme bozulur (30,48).

Radyoterapinin yara iyileşmesini kötü etkilediği bilinmektedir. Gastrointestinal sistemde radyoterapinin geç dönem etkileri arasında fibrozis, striktür formasyonu ve endarteritis obliteransa sekonder iskemi sayılabilir (30).

Kolon ameliyatlarından önce, operasyon anında kirlenmenin ve kolon florasının azaltılması için yapılan mekanik barsak temizliğini yapılmasının ve profilaktik antibiyotik kullanımının anastomoz kaçağı riskini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (49).

Sistemik hastalıklar da yara iyileşmesini kötü etkilemektedir. Diabetli hastalarda nötrofil, makrofaj ve lenfosit fonksiyonunun bozulmasına, fibroblast proliferasyonunun azalmasına, mikrovasküler dolaşım bozukluğu yara iyileşmesini kötü etkilemektedir (50). Malign hastalıklar katabolik etkileri nedeniyle iyileşmeyi geciktirirler (51). Karaciğer yetmezliği, sarılık, üremi gibi protein sentezinin bozulduğu hastalıklarda anastomoz iyileşmesi gecikmektedir (52).

Drenlerin bazı durumlarda anastomozu erode edebildiği ve mikroorganizmalar için peritoneal kaviteye retrograd bir yol oluşturdukları bilinmektedir (30). Anastomoz hattında oluşan hematoma da yara iyileşmesini geciktirmektedir (30).

2.5. İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

İskemi arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı yetersiz perfüzyon sonucu doku veya organların oksijenden yoksun kalması olarak tanımlanır. Hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuda hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (53, 54).

Reperfüzyon hasarında, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücrel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (55).

İskemi, dokulara oksidatif fosforilasyon için gerekli olan oksijen geçişini azaltır. Bunun sonucunda hücre içi adenosin trifosfat (ATP) seviyeleri düşer ve hücrel homeostazis bozulur (56). Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na-K-ATPaz pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde sodyum ve kalsiyum iyon konsantrasyonları artar (57). Hücre içinde kalsiyum iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir (58). Ayrıca bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin ve lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış olur. Buna karşın antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız

hale getirir. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP (Adenozin monofosfat) ve adenozin oluşur. Adenozin, hızla hücre dışına çıkarak inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar (54, 59). İskemi devam eder ve toksik maddelerin atılımı sağlanmazsa bu toksik maddeler direkt veya dolaylı olarak dokuda geri dönüşümsüz hasara ve nekroza yol açarlar. Bu nedenle oksidatif fosforilasyonun tekrar başlaması ve toksik maddelerin uzaklaştırılması için iskeminin nedeni bir an önce ortadan kaldırılmalıdır (56).

Gastrointestinal sistemde iskemi çoğunlukla arteriyel tromboembolizm sonucu ortaya çıkar. Daha az sıklıkla ise kalp yetmezliği, sepsis, alfa adrenarjik ilaç kullanımı veya dijital kullanımı gibi durumlarda intestinal kan akımının azalmasına bağlı da oluşabilir. Nadir olarak görülen mezenterik ven tıkanıklığı da arter oklüzyonuna benzer sonuçlar doğurabilir (60, 61).

Ancak iskeminin büyüklüğüne ve süresine göre reperfüzyonla gelen oksijen bu hasarı daha da arttırabilir (Oksijen paradoksu) (62). Splahnik arterlerin iskemi ve reperfüzyonu sonrasında dolaşımsal şok bulguları ortaya çıkar. Bunlar; vasküler permabilite artışı, bunun sonucunda PMNL'lerin aktivasyonu ve adezyon kapasitelerinde artış, proinflamatuvar sitokinlerde ve serbest oksijen radikallerinde artış olarak sıralanabilir (63, 64). İntestinal iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarından en çok mukoza ve submukozanın etkilendiği gösterilmiştir (64). İ/R hasarı sonrası bağırsaklarda mukoza bariyeri bozulur, bakterial translokasyon görülür ve inflamatuvar süreçler başlar. Bunun devam etmesi halinde oluşan sıvı-elektrolit dengesizlikleri tüm vücut homeostazisini bozabilir (65, 66).

İskemi-reperfüzyon hasarı bir dizi kompleks, hücrel ve humoral olayları kapsar (67). Bu hasardan sorumlu tutulan başlıca 4 faktör şunlardır;

- Serbest oksijen radikalleri
- Polimorfonükleer lökositler (PMNL)
- Kompleman sistemi
- Endotel hücreleri

2.5.1. Serbest Radikaller

İntestinal İ/R hasarına katkı da bulunan faktörlerden biri de serbest radikal hasarıdır. Serbest radikaller mitokondrial reaksiyonlar, KO metabolizması, endotel hücreleri, prostoglandinler ve aktive olmuş nötrofillerin ürünü olarak ortaya çıkar (56). Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren kimyasal yapılardır. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu oldukça reaktif ve kararsız bir hale getirir (68). Bu durumda oluşan serbest radikaller, proteinler, lipidler, karbohidratlar ve özellikle hücre duvarı ve nükleik asitler olmak üzere birçok organik ve inorganik madde ile reaksiyona girerler (69).

Normal koşullarda oksijen molekülü mitokondride sitokrom döngüsüne sokularak H_2O 'ya dönüştürülür. Bu döngüden kaçan %1-2 oksijen molekülü ise redükte olarak serbest oksijen radikallerini oluşturur. Normal koşullarda oluşan bu SOR'lar endojen antioksidan enzimlerce nötralize edilir. Ancak reperfüzyon sırasında çok yüksek miktarlarda oluşan bu SOR'lar oksidatif stresi artırır ve daha sonra toksik etkiye sebep olur (70).

Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirgenir (71).

Hidroksil radikali oldukça reaktif ve toksik bir radikaldir. Hidroksil radikali büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile DNA, protein, karbohidrat ve lipidler gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olur (72).

İskemi sırasında ATP hipoksantin oluşturmak için kullanılır. Fizyolojik koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrojenaz (KDH) enziminin ksantine dönüştürülür. İskemi sırasında; artmış intrasellüler kalsiyum KDH'ı KO'a dönüştürür. Bu reaksiyon intestinal dokularda diğer dokulara oranla çok daha hızlı gerçekleşir. Bu nedenle KO miktarının ölçümü intestinal iskeminin derecesinin belirlenmesinde iyi bir göstergedir (73). Reperfüzyon sırasında dokulara sunulan oksijen; hipoksantin ve KO tarafından süperoksit radikale dönüştürülür. Oluşan süperoksit radikalleri; süperoksit dismutaz enziminin hidrojen peroksit (H_2O_2)

dönüşür. Hidrojen peroksit ise katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri aracılığıyla H_2O_2 'ya dönüştürülür (70). Ortamda demir (Fe^{+}) yokluğunda ise hidrojen peroksit Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarıyla hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikallerine dönüşür. Hidroksil radikalleri oldukça reaktif ve sitotoksiktir. Hidroksil radikalleri hücre duvarından lipid peroksidasyonuna ve granülositlerin de aktivasyonuna neden olurlar. Aktive olan granülositler salgıladıkları süperoksit radikalleri ve proteazlarla endotel hücre hasarına neden olurlar (73). Süperoksit radikalleri de nitrik oksidi (NO) peroksinitrite çevirerek oluşturdukları lipid peroksidasyonu ile DNA değişiklikleri ve hücrel hasar meydana getirir (74).

2.5.2. Polimorfonükleer Lökositler (PMNL)

Lipid peroksidasyonuna neden olmaları dışında serbest oksijen radikalleri nötrofil aktivasyonuna da neden olurlar (75). Reperfüzyon sürecinde mikrovasküler permeabilitedeki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğunu göstermiştir (76). İ/R sırasında aktive olan nötrofillerden C5a, IL-8, LTB₄, PAF gibi kemoatraktör moleküller salgılanır. Sonuçta İ/R ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit-endotel hücre adezyonu meydana gelir.¹⁴ Lökosit-endotel hücre adezyonuna neden olan moleküller selektinler, β -2 integrin (CD11/CD18) ve immunoglobulinlerdir (ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1) (76, 77).

Diğer taraftan, PMNL'lerin kendileri de yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PMNL'in rolü ile ilgili aşağıdaki mekanizmalar ileri sürülmüştür (78).

- 1) Mikrovasküler oklüzyon
- 2) SOR salınması
- 3) Sitotoksik molekül salınması
- 4) Vasküler permeabilite artışı
- 5) Sitokin salınımında artış

PMNL'lerin aktivasyon ve migrasyonları endotel hücrelerinde ve lökositlerde bulunan adhezyon molekülleri aracılığıyla olur. Selektinler olarak bilinen adhezyon moleküllerinin

L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç formu bulunmaktadır. İ/R, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu artırır. P selektin, PMNL'lerde bulunan P-

selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptör ile etkileşerek lökosit-endotel hücre adezyonunu meydana getirir (lökosit rolling). Daha sonra lökositlerdeki β -2 integrinler (CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adezyonu ve agregasyonu gelişir. Son olarak, trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü-1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler diapedez ile damar dışına çıkınca hasar bölgesine doğru göç ederler (75, 79). Oluşan bu lökosit-endotel kompleksi salgıladığı SOR, proteolitik enzimler (elastaz, katalaz, katepsin G) ve peroksidazlarla lokal doku hasarına neden olur (56).

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlekin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandinler (PG) sayılabilir. Aktif PMNL'ler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF- κ B) aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) sentezine yol açar (77). PMNL'lerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler, mast hücrelerinden selektin ve ICAM gibi adhezyon moleküllerinin salınmasını uyarırlar. Aktif PMNL'ler ayrıca damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları ile damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar (53, 80). PMNL'lerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon olduğu saptanmıştır (80).

Dokuda aktive olan PMNL'ler birçok mekanizma ile hasar oluşturur. Bunlar; araşidonik asit metabolitleri (prostaglandinler ve lökotrienler) salınımı, lizozomal enzimlerin degranülasyonu ve SOR üretimidir (81). Bu inflamatuvar süreç; mikrovasküler permeabilite artışı, ödem, tromboz ve hücre ölümüne neden olur (53, 81).

İskemik dokunun reperfüzyonu, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına, arteriyoller vazodilatasyonun bozulmasına ve post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkmasına neden olur. Sonuç olarak mikrovasküler fonksiyon bozulur. Reperfüzyonun başlangıcında, endotel hücrelerinden fazla miktarda O₂ oluşurken nitrik oksit (NO) oluşumu ise azalır. Süperoksit radikalleri ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden inflamatuvar

mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adezyonunun artmasına neden olur (82).

Nötrofiller, granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz ezimlerini içerirler. Nötrofil degranülasyonu sonucu serbest kalan bu enzimler doku hasarına neden olurlar. Ayrıca nötrofil degranülasyonu sonucu apolaktoferrin, doku plazminojen aktivatörü, elastaz, kollajenaz ve jelatinaz gibi proteolitik enzimlerde açığa çıkmaktadır. Bu enzimler de damar endotelinde hasara sebep olurlar (83).

2.5.3. Komplemanlar

İskemi-reperfüzyon sırasında kompleman sistemi de aktive olur. Bu aktivasyon sonucunda C3a, C3b, C5a ve C5b gibi proinflamatuvar sitokinler aktive olur ve lökositleri aktive ederler. Kompleman sisteminin aktivasyonu ayrıca lökosit adezyon moleküllerini de aktive eder. Bunlar; vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1), interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1), E-selektin ve P-selektinidir (84).

Ayrıca İ/R hasarı proinflamatuvar gen ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörleri üzerinde etkili proteazları aktive eder. Proinflamatuvar gen ekspresyonunu kontrol eden bu transkripsiyon faktörleri; protein aktivatör (PA-1) ve nükleer faktör-kB (NF-kB)'dir. Bu transkripsiyon faktörlerinin ürünleri; enzimler (iNOS, fosfolipaz A2, sikloksijenaz), sitokinler (TNF- α , IL-1, IL-6) ve adezyon molekülleridir (ICAM-1) (85). Kompleman sisteminin aktivasyonu, açığa çıkan NF-kB'lerin ekspresyonunu arttırarak iNOS oluşumunu arttırır (74).

Kompleman sisteminin aktivasyonu yol açtığı nötrofil aktivasyonu dışında reperfüzyon sonrası SOD seviyelerini de düşürerekte İ/R hasarının artışına yol açar (74). C5a ayrıca makrofaj inflamatuvar protein-1a (MIP-1a), MIP-1b, MIP-2, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF- α , IL-1 ve IL-6 üretimini uyarak inflamatuvar yanıtı daha da arttırır. C5b ise endotelde cGMP (siklik guanozin monofosfat)'ı azaltarak vasküler tonusu bozar ve vazodilatasyon inhibisyonu yapar (84, 86, 87).

2.5.4. Endotel Hücreleri

İskemi-reperfüzyon hasarının oluşmasında önemli role sahip hücrelerden biri de endotel hücreleridir. SOR'leri endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. SOR ile hasarlanan endotel hücreleri kendileri de SOR üretimine başlarlar (88). Normal endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. NO; arteriyel dolaşımda vazodilatatör etkili iken ET'in etkisi vazokonstrükyondur (venlerde tam ters etki). İ/R hasarında ET/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuç olarak arteriyel vazokonstriksiyon ve venöz vazodilatasyon gelişir (88).

Endotel hücrelerinin hasarı sonucu kompleman sistemi aktive olur ve lökosit adhezyon moleküllerinin üretiminde artış olur. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak IL-1, PAF, prostaglandinler (PG I₂, PG E₂), büyüme faktörleri, endotelin, NO ve tromboksan A₂ (TxA₂) salgılarlar. Hasarlanan endotel hücreleri ayrıca kendi bazal membranlarını yıkan kollajenaz enzimlerini salgılarlar (89).

İskemi-reperfüzyon hasarı sırasında oluşan serbest radikallerden NO ayrıca öneme sahiptir. Normal şartlarda NO nitrik oksit sentaz enziminin L-arjininden sentezlenir. Bu enzimin kalsiyum bağımlı nitrik oksit sentaz (cNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olmak üzere iki izoformu vardır (90). Nitrik oksidin aşırı sentezi sonucu iNOS yoluna girerek üretilen NO intestinal İ/R hasarına önemli katkı sağlar (64, 74). Bununla birlikte cNOS yoluyla üretilen NO ise İ/R hasarı sırasında bağırsakları koruyucu özellik taşımaktadır (91). Her ne kadar NO'nın vasküler düz kasları gevşeterek oluşturduğu vazodilatasyon mikrovasküler yatak için yararlı olsa da; NO paradoksal olarak sitotoksik radikal üretimine de yol açabilmektedir (92).

2.6. ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİ DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

Anastomoz iyileşmesinin parametreleri mekanik, biyokimyasal ve histolojik olarak incelenebilir.

2.6.1. Mekanik İnceleme Yöntemleri

a) Anastomoz patlama basıncı: Patlama basıncı, artan intraluminal basınca karşı duvar direncini gösteren bir parametredir. Bu yöntemin esası, patlama basıncı ölçülecek barsak parçasının hava veya sıvı ile şişirilmesi ve manometre aracılığı ile basıncın kaydedilmesidir. Bu yöntemin kullanımının 100 yıldan uzun bir geçmişi vardır. İntraluminal basıncın uygun hızda arttırılmasının (2-12 ml H₂O/dk) daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağladığı gösterilmiştir. Anastomoz patlama basınçları değerlendirilerek yapılmış birçok çalışma incelendiğinde, patlama basıncı değerlerinin çalışmalar arası kıyaslamanın uygun olmadığı sonucu ortaya çıkmıştır. Çalışmalardaki patlama basınçları ancak aynı çalışmanın kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı ve güvenilir bir değerlendirme yapılabilmektedir. Literatürde belirli bir modelde ve belirli bir segmentte yapılmış anastomozlar için birer ortalama değer vermenin doğru olmayacağı gösterilmiştir (33, 34, 93).

b) Kopma Direnci (Ayrılma Kuvveti): Anastomoz hattını içeren barsak ansının uzun eksenine paralel kesilerek, standart genişlik ve uzunlukta hazırlanan bir şeridin iki ucuna karşıt yönlerde kuvvet uygulanırken kopmayı sağlayan kuvvetin ölçümüdür. Bu işlem ‘gerilim ölçer’ adlı bir cihaz kullanılarak uygulanmaktadır. Bu yöntem, uygulanan kuvvetin tüm duvara eşit olarak dağılmasının mümkün olmayacağı varsayılarak güvenilir kabul edilmemiştir (93).

2.6.2. Biyokimyasal Yöntemler

Submukozal dokuda bulunan kollajen barsak duvarının devamlılığını ve mekanik kuvvetini oluşturur. Bunun sonucunda anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal parametresi kollajenin konsantrasyonudur. Kollajenin yapıtaşlarından biri olan hidroksiprolinin(OH-Prolin) omurgalıların dokularında hemen hemen yalnızca kollajende (kollajende %14 ve elastinde %2) bulunur. Hidroksiprolin dağılımının bu tek tipliliği sayesinde kollajen metabolizması ve dolayısıyla yara iyileşmesi durumu gözlemlenebilir (94).

Hidroksiprolin düzeyi birim yaş dokuda ağırlık olarak (µg/mg yaş doku) olarak değerlendirilir. Non-kollajen matriks proteinleri ihmal edilerek hidroksiprolin düzeyinin doğrudan kollajen içeriğini yansıttığı kabul edilmiştir (94).

Anastomoz iyileşmesinde kollajen miktarı kadar kollajenin kalitesi ve çaprazlaşma yeteneği de önemlidir; ancak bunu direkt olarak belirleyebilecek bir yöntem bulunamamıştır (33, 93, 94).

2.6.3. Histopatolojik Değerlendirme

Anastomoz bölgesindeki inflamatuvar hücrelerinin tipleri ve miktarları, nekrozun ve neovaskülarizasyonun derecesi ve kollajen lif yoğunlukları semikantitatif olarak belirlenerek ve çeşitli skorelama sistemleri geliştirilmiştir. Nekrozun ve inflamasyonun fazla olması daha zayıf iyileşme olarak değerlendirilir (95-97).

2.6.4. Diğer Yöntemler

Anastomoz hattında yara iyileşmesini değerlendirmek amacıyla kullanılan sintigrafik olarak fibroblast aktivitesinin incelenmesi, doppler ultrasonografi, lokal ısı ölçümleri, flörsan ile boyama, radyoaktif işaretli fibroblast sayımı ve mikroanjiyografi gibi yöntemlerde mevcuttur (33, 39, 93).

2.7. PAPAVERİN

Papaverin, izokinolin sınıfı bir opioid alkaloiddir. Afyonda %0,5-1 oranında bulunur. Non-selektif bir fosfodiesteraz inhibitörü ve direkt etkili bir vazodilatatördür. Kalsiyum kanallarına yaptığı direkt etkiyle kalsiyum iyonlarının hücre içine girişini engeller. Fosfodiesteraz enzimini inhibe ederek cAMP (siklik adenosin monofosfat) düzeylerini artırır ve düz kasları doğrudan gevşetir. Ayrıca adenosin uptake'ini önleyip vazodilatasyon etkisini güçlendirir. Bu şekilde damarların, gastrointestinal, üriner ve bilier sistemlerin düz kaslarında rölaksan ve antispazmodik etki gösterir. Karaciğerde metabolize olur ve idrarla atılır (98).

Papaverin; dolaşım sisteminde vazodilatasyon sağlar, refleks vazospazmı kaldırır. Hem arter ve arteriyolları hem de ven ve venülleri gevşetir. Vasküler yetmezlikte (tromboz ve emboli) kollateral sirkülasyona imkan verir. Klinik kullanıma girmiş endikasyonları şunlardır (99-102):

- Non-oklüziv mezenter iskemi

- Serebral vazospazm
- Eretil disfonksiyon
- Reynauld fenomeni
- Buerger Hastalığı
- Anjina pektoris
- Subaraknoid kanama
- Perioperatif arteriyel spasm (Topikal)
- Deri ve kas greftlerinin iskemiye karşı korunması

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI VE DENEY ORTAMI

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından incelendi ve etik kurul yönergelerine uygun görülerek onaylandı. Ameliyatlara 20 Eylül 1985' te Strasbourg' da kabul edilen "Omurgalı Hayvanların Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlarla Kullanılması" kılavuzunun doğrultusunda, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı (103).

Çalışmada 40 adet, 6- 8 haftalık Wistar-Albino soyuna ait dişi sıçan kullanıldı. Tamamen rastlantısal olarak seçilen her biri 10' ar adet hayvan içeren 4 grup oluşturuldu. Deney sürecinde hayvanlar $21\pm3^{\circ}$ C oda ısısında, nem oranı %60 olan ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsüne sahip laboratuvarında takip edildi. Deney hayvanlarının beslenmesi için standart yem ve musluk suyu kullanıldı.

3.2. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Yapılan pilot çalışmada 10 adet sıçanda 30-120 mg/kg arası dozlarda intraperitoneal papaverin uygulanarak ratların femoral arter kataterizasyonu ile kan basınçları monitörize edildi.

40 adet sıçan, her biri 10' ar hayvandan oluşan 4 gruba ayrıldı.

1. *grup*: 10 Adet Wistar-Albino ratta kolon transeksiyonunu takiben uc-uca kolon anastomozu

2. *grup*: 10 Adet Wistar-Albino ratta 1 saat iskemi ve daha sonra 1 saat reperfüzyon uygulanmasını takiben kolon transeksiyonunu ve uc-uca kolon anastomozu

3. *grup*: 10 Adet Wistar-Albino ratta 1 saat iskemi ve daha sonra 1 saat reperfüzyon uygulanmasını takiben kolon transeksiyonunu ve uc-uca kolon anastomozu + Tek doz intraperitoneal 60 mg/kg papaverin uygulanması

4. *grup*: 10 Adet Wistar-Albino ratta 1 saat iskemi ve daha sonra 1 saat reperfüzyon uygulanmasını takiben kolon transeksiyonunu ve uc-uca kolon anastomozu + 10 gün intraperitoneal 60 mg/kg papaverin uygulanması (Tablo 3).

Tablo 3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Gruplar	Gruptaki hayvan sayısı
Normal Kolon Anastomozu (Grup 1)	10
İskemi-Reperfüzyon Sonrası Kolon Anastomozu (Grup 2)	10
İskemi-Reperfüzyon Sonrası Kolon Anastomozu+ Papaverin(Tek Doz 60 mg/kg) (Grup 3)	10
İskemi-Reperfüzyon Sonrası Kolon Anastomozu+ Papaverin(Günlük 60 mg/kg) (Grup 4)	10

3.3. AMELİYAT PROSEDÜRÜ

Deney hayvanlarına, 12 saat açlığı takiben, Xylazine (10 mg/kg- Rompun ®) ve Ketamine (30 mg/kg- Ketalar®) karışımı tek ciltaltı enjeksiyonla uygulanarak anestezileri sağlandı.

Anestezi altındaki hayvanlar deney masasına supin pozisyonunda ön ve arka ayaklarından tesbit edilerek yatırıldı. Kontrol grubu hariç diğer hayvanların cilt temizliğini sağlamak için karın bölgesi derisi traş edildi ve %10' luk povidone iodine ile cilt temizliği yapıldı (Resim 1).

Birinci grup (kontrol grubu) anestezi verilmesini takiben 3 cm. laparotomi yapıldı. Çekum ve kalın bağırsaklar dışarı alındı (Resim 2-3). Çekumun 2 cm. distalindeki çıkan kolon segmenti transekte edildi. Daha sonra 8 adet 6/0 prolene dikişle ucuca tek sıra kolon anastomozu yapıldı. İşlem sonrası ratların fascia ve ciltleri 2/0 monofilaman dikişlerle devamlı olarak kapatıldı.

İkinci grup (İ/R grubu) anestezi verilmesini takiben 3 cm. laparotomi yapıldı. Çekum ve kalın bağırsaklar dışarı alındı. Çıkan kolon mezosu kollateralleride içine alacak şekilde atravmatik mikrovasküler klempler(Micro Clip, Straight, 0.8x6mm GerMedUSA inc.) yardımıyla klemplenerek kolon 60 dakika iskemiye maruz bırakıldı (Resim 4). Klemplerin açılmasını takiben 60 dakika reperfüzyon için beklenildi (104). Reperfüzyonu takiben çekumun 2 cm. distalindeki çıkan kolon segmenti transekte edildi (Resim 5). Daha sonra 8 adet 6/0 prolene dikişle ucuca tek

sıra kolon anastomozu yapıldı (Resim 6). İşlem sonrası ratların fascia ve ciltleri 2/0 monofilaman dikişlerle devamlı olarak kapatıldı.

Üçüncü gruptaki (İ/R + Papaverin tek doz grubu) ratlara ikinci gruptaki işlemlere ek olarak fascia ve cilt kapatılmadan önce intraperitoneal tek doz 60 mg/kg papaverin (Papaverine HCl® - Galen İlaç San.) uygulandı.

Dördüncü gruptaki (İ/R + Günlük papaverin grubu) ratlara üçüncü gruptaki işlemlere ek olarak günlük intraperitoneal 60 mg/kg papaverin (Papaverine HCl® - Galen İlaç San.) uygulandı.

Tüm ratlar postoperatif 10. Günde yüksek doz anestezik kullanılarak sakrifiye edildi. Anastomoz patlama basıncı ölçümünü takiben anastomozun 0,5 cm distal ve 0,5 cm proksimalini içine alacak şekilde kolon rezeke edildi. Daha sonra ratların anastomoz hattının yarısı hidroksiprolin düzeyi ölçümü için -80 °C buzdolabına diğer yarısı ise patolojik inceleme için formol solüsyonu içerisine konularak saklandı.

3.4. ANASTOMOZ PATLAMA BASINCI ÖLÇÜMÜ

Yapılan anastomozun 2 cm distali, 2 cm proksimali ve anastomoz hattını içine alacak şekilde bağırsak rezeke edildi. Mevcut fekal içerik serum fizyolojik ile yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra bir ucu infüzyon pompasına bir ucu da monitörün arter yoluna olmak üzere kolon 3/0 ipek dikişlerle bağlandı. İnfüzyon pompasıyla 2 ml/dk serum fizyolojik verilerek kolon segmenti şişirildi (Resim 7). Bu sırada monitörden sistemin basıncı takip edildi. Monitörde basıncın çıktığı en yüksek değer tespit edildi ve anastomoz patlama basıncı olarak kaydedildi (104). Ölçümler esnasında Braun® Infusomat Space infüzyon pompası (Resim 8) ve Hewlett Packard® M3046A Viridia M3 monitor (Resim 9) kullanıldı.

3.5. HİDROKSİPROLİN DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Parçalar çalışma gününe kadar -80 derecede dondurularak saklandı. Çalışma günü oda sıcaklığında çözülen doku örnekleri üzerindeki nem kurutma kağıdı ile alındı. Doku örnekleri hassas terazi ile tartıldıktan sonra serum fizyolojik içinde homojenize edildi. Homojenatlar daha sonra 2000 rpm'de 15 dk santrifüje edildi. Elde edilen supernatantlara eşit miktarda HCl katılarak 16-18 saat hidrolize edildi. Dokuların asit hidrolize uğratılmasıyla açığa çıkan hidroksiprolin, kloramin T ile

okside edildi. Daha sonra Ehrlich reaktifi ile reaksiyona girerek oluşturduğu kromofor bileşik, spektrofotometrik olarak (560nm) ölçüldü. Doku hidroksiprolin düzeyi mikrogram/mg yaş doku olarak hesaplandı (105).

3.6. PATOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik inceleme için alınan dokular %10 luk formaldehitte tespit edildi. Daha sonra parafin bloklar halinde hazırlanan doku örnekleri Hematoksilen-Eosin ile boyandı. Olympus® CX 41 marka ışık mikroskobu altında patolog tarafından değerlendirildi. Anastomoz bölgesindeki iltihap hücrelerinin tipleri (polimorfonükleer lökosit, lenfosit, plazma hücreleri), neovaskularizasyon oranları ve kollajen lif yoğunluğuna göre yara iyileşme derecesi 1 ile 5 arasında skorlandı (106).

- Grade I: Fibrinopurulan eksuda
- Grade II: %25'den az granulasyon dokusu
- Grade III: %25-75 granulasyon dokusu
- Grade IV: %75'den çok granulasyon dokusu veya %25'den az kollajen lif
- Grade V: %25'den çok kollajen lif

3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Çalışmanın istatistiksel analizi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı.

Bu tez çalışmasında, 4 grubu oluşturan ratlar anastomoz patlama basıncı, hidroksiprolin düzeyi ve anastomoz hattı modifiye yara iyileşmesi skor sistemi gibi 3 farklı parametre bakımından karşılaştırılmıştır. Bağımsız grupların karşılaştırılması amacıyla denek sayısı gözönünde bulundurularak normallik testleri uygulanmaksızın parametrik olmayan tek yönlü varyans analizi (Kruskal Wallis) uygulanmış ve bağımsız gruplar arasında farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunması durumunda posthoc testlerle farklılığı yaratan gruplar belirlenmiştir(107). Sonuçlar ilgili tablolarda ortanca, minimum ve maksimum değerler kullanılarak özetlenmiştir. Analizlerin gerçekleştirilmesi amacıyla SPSS 15.0 paket programı kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edilmiştir.



Resim 1. Deney İçin Hazırlanmış Rat



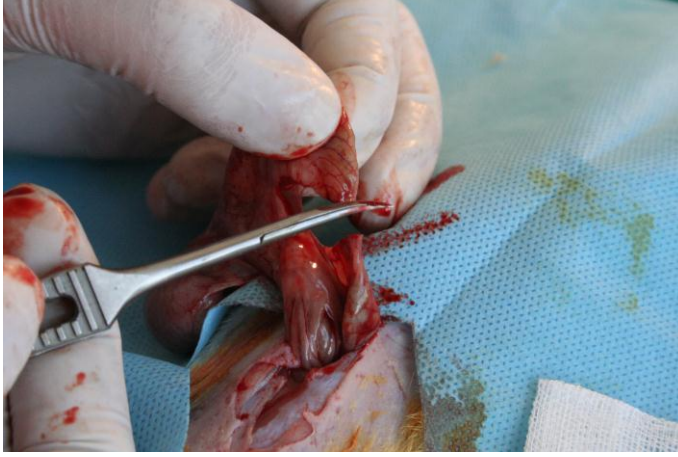
Resim 2. Ratlarda Kolonun Vasküler Ağı



Resim 3. Ratın Çekum Ve Sağ Kolonu



Resim 4. Çıkan Kolonun Mezosu Ve Kollaterallerinin Klemplenmesi



Resim 5. Kolon Transeksiyonu



Resim 6. Anastomoz Yapılmış Çıkan Kolon Segmenti



Resim 7. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçüm Düzeneği



Resim 8. İnfüzyon Pompası



Resim 9. Monitör

4. BULGULAR

Deneylerin başlamasından bitimine kadar 10 günlük sürede hayvanlardan ölen veya deney dışı bırakılan olmadı.

4.1. ANASTOMOZ PATLAMA BASINÇLARI

Tüm ratlarda operasyondan 10 gün sonra anastomoz patlama basıncı ölçümü yapılmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Anastomoz patlama basınçlarının ortalama ve min-max değerleri

Grup (n= 10)	Anastomoz Patlama Basınçları(mm-Hg)
	Ortalama (min- max)
Kontrol	239,50 (197- 274)
İskemi-Reperfüzyon	161,50 (117- 175)
İskemi-Reperfüzyon + Papaverin(Tek Doz)	219,50 (174- 326)
İskemi-Reperfüzyon + Papaverin(Günlük)	250,00 (198-356)

mm-Hg: milimetre-civa, min: en küçük değer, max: en büyük değer

4.2. HİDROKSİPROLİN DÜZEYLERİ

Tüm ratların anastomoz hatlarından alınan örneklerden hidroksiprolin düzeyi tayini yapılmıştır (Tablo 5).

4.3. ANASTOMOZ HATTI YARA İYİLEŞMESİ SKORLARI

Anastomoz hattı modifiye yara iyileşme skorları ilgili patoloğ tarafından değerdendirilmiştir (Tablo 6) (106).

Tablo 5. Hidroksiprolin düzeylerinin ortanca ve min-max değerdeleri

Grup (n= 10)	Hidroksiprolin Düzeyleri(mcg/mg)
	Ortanca (min- max)
Kontrol	0,2820 (0,233- 0,470)
İskemi-Reperfüzyon	0,1635 (0,1040- 0,2280)
İskemi-Reperfüzyon + Papaverin(Tek Doz)	0,2850 (0,217- 0,5670)
İskemi-Reperfüzyon + Papaverin(Günlük)	0,6160 (0,4920- 0,7280)

mcg/mg: mikrogram/miligram, min: en küçük değerd, max: en büyük değerd

Tablo 6. Anastomoz hattı yara iyileşme skorlarının ortanca ve min-max değerdeleri

Grup (n= 10)	Anastomoz Hattı Yara İyileşme Skorları
	Ortanca (min- max)
Kontrol	4.00 (3-5)
İskemi-Reperfüzyon	3.00 (2-3)
İskemi-Reperfüzyon + Papaverin(Tek Doz)	4.00 (3-5)
İskemi-Reperfüzyon + Papaverin(Günlük)	4.50 (3-5)

min: en küçük değerd, max: en büyük değerd

4.4. GRUPLARIN İSTATİSTİKSEL KARŞILAŞTIRMASI

Normal dağılmayan sürekli değişkenlerin 4 grup arasındaki karşılaştırılması Kruskal-Wallis varyans analizi ile yapılmıştır. Kruskal-Wallis test istatistiğinden elde edilen p- değeri anlamlı olduğunda, hangi grupların hangisinden farklı olduğunu belirlemek amacıyla çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (107). p-değeri 0.05'ten küçük olanlar anlamlı kabul edilmiştir.

Anastomoz patlama basınçları açısından karşılaştırma yapıldığında normal anastomoz grubuyla iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p = 0,001$). Ayrıca iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz grubuyla; İ/R + tek doz papaverin ve İ/R + günlük papaverin grupları arasında da anlamlı farklar saptanmıştır (sırasıyla $p=0,004$, $p<0,001$). Diğer grupların kendi aralarında anastomoz patlama basınçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 1$).

Hidroksiprolin düzeyleri açısından karşılaştırma yapıldığında normal anastomoz grubuyla; İ/R ve İ/R + günlük papaverin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır (sırasıyla $p= 0,027$ ve $p= 0,034$). İ/R grubuyla; İ/R + tek doz papaverin ve günlük papaverin grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır (sırasıyla $p= 0,024$ ve $p< 0,001$). Ayrıca İ/R + tek doz papaverin ile İ/R + günlük papaverin grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,038$).

Anastomoz hattı modifiye yara iyileşme skorları arasında karşılaştırma yapıldığında normal anastomoz grubuyla İ/R sonrası anastomoz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p= 0,003$). Ayrıca İ/R grubuyla İ/R + tek doz papaverin ve İ/R + günlük papaverin grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır (sırasıyla $p= 0,015$ ve $p< 0,001$). Diğer grupların kendi aralarında anastomoz hattı modifiye yara iyileşme skorlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p= 1$).

4. TARTIŞMA

Mezenter iskemideki 1933 yılında Hibbert ve arkadaşlarının belirtmiş oldukları %70-90 arasında bildirilen mortalite oranları, intestinal anastomoz tekniklerindeki önemli teknolojik gelişmelere, ameliyat sonrası hasta bakımında kaydedilen ilerlemelere ve enfeksiyonla mücadelede yeni antibiyotiklerin devreye girmesine rağmen günümüzde de geçerliliğini halen korumaktadır (108). Mezenter iskemilerde ameliyat sonrası en önemli mortalite nedeni anastomoz kaçaklarıdır (109). Bu kadar yüksek mortalite oranları iskemik modellerde anastomozların teknik olarak daha iyi nasıl yapılabileceği ve mevcut anastomozların nasıl daha güçlü hale getirileceği ile ilgili bilim adamlarını çalışmalara teşvik etmektedir.

Papaverin, non-selektif bir fosfodiesteraz inhibitörü olup, direkt etkili bir vazodilatatördür. Bu şekilde damarların, gastrointestinal, üriner ve bilier sistemlerin düz kaslarında relaksasyon ve antispazmodik etki göstermektedir. Hem arter ve arteriyolları hem de ven ve venülleri gevşetir. Ayrıca vasküler yetmezlikte kollateral sirkülasyona imkan verir (99). Papaverinin vazodilatatör etkisinin kliniğe faydalarını araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır (100-103, 110,111).

Girard ve arkadaşları, papaverinin spazm üzerine etkinliğini, 58 hastanın katıldığı randomize bir çalışmada araştırmışlardır. Koroner arter by-pass ameliyatlarında greft amaçlı kullanılan sol internal mammarian arterin, diseksiyon esnasında spazma uğramasının teknik zorluklara neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada papaverinin diseksiyon sonrası perivasküler uygulamasının, spazmı düzelterek kan akımını arttırdığı ve hastayı intimal hasar riskinden koruduğu gösterilmiştir (101).

Papaverinin vazodilatatör etkinliği acaba erektil disfonksiyonlarda faydalı olabilir mi sorusunu akla getirmiş ve bu konu ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmasına neden olmuştur (100, 110-112). Tamura ve arkadaşları 1990 yılında venöz impotansı olan 6 hastaya penis crus ligasyonu ve papaverin enjeksiyonu uygulamışlardır. 5 hastada erektil disfonksiyonun tedavi edildiğini ve 1 hastada da papaverin indüksiyonuyla tam ereksiyon sağlandığını bildirmişlerdir (108). 1991 yılında Cooper ve ark. organik ya da psikojenik impotansı olan 40 hastada intrakavernosal papaverin enjeksiyonu uygulamış ve düzenli kullanan hastalarda

başarılı sonuçlar elde etmişlerdir (100). Kim ve arkadaşları 1995 yılında içlerinde 13 spinal kord hasarlı hastanında bulunduğu organik impotansı olan 20 hastaya topikal papaverin uygulamış ve penis kan akımında %15-20 artış olduğunu bildirmişlerdir (111). Bu çalışmaların öncülüğünde yapılan çalışmalarla impotans papaverinin kullanım endikasyonları arasına girmiştir.

Papaverinin vazospazm üzerine olan yararlı etkileri beyin cerrahlarının dikkatini çekmiş ve intrakranial vazospazm vakalarında denenmesine neden olmuştur. Little ve arkadaşları (1994) subaraknoid kanamaya bağlı serebral vazospazm gelişen 11 hastada anjiyografik olarak internal karotis veya vertebral artere selektif papaverin infüzyonu uygulamışlardır. Papaverinin yavaş infüzyonunun hiçbir komplikasyona neden olmadan serebral vazospazmı çözdüğünü göstermişlerdir (113). 1995 yılında Macdonald ve arkadaşlarının, 1998 yılında da Numaguchi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçlar elde etmeleri üzerine subaraknoid kanama sonrası görülen serebral vazospazm vakalarında anjiyografik papaverin infüzyonu standart kullanıma girmiştir (114, 115). 2001 yılında Dalbastı ve arkadaşları serebral anevrizmalı 117 hastada yaptıkları çalışmada anevrizma cerrahisi sırasında serebral arterler üzerindeki sisternalara papaverinli pelletler yerleştirmiş ve papaverinin cerrahi sırasında ve sonrasındaki serebral vazospazmı engellediğini göstermişlerdir (116). 2007 yılında Dong Han Han ve arkadaşları papaverinin serebral vasospazmı çözücü etkisinin mekanizmasını araştırmak için ratlar üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada papaverinin vasküler relaksasyon mekanizmasında L tipi kalsiyum kanalları ve kalsiyumla aktive olan potasyum kanallarına olan etkilerinin de rolü olduğunu göstermişlerdir (117).

Papaverinin iskemik dokulardaki etkinliğini araştırmak amacıyla da birçok çalışma yapılmıştır (103, 118, 119). Arnold ve arkadaşları 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada deri fleblerini iskemiden korumak için papaverin ve botulinium toksin-A'yı karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada papaverinin, deri flebini iskemiden botulinium toksin-A'ya oranla çok daha iyi koruduğu sonucuna varılmıştır (119).

Non-oklüziv intestinal iskemilerde, papaverin anjiyografi esnasında katater ile lokal uygulanarak vazospazm olan bölgede barsak iskemisini düzeltmektedir. Bu uygulama rutin kullanıma girmiştir. Ancak oklüziv intestinal iskemilerde papaverin

kullanımı ve mevcut yararları ile ilgili yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (103).

İskemi-reperfüzyon hasarı sonrası yapılan anastomozların iyileşmesine katkıda bulunabilecek birçok molekül ve yöntem denenmiştir. Bunlar arasında; vazodilatatör ajanlar, antioksidan moleküller, gen tedavileri, kök hücre tedavileri, kemokinler, hiperbarik oksijen tedavileri ve hormonal tedaviler dahi bulunmaktadır (120-135).

Ersoy ve arkadaşları papaverini ve pentoksifilini ratlarda İ/R hasarı sonrası sol kolon anastomozunda denemişlerdir (120). İ/R hasarı sonrası esas olarak eser elementlerin (Çinko ve bakır), VEGF düzeylerinin karşılaştırıldığı bu çalışma da papaverinin etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak İ/R modeli rutin uygulamadan farklı olarak anastomozun 2 cm distaline ve proksimaline bağırsakları içine alacak şekilde koyulan klemplerle oluşturulmuştur. Yine farklı olarak daha yüksek doz (100 mg/kg) papaverin uygulanmıştır. Papaverinin intraperitoneal kullanımda lokal etkili dozu tam olarak bilinmediğinden bu doz ratlarda lokal etkiye ek olarak sistemik etkinlik ile oluşturduğu hipotansiyonla yara iyileşmesini bozmuş olabilir.

Irkorucu ve arkadaşları selektif bir fosfodiesteraz inhibitörü olan sildenafilin ratlarda iskemik sol kolon anastomozlarının iyileşmesine olumlu katkıları olduğunu göstermişlerdir (121). Papaverin, sildenafilden farklı olarak non-selektif bir fosfodiesteraz inhibitörüdür. Ancak her ikisinde iskemik modellerde deneniş olmasının nedeni vasodilatatör etki mekanizmalarıdır. Sildenafil ayrıca vasküler yatakta trombosit agregasyonunu ve mikrovasküler oklüzyonu önleyebilmektedir. Direkt etkili bir vazodilatatör olarak papaverinin damar düz kaslarına olan etkinliği sildenafilden çok daha yüksektir (99).

Sümer ve arkadaşları yine bir fosfodiesteraz inhibitörü ve düz kas gevşetici olan pentoksifilin ve bir antioksidan olan visposetinin iskemik kolon anastomozları üzerine etkisini araştırmışlardır (122). Pentoksifilin, düz kas gevşetici etkisi papaverine göre daha düşük olan non-selektif bir fosfodiesteraz inhibitörüdür. Ancak papaverinden farklı olarak eritrosit ve lökosit fleksibilitesini artırarak kanın reolojisini artırır. Ayrıca trombosit agregasyonunu inhibe eder. Bu çalışmada da

pentoksifilin ve visposetinin iskemik kolon anastomozlarında iyileşmeye katkısı olduğu saptanmıştır.

Biz de çalışmamızda papaverinin iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası oluşan mikrovasküler yatakta vazokonstriksiyon kısır döngüsünü bozarak ve kollaterallere olan kan akımını arttırması ve güçlü vazodilatatör etkinliği nedeniyle anastomoz iyileşmesi üzerine olan etkisini araştırdık. Deneyler öncesi yapılan pilot çalışma da 10 adet sıçanda 30-120 mg/kg arası dozlarda intraperitoneal papaverin uygulanarak ratların femoral arter kataterizasyonu ile kan basınçları monitörize edildi. Böylelikle sıçanlarda belirgin sistemik hipotansiyona neden olmayan maksimum intraperitoneal papaverin dozu 60 mg/kg olarak saptandı. Papaverin uygulanan deney gruplarında anastomoz patlama basınçları, hidrokspirolin düzeyleri ve patolojik inceleme sonuçları iskemi-reperfüzyon grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde olumlu farklar saptandı. Böylece iskemi-reperfüzyon hasarına uğramış bağırsak segmentleri arasında yapılan anastomozlara papaverinin tek doz uygulanmasının da günlük uygulanmasının da olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. 10 gün boyunca papaverin uygulamasına devam edilen grupta yalnızca hidrokspirolin düzeyleri tek doz papaverin uygulanan gruba göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Ancak klinik pratikte (anastomoz patlama basınçları ve modifiye yara iyileşme skorları) günlük papaverin grubunda daha iyi değerler kaydedilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı sonuç saptanmamıştır. Sonuç olarak papaverin uygulamasının İ/R hasarı sonrası ne sıklıkta ve sürede uygulanabileceği ile ilgili daha kapsamlı deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Uyduladığımız deney modelinde papaverinin İ/R hasarı sonrası yapılan bağırsak anastomozlarına katkı sağladığı sonucuna ulaşılmıştır. Ancak geri dönüşümsüz iskemi bulguları ve nekroze dokuyu düzeltebilecek herhangi bir madde olmadığı aşıkardır. Bu nedenle bu dokuların rezeksiyonunu takiben canlılığını yitirmemiş bağırsak segmentleri arasında yapılan anastomozlar sonrası lokal etkili papaverin uygulamaları anastomoz iyileşmesine katkıda bulunabilir. Ancak iskemik şartlarda anastomozların yapıldığı hasta grubu gözönüne alındığında papaverinin sistemik etkilerinden kaçınılması gerektiği unutulmamalıdır. Bu nedenle papaverinin rutin kullanımı öncesi daha kapsamlı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Ratlarda İskemik Kolon Anastomozunun İyileşmesine Papaverinin Etkisi

Kolorektal cerrahi ve diğer gastrointestinal sistem cerrahileri gözönüne alındığında anastomoz kaçakları önemli bir sorun oluşturmaktadır. Cerrahi teknikte, anesteziye, preoperatif hazırlıkta ve postoperatif bakımdaki tüm teknolojik gelişmelere rağmen anastomoz kaçakları halen yüksek oranda mortalite ve morbidite sebebidir. Özellikle kolon iskemisi ve mezenter iskemi durumlarında yapılan anastomozlar da bu risk daha da artmaktadır. Bu durumlarda oluşan iskemi-reperfüzyon hasarı yara iyileşmesini de kötü etkilemektedir.

Anastomoz iyileşmesine katkıda bulunan önemli faktörlerden bir de doku kanlanmasıdır. İskemi-reperfüzyon hasarı sonrası dokuda oluşan mikrovasküler yatakta vazokonstriksiyon kısır döngüsünü kırmak amacıyla birçok madde denenmiştir. Bu çalışmanın amacı vazodilatatör ve antispazmodik etkileriyle yaygın kullanım alanına sahip olan papaverinin iskemik kolon anastomozlarının iyileşmesi üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

Çalışmada 40 adet, 8-10 haftalık Wistar-Albino soyuna ait dişi rat kullanıldı. Her biri 10' ar hayvan bulunduran 4 adet grup oluşturuldu. 1. grup; kontrol grubu, 2. grup; iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz grubu, 3. grup; iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz ve tek doz intraperitoneal papaverin grubu, 4. Grup; iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz ve günlük intraperitoneal papaverin grubu olarak belirlendi. 1. gruba anestezi verilmesini takiben çekumun 3 cm distali çıkan kolon transekte edilerek ucuca anastomoz edildi. 2. gruba anestezi verilmesini takiben çekum ve çıkan kolon mezosu mikrovasküler klemplerle klempenerek 60 dakika iskemi ve 60 dakika reperfüzyon uygulandı. İskemi ve reperfüzyonu takiben çekumun 3 cm distali çıkan kolon transekte edildi ve ucuca anastomoz edildi. 3. gruba 2. gruptaki işlemlere ek olarak anastomoz sonrası intraperitoneal 60 mg/kg papaverin uygulandı. 4. Gruba 3. gruba ek olarak postoperatif 10 gün boyunca intraperitoneal günlük 60 mg/kg papaverin uygulandı. Postoperatif 10. Günde tüm ratlar sakrifiye edilerek anastomoz patlama basınçları ölçüldü. Anastomoz hattından alınan parçalara patolojik inceleme ve hidroksiprolin ölçümü yapıldı.

Çalışmanın istatistiksel analizi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapıldı. Anastomoz patlama basınçları, hidroksiprolin düzeyleri ve patolojik iyileşme skorları açısından karşılaştırma yapıldığında hem tek doz intraperitoneal papaverin hem de günlük intraperitoneal papaverin grubuyla iskemi-reperfüzyon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptandı. Tek doz intraperitoneal papaverin ve günlük intraperitoneal papaverin grupları arasında ise hidroksiprolin düzeyleri dışında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç olarak papaverinin iskemi-reperfüzyon sonrası yapılan anastomozlarda iyileşmeye katkı sağladığı görüldü. İlerleyen dönemlerde daha geniş gruplarla ve daha çok parametre kullanılarak deney yapılması daha net ve güvenilir sonuçlar sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: iskemi-reperfüzyon hasarı, anastomoz kaçağı, papaverin

SUMMARY

The Effect Of Papaverin On Healing Ischemic Colon Anastomosis

Anastomotic leak is already the most devastating complication after colorectal surgery and other gastrointestinal tract surgeries. Although the technological improvements in surgical technique, anesthesia, preoperative preparation and postoperative care; the anastomotic leak result with high mortality and morbidity rates. Especially in colonic ischemia and mesenteric ischemia setting, this risk becomes higher because of the ill effects of ischemia-reperfusion injury on the healing process.

The blood supply is very important factor in anastomotic healing. Many molecules tested to break the vicious cycle of microvascular bed vasoconstriction after ischemia-reperfusion injury. Papaverine, a vasodilatory and antispasmodic agent has long been used in many ischemic conditions setting for its potentially protective effects. The aim of this study is to investigate the effects of papaverine on healing colon anastomosis.

Eight- to ten- weeks- old female, forty, Wistar-Albino rat were used for this study. The rats were randomised in four groups, every group included ten animals. Groups defined as, 1. group; control group, 2. group; ischemia-reperfusion and anastomosis group, 3. group; ischemia-reperfusion and anastomosis + intraperitoneal one dose papaverine group, 4. group; ischemia-reperfusion and anastomosis + intraperitoneal Daily(ten days) papaverine group. After administration of anesthesia to 1. group, the ascenden colon distal to 3 cm from ceacum transected and end-to-end anastomosis was made. After administration of anesthesia to 2. group, after sixty minutes ischemia with microvasculer clips on mesocolon and sixty minutes reperfusion, the ascendend colon distal to 3 cm from ceacum transected and end-to-end anastomosis was made. After administration of anesthesia to 3. group, in additionally the group 2, intraperitoneal papaverine injection was made. After administration of anesthesia to 4. group, in additionally the group 3, daily intraperitoneal papaverine injection was made postoperatively ten days. After ten days all rats were sacrificed and anastomotic bursting pressures were measured. The

hydroxyproline measurement and histopathological examination was made from the parts of the anastomosis.

The statistical analysis was made in Ankara University Medicine Faculty Department of Biostatistics. There was statically significant difference in group three and four from group two for anastomotic bursting pressures, hydroxyproline measurements and anastomotic healing scores of histopathological examination. There was no statically significant difference in group tree from group four except hydroxyproline measurements.

In conclusion, there was significant good effects of papaverine on healing of anastomosis after ischemia-repefusion injury. In later periods, with larger groups and more parameters, experiments will provide clearer and more reliable results.

Keywords: ischemia-reperfusion injury, anastomotic leakage, papaverine

KAYNAKLAR

- 1- Kirchhoff P, Clavien P.A, Hahnloser. Complications in colorectal surgery: risk factors and preventive strategies, Patient Safety in Surgery 2010, 4:5-8.
- 2- Jaime Ruiz-Tovar. Postoperative complications of colon surgery, Vicente Morales-Castiñeiras and Eduardo Lobo-Martínez Cir Cir 2010, 78:281-288.
- 3- Bieleck K, Gajda A. The Causes and Prevention of Anastomotic Leak After Colorectal Surgery, Klinicka Onkologie Zvladni Cislo 1999, 25-30.
- 4- Soetersa PB, Zoeteta J, Dejonga CH, Williamsb N. S, Baetena C. Colorectal Surgery and Anastomotic Leakage, Dig Surg 2002, 19:150–155.
- 5- Docherty JG, McGregor JR, Akyol AM, Murray GD, Galloway DJ. Comparison of Manually Constructed and Stapled Anastomoses in Colorectal Surgery, West of Scotland and Highland Anastomosis Study Group. Ann. Surg 1995, 221: 176-184.
- 6- Fingerhut A, Hay JM, Elhadad A, Lacaine F, Flamant Y. Supraperitoneal Colorectal Anastomosis: hand-sewn versus circular staples, A controlled clinical trial: French Associations for Surgical Research. Surgery 1995, 118:479-485.
- 7- Walker KG, Bell SW, Rickard MJ, Mehanna D, Dent OF, Chapuis PH, Bokey EL. Anastomotic leakage is predictive of diminished survival after potentially curative resection for colorectal cancer, Ann. Surg 2004, 240:255-259.
- 8- Baixauli J, Kiran PR, Delaney CP, Investigation and management of ischemic colitis Cleveland Clinic Journal of Medicine 2003, 70: 920-934.
- 9- Binns JC, Isaacson P. Age-related changes in the colonic blood supply: their relevance to ischemic colitis, Gut 1978, 19: 384–390.
- 10- John B, Theodore A, Chang C. Mesenteric Ischemia: acute and chronic, Ann Vasc Surg 2003, 17: 323-328.

- 11- Brunicardi FC. Schwartz Cerrahinin Temel İlkeleri, Tarhan 2008, Ankara, 8. Baskı, Çeviri Editörü: Geçim E. Bölüm 28: 1095-161
- 12- Skandalakis JE. Surgical Anatomy and Tecnique, Springer 2009, New-York, 3. Baskı, Bölüm 17: 415-95.
- 13- Townsend MC. Sabiston Modern Cerrahi Pratiğin Biyolojik Temelleri, Nobel 2010, Ankara, 17. Baskı, Çeviri Editörü: Ulusoy AN. Bölüm 12: 1401-1483
- 14- Sayek İ, Engin A. Temel Cerrahi, Güneş 2004, Ankara, 3. Baskı, Bölüm 15: 1243-9
- 15- Henry G, Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing, Surg Clin North Am, 2003, 83(3):483-507.
- 16- Marks R, Dykes P, Mootley R. Clinical Sings and Producedures in Dermatology, 1.st ed. London 1993, 35.
- 17- Broughton G II, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing, Plast Reconstr Surg, 2006, 117:12-34.
- 18- Witte M, Barbul A. General principles of wound healing, Surg. Clin. North Am 1997, 77: 509-13.
- 19- Pohlman T, Stanness K, Beatty P. An endothelial cell surface factor(s) induced in vitro by lipopolysaccharide, interleukin 1 and tumor necrosis factor-alpha increases neutrophil adherence, a CDw18-dependent mechanism J. Immunol 1986, 136:4548-11.
- 20- Bevilacqua M, Pober J, Wheeler M. Interleukin 1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines, J. Clin. Invest 1985, 76: 2003-9.
- 21- Lawrence W, Diegelmann R. Growth factors in wound Healing, Clin Dermatol 1994, 12: 157-62.

- 22- Grotendorst G, Soma Y, Takehara K. EGF and TGF-alpha are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptides are present at sites of tissuregeneration, *J. Cell Physiol* 1989, 139:617-21.
- 23- Regan M, Kirk S, Wasserkrug H. The wound environment as a regulator of fibroblast phenotype, *J. Surg. Res* 1991, 50: 442-46.
- 24- Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F. Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts, *J. Cell Biol* 1993, 122:103-8.
- 25- Christensen H, Chemnitz J, Christensen BC, Oxlund H. Collogen structural organization of healing colonic anastomoses and the effect of growth hormone treatment, *Dis. Colon Rectum* 1995, 38: 11-15.
- 26- Diegelmann R. Analysis of collagen synthesis, *Methods Mol. Med* 2003, 78:349-55.
- 27- Madden JS, The rate of collagen synthesis and deposition in dehisced and resutured wounds, *Surg. Gynecol. Obstet*, 1970, 130:487-93.
- 28- Sabiston D. *Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice*, 15th Ed. St. Louis, Saunders 1997, Chapter 5: 209-21.
- 29- Sayek İ, Engin A. *Temel Cerrahi*, 3. Baskı, Ankara 2004, Bölüm 5: 322:323.
- 30- Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract, *Surg Clin North Am* 1997, 77: 549-73.
- 31- Graham MF, Drucker DE, Diegelman RF, Elson CD. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture, *Gastrointerology* 1987, 92: 400-405.

- 32- Kılıçoğlu B, Serin Kılıçoğlu S, Çağatay Göçen V. Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005, 12: 67-76.
- 33- Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic Anastomoses, J Surg Res 1990, 48: 504-15.
- 34- Braskén P. Healing of experimental colon anastomosis, Eur J Surg Suppl Review 1991, 566: 1-51.
- 35- Mast BA. Healing in other tissues, Surg Clin North Am. Review 1997, 77: 529-47.
- 36- Kivisaari J, Vihersaari T, Renvall S. Energy metabolism of experimental wounds at various oxygen environments, Ann. Surg 1975, 181:823-28.
- 37- Chung RS. Blood flow in colonic anastomoses. Effect of stapling and suturing. Ann Surg 1987, 206:335-41.
- 38- Khoury GA, Waxman BP. Large bowel anastomoses. I. The healing process and sutured anastomoses, A review. Br J Surg 1983 Feb, 70: 61-3.
- 39- 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, 139: 406-13.
- 40- Leslie A, Steele RJ. The interrupted serosubmucosal anastomosis - still the gold Standard, Colorectal Dis 2003, 5: 362-366.
- 41- Irvin TT, Goligher JC. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses, Br J Surg 1973, 60:461-4.
- 42- Foster ME, Laycock JR, Silver IA, Leaper DJ. Hypovolaemia and healing in colonic anastomoses, Br J Surg 1985, 72: 831-4.
- 43- Carrico TJ, Mehrhof Jr. AI, Cohen IK. Biology of Wound Healing, Surgical Clinics of North America 1984, 64:721-733.

- 44- Steinbrech DS, Longaker MT, Mehrara B. et al. Fibroblast response to hypoxia: The relationship between angiogenesis and matrix regulation, J. Surg. Res 1999, 84:127-34.
- 45- Robson MC. Wound infection: A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria, Surg. Clin. North Am 1997, 77:637-41.
- 46- Hawley PR, Faulk WP, Hunt TK, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastro-intestinal tract, Br J Surg 1970, 57:896-900.
- 47- Atkinson JB, Kosi M, Srikanth M.S, Takano K, Costin G. Growth hormone reverses impaired wound healing in protein-malnourished rats treated with Corticosteroids, J Pediatr Surg 1992, 27:1026-8.
- 48- Ehrlich HP, Hunt TK. Effects of cortisone and vitamin A on wound healing, Ann Surg 1968, 167:324-8.
- 49- Aguilar-Nascimento JE, Mathie RT, Man WK, Williamson RC. Enhanced intra-anastomotic healing by operative lavage with nutrient solutions in experimental left-sided colonic obstruction, Br J Surg 1995, 82:461-4.
- 50- 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, 81:1040-5.
- 51- Kim SC, Buchmiller LT, Fonkalsrud WE, Philips D. The effect of anabolic steroids on ameliorating the adverse effect of chronic corticosteroids on intestinal anastomotic healing in rabbits, Gyn. and Obs. Surg 1993, 176:73-79.
- 52- Schilling JA. Wound healing, Surg Clin North Am 1976 Aug, 56:859-74.
- 53- Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury, Surg Clin North Am 1992, 72:65-83.
- 54- Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı, Klinik Gelişim Dergisi 2009, 22:5-14.

- 55- Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation, *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990, 137:1-53.
- 56- Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury, *Br J Surg* 1994, 81:637-47.
- 57- Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys, *Free Radic Res Commun* 1989, 7:255-64.
- 58- Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury, *Ann Neurol* 1992, 32:33-42.
- 59- Parks D.A, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation, *Am J Physiol* 1988, 254:768-74.
- 60- Stoney RJ, Cunningham CG. Acute mesenteric ischemia, *Surgery* 1993, 114:489-90.
- 61- McKinsey JF. Schwartz LB, Gewertz BL. Mesenteric ischemia. Rio de Janeiro: Interlivros 1997, 313-24.
- 62- McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury, *N Engl J Med*. 1985, 312:159-63.
- 63- Macarenco RSS, Takahagi RU, Bardella LC, Sequeira JL, Yoshida WB. Ginkgo biloba extract and hypertonic hydroxyethyl starch on attenuating ischemia and reperfusion changes of splanchnic organs in a rat model, *Acta Cir Bras* 2001, 16:139-45.
- 64- Cuzzocrea S, Chatterjee P, Mazzon E, Dugo L, De Sarro A, Van de Loo FAJ, Caputi AP, Thiemermann C. Role of induced nitric oxide in the initiation of the inflammatory response after postischemic injury, *Shock* 2002, 18:169-76.

- 65- João AS, Alencar SSS, Medeiros AC, Diniz SOF, Cardoso VN, Brandt CT. Translocation of ^{99m}Tc labelled bacteria after intestinal ischemia and reperfusion, *Acta Cir Bras* 2004, 19-22.
- 66- Turnage RH, Guice KS, Oldham KT. Endotoxemia and remote organ injury following intestinal reperfusion, *J Surg Res* 1994, 56:571-8.
- 67- Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review, *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997, 14:195-203.
- 68- Acworth IN, Bailey B. Reactive Oxygen Species, in: *The handbook of oxidative metabolism*, Massachusetts: ESA Inc. 1997, 1:4-8.
- 69- Nereide FC, Carlos A.H, Winston BY. Pathophysiology of mesenteric ischemia/ reperfusion: a review, *Acta Cirúrgica Brasileira* 2005, 13:336-343.
- 70- Yoshida WB. Free radicals in ischemia-reperfusion syndrome, *Cir Vasc Angiol* 1996, 12:82-95.
- 71- Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russel GI. Differential effect of ischemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney, *Exp Nephrol* 1995, 3: 348-354.
- 72- Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D, Tan DX, Ann NY, Burkhardt S. Free radicalmediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system, *Acad Sci* 2001, 939: 200-215.
- 73- Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury, *Am J Physiol* 1988, 255:1269-75.
- 74- Montalto MC, Hart ML, Jordan JE, Wada K, Stahl GL. Role for complement in mediating intestinal nitric oxide synthase-2 and superoxide dismutase expression, *Am J Physiol* 2003,285:197-206.
- 75- Xia G, Martin AE, Besner GE. Heparin-binding EGF-like growth factor downregulates expression of adhesion molecules and infiltration of

- inflammatory cells after intestinal ischemia/reperfusion injury, *J Pediatr Surg*. 2003, 38:434-9.
- 76- Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney, *J SurgRes* 1996, 61:469-472.
 - 77- Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion, *Thromb Haemost*. 2007, 97:738-747.
 - 78- Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury, *Br Med Bull* 2004, 70:71-86.
 - 79- Woodfin A, Voisin MB. Nourshargh, PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007, 27:2514-2523.
 - 80- Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury, *Cardiovasc Res* 2004, 61:481-497.
 - 81- Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia, *Crit Care Med* 1993, 21:1376-1386.
 - 82- Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2007, 376:1-43.
 - 83- Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion, *Clin Cardiol* 1993, 16:119-26.
 - 84- Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease, *Med Hypotheses* 2007, 68:1363-1370.

- 85- Attuwaybi B.O, Kozar RA, Moore-Olufemi SD, Sato N, Hassoun HT, Weisbrodt NW, Moore FA. Hemeoxygenase-1 induction by hemin protects against gut ischemia/reperfusion injury, *J Surg Res* 2004, 118:53-7.
- 86- Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham M.B, Granger D.N. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules, *Microvasc Res* 1991, 42:125-138.
- 87- Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebromicrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol* 1999, 101:148-160.
- 88- García-Villalón AL, Amezcua YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion, *Vascul Pharmacol* 2008, 48:109-114.
- 89- Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia-reperfusion injury, *Br J Surg* 1996, 83:162-170.
- 90- Cerqueira NF, Yoshida WB. Nitric oxide: review, *Acta Cir Bras.* 2002, 12: 45-51
- 91- Cuzzocrea S, Zingarelli B, Caputi AP. Role of constitutive nitric oxide synthase and peroxynitrite production in a rat model of splanchnic artery occlusion shock, *Life Sci.* 1998, 63:789-99.
- 92- Chan KL, Zhang XH, Fung PCW, Guo WH, Tam PKH. Role of nitric oxide in intestinal ischaemia-reperfusion injury studied using electron paramagnetic resonance, *Br J Surg.* 1999, 86:1427-32.
- 93- Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses: parameters for repair, *Dis Colon Rectum* 1990, 33:891-901.
- 94- Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension, *Br J Surg.* 1985, 72:606-609.

- 95- Gantwerker E.A, Hom DB. Skin: histology and physiology of wound healing, *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2011, 19:441-53.
- 96- Braiman-Wiksman L, Solomonik I, Spira R, Tennenbaum T. Novel insights into wound healing sequence of events, *Toxicol Pathol* 2007, 35:767-79.
- 97- Hesp WL, Hendriks T, Schillings PH. Histological features of wound repair: a comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. *Br J Surg.* 1985, 66:511-518.
- 98- Liekens S, De Clercq E, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications, *Biochem Pharmacol* 2001, 61:253-270.
- 99- Cooper AJ. Evaluation of I-C papaverine in patients with psychogenic and organic impotence, *Can J Psychiatry* 1991, 36:574-8.
- 100- Girard DS, Sutton J.P3, Williams T.H, Crumbley A.J3, Zellner J.L, Kratz JM, Crawford FA. Papaverine delivery to the internal mammary artery pedicle effectively treats spasm, *Ann Thorac Surg.* 2004, 78:1295-8.
- 101- Vajkoczy P, Horn P, Bauhuf C, Munch E, Hubner U, Ing D. Effect of intra-arterial papaverine on regional cerebral blood flow in hemodynamically relevant cerebral vasospasm, *Stroke* 2001, 32:498-505.
- 102- Simonetti G, Lupattelli L, Urigo F, Barzi F, Mosca S, Maspes F. Interventional radiology in the treatment of acute and chronic mesenteric İschemia, *Radiol Med.* 1992, 84:98-105.
- 103- Jennings M. *Animal Research.The Oxford Companion to The Body.* Oxford University Press, New York, 2001; 3:6-10.
- 104- Köksoy C. İskemi Reperfüzyon Modelleri. Cantürk Z, Sayek İ. *Cerrahi Araştırma.* Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 2005, Bölüm 8: 357-67.

- 105- Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS. A simple method to determine nanogram levels of 4- hydroxyproline in biological tissues, *Analytical Biochemistry* 1981, 112:70-75.
- 106- Çetinkaya Z, Esen K, Özercan I.H, Üstündağ B, Ayten R, Aygen E. The effect of Bosentan on healing of colonic anastomosis, *World J Emerg Surg* 2006, 1:37-45.
- 107- W.J. Conover. John Wiley & Sons *Practical Nonparametric Statistics* 2nd Ed, 1980 Chapter 5 Some methods based on ranks, Section 5.2 Several independent samples Pages 229-239.
- 108- Dilege Ş. Mezenter damar hastalıkları. Genel Cerrahi, Kalaycı G, ed. 1.baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002, cilt 2, Bölüm 12: 883-95.
- 109- Ensari CO, Genc V, Cakmak A, Erkek B, Karayalcin K. Effects of N-butyl-2-cyanoacrylate on high-level jejunojejunostomy. *Eur Surg Res.* 2010;44(1):13-6.
- 110- Tamura M, Iriguchi H, Miyamoto T, Kimura K, Kawanishi Y, Numata A. Postoperative results of ligation of crura penis for impotence with corporal veno-occlusive insufficiency. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi.* 1993;84:473-8.
- 111- Kim ED, el-Rashidy R, McVary KT. Papaverine topical gel for treatment of erectile dysfunction. *J Urol.* 1995, 153:361-5.
- 112- Van Driel MF, Joosten EA, Mensink HJ. Penile flow- and blood pressure index and the effective dose of intracavernous papaverine. *Acta Urol Belg.* 1990, 58:39-45.
- 113- Little N, Morgan MK, Grinnell V, Sorby W. Intra-arterial papaverine in the management of cerebral vasospasm following subarachnoid haemorrhage. *J Clin Neurosci.* 1994, 1:42-6.

- 114- Macdonald RL, Zhang J, Sima B, Johns L. Papaverine-sensitive vasospasm and arterial contractility and compliance after subarachnoid hemorrhage in dogs. *Neurosurgery*. 1995, 37:962-7.
- 115- Numaguchi Y, Zoarski GH. Intra-arterial papaverine treatment for cerebral vasospasm: our experience and review of the literature. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 1998, 38:189-95.
- 116- Dalbasti T, Karabiyikoglu M, Ozdamar N, Oktar N, Cagli S. Efficacy of controlled-release papaverine pellets in preventing symptomatic cerebral vasospasm. *J Neurosurg*. 2001, 95:44-50.
- 117- Han DH, Bai GY, Yang TK, Sim BS, Kwak YG, Kim CJ. The effect of papaverine on ion channels in rat basilar smooth muscle cells. *Neurol Res*. 2007, 29:544-50.
- 118- Sexton WL, Korthuis RJ, Laughlin MH. Ischemia-reperfusion injury in isolated rat hindquarters. *J Appl Physiol*. 1990, 68:387-92.
- 119- Arnold PB, Merritt W, Rodeheaver GT, Campbell CA, Morgan RF, Drake DB. Effects of perivascular Botulinum Toxin-A application on vascular smooth muscle and flap viability in the rat. *Ann Plast Surg*. 2009, 62:463-7.
- 120- Ersoy YE, Ayan F, Himmetoglu S. Trace element levels in ischemia-reperfusion injury after left colonic anastomosis in rats and effects of papaverine and pentoxifylline on vascular endothelial growth factor in anastomosis healing. *Acta Gastroenterol Belg*. 2011, 74:22-7.
- 121- Irkorucu O, Ucan BH, Cakmak GK, Emre AU, Tascilar O, Oflluoglu E. Does sildenafil reverse the adverse effects of ischemia on ischemic colon anastomosis: yes, 'no'. *Int J Surg*. 2009, 7:39-43.
- 122- Sümer A, Altınlı E, Senger S, Köksal N, Onur E, Eroğlu E. Effect of pentoxifylline and vinpocetine on the healing of ischemic colon anastomosis: an experimental study. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2011, 17:482-7.

- 123- Kabali B, Girgin S, Gedik E, Ozturk H, Kale E, Buyukbayram H. N-acetylcysteine prevents deleterious effects of ischemia/reperfusion injury on healing of colonic anastomosis in rats. *Eur Surg Res.* 2009, 43:8-12.
- 124- Cakmak GK, Irkorucu O, Ucan BH, Tascilar O, Emre AU, Karakaya K. The effects of resveratrol on the healing of left colonic anastomosis. *J Invest Surg.* 2009, 22:353-61.
- 125- Ekçi B, Karabicak I, Atukeren P, Altinlio E, Tomaoglu K, Tasci I. The effect of omega-3 fatty acid and ascorbic acid on healing of ischemic colon anastomoses. *Ann Ital Chir.* 2011, 82:475-9.
- 126- Karatepe O, Kurtulus I, Yalcin O, Battal M, Kamali G, Aydin T. Adrenomedulline improves ischemic left colonic anastomotic healing in an experimental rodent model. *Clinics (Sao Paulo).* 2011, 66:1805-10.
- 127- Morton AJ, Grosche A, Matyjaszek SA, Polyak MM, Freeman DE. Effects of flunixin meglumine on the recovery of ischaemic equine colonic mucosa in vitro. *Equine Vet J Suppl.* 2011, 39:112-6.
- 128- Adas G, Percem A, Adas M, Kemik O, Arikan S, Ustek D. VEGF-A and FGF gene therapy accelerate healing of ischemic colonic anastomoses (experimental study). *Int J Surg.* 2011, 9:467-71.
- 129- Jakesevic M, Aaby K, Borge GI, Jeppsson B, Ahrné S, Molin G. Antioxidative protection of dietary bilberry, chokeberry and *Lactobacillus plantarum* HEAL19 in mice subjected to intestinal oxidative stress by ischemia-reperfusion. *BMC Complement Altern Med.* 2011, 27:8-11.
- 130- Azevedo LA, Parra RS, Da Rocha JJ, Ramalho LN, Ramalho FS, Féres O. Hyperbaric oxygen on the healing of ischemic colonic anastomosis--an experimental study in rats. *Undersea Hyperb Med.* 2010, 37:405-11.
- 131- Karataş A, Kocael A, Aytaç E, Gökcal F, Salihoğlu Z, Uzun H. Amelogenin (an extracellular matrix protein) application on ischemic colon anastomosis in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2010, 16:487-90.

- 132- Adas G, Arikan S, Karatepe O, Kemik O, Ayhan S, Karaoz E. Mesenchymal stem cells improve the healing of ischemic colonic anastomoses (experimental study). *Langenbecks Arch Surg.* 2011, 396:115-26.
- 133- Gardlik R, Hodosy J, Palffy R, Behuliak M, Janega P, Celec P. Effects of orally administered bacteria carrying HIF-1 α gene in an experimental model of intestinal ischemia. *Arch Med Res.* 2010, 41:332-7.
- 134- Santen S, Wang Y, Laschke MW, Menger MD, Jeppsson B, Thorlacius H. Rho-kinase signalling regulates CXC chemokine formation and leukocyte recruitment in colonic ischemia-reperfusion. *Int J Colorectal Dis.* 2010, 25:1063-70.
- 135- Tadauchi A, Narita Y, Kagami H, Niwa Y, Ueda M, Goto H. Novel cell-based therapeutic strategy for ischemic colitis with use of bone marrow-derived mononuclear cells in rats. *Dis Colon Rectum.* 2009, 52:1443-51.