

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL KOLON ANASTOMOZ MODELİNDE, GHRELİNİN  
ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr.R.Tuğrul AKSOY  
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Canan CERAN ÖZCAN**

**MALATYA-2009**

**TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL KOLON ANASTOMOZ MODELİNDE, GHRELİNİN  
ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. R.Tuğrul AKSOY  
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Canan CERAN ÖZCAN**

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA NO

1. TABLOLAR, ŞEKİLLER ve GRAFİKLER DİZİNİ:	II
2. SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ:	III
3. GİRİŞ:	1
4. GENEL BİLGİLER:	3
5. GEREÇ ve YÖNTEM:	28
6. BULGULAR:	34
7. TARTIŞMA:	42
8. SONUÇ VE ÖNERİLER:	52
9. ÖZET (TÜRKÇE):	54
10. ÖZET (İNGİLİZCE)::	56
11. KAYNAKLAR:	58

## TABLolar, ŞEKİLLER DİZİNİ ve GRAFİKLER DİZİNİ

Tablo 1: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler.

Tablo 2: Yara iyileşmesi histopatolojik semikantitatif skorlama

Tablo 3: Anastomoz Patlama Basınçları (mmHg)

Tablo 4: Doku Hidroksiprolin düzeyi ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  yaş doku)

Tablo 5: Histopatolojik inceleme skoru

Şekil 1: Sıçan, insan ve domuz ghrelinin yapısı.

Şekil 2: İnsizyon yapılan sahanın temizliği ve orta hat vertikal insizyon

Şekil 3: Peritoneal refleksiyonun üzerinden kolonun bulunması

Şekil 4: Patlama basıncı ölçüm düzeneği

Şekil 5: İntralüminal basınç ölçülmesi

Şekil 6: İntralüminal infüzyon pompası

Şekil 7: Işık mikroskopisinde (x20) Hematoksilen-eosin boyası ile boyanan örnekte grade 3 inflamatuvar hücre yoğunluğu

Şekil 8: Işık mikroskopisinde (x20) Hematoksilen-eosin boyası ile boyanan örnekte grade 3 kollojen ve inflamatuvar hücre yoğunluğu

Şekil 9: Işık mikroskopisinde (x20) Hematoksilen-eosin boyası ile boyanan örnekte grade 3 kollojen yoğunluğu

Şekil 10: Işık mikroskopisinde (x20) Hematoksilen-eosin boyası ile boyanan örnekte grade 3 neovaskülarizasyon

Grafik 1: Ortalama Anastomoz Patlama Basınçları (mmHg)

Grafik 2: Ortalama Doku Hidroksiprolin Düzeyi ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  yaş doku)

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>A, a</b>	Arter, arteriol
<b>aa</b>	Aminoasit
<b>ark</b>	Arkadaşları
<b>SMA</b>	Superior Mezenterik Arter
<b>İMA</b>	İnferior Mezenterik Arter
<b>S</b>	Sakral
<b>ECL</b>	Enterokromoffin Benzeri
<b>EC</b>	Enterokromaffin
<b>ARC</b>	Arkuat Nükleus
<b>VMN</b>	Ventromedial Nükleus
<b>DMN</b>	Dorsomedial Nükleus
<b>PVN</b>	Paraventriküler Nükleus
<b>mRNA</b>	Mesajcı Ribonükleikasit
<b>RIA</b>	Radyoimmun Assey
<b>Ser</b>	Serin
<b>PKA</b>	Protein Kinaz A
<b>AMPK</b>	Aktif Protein Kinaz
<b>GH</b>	Büyüme Hormonu
<b>GHRH</b>	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon
<b>GHRH-R</b>	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon Reseptörü
<b>GHS-R1</b>	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon Reseptör 1
<b>ACTH</b>	Adrenokortikotropik hormon
<b>HDL</b>	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
<b>İP</b>	İntraperitoneal
<b>İCV</b>	İntraserebroventriküler
<b>NPY</b>	Nöropeptid Y
<b>AGRP</b>	Agouti-Related Peptide
<b>Cys</b>	Sistin
<b>cAMP</b>	Siklik Adenozin Monofosfat
<b>FSH</b>	Folikül Stimüle Edici Hormon

<b>LH</b>	Lüteinize Edici Hormon
<b>TSH</b>	Tiroid Stimüle Edici Hormon
<b>mL</b>	Mililitre
<b>dk</b>	Dakika
<b>mmHg</b>	Milimetreciva
<b>µg</b>	Mikrogram
<b>mg</b>	Miligram
<b>HP</b>	Hidroksiprolin

### 3.GİRİŞ

Ghrelın midenin oksintik mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip X/A hücreleri tarafından üretilmekte ve 28 aminoasit içeren bir peptiddir. Ghrelın, büyüme hormonu (GH) salınımı ve enerji hemostaz düzenleyici rol oynar. Esas olarak midede üretilmekle birlikte daha düşük miktarda barsak, hipofiz, böbrek, plasenta ve hipotalamusta da yapılmaktadır. Ghrelının büyüme hormonu, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu üzerine etkileri olduğu bilinmektedir.

Ghrelının besin alımını ve enerji harcanmasını düzenleyen kompleks santral sinyal ağında anahtar rol oynadığı, kısa ve uzun dönemde vücut ağırlığının düzenlenmesine katkısı olduğu düşünülmektedir. Ghrelının GH salgılatıcı etkileri hem in vitro hem de gönüllüler üzerinde yapılan klinik çalışmalarda gösterilmiştir. Ghrelın, büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) salınımını artırırken, somatostatin salınımını azaltmaktadır. Farelerde periferal veya intraventriküler olarak verildikten sonra büyüme hormon düzeyleri 15–20 dk içinde zirveye çıkmakta, 60 dk içinde normale dönmektedir.

Barsak anastomozları gastrointestinal cerrahinin temel girişimlerindedir. Barsak anastomozları çeşitli cerrahi hastalıklar nedeni ile çok uygulanmakta olduğundan gerek iyileşme, gerekse de cerrahi sonrası komplikasyonları açısından araştırmacıların en çok ilgilendiği konular arasındadır. Barsak anastomozu sık uygulanan bir girişim olmasına ve bu konu hakkında geniş deneyimlere rağmen anastomoz kaçağı olmaktadır. Hastalarda ciddi yaşamsal problemlere neden olan bu kaçaklar operasyon tipi ve cerrahın tecrübesine bağlı olarak %2–19 oranında görülmektedir.

Kolon anastomozlarının iyileşmesini etkileyen faktörleri araştırmaya yönelik pek çok çalışma mevcuttur. GH ve çeşitli büyüme faktörlerinin kolon anastomozlarının iyileşmesinde olumlu etkilere sahip olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı deneysel kolon anastomozu oluşturulan ratlara ghrelin verilmesinin anastomoz iyileşmesi üzerine bir etkisinin olup olmadığının patlama basıncı, hidroksprolin düzeyi ve histopatolojik yöntemlerle incelemektir.



## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1.KOLONUN ANATOMİSİ:

Kalın bağırsaklar, ileumun son kısmı ile anüs arasında yer alır. Gastrointestinal sistemin 1/5'ini oluşturur ve ortalama uzunluğu 120-200cm arasındadır. Kolon içte sirküler, dışta longitudinal yerleşimli düz kaslardan yapılmıştır. Longitudinal kas lifleri bir araya toplanarak tenya denilen 3 bant meydana getirirler (1, 2). Kalın bağırsaklar dış tabakada yer alan appendiks epiploika denilen yağ kesecikleri ve haustra coli denilen boğumlarıyla ince bağırsaklardan ayrılır.

Kalın bağırsaklar çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşmaktadır. Kolon duodenum önünden geçen dikey planla sağ ve sol kolon olmak üzere ikiye ayrılır. Çekum, appendiks, çıkan kolon fleksura hepatica ve transvers kolon başlangıcına kadar olan kısım sağ kolonu oluşturur. Transvers kolonun distali, fleksura lienalis, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum ise sol kolonu oluşturur (2).

Terminal ileum ile kolon arasında geçiş yerinde ileoçekal valv (Bouhin kapağı) bulunmaktadır. Alt ve üst dudaktan oluşan ve bu dudaklarda çift kat mukoza ve sirküler adalelerden meydana gelen bu yapı ileum ve kolon arasında sfinkter görevi görerek içeriğin ileumdan çekuma hızla boşalmasına ve reflüye engel olur (2).

#### **4.1.1. Çekum.**

Kalın barsağın ilk parçası olan ve ileoçekal valvin hemen üstünden geçen çizginin altında kalan kısmına çekum denir. Üzerinde appendiksten başlayan üç adet tenya mevcuttur. (tenia mezokolika, tenia omentalis, tenia libera). Geniş çapı nedeni ile distal obstrüksiyonlarda kolon rüptürünün en çok görüldüğü kısımdır. Kolonun çapı sigmoid kolona doğru giderek azalır (2).

#### **4.1.2.Çıkan Kolon.**

Çekumdan başlayıp yukarı karaciğer sağ lob alt lob yüzüne, fleksura kolika dekstraya kadar uzanan kısma çıkan kolon denir. Doğrultusu aşağıdan yukarı ve önden arkaya doğru eğiktir. Ön ve yan tarafları peritonla kaplı olup retroperitoneal yerleşimlidir (2, 3).

#### **4.1.3. Transvers Kolon.**

Fleksura kolika dekstradan başlayan fleksura kolika sinistraya kadar uzanan kolonun en uzun ve en mobil kısmını oluşturur. Ortalama 40–50 cm uzunluğundadır. Çıkan ve inen kolon arasında konkavlığı yukarı bakan bir yay yapar. Uzun bir mezoya sahip intraperitoneal olarak yerleşmiş transvers kolonun sekonder olarak bursa omentalis ile kaynaşmış bir mezenteri vardır (2, 3).

#### **4.1.4. İnen Kolon.**

Fleksura koli sinistradan başlayıp pelvis girimine kadar olan kısım inen kolondur. Uzunluğu ortalama 25–30 cm kadardır. Ön ve her iki yan yüzü peritonla kaplı olup retroperitoneal yerleşimlidir (2, 3).

#### **4.1.5. Sigmoid Kolon.**

Elvis üst açıklığı hizasından, kristal iliaka hizasında psoas kası kenarından başlar, üçüncü sakral vertebra ön yüzünde rektum ile sonlanır. Sigmoid kolon S şeklinde kıvrım yapar ve ortalama uzunluğu 40 cm kadardır. Kolonun en dar yeridir.

#### **4.1.6. Rektum.**

Üçüncü sakral vertebra seviyesinden başlar ve anal kanala uzanır. Rektumun üç keskin kavsi vardır. Proksimal ve distal kavisler sola doğru konveks, orta kavis sağa doğru konveks olup bu katlantılar lümen içinde bulunan Husta valvlerine karşılık gelmektedir (2, 4).

#### **4.1.7. Anal Kanal.**

Anal kanal pelvik diyaframdan başlar ve anal sınırdan biter. Ortalama uzunluğu 2,5–4 cm kadardır. Anal sınırdan dentat sınıra kadar olan kısma anatomik kanal denir. Cerrahi anal kanal ise pratikte anal sınırdan rektal tuşe ile puborektalisin palpe edilebilen sirküler alt sınırını oluşturan anorektal halkaya dek uzanan yapı olarak tanımlanır. Dentat sınırın 1,5–2 cm üzerinde yerleşmiş gerçek bir mukokütanöz bileşkedir (2, 3, 4).

Anal kanal, internal ve eksternal sfinkter tarafından çevrelenmiştir. Rektumun iç sirküler düz kasının devamından internal sfinkter meydana gelmiştir. İstirahat halinde kasılı duran istemsiz bir kastır. Eksternal sfinkter çizgili istemli bir kastır ve U şeklinde üç halkadan oluşur (subkütanöz, süperfisial, derin ) (2, 4).

### **4.2. KOLONUN ARTERYAL DOLAŞIMI**

#### **4.2.1. Süperior Mezenterik Arter (SMA)**

İnce bağırsaklar ve sağ kolonun beslenmesini SMA sağlar. SMA L1 seviyesinde aortanın ön yüzünden çölyak turunkusun distalinden çıkar (2,3).

#### **4.2.2. İinferior Mezenterik Arter (İMA)**

Sol kolonun arteriyal beslenmesini L3 hizasından aort bifurkasyonu proksimalinden, renal arterin distalinden aort ön yüzünden çıkan inferior mezenterik arter sağlar (2, 3, 4).

#### **4.2.3. Drummond'un Marjinal Arteri**

İleokolik, sağ, orta ve sol kolik arterlerin yaptığı kemerlerin periferde birleşerek kolona vasa rekti'leri veren kolonun mezenterisi sınırı boyunca paralel olarak uzanan ve bağırsak duvarından ~1–8 cm mesafede

kollaterallerden oluşan yapıdır.

#### **4.2.4. Riolan Kavsi.**

Kıvrık yapısı nedeni ile sıklıkla dolambaçlı mezenterik arter adıyla anılan Riolan Kavsi, mezenterik köke yakın yerleşimli ve İMA'nın sol kolik dalı ile SMA'nın orta kolik dalı arasında oluşan arteryal kemerdur (2, 3, 4).

#### **4.2.5. Rektum ve Anal Kanal Arterleri.**

Bu bölgenin beslenmesi superior, orta, inferior ve median rektal arter tarafından sağlanmaktadır (2, 3, 4).

### **4.3. KOLONUN VENÖZ DOLAŞIMI.**

Kolonun venleri arterlerle aynı isimleri alarak paralel olarak dağılırlar. Hepsi vena portaya dökülür (2, 3, 4).

### **4.4. KOLONUN LENFATİK DRENAJİ.**

Kolon submukoza ve muskularis mukozada lokalize lenfatik kanallarla çevrilidir. Lenfatik kanallar arterleri takip eder.

a- Epiploik lenf bezleri: Kolonun duvarı üzerinde seröz membran altında yerleşen küçük lenf bezleridir.

b- Parakolik lenf bezleri: Marjinal arter ve bağırsak duvarı arasında yer alır.

c- Mezokolik (intermezenterik) lenf bezleri: Kolonun esas damarları SMA, İMA boyunca uzanırlar.

d- Mezenter kökü (Principal) lenf bezleri: Süperior ve inferior arter kökü etrafındaki düğümleri, aortik düğümler ile sol lomber düğümleri içerir (2, 3, 4).

#### **4.5. KOLONUN SİNİRLERİ.**

Parasempatik sistem peristaltizmi uyarır, sempatik sistem inhibe eder. Sağ kolonun sempatik innervasyonu altıncı torasik segmentten kaynaklanır, torasik splanknik sinirlerle çölyak pleksusa oradan da süperior mezenterik pleksusa geçer. Sağ kolonun parasempatik innervasyonu sağ vagus siniri tarafından sağlanır. Sol kolonun ve rektumun sempatik innervasyonu ise ilk üç lumbal segmentten kaynaklanarak preaortik pleksuslara katılır ve aorta bifurkasyonunun altında inferior mezenterik pleksus adını alır. Sol kolonun parasempatikleri sakral sinirlerden (S2–3–4) gelerek rektumun iki yanında nervi erigentesleri oluşturur. Sakral parasempatiklerin uzantıları splanik fleksura, hipogastrik pleksuslar yoluyla çıkar (2, 4).

Rektum innervasyonu pelvisin ürogenital organlarıyla beraber olmaktadır (2, 4).

#### **4.6. KOLONUN HİSTOLOJİ.**

Kolon dört tabakadan oluşur.

Tunika Mukoza: Mukoza yüzey epiteli, kripta, lamina propria ve lamina muskularis mukozadan oluşur. Barsağın bu bölümünde villus yoktur. Yüzey epiteli basit kolumnar epitelden oluşur (5, 6).

Lamina propria fibroblastlar, damarlar, sinirler, düz kas ve inflamatuvar hücreleri içerir. Lenfatikler lamina proprianın alt 1/3'lük bölümüne sınırlıdır.

Muskularis mukoza ince bir kas tabakasıdır. Mukoza ile submukoza arasında sınır teşkil eder (5, 6).

Tunika Submukoza: Lamina proprianın hücresel içeriği submukozal stromada da mevcuttur. Meissner submukozal pleksus ve derin submukozal pleksus bu bölgede yer alır. Damar ve lenfatikleri içerir (5, 6).

Tunika Muskularis: İçte sirküler, dışta longitudinal kaslardan meydana gelir. Auerbach pleksusu iki tabaka arasında uzanır. Dış longitudinal lifleri tenya kolileri oluşturur (5, 6).

Tunika Seroza: Peritondan oluşmuştur. Çekum, appendiks, transvers

kolon ve sigmoid kolonu tam olarak sarar (intraperitoneal). Çıkan kolon, inen kolon ve rektumun bir bölümü ile anal kanal peritonun arkasında kalır (retroperitoneal) (5, 6).

#### **4.7.GHRELİN**

Ghrelın gastrointestinal sistem tarafından üretilen, santral etki ile yeme davranışı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan peptid yapıda bir hormondur. Keşfinin ilk yıllarında vücutta büyüme hormonu salınımını artırıcı bir hormon olduğu düşünülmüştür, son yıllarda iştah ve vücut ağırlığının düzenlenmesi üzerine olan etkileri ile dikkat çekmektedir (7).

Ghrelın ilk kez 1999 yılında Japon bilim adamları Kojima ve arkadaşları tarafından farelerin midesinde tanımlanmıştır (8). Mide oksintik mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip ghrelın hücreleri (X/A) tarafından üretilmektedir (9, 10). Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, ince bağırsak, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immun sistem (11, 12), meme (13, 14) ve dişlerde sentezlenmektedir (15). Ghrelinin mRNA'sı hemen hemen bütün dokularda tespit edilmiştir. Çalışılan dokuların ghrelın mRNA miktarının mide fundusunda en fazla olduğu, bunu da sırasıyla jejunum, duodenum, midenin antrumu, akciğer, pankreas dokusu, venöz sistem, safra kesesi, lenf nodu, yemek borusu, sol kolon, yanak, hipofiz, meme, böbrek, ovaryum, prostat, sağ kolon, ileum, karaciğer, dalak, fallopian tüp, lenfositler, testis, yağ dokusu, plasenta, adrenal bez, kas, mesane, kalbin atriumu, tiroid, miyokardiyum ve derinin takip ettiği bildirilmiştir (16).

##### **4.7.1 Ghrelinin yapısı ve dokulardaki dağılımı.**

Yarılanma ömrü 15–20 dakika olan ghrelın; vücut sıvılarında ve dokularda iki formda bulunmaktadır; a-Ghrelın b- des-n-oktanil Ghrelın (17). İnsan preproghrelinini kodlayan gen beş ekzon ve dört intron içerir ve 3p25–26 kromozomu üzerinde lokalize olmuştur. Uç uca eklenmiş ghrelın mRNA'sı 117 amino asid içeren preküsör preproghrelini oluşturur, preproghrelın daha sonra parçalanarak ghrelini oluşturur (18, 19).

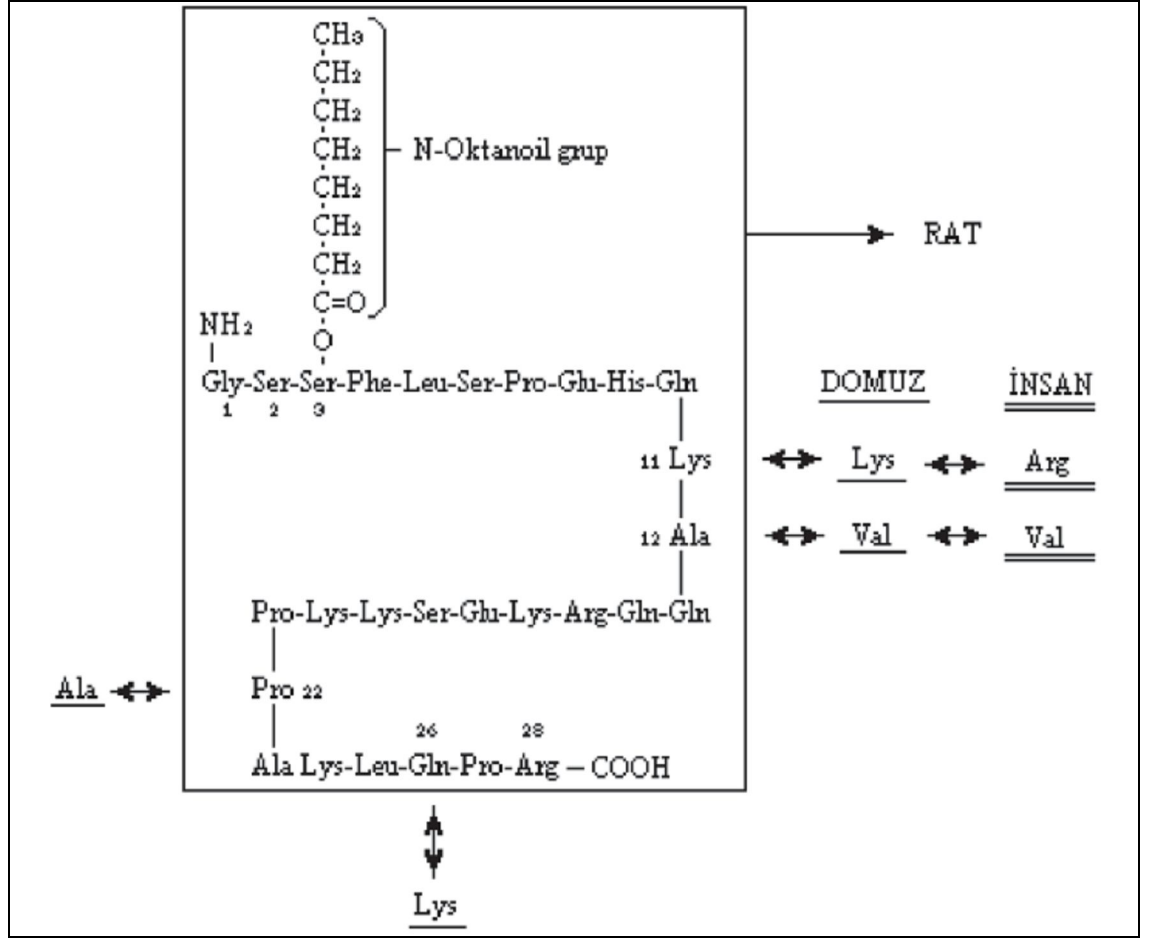
Ghrelin 28 amino asitli bir peptittir. İnsan ghrelini N-terminal ucundaki 3. aa olan serine bağı oktanil grubu adı verilen sekiz karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Bu oktanil grubunun bağlanması ile olan esterleşme reaksiyonu çok özeldir ve benzeri yoktur, henüz ayrıştırılmamış olan bir açil transferaz enzimi tarafından yürütülür. Bu esterleşme reaksiyonu ghrelinin GHS-R1a reseptörüne bağlanıp kan-beyin bariyerinden geçişini sağlar (20, 21). Ghrelin, bir yağ asidi tarafından aktivitesi değiştirilen tek peptid hormondur (12, 22). Farelere verilen orta zincirli yağ asitleri ve orta zincirli triaçil gliseroller, toplam ghrelin miktarını değiştirmeden midedeki açilli ghrelin miktarını arttırmaktadır. Yani vücuda alınan orta zincirli yağ asitleri ghrelinin açil modifikasyonunda kullanılmaktadır (27). Oktanil grubu ghrelinin aktif olması için gereklidir. Bünyesinde yağ asidi içermeyen desaçile ghrelin ise inaktiftir (12, 22). Ghrelinin doğal oluşan varyantları des-Gln ghrelin ve desaçile ghrelindir. Des-gln ghrelin serumda çok az miktarda bulunmakta fakat aktivite göstermektedir. Desaçile ghrelin dolaşımdaki toplam ghrelinin %80-90'ını oluşturmaktadır (22). Desaçil ghrelin GHS-R1a reseptörüne bağlanmadığı için etki gösteremez (23, 24). Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda desaçil ghrelinin GHS-R1a haricindeki başka reseptörler üzerinden fizyolojik etkiler oluşturduğu gösterilmiştir. Örneğin hepatositlerden glikoz salgılanmasının azaltılması, (25) lipolizin inhibisyonu, yağ dokusunun gelişiminin arttırılması, hücre apoptozunun inhibisyonu, vazodilatasyon ve faydalı kardiotropik etkiler, besin alımının uyarılması ve iris kaslarında gevşeme bu etkilerden bazılarıdır (26).

Son yıllarda obestatinin karmaşık olan ghrelin fizyolojisine olan etkilerinden bahsedilmektedir. Obestatin ghrelini kodlayan gen tarafından üretilen bir hormondur. Bu hormonun fonksiyonel olarak ghrelinin enerji hemostazı, gastrointestinal fonksiyonlar, anksiyete ve açlık üzerine olan etkilerine aksi etkileri olduğu düşünülmektedir (26).

Ghrelin sadece bir organ ya da bezden salgılanmamakta, aksine birçok dokuda üretilmektedir (16). Hayvanlar alemi dışında bitkiler aleminde de insan anti ghrelini ile immüno reaksiyona giren ghrelin benzeri bir maddenin bulunduğu rapor edilmiştir (28).

Memelilerde ghrelin homologları insan, sıçan (8), köpek, koyun, domuz, sığır, rhesus maymunu ve farelerde keşfedilmiştir (22). Memeli ghrelinlerinde NH<sub>2</sub> terminal ucundaki ilk on aminoasit evrimsel süreç içerisinde iyi korunmuştur. Üçüncü sırada yer alan serin aminoasidi açil modifikasyonuna olanak sağlamaktadır. NH<sub>2</sub> terminal bölgenin ilk on aminoasidi peptidin aktivite gösterebilmesi için ana rol üstlenmektedir. Moleküler ağırlığı yaklaşık 3315 dalton olan memeli ghrelinleri birbirine tamamen benzer değildir (Şekil 1). Sıçan ve domuz ghrelinindeki 11. aminoasit olan lizin, insanda arjinin ile yer değiştirmiştir. Diğer taraftan sıçan ghrelindeki 12. aminoasit olan alanin, hem domuzda hem de insanda valin olarak değişmiştir. Bundan başka sıçanlarda 22 nolu aminoasit olan prolinin yerine domuzda alanin, sıçanlarda 26 nolu aminoasit olan glisinin yerine domuzda lizin bulunmaktadır (8).





**Şekil 1.** Sığan, insan ve domuz ghrelininin yapısı. NH<sub>2</sub> ucunun 3. aa'i olan serine oktanil grubunun bağlanmasıyla aktif ghrelin oluşmaktadır (8, 29).

Bütün omurgalı türlerinde ghrelinin ana sentez yeri midedir. Midenin fundus bölgesi, pilor bölgesine göre daha fazla ghrelin sentezlemektedir (30). Doku hibridizasyonu ve immunohistokimyasal analizler, midenin mukozal tabakasının belirli bölgelerinde ghrelin pozitif hücreler olduğunu ortaya koymuştur. Mide endokrin hücrelerinin değişik tipleri vardır. İmmunglobulin A yönünden aktif olan endokrin hücrelerin %20'si ghrelin mRNA'sı içermektedir. Daha önceden de söz edildiği gibi dolaşımdaki ghrelinin büyük bir kısmı mideden, %30' u ise ince bağırsak, meme ve tükrük bezi gibi değişik organlardan kaynaklanmaktadır (31).

Oksintik mukozada dört çeşit endokrin hücre belirlenmiştir. Bunlar enterokromaffin benzeri (ECL) hücreler, D hücreleri (pankreas langerhans

adacıklarında %5'den az olarak bulunan ve somatostatin salınımından sorumlu hücreler), enterokromaffin (EC) ve X/A benzeri hücrelerdir (32, 33). ECL hücrelerinde histamin ve üroguanilin (natriüretik peptid hormon), D hücrelerinde somatostatin, EC hücrelerinde serotonin, X/A benzeri hücrelerde ise ghrelin sentezi mevcuttur. X/A benzeri hücreler fonksiyonel oksintik bezlerde endokrin hücre miktarının %20'sini oluşturmaktadır. Ghrelin immunoreaktif hücreler duodenum, jejunum, ileum, meme ve kolonda bulunmaktadır. İntestinal sistemin ghrelin derişimi duodenumdan kolona doğru azalmaktadır. Midede olduğu gibi bağırsakta da, N-oktanil ghrelin ve des-açil ghrelin formları bulunmaktadır (10, 22).

Alt gastrointestinal sistemde lümenle bağlantılı olan "açık" hücreler ve lümenle bağlantısı olmayan "kapalı" hücreler olmak üzere iki tip ghrelin hücresi belirlenmiştir (10). Ghrelinin ana sentez kaynağı olduğu sanılan midenin oksintik mukozasını içeren kısmı, sıçanlarda cerrahi olarak çıkarılmış ve bu işlem sonrasında dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonu %80 oranında azalmıştır (34). Bu çalışma ghrelin sentezinin esas kaynağının oksintik mukoza olduğunu göstermektedir. Gastrektomi yapılmış insanlarda da benzer bir azalmaya rastlanmıştır. Pankreas da ghrelin sentezleyen bir organdır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) "Radyoimmunassay" (RIA) ile yapılan analizler, hem n-oktanil ghrelin hem de des-açil ghrelinin sıçan pankreasında bulunduğunu göstermiştir. Pankreasın alfa ve beta hücrelerinde diğer hormonların yanı sıra ghrelin de bulunmaktadır. Langerhans adacığının epsilon hücrelerinde ise sadece ghrelin bulunmaktadır. Pankreasta ghrelinin sentez yeri hakkında değişik raporlar mevcut olup pankreasın alfa, beta, epsilon veya yeni bir adacık hücre grubu tarafından üretildiği ileri sürülmektedir (35, 36, 37).

Beyinde lateral hipotalamus, arkuat nükleus (ARC), venteromedial nükleus (VMN), dorsomedial nükleus (DMN), paraventriküler nükleus (PVN) ve üçüncü ventrikülün endimal tabakasındaki çekirdekler arası boşlukta ghrelin ekspresyonu mevcuttur (38). Ayrıca hipotalamus dışında yer alan stria terminalis, amygdala, talamus ve habenulanın nükleusunda da ghrelin ekspresyonu bulunmaktadır (39). Ghrelin mRNA'sının böbrekte özellikle

glomerülda bulunduğu açıklanmıştır (40). İmmünoreaktif ghrelin hücreleri, interstisyel leydig hücreleri ve sertoli hücrelerinde de tanımlanmıştır. Caminos ve ark. İlk kez kondrositlerde ghrelinin sentez ve sekresyonunu göstermişlerdir. Tükürük bezinde ve diş dokusunda ghrelinin varlığı immunohistokimyasal ve RIA yöntemleriyle gösterilmiştir. Aynı zamanda tükürüğün serumdan daha fazla hormon içerdiği rapor edilmiştir. Yine meme dokusunun ghrelin sentezlediği bildirilmiş olup anne sütündeki miktarı RIA ile belirlenmiştir (13, 14, 22).

Ghrelin normal insan dokularının yanı sıra hipofiz adenomları, nöroendokrin tümörler, tiroid ve medüller tiroid karsinomları, pankreas endokrin tümörleri ve akciğer tümörlerinde de tanımlanmıştır (22).

#### **4.7.2. Ghrelin reseptörleri.**

En iyi bilinen ghrelin reseptörü GHS-R1'in iki alt tipi ( GHS-R1a, GHS-R1b) vardır. Bu varyantlar aynı genin pre-mRNA'sından alternatif yöntemlerle meydana gelmektedir. GHS-R1a'da GSH-R1b'de geniş olarak eksprese edilmekte fakat GSH-R1b, GHS-R1a'dan farklı olarak ghrelin veya sentetik ghrelinlere bağlanmamaktadır ve fonksiyonu bilinmemektedir (26). Bununla birlikte son çalışmalarda GSH-R1b'nin GHS-R1a ile birlikte etki ediyor olabileceği ve GSH-R1b'nin biyolojik olarak önemli bir rolü olabileceği öne sürülmüştür (41).

GHS-R1a hipotalamus ve pituiter bezlerde yaygın olarak eksprese edilmektedir. Bu da onun enerji dengesi, gıda alımı ve iştah artışı gibi pituiter bezi üzerinden gözlenen etkileri ile uyum göstermektedir (42). GHS-R1a'nın hipokampus, substansia nigranın pars kompaktası, ventral tegmental bölge, dorsal ve medial nükleer raphe, Edinger- Westphal çekirdeği ve piriform korteks gibi santral sinir sisteminin biyolojik ritm, davranış, kavrama, hafıza ve öğrenmeye etkili kısımlarında da eksprese olduğu gösterilmiştir (43). Ayrıca GHS-R1a, ghrelinin etkilerine aracılık eden vagal ganglion düğümlerinde de eksprese olmaktadır. Bunlara ek olarak mide, bağırsaklar, pankreas, tiroid bezi, gonadlar, adrenal bezler, kalp ve damarları, kemik, çok çeşitli tümörler ve hücre zarları GHS-R1a içermektedir (26). Bu bilgiler

ghrelinin gittikçe daha çok açığa çıkartılan etkileri ile paralellik göstermektedir. GHS-R1a'nın GH salınmasının uyarılması ve etkilerinin ortaya çıkması için gerekli olduğu gösterilmiştir (44).

GHS-R1a, G proteinine bağlı bir reseptördür. Ser3' deki oktanil grubu ve N terminal ucundaki 4–5 amino asidler ghrelin tarafından aktiveleştirilebilmesi için gereklidir (24). Ghrelininin GHS-R1a reseptörüne bağlanması hücreye spesifik birçok intrasellüler yolların aktiveleşmesine neden olur. Somatotrofik hücrelerde GHS-R1a'nın uyarılması sonucunda Gq11-fosfotidil inositol- fosfolipaz C sistemi aracılığı ile Ca mobilizasyonu ile gerçekleşmektedir (42). Nöropeptid Y içeren nöronlarda, GHS-R1a reseptörünün aktivasyonu Gs-cAMP-protein kinaz A (PKA) sinyal yolu ile Ca mobilizasyonuna neden olmaktadır. Ghrelinle uyarılmış cAMP-PKA ghrelinin GSH-R1a dışındaki reseptörelere bağlanması sonucuyla da oluşabilir. GSH-R1a aktivasyonu aynı zamanda 5'-AMP-aktif protein kinaz (AMPK) aktivitesini fare hipotalamusunda arttırarak, fare karaciğerinde ise azaltarak düzenler (26, 45). AMPK'nın ghrelinin glukojenik, lipojenik ve oreksijenik etkileriyle ilişkisinin olması muhtemeldir. Buna ek olarak ghrelin adrenal hücrelerde, preadipositlerde, osteoblastlarda, hepatomada ve pankreatik adenokarsinom hücrelerinde mitojen aktive protein kinaz kaskadını aktive ederek proliferasyonu uyarır (26).

İn vitro olarak GHS-R1a reseptörünün maksimal kapasitesinin %50'sinin aktif olduğu gösterilmiştir (26). Ghrelin reseptörlerinin temel aktivitelerinde kayba neden olan mutasyonları gösterilmiş, fakat bu durumun reseptörün ghreline olan afinitesinde, güç ve etkilerinde azalmaya neden olmadığı gözlenmiştir. Bu ghrelin reseptörlerindeki sinyal sisteminde meydana gelen kayıplar özellikle puberte sırasında obesite ve boy kısalığı ile karakterize olan sendroma neden olabilmektedir (46, 47).

#### **4.7.3. Ghrelinin biyokimyasal ve fizyolojik etkileri.**

Ghrelinin büyüme hormonu (GH), adenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilediği bilinmektedir (22).

#### **4.7.3.1 Ghrelinin büyüme hormonu üzerine etkileri.**

Ghrelini GH üzerine olan etkileri ilk keşfedilen etkilerindedir. GH salınımı iki farklı yoldan gerçekleşmektedir. Birincisinde büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) hipofiz içine büyüme hormonu salgılatıcı hormon reseptörü (GHRH-R) aracılığı ile girer ve intraselüler cAMP seviyesini yükselterek GH salınımını uyarır. İkincisinde ise büyüme hormonu salgılatıcı (GHS) ya da ghrelinin hipofiz mebranda bulunan büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R) vasıtası ile hipofiz içine girmesi ve fosfolipaz C aktivasyonu sonucu intraselüler Ca iyonu derişimini yükseltmesiyle GH salınımı uyarılır.

Ghrelini büyüme hormonu salınımını hem in vitro hem de in vivo şartlarda doz bağımlı olarak arttırmaktadır (48). İnsan ve köpeklerde ghrelinin intravenöz verilmesinin büyüme hormonu salınımını uyardığı gösterilmiştir (11). Ghrelin, büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) salınımını artırırken somatostatin salınımını azaltmaktadır. Ghrelin memelilerin dışındaki canlılarda da büyüme hormonu salınımını arttırmaktadır (27). Ghrelin ve GHRH'ın birlikte verilmesi sinerjik olarak, tek tek verilmesine nazaran büyüme hormonu salınımını daha fazla arttırmaktadır. Ghrelinin büyüme hormonu salgılatıcı özelliği ile vagus siniri arasında bir ilişki bulunmaktadır. Vagus siniri kesildiğinde ghrelin verilmesine rağmen büyüme hormonu salınımının aşırı derecede düşmekte olduğu gösterilmiştir (49).

Büyüme hormonunun anabolizan etkisi ile makrofajları uyararak anastomoz iyileşmesini hızlandırdığı ve anastomozdaki kollojen birikimini artırarak anastomoz kuvvetini arttırdığı gösterilmiştir (50).

#### **4.7.3.2 Ghrelinin HDL üzerine etkisi.**

Ghrelini kanda HDL'ye bağlanmaktadır. HDL'ye aynı zamanda bir kan esterazı olan paraoksanaz da bağlanır. Ghrelinin üçüncü aminoasidi olan serine sekiz karbonlu bir yağ asidi bağlanmıştır. Paraoksanaz bu yağ asidinin açıl bağlarını des-açılasyonla kırarak ghrelini inaktif forma getirmektedir (22, 27).

#### **4.7.3.3 Ghrelinin ısı üzerine etkisi.**

Santral ya da periferel yolla uygulanan ghrelin doza bağımlı olarak ısı artışına neden olmakta, uygulama şekline göre ısı artışında farklılık oluşturmaktadır. Ghrelin intraperitoneal (İP) yoldan verilmesi halinde ısı artışı 5–20 dakika arasında olurken intraserebroventriküler (İCV) olarak verilmesi halinde ise 10–60 dakika arasında gerçekleşmektedir. Bu ısı değişiminin mekanizmasının açıklanamamasına rağmen ghrelinin enerji harcanmasında rolü olduğu kabul edilmektedir (27).

#### **4.7.3.4 Ghrelinin iştah üzerine etkisi.**

İştah sinir sisteminin kontrolüne ek olarak hormonal yolla da kontrol edilmektedir. Yemek yeme esnasında kolesistokinin ve obestatin salgılanarak doygunluk hissi vermektedir (22, 51). Beslenmeyle mide ve diğer dokulardan ghrelin salınımı artar; tükürük ve kanda ghrelin yoğunluğu %70–80 oranında yükselir (D3, 11, 22, 30). Ghrelin yemek yemeyi başlatırken, obestatin iştahı baskılamakta, kolesistokinin ise yemek yemeyi sonlandırmaktadır (22).

Ghrelinin iştah üzerine üç yolla etki ettiği düşünülmektedir. Birinci yol; mideden sentez edilen ghrelin kan dolaşımı ile arkuat nükleusa (ARC) ve beynin diğer bölümlerine kan-beyin bariyerini aktif transport ile aşarak ulaşmakta ve iştahı etkilemektedir. İkinci yol; Periferel vagal sinir uçlarını uyaran ghrelin, nükleus solitarius yoluyla GHS-R ekspresyonuna neden olarak hipotalamusu uyarmaktadır (12). Üçüncü yolda ise; hipotalamusta lokal olarak sentezlenen ghrelin direkt olarak ARC'deki Nöropeptid Y/Agouti-Related Peptide (NPY/AGRP) ve diğer hücreleri uyarmaktadır (12).

#### **4.7.3.5 Ghrelinin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri.**

Ghrelin mRNA'sının kalp ve aortada bulunduğu rapor edilmiştir (16, 52). Ghrelin verilen gönüllü insanlarda kalp atım hızının arteryel basınç değişmeden düştüğü bulunmuştur (52). Ratlarda yapılan bir çalışmada ise ghrelinin nükleus traktus solitarius'ye intraserebroventriküler (İCV) enjeksiyonunun kalp hızını ve kan basıncını sempatik aktiviteyi baskılayarak düşürdüğü gösterilmiştir (53). Büyüme hormonu salgılatıcı ve ghrelin verilmesi sol ventrikül atım hacminde yükselmeye neden olmaktadır.

Hipofizektomi yapılan sıçanlarda yapılan bir çalışmada ghrelin uygulaması ile sağlıklı kalp gelişimi tespit edilmiştir. Ek olarak ghrelin arterlerdeki endotelin-1'in damar daraltıcı etkisini ortadan kaldırmaktadır (22).

#### **4.7.3.6 Ghrelinin kemik ve diş dokusuna etkileri.**

Ghrelinin ratlarda osteoblast proliferasyon ve farklılaşmasını uyardığı gösterilmiştir. Dişi sıçanlarda 12 hafta süre ile GHRP-6 veya peptid analogu olan ipamorelin verilmesi sonrası in vivo kemik mineralizasyonunun arttığı dansitometrik ölçümlerle gösterilmiştir. Gastrektomi canlılarda kemik kaybına neden olmaktadır. Bunun nedeninin ghrelinin ana sentez yerinin mide fundus bölgesi olması ve gastrektomi sonrası meydana gelen ghrelin havuzunda eksiklik sonucu kemik doku kaybı ortaya çıkması olarak düşünülmüştür. Dişlerde bulunan ghrelinin diş dokusunun yenilenmesinde ve dişlerin oluşum sürecinde diş gelişimine katkı yaptığı ileri sürülmüştür (22).

#### **4.7.3.7 Ghrelinin leptin üzerine etkileri.**

Hematopoetik sitokinlerin yapısına benzeyen leptin, 4 alfa sarmal yapmakta ve Cys 96-Cys 146 arasında bir disülfid bağı içermektedir. Başlangıçta leptinin sadece beyaz yağ dokusundan sentezlendiği düşünülürken, daha sonraki çalışmalarda leptinin kahverengi yağ dokusu, hipotalamus, pituitar bez, gastrik epitel, iskelet kası ve sinsisyotrofoblast gibi birçok dokudan sentezlendiği gösterilmiştir.

Ghrelin ve leptin, "Ying-Yang" prensibi ile görev yapmaktadır. Hipotalamusta bulunan Y nöronları aracılığı ile ghrelin/leptin derişimleri "feed back" mekanizma ile kontrol edilmekte, vücut ağırlığı da bu yolla kontrol altında tutulmaktadır. Her iki hormonun düzeyleri açlık, tokluk, glukoz ve diyet, insülin, bağırsak hormonları, leptin, parasempatik aktivite, yaş, gebelik, obezite, cinsiyet, polikistik over sendromu, enerji düzeyi, insülin direnci ve diabetes mellitus, GH eksikliği, akromegali, hipo ve hipertiroidizm, neonatal dönem ve bazı nöroendokrin gastrointestinal tümörler gibi faktörlere bağlı olarak ayarlanmaktadır. İntraserebrovasküler olarak leptin uygulandığında, arteriyel basınçta yükselme (54), ghrelin uygulandığında düşme olduğu gözlenmiştir (52, 53).

#### **4.7.3.8 Ghrelinin obestatin üzerine etkileri.**

Zhang ve arkadaşları tarafından 2005 yılında keşfedilen obestatin anorektik bir peptittir. Ghrelin hormonu ile aynı gen tarafından kodlanmakta ve kilo alımını baskılamaktadır. Obestatinin keşfi yeni olmakla beraber insan ve sıçanların mide, ince bağırsak, hipotalamus ve hipofiz gibi dokularında hormonun sentezlendiği gösterilmiştir. Yapılan araştırmalarda obestatin ile ghrelinin birbirleriyle ilişkili hormonlar olduğu bildirilmiştir. Obestatinin etkilerinin ghrelince zıt olduğu, kilo alımını baskıladığı, etkilerini hücrelerde siklik adenozin monofosfat (cAMP) miktarını arttırarak gösterdiği belirtilmiştir (55).

#### **4.7.4 Ghrelinin gastrointestinal sistem üzerine etkileri.**

Ghrelinin gastrointestinal sistemin ekzokrin salgısı, epitel proliferasyonu ve motilitesi de dahil olmak üzere pek çok fonksiyonuna etkisi bulunmaktadır (26).

#### **4.7.5 Ghrelinin otonomik sinir sistemi üzerine etkileri.**

Ghrelin, sempatik aktiviteyi önleyerek ve vazodilatasyona neden olarak kan basıncını düşürmektedir. İntraserebrovasküler (İCV) ghrelin enjeksiyonu, nükleus traktus solitarius yolu ile kan basıncı ve otonom sinir sisteminin düzenlenmesinde görevli vagusun dorsomotor nükleusunda c-fos ekspresyonuna neden olmaktadır. Ghrelinin üçüncü ventriküle 1 nmol enjeksiyonu, kahverengi yağ dokusunda ısı düzenlenmesinde etkili sempatik aktiviteyi azaltmaktadır. Ghrelinin sempatik aktivitedeki kardiyovasküler ve vagal boşalma üzerine durdurucu, gastrointestinal parasempatik aktivite üzerine ise hızlandırıcı etki yaptığı bulunmuştur (22).

#### **4.7.6. Ghrelinin vagus sinirine etkileri.**

Vagus siniri, ghrelinin etkileri açısından oldukça önemli bir sinirdir. Abdominal vagus, afferent dorsal beyin sapının nükleus traktus solitariusunda sonuçlanmaktadır. Bilgi buradan otonomik motor çekirdeğe ve hipotalamus amigdala ve kortekste dahil olmak üzere beyinin çeşitli bölgelerine dağılmaktadır. Vagal efferent nöronlarda ghrelin sentezlendiği ve



afferent uçlara gönderildiği kanıtlanmıştır. Vagal afferentin blokajı halinde periferel ghrelinin indüklediği besleme etkisini kesmekte, nöropeptid Y (NPY) nöronlarının aktivasyonu ile oluşan GH salınımı ise vagotomi ile inhibe edilmektedir (56).

#### **4.7.7 Ghrelinin diğer metabolik etkileri.**

Ghrelinin uygulaması sonrası deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda hipofizden salgılanan adrenokortikotropik hormon (ACTH), prolaktin, folikül stimüle edici hormon (FSH), lüteinize edici hormon (LH), veya tiroid stimüle edici hormon (TSH) üzerine etki yapmazken GH salgısını arttırdığı gösterilmiştir (22).

#### **4.8. GASTROİNTESTİNAL YARA İYİLEŞMESİ.**

Günümüzde gastrointestinal sistem ameliyatları cerrahi ameliyatlar arasında en sık yapılanlardır. Birçok dokuda meydana gelen yaraların iyileşme mekanizmaları farklılıklar göstermesine rağmen, hepsinde ortak olarak bilinen klasik özellikler mevcuttur. Yara iyileşmesi kavramı genellikle, vücudun bozulan bütünlüğünü kollejen yapılmış bir nedbe yardımı ile yeniden sağladığı bir olay olarak kabul edilmektedir. Zedelenme sonrası tüm dokularda hemeostaz ve inflamasyon, proliferasyon, olgunlaşma ve yeniden yapılanma fazları ortak olmasına karşın bazı dokularda yara iyileşmesi, cilt ile tamamen aynı şekilde gerçekleşmemektedir. Gastrointestinal sistem dokuları da bunlardan biridir (57, 58).

Gastrointestinal kanal histolojik olarak mukoza, submukoza, müskülaris propria ve serozadan oluşan ve her biri farklı işlevleri olan hücre tiplerinin oluşturduğu dört tabakadan meydana gelir.

Bağırsaktaki iyileşmede birçok farklılıklar olup bunlar iyileşmenin hızını ve sonucunu etkilemektedir. Normal şartlarda gerilme kuvveti, cilt yaralarına göre bağırsakta çok daha hızlı kazanılmakta, cilt yaralarının aksine bağırsak yaralarında fibroblastlara ek olarak düz kas hücreleri de kollejen sentezlemektedir. Ek olarak bağırsaktaki iyileşmeye mukoza, submukoza ve serozal katmanların katkısı farklıdır. Gastrointestinal kanalda lümenin içerdiği geniş mikroorganizma havuzu, sütür hattının kapatılmasında serozanın etkisi,

hipovolemi durumunda perfüzyonu tercihen azalan özel damarsal beslenme gibi diğer birçok farklı özellikler mevcuttur (58, 59, 60, 61). Sağlam gastrointestinal sistemde gerilim gücünün çoğunu submukoza sağlar ve anastomoz yapılmış bağırsak uçlarını bir araya getiren dikişleri tutabilecek güce sahip asıl katman submukozadır (58, 62, 63).

Barsağa insizyon gerçekleştirildiğinde ilk önce hemostatik bir vazokonstrüksiyon daha sonra kininlerin etkisi ile vasküler geçirgenlik artışı gözlenir (58). Yaralanmayı takip eden 3 saatten sonra bağırsaktaki insizyon bölgesine nötrofil göçü başlayıp 12–24 saatte en üst düzeye ulaşır. İnsizyon alanında 24–48 saat sonra monosit ve fibroblastlar görülür. Bu aşamadan sonra nekrotik dokunun enzimatik yıkımı ve kollojen yıkımı oluşur. Proteinazlar, elastaz, katepsin G ve nötral proteinazlarca kollojen yıkılır. Ek olarak cerrahi travmaya bağlı gelişebilen lokal inflamatuvar reaksiyon kollojen yıkımına yol açabilir. Bu inflamatuvar reaksiyon yedi gün sürer (64, 65). Kollojen sentezi fibroblastlar tarafından 2. günde başlar. Kollojen yapımı postoperatif 3–5. günde kollojen yıkımını geçer. Kollojen sentezinin erken dönemde özel bir segment lokalizasyonu olmadan artışı operasyon travmasına bağlı genel bir reaksiyon olduğunu düşündürmektedir. Takip eden günlerdeki kollojen artışı ise anastomoz iyileşmesinin göstergesidir (64, 66, 67, 68). Fibroblastlar 5. günden sonra anastomoz çevresindeki barsağın submukozasında ve anastomoz onarım dokusunda hakim olan hücre tipidir (69). Dokunun gerilim sürecindeki değişimlere bakıldığında ise; ilk üç gün gerilim azalırken, postoperatif 3–5. günlerde yeniden eski gerilimini kazanır (65). Anastomoz hattında granülasyon dokusunun görülmesi iyileşmenin proliferasyon safhasının başladığının göstergesidir (58).

#### **4.8.1. Gastrointestinal yara iyileşmesinde mukozal evre.**

Bağırsak epiteli değişik hücre topluluklarından oluşur, bunlar; başta kolumnar epitel (enterosit ve kolonositler), goblet hücreleri, daha az oranda entero-endokrin ve Paneth hücreleridir. Barsağın mukozal yüzeyi, hızlı bir döngüye sahiptir. Her 24–96 saatte bir gerçekleşen ince ve kalın bağırsak epitel yüzeyi döngüsü vücudun en hızlı hücre döngüsüdür. Barsağın tek

tabakalı epiteli mikroorganizmalar, antijenler, diyetteki maddeler ve sindirim enzimi karışımlarından oluşan karmaşık dış ortama karşı bariyer görevi görür (70, 71).

Gastrointestinal sistemdeki epitelyal hasarlanmanın üç yolla onarılabildiği gösterilmiştir;

1- Mukozal yeniden yapılandırma: İn vivo ve invitro olarak gösterilmiş olan ve derin mukozal hasarlanmayı önleyen mekanizmada canlı epitelyum hücreleri hasarın komşuluğundaki bölgeden hasarlı bölgeye göç ederek lezyonu örter. Bu mekanizma ile epitel devamlılığı, hücre çoğalması mekanizmasından daha kısa sürede dakikalar ya da saatler içinde tamamlanabilmiş olur (72).

2- Hücre proliferasyonu: Hasarlanmadan 12–16 saat sonra başlayıp birkaç gün içinde tamamlanan bu yolda epitel devamlılığının tekrar yapılandırılmasından sonra hücre proliferasyonu ile kaybedilen hücreler yerine konur (72, 73, 74, 75).

3- Undifferansiye epitel hücrelerinin farklılaşması ve matürasyonu: Mukozal epitelin çeşitli fonksiyonel aktivitelerinin devamı için gerekli olan bir evredir (72).

#### **4.8.2.Gastrointestinal yara iyileşmesinde submukozal ve serozal evre.**

Submukoza barsağın daha çok bağ dokusu ve damarlardan oluşan tabakasıdır. Gastrointestinal kanalda kollojenin en çok bulunduğu ve barsağın yapısal devamlılığının sağlandığı yerdir. Cilt kollojen dağılımından farklı olarak %68 tip 1, %20 tip 3 ve %12 tip 5 kollojen içerir (75). Bağırsak düz kas hücrelerinde tip 5 kollojen reseptörlerinin bulunması bu tabakada yer alan kollojenin muskularis mukoza ve muskularis propriadaki hücreler tarafından salgılandığına işaret eder (76). Sağlam bağırsaktaki gerilim kuvvetinin en önemli kaynağı submukozadır. Ek olarak anastomotik uçları bir araya getirerek sütürlerin tutunduğu en önemli katmandır (58).

Yara iyileşmesi primer olarak kollojen depolanması ile ilişkilidir.

Bağırsak anastomoz iyileşme sürecinde de en önemli faktörü anastomozdaki kollojen miktarı oluşturmaktadır. İyileşme sürecinin ilk günlerinde anastomoz hattında hidroksprolin düzeylerinde %20'ye varan azalma görülür ve buna ek olarak 3–4. günlerde anastomoz gerginliğinde azalma meydana gelir (75, 77). Üç dört gün sonra kollojen sentezi ve depolanmasında belirgin artış başlar. Bu artışın sonucunda anastomoz kuvvetinde artış meydana gelir. Deneysel çalışmalarla intestinal anastomoz modellerinde anastomoz sonrasında 2. günde protein sentezinde artma, tüm segmentlerde kollojen miktarında artış olduğu gösterilmiştir. Postoperatif 4–7. günler arasında ise kollojen birikiminin en fazla anastomoz segmentinde olduğu gözlenmiştir (58, 64).

<b>Lokal Faktörler</b>	<b>Sistemik Faktörler</b>
Kan akımı	Yaş
Hematom	Travma, hipovolemi, hipoksi
Enfeksiyon	Anemi
Denervasyon	Isı
Koruma	Avitaminoz, çinko eksikliği
Mekanik stresler	Diabetes mellitus, hormonal faktörler
İyonizan radyasyon	İlaçlar ( antiinflamatuvar, sitostatik)
Cerrahi teknik	Enfeksiyon, sarılık, malign hastalıklar
Doku tipi	Malnütrasyon, şişmanlık
Sütür materyali ve tekniği	Üremi

**Tablo 1:** Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

### **4.8.3. Gastrointestinal İyileşmeyi Etkileyen Faktörler.**

Kolon anastomozları kollojen yıkım ve sentezini dengeleyen lokal ve sistemik faktörlerden etkilenir (57, 58, 78).

#### **4.8.3.1. Gastrointestinal İyileşmeyi Etkileyen Lokal Faktörler.**

**Kan Akımı:** Fibroblastların bölünebilmesi için oksijen basıncınının 15 mmHg'dan fazla olması gerekmektedir. Arteriyel hastalıklar, hipertansiyon, venöz dönüş bozukluğu gibi kan akımını etkileyen faktörler yara iyileşmesini bozar. Kan akımının yeterli olması hem yara içinde ve çevresinde oluşan metabolitleri uzaklaştırmada hem de oksijen ve diğer maddeleri sağlamada önemlidir. Sütürlerin kendisi de yaranın kanlanmasına olumsuz etki edebilir. Bu sebeple bu durumun oluşmasını engellemek cerrahın bilgi ve tecrübesine bağlıdır (79).

**Hematom:** Sık rastlanılan yara komplikasyonudur. Enfeksiyon kaynağı da olabileceği için önemli bir komplikasyondur. Bakteriyel bulaşma ile ilgisi olmayan toksik bir etki gösterir. Hemofili, trombositopeni ve benzeri kan hastalıkları, hastanın antikoagülan kullanması gibi nedenler hemostaz mekanizmalarını bozabilir. Böyle hastalarda mekanik hemostaza özellikle dikkat edilmelidir (58).

**Enfeksiyon:** Tek başına yara iyileşmesini geciktiren en önemli etkendir. Ölü dokular mikroorganizmaların üremesi için uygun ortam oluşturur. Bunu önlemek için yara debridmanı yapılmalıdır. Enfeksiyon, epitel rejenerasyonu ve fibroblast proliferasyonunu geciktirir. Ek olarak daha fazla

doku yıkımına bağılı olarak granülasyon dokusunda artışa neden olur. Kollojen metabolizmasında bozulmaya neden olur. Polimorfonükleer lökositlerde (PMN) lizozomal enzimlerle lizis artar. Enfekte yarada fibroblastların sayısı azalır. Yara kenarları da bu olaydan etkilenir yumuşar ve mekanik dayanıklılığı azalır (80).

**Denervasyon:** Deneysel denerasyonlar ile spontan ülserlerin oluştuğı gösterilmiştir. Minimum bir basınç ve iskemi büyük dekübitus ülseri yapabilir. Kollojenaz aktivitesinin arttığı ve kollojenaz inhibitörlerinin azaldığı durumlarda iskemi varlığı olayı hızlandırır (58).

**Mekanik Stresler:** Hareket, yaranın devamlı travmaya maruz kalarak geriliminin artmasına yol açar. Ek olarak adrenal bez aracılığıyla da yara iyileşmesini geciktirir. İntraabdominal basınç artışına yol açan öksürük ve distansiyon gibi nedenler yara iyileşmesini olumsuz etkileyerek yarada ayrışmaya neden olur (81).

**İyonizan radyasyon:** Hücre proliferasyonunu önleyerek ve hücre ölümlerine yol açarak yara iyileşmesini geciktirici etkileri vardır. Stabil olmayan granülasyon dokusu ve obliteratif vasküler değişikliklere yol açar. Bu nedenle yaranın ışınlanması gereken durumlarda postoperatif 2. haftadan sonra yapılması daha uygundur (82).

**Cerrahi teknikleri ve sütün materyali:** Yara iyileşmesinde cerrahi tekniğin etkileri vardır. Lümen içine doğru katlanmaya yol açan seroza-seroza sütünü (inversiyon tekniğı), lümen dışına katlanmaya yol açan mukoza-mukoza (eversiyon tekniğine) sütününden daha fazla lümen daralmasına yol açar. Ek olarak eversiyon tekniğinde daha az ödem oluşmaktadır. Bununla beraber her iki anastomoz yönteminde de mikroskopik iyileşme süreci aynıdır. Histopatolojik olarak kollojen oluşumunda farklılık olmaması, oluşan kuvvet farklarının anastomoz bölgesindeki ödeme bağılı olabileceğini düşündürmektedir (83, 84). Dikiş materyali cerrahi tekniğin en önemli öğelerindendir. En az reaksiyona neden olan materyal en ideal olandır. Bununla beraber bütün sütün materyalleri anastomoz hattında yabancı cisim gibi davranarak az veya çok inflamatuvar cevaba neden olurlar.

Bu materyallerden prolen ve krome katgüt en az, ipek ise en fazla inflamatuvar reaksiyon oluşturur. Bu reaksiyonu en aza indirmek için yapılan çalışmalar stapler aletlerinin geliştirilmesi ve yaygın kullanımına neden olmuştur. Stapler kullanılan anastomozların daha az ödem oluşturduğu ve daha yüksek kopma kuvveti gerektiği gösterilmiştir (87, 88, 89).

**Doku tipi:** Karaciğer, pankreas, tiroid gibi bazı dokularda rejenerasyon çok iyidir. Özelleşmiş dokularda rejenerasyon kabiliyeti daha düşüktür. Örneğin merkezi sinir sistemi ve çizgili kaslar. Bununla birlikte deri, solunum ve sindirim sistemi epitel hayat boyu rejenerasyon kabiliyetini sürdürür. Hasara uğrayan doku miktarı da önemlidir. Hasar büyüdükçe rejenerasyon o kadar uzun süreli olur (85, 86).

#### **4.8.3.2. Gastrointestinal İyileşmeyi Etkileyen Sistemik Faktörler.**

**Yaş:** Çocuklarda yara iyileşmesi yaşlılara nazaran daha hızlı ve iyi olmaktadır. Yaşla beraber epitelizasyon ve yara olgunlaşması gecikmekte, gerilme kuvveti düşmektedir (58, 90).

**Isı:** Aşırı sıcak ve soğukun doku hasarı ve vasküler tromboza neden olabileceğinden iyileşme üzerine olumsuz etkileri vardır. Çevre ısı 20 dereceden 12 dereceye düşürülürse yara gerilme direncinde %20 kayıp gözlenir. Kış uykusuna yatan hayvanlarda (5 derece) granülasyon dokusu oluşumu ve epitelizasyon tamamen durur (91).

**Diabetes mellitus:** Diyabetli hastalarda görülen ateroskleroz, nöropati ve bunların sonucunda enfeksiyona yatkınlık yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Diyabetli hastalarda yara iyileşmesinde kollojen birikimi azalır, erken kapiller büyüme bozulur. İnsülin tedavisi erken dönemde inflamatuvar cevabı etkileyerek yara iyileşmesine olumlu etki yapar (92).

**İlaçlar (antienflamatuvar, sitostatik):** Yüksek doz kortikosteroid yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Steroidler retikuloendotelial sistemi ve fagositozu etkileyerek immün cevabı bozarlar. Epitel rejenerasyonu ve fibroblast proliferasyonu üzerine olumsuz etkileri mevcuttur. Erken dönemde uygulanması ile enflamasyonu baskılar. Diğer yandan lizozomal membranları stabilize ederek doku yıkımını önler (58, 93, 94). Sitotoksik ilaçlar

makromolekül sentezini bozar ve çoğalan hücrelerde çoğalmayı durdurucu veya hücre öldürücü etkileri ile yara iyileşmesini azaltıcı etkileri vardır (95, 96, 97).

**Obezite:** Cilt altı yağ tabakasının fazla olması, ölü boşluğun kapatılması ve hemostaz zorluğuna yol açarak enfeksiyon riskini artırır. Operasyonda teknik zorluk ve insizyonel herni riski artar (98). Ek olarak anemi, travma, hipovolemi, hipoksi de yara iyileşmesini olumsuz etkiler. Anemik hastalarda yara enfeksiyonu ve yara ayrışma insidansı artar (58, 79).

#### **4.9. GASTROİNTESTİNAL ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİ DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ.**

Mekanik, biyokimyasal ve histolojik parametrelerle incelenebilir

##### **4.9.1 Mekanik İnceleme yöntemleri.**

**Anastomoz patlama basıncı:** İntraluminal basınca karşı duvar direncini gösteren bir parametredir. İlk kullanımı 90 yıl önce Clumsky'e dayanmaktadır. Basınçlar manometri aracılığı ile kaydedilmektedir. İntraluminal basıncın uygun hızda artırılması (2–12 ml H<sub>2</sub>O/dk) ile daha güvenilir sonuçlar elde edilmiştir. Bu parametre kullanılarak yapılan çalışmalar incelendiğinde basınç değerlerinin aynı olmadığı, çalışmalar arası kıyaslama yapmanın doğru olmayacağı sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışmalardaki patlama basınçları ancak aynı çalışmanın kontrol grubu ile kıyaslamada güvenilir olduğu kabul edilmiştir (99, 100).

**Ayrılma (Kopma) Kuvveti:** Uzun eksenine paralel olarak çıkartılan bağırsak şeridinin iki ucundan uygulanan ve kopmaya yol açan kuvvettir. Tensimeter (gerilimölçer) adı verilen cihaz ile ölçülür. Postoperatif 4. günden itibaren başlayan yeni kollojen sentezi ile paralellik gösterir. 10 gün sonra opere edilmemiş kolonun %50 direncine sahip olur. Patlama basıncına nazaran daha yavaş kazanıldığı için yara iyileşmesinin geç belirtecidir. Bu yöntem uygulanan kuvvetin eşit dağılımının olmadığı gerekçesi ile birçok araştırmacı tarafından eleştirilmekte ve güvenilir kabul edilmemektedir (100).



#### **4.9.2. Biyokimyasal Yöntemler.**

Gastrointestinal sistemde anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal parametresi kollojen konsantrasyonudur. Kollojen submukozal dokuda oluşarak bağırsak devamlılığını ve mekanik kuvvetin tekrar tahsisini sağlar.

Hidroksiprolin omurgalıların dokularında hemen hemen yalnızca kollojende (kollojende %14, elastinde %2) bulunur. Hidroksiprolin dağılımının tek tip olması bu aminoasidi kollojen metabolizma çalışmalarında belirteç yapar (101).

Hidroksiprolin düzeyleri birim yaş dokuda ağırlık olarak (mikrogram/miligram yaş doku) verilmektedir. Bu parametre diğer nonkollojenöz matriks materyallerini de içermekte ama bu ihmal edilebilir bir değer olmaktadır (99, 100).

#### **4.9.3. Histopatolojik Değerlendirme.**

İnflamatuar göç, nekrozun derecesi, kapiller ve mukozal onarımın durumu semikantitatif olarak belirlenebilir ve çeşitli skorlamalarla anastomoz iyileşmesinin belirteci olarak kullanılabilir (102).

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Laboratuvarlarında, Üniversite Yerel Hayvan Etik Kurulu onayı alınarak yapıldı. Çalışmada 30 adet, ağırlığı 200–250 gr arasında değişen, erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar deney süresince kafeslerde, şehir suyu ve standart ticari sıçan yemi ile beslendi. Denekler randomize olarak her grupta 10 sıçan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı.

**Grup 1 (Sham):** Yalnızca laparotomi yapıldı. Rezeksiyon anastomoz yapılmadı. Yedinci gün diğer sıçanlarla sakrifiye edildiler (n=10).

**Grup 2 (Kontrol):** Kolon anastomozu ardından 7 gün boyunca intraperitoneal 1 cc SF verildi. Yedinci gün sakrifiye edildi (n=10).

**Grup 3 (Ghrelin +anastomoz):** Kolon anastomozu ardından 7 gün boyunca 1cc SF içerisinde 10ng/kg/gün Ghrelin (Ghrelin rat Sigma-Aldrich) intraperitoneal yolla verildi. Yedinci gün sakrifiye edildi (n=10).

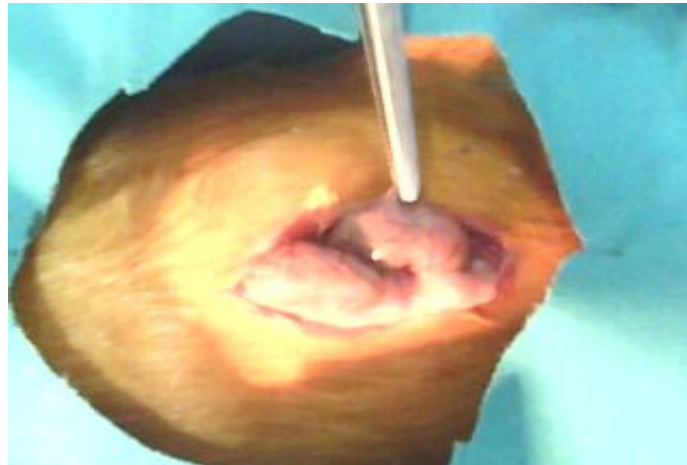
### **Cerrahi Yöntem:**

Denekler cerrahi işlemden önce 12 saat aç bırakıldı ancak su alımı kısıtlanmadı. Anestezi 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 8 mg/kg xylazin (Rompun, Bayer Ag, Leverkusen, Germany) karışımı ile intraperitoneal enjeksiyon yolu ile uygulandı.



**Şekil 2:** İnsizyon yapılan sahanın temizliği ve orta hat vertikal insizyon

İnsizyon yapılacak saha önce traş edildi sonra polyod (%10 polivinilprolidon iyot kompleksi) ile temizlendi. Uygun steril koşullarda 3 cm. orta hat vertikal insizyon yapıldı (Şekil 2). Cilt, faysalar ve periton keskin disseksiyonla açıldı ve karına girildi.



**Şekil 3:** Peritoneal refleksiyonun üzerinden kolonun bulunması

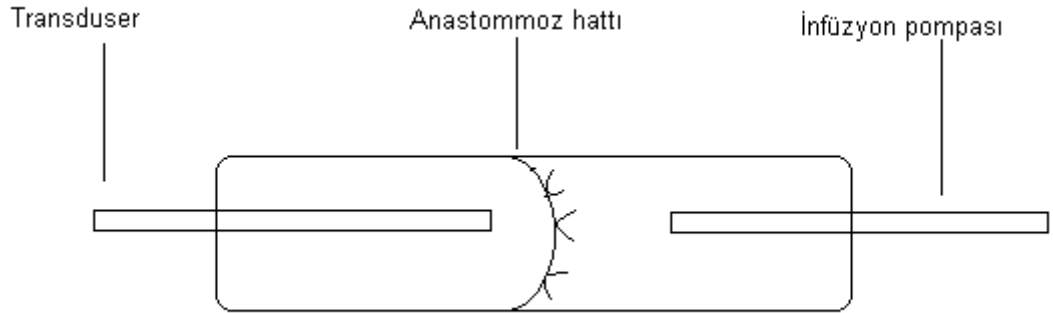
Peritoneal refleksiyonun yaklaşık 4cm proksimalindeki kolon

segmentine mezosu zarar görmeyecek şekilde tam kat transeksiyon uygulandı (Şekil 3).

Daha sonra 6/0 prolenle tek tabaka uç uca anastomoz yapıldı. Tüm anastomozlar tek cerrah tarafından yapıldı ve her anastomoza 6–8 adet sütür konuldu. Fasya 3/0 ipek, cilt 3/0 ipek sütürle kaptıldı. Operasyon sonrası denekler 6. saatten itibaren standart laboratuvar yemi ve su ile beslendiler.

### 5.1. Patlama basıncı ölçümü.

Anastomoz sonrası 7. günde ratlar uyutulup ardından servikal translokasyon ile sakrifiye edildiler. Laparotomi yapıp anastomoz yapılan segment bulundu ve anastomoz bütünlüğü korunarak keskin disseksiyonla etraf dokulardan serbestleştirildi. Anastomoz hattının proksimal ve distal 3 cm'lik kısımlarında kolon segmentleri çıkarıldı. Bir 6 french kalınlığında feding tüp (Suru international PVT. LTD bebek beslenme tüpü) yerleştirildi. Kateterler kolon üzerinden 2/0 ipekle, etrafından sıvı sızdırmayacak şekilde tespit edildi. Bu sayede ortasında anastomoz hattının olduğu yaklaşık 6 cm'lik lüminal segment elde edilmiş oldu (Şekil 4–5)



Şekil 4: Patlama basıncı ölçüm düzeneği

Segmentin bir ucundaki kateter vasıtasıyla 2cc/h sabit hızda SF verilirken (Şekil 6) diğer uca yerleştirilen kateterle monitör arasında bir transduser ve basınç kablosu (Harvard Rodent ventilator model 683) ile intraluminal basınç elektronik olarak monitörize edildi. Veriler Data akustik

sitem, ACQ Knowledge version 3.7.2 programı kullanılarak bilgisayara (E machines) kayıt edildi.



**Şekil 5:** İntralüminal basınç ölçülmesi



**Şekil 6:** İntralüminal infüzyon pompası

Anastomoz hattındaki sıvı kaçağının gözleendiği andaki ani basınç azalması öncesi monitörde görülen en yüksek değer patlama basıncı olarak kabul edildi.

Patlama basıncı tespitinden sonra kolon segmentleri uzun eksenleri boyunca (anastomoza dik olarak ) ikiye ayrıldı. Örnekler hidroksprolin düzeyi saptanması ve histopatolojik inceleme için ayrıldı.

### **5.2. Hidroksprolin Düzeyi Ölçümü.**

Doku örneklerinde hidroksprolin düzeyi Gazi Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarı'nda Jamall tarafından geliştirilen metotla çalışıldı. 100 mg doku üzerine 1 ml distile su 1ml 12 N HCl eklenerek asit digesyonu yapıldı (etüvde, yaklaşık 48 saatte) Numuneden 25 µl alındı ve liyofilize edildi, daha sonra 0,6 ml %50 izopropil alkol konularak vortexlendi ve tekrar 0,6 ml %50 izopropil alkol konularak iyice çözüldü. Üzerlerine 0,2 ml kloramin-T eklendi ve 10 dakika beklendi. 1ml Erlich reaktifi eklenerek vortexlendi. 90 dakika 50 °C su banyosunda bekletildi ve 560 nm dalga boyunda suya karşı okutuldu. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan hidroksprolin değerlerine göre hesaplandı (109).

### **5.3. Histopatolojik Çalışma.**

Doku örneklerinin histopatolojik incelemesi Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında kör yöntemle, tek bir patolog tarafından yapıldı. Tüm barsak doku örnekleri %10'luk tamponlanmış formolin solüsyonunda fikse edildi. Anastomoz hattı çevresindeki alanlardan alınan doku örnekleri parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4 mikronluk kesitler hazırlandı. Bu kesitler hemotoksilen- eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Histolojik kesitler inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fibroblast yoğunluğu, kollojen yoğunluğu, neovaskülarizasyon açısından değerlendirildi. Yara iyileşmesi şiddeti semikantitatif yöntem ile skorlandı.

Total Skor= (Fibroblast yoğunluğu skoru + kollojen miktarı skoru+ neovaskülarizasyon) - inflamatuvar hücre infiltrasyonu formülü ile her denek için histopatolojik inceleme skoru ayrı ayrı hesaplandı. İnflamatuvar hücre

infiltrasyonunun yara iyileşmesi için olumsuz bir etken olmasından dolayı bu şekilde bir formül kullanıldı.

Skor	İnflamatuvar hücre	Fibroblast	Kollojen	Neovaskülarizasyon
Yok	0	0	0	0
Az	1	1	1	1
Orta düzeyde	2	2	2	2
Çok	3	3	3	3
Çok fazla	4	4	4	4

**Tablo 2.** Yara iyileşmesi histopatolojik semikantitatif skora

### **İstatistiksel ölçümler.**

İstatistiksel ölçümler SPSS Windows versiyon 15.0 programı kullanılarak yapıldı. Bütün veriler ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak değerlendirildi. Verilerimiz nicel veriler olduğundan tümü Shapiro Wilk normallik testi ile test edildi. Tüm değişkenlerin normal dağılım gösterdiği saptandı ( $p < 0,05$ ).

Grup 2 ve Grup 3'ün patlama basınçları unpaired t-testi ile karşılaştırıldı. Grup 2 ve Grup 3'ün histopatolojik skorları ANOVA ile test edildi. İkili karşılaştırmalar independent samples test kullanılarak karşılaştırıldı.

Grup 1, 2, 3'ün hidrokspirolin değerleri ANOVA testi kullanılarak karşılaştırıldı. İkili karşılaştırmaları için ise one way ANOVA ya ek olarak posthoc least significant difference (LSD) testi uygulandı.

$p < 0,05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 6. BULGULAR.

Bu çalışmada deneysel kolon anastomoz modelinde ghrelinin kolonik anastomoz iyileşmesi üzerinde bir etkisinin olup olmadığı incelendi. Anastomoz yapılan Grup 2 ve Grup 3 de anastomoz patlama basıncı, doku hidroksiprolin kontenti ve histopatolojik değerlendirme yapıldı. Yalnızca laparotomi yapılan Grup 1 de ise sadece hidroksiprolin düzeyleri ölçüldü.

Kolon anastomozu yapılan Grup 2 ve 3'de, postoperatif 7. günde denekler sakrifiye edilip laparotomi yapıldığında, kontrol grubundaki deneklerden 4 tanesinde anastomoz hattının omentum tarafından sarıldığı izlendi. Bu deneklerin anastomoz hattı bir bütün halinde eksize edildi. Yapışıklıklar ayrılmadı fakat patlama basınçları çok düşük bulundu. Patlama basıncı ölçümü sonrası anastomoz hattı disseke edildiğinde bu deneklerde omentum tarafından kontrol altına alınmış anastomoz açılmalarının olduğu izlendi.

Ghreltin grubunda laparotomi yapıldığında karın içinde herhangi bir anormal durum izlenmedi. Anastomozların makroskopik görünümü normaldi. Çevreye yapışıklık yoktu.

### 6.1. Anastomoz Patlama basınçları.

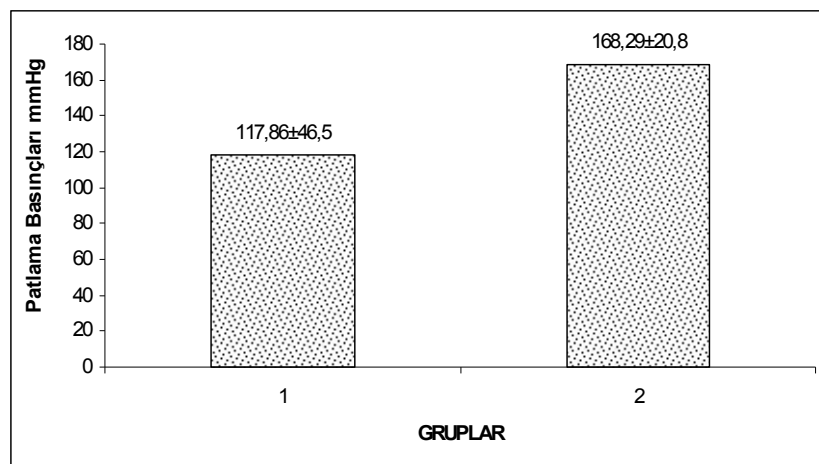
Anastomoz yapılan Grup 2 ve Grup 3'ün operasyon sonrası 7. günde ölçülen patlama basınçları Tablo 3'de gösterilmiştir. Grup 2'nin patlama basınçlarının ortalaması  $117,8 \pm 46,5$  olarak, Grup 3'ün patlama basınçlarının ortalaması  $168,3 \pm 20,8$  olarak hesaplandı. Grup 2 ve Grup 3'ün patlama



basınçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

Ratlar	Kontrol Grubu (Grup 2)	Ghrelin Grubu (Grup 3)
1	153.1	156.6
2	39.8	174.2
3	79.4	185.0
4	72.4	137.2
5	140.9	146.3
6	152.4	195.1
7	164.8	171.1
8	120.7	168.2
9	175.0	199.0
0 1	80.1	150.2
Ortalama değer±SD	117,8±46,5	168,3±20,8

**Tablo 3:** Anastomoz Patlama Basınçları (mmHg)



**Grafik 1:** Ortalama Anastomoz Patlama Basınçları (mmHg, ±Standart sapma)

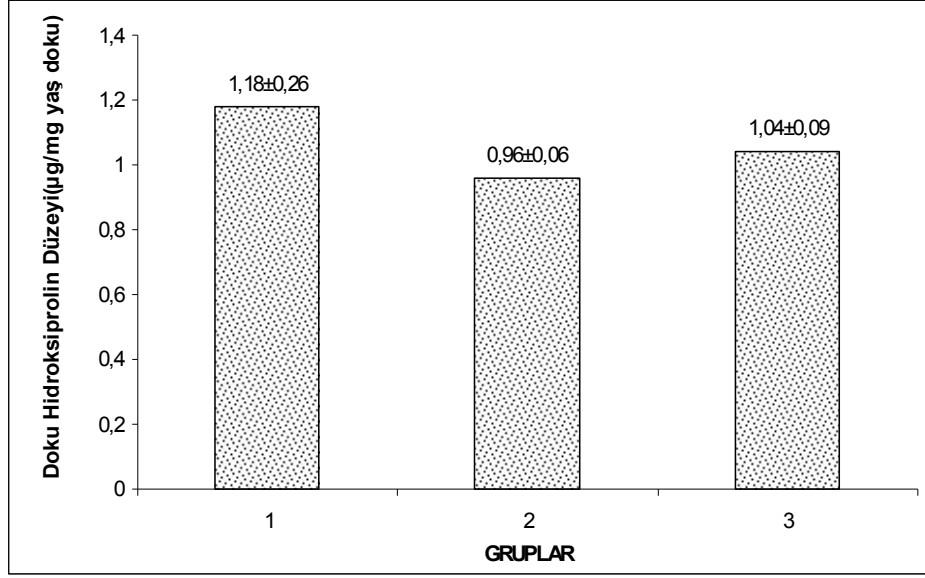
## 6.2. Doku Hidroksiprolin düzeyleri.

Grup 1, 2 ve 3'de operasyon sonrası 7. günde ölçülen doku hidroksiprolin düzeyleri Tablo 4'de gösterilmiştir.

Sham Grubu (Grup 1)	Kontrol Grubu (Grup 2)	Ghreltin Grubu (Grup 3)
0,99	1,03	1,17
1,15	0,9	1,06
0,91	0,98	0,99
1,10	1,04	0,93
1,17	0,93	0,97
1,10	0,81	1,18
0,96	1,00	1,09
1,18	0,97	1,07
1,17	0,99	1,03
1,12	0,97	0,91

**Tablo 4:** Doku hidroksiprolin düzeyleri ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  yaş doku)

Her 3 grupta doku Hidroksiprolin düzeyi ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  yaş doku) Grup 1'de hidroksiprolin düzeylerinin ortalaması  $1,18\pm 0,26$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  yaş doku, Grup 2 de  $0,96\pm 0,06$ , Grup 3'de  $1,04\pm 0,09$  olarak hesaplandı. Hidroksiprolin düzeyleri açısından Sham (Grup 1), kontrol (Grup 2) ve ghreltin grupları (Grup 3) ANOVA testi yapılarak karşılaştırıldı ve genel olarak sonuçlar arasındaki fark anlamlı bulundu. İkili karşılaştırmada ANOVA ya ek olarak LSD yapıldı ve Grup 1 ile Grup 2; Grup 1 ile Grup 3 arasında HP düzeylerinin anlamlı olarak farklı olduğu hesaplandı. Grup 2 ve Grup 3 arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamsız bulundu.



**Grafik 2:** Ortalama doku hidroksiprolin düzeyleri (µg/mg yaş doku)

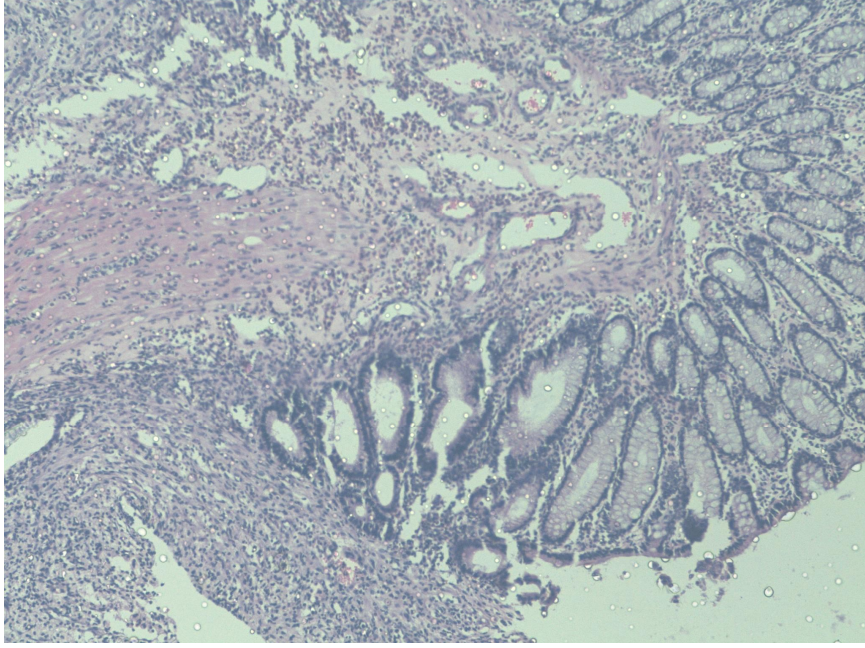
### 6.3. Histopatolojik İnceleme Skorları.

Operasyon sonrası 7. gündeki histopatolojik inceleme skorları Tablo 5'de gösterilmiştir.

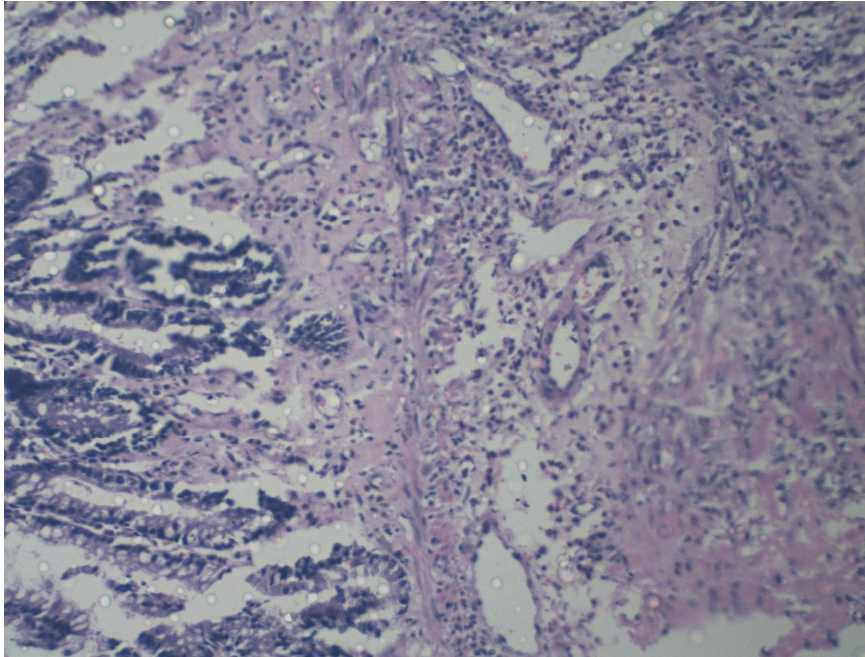
(Kontrol Grubu)	İnflamatuvar hücre	Fibroblast	Vasküler büyüme	Kollagen	Toplam
1	-2	1	1	1	2
2	-3	1	1	1	0
3	-3	3	2	2	4
4	-2	2	2	1	3
5	-1	1	0	1	1
6	-2	2	2	2	4
7	-2	2	2	2	4
8	-2	1	1	2	2
9	-2	0	1	1	0
10	-2	3	3	2	6
(Ghrelin Grubu)					
1	-2	2	1	1	2
2	-1	1	1	1	2
3	-1	2	2	1	4
4	-1	3	2	3	7
5	-1	2	2	3	6
6	-1	3	2	1	5
7	-1	1	3	1	4
8	-1	3	1	1	4
9	-1	1	1	0	1
10	-2	1	2	1	2

Tablo 5. Histopatolojik inceleme skorları

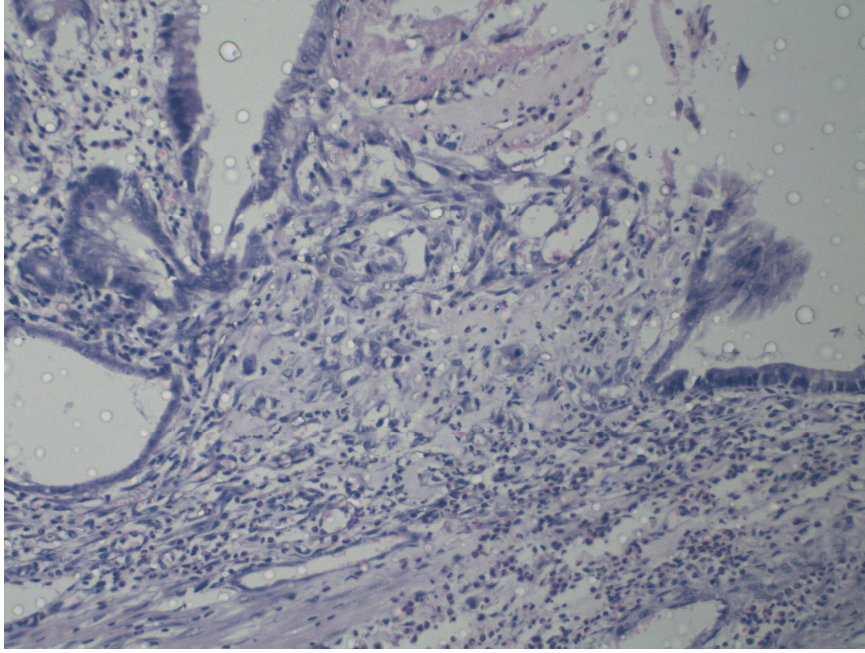
Hematoksilen-eozin boyaması ile yapılan değerlendirmede inflamatuvar hücre yoğunluğu (Resim 5), kollojen, inflamatuvar hücre yoğunluğu (Resim 6), kollojen yoğunluğu (Resim 7) ve neovaskülarizasyon (Resim 8) değerlendirildi.



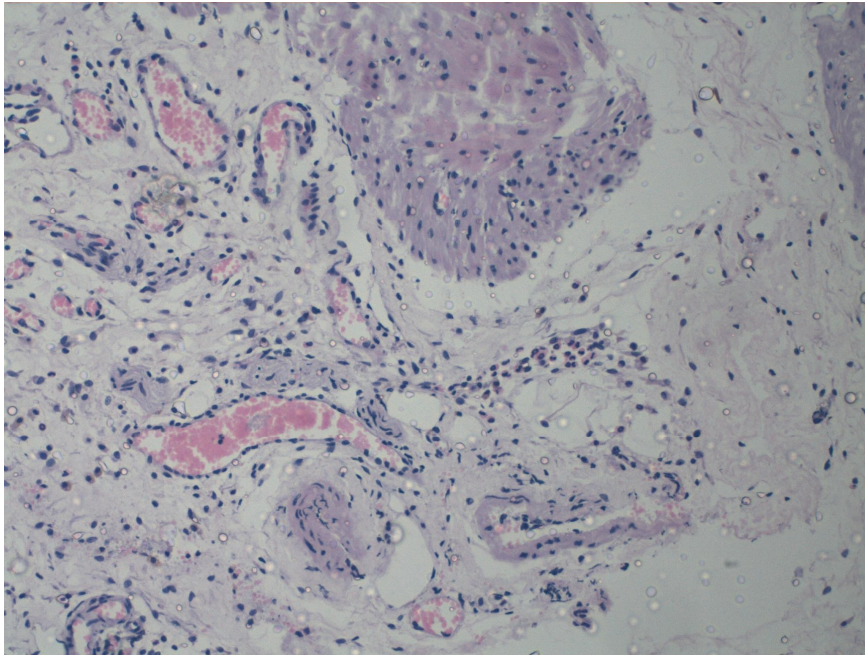
**Şekil 7:** IŞık mikroskopisinde (x20) Hematoksilen-eosin boyası ile boyanan örnekte grade 3 inflamatuvar hücre yoğunluğu izleniyor.



**Şekil 8:** IŞık mikroskopisinde (x20) Hematoksilen-eosin boyası ile boyanan örnekte grade 3 kollojen ve inflamatuvar hücre yoğunluğu izleniyor.



**Şekil 9:** Işık mikroskopisinde (x20) Hematoksilen-eosin boyası ile boyanan örnekte grade 3 kollojen yoğunluğu izleniyor.



**Şekil 10:** Işık mikroskopisinde (x20) Hematoksilen-eosin boyası ile boyanan örnekte grade 3 neovaskülarizasyon izleniyor.

Histopatolojik olarak anastomoz hattında inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fibroblast yoğunluğu, kollojen miktarı ve neovaskülarizasyon skorları tek tek ve ayrıca hesaplanan total skorlar açısından gruplar karşılaştırıldığında total skor, fibroblast yoğunluğu, kollojen miktarı ve neovaskülarizasyon açısından Grup 2 ve Grup 3 arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu skorları karşılaştırıldığında ise Grup 2 ve Grup 3'ün skorları arasındaki farkın anlamlı olduğu saptandı ( $p<0.05$ ).

## 7. TARTIŞMA.

Gastrointestinal sistem anastomozları cerrahi kliniklerinde en sık yapılan anastomozlar arasındadır. Klinikte gerek benign gerekse de malign abdominal hastalıklarda kolon anastomozu, yapılması gereken bir prosedürdür. Anastomoz kaçakları, kolon anastomozu sonrası mortalite, morbidite ve hastanede kalış süresini tayin eden temel nedendir (103, 104). Gastrointestinal sistemde anastomoz kaçağı olmasına en uygun bölüm, kolon olup distal kolona gidildikçe risk artar (103, 105). Gerek arteryel beslenmesinde gerek arterler arası kollateral bağlantılarının azlığı, gerekse içerdiği zengin bakteri florası cerrahi müdahaleler sonrasında kaçak oluşmasını kolaylaştırmaktadır (106, 107, 108). Kolon cerrahisinde, ameliyat öncesi hazırlık, sütür tekniği, sütür materyallerindeki gelişmeler ve ameliyat sonrası bakım ile ilgili gelişmeler morbiditeyi %9, mortaliteyi de %3–5 düzeyine indirmeyi başarmıştır (100). Kolonik anastomozların iyileşmesini olumlu veya olumsuz yönde etkileyen etmenlerin araştırılması konusu cerrahi araştırmacıların çok ilgilendiği konulardan birisidir. Bu çalışma ghrelinin kolonik anastomoz iyileşmesi üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamıştır.

Ghrelinin ilk kez 1999 yılında Japon bilim adamları Kojima ve arkadaşları tarafından farelerin midesinde tanımlanmıştır (8). Ghrelin mide oksintik mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip ghrelin hücreleri (X/A) hücreleri tarafından üretilmekte (9, 10). Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, ince bağırsak, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer,



plasenta, gonadlar, immun sistem (11, 12), meme (13, 14) ve dişlerde sentezlenmektedir (15).

Keşfinin ilk yıllarında vücutta büyüme hormonu salınımını arttırıcı bir hormon olduğu düşünülmüşse de, son yıllarda iştah ve vücut ağırlığının düzenlenmesi üzerine olan etkileri dikkat çekmektedir (7). Ghrelinin büyüme hormonu (GH), adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilediği bilinmektedir (22). Growth hormon salgılatıcı özelliğine ek olarak ghrelinin periferik ve santral GHSR dağılımını yansıtacak şekilde endokrin ve nonendokrin görevleri vardır. Eksojen ghrelin verilmesi prolaktin, ACTH, kortizol salınımını uyarır. Bu hormonlar da hiperglisemi oluşumunu indükler, insülin seviyelerinde azalmaya neden olur, hem insanlarda hem de kemirgenlerde oroksijenik etkiler oluşturur (116).

Yara iyileşmesi mekanizmaları birçok dokuda farklılıklar göstermesine rağmen, hepsinde ortak olarak bilinen klasik özellikler mevcuttur. Yara iyileşmesi kavramı genellikle, vücudun bozulan bütünlüğünü kollojenden yapılmış bir nedbe yardımı ile yeniden sağladığı bir olay olarak kabul edilmektedir. Zedelenme sonrası tüm dokularda hemostaz ve inflamasyon, proliferasyon, olgunlaşma ve yeniden yapılanma fazları ortak olmasına karşın bazı dokularda yara iyileşmesi, cilt ile tamamen aynı şekilde gerçekleşmemektedir. Gastrointestinal sistem dokuları da bunlardan biridir (57, 58).

Barsağa insizyon gerçekleştirildiğinde ilk önce hemostatik bir vazokonstrüksiyon daha sonra kininlerin etkisi ile vasküler geçirgenlik artışı gözlenir (58). Yaralanmayı takip eden 3 saatten sonra bağırsaktaki insizyon bölgesine nötrofil göçü başlayıp 12–24 saatte en üst düzeye ulaşır. İnsizyon alanında 24–48 saat sonra monosit ve fibroblastlar görülür. Bu aşamadan sonra nekrotik dokunun enzimatik yıkımı ve kollojen yıkımı oluşur. Proteinazlar, elastaz, katepsin G ve nötral proteinazlarca kollojen yıkılır. Ek olarak cerrahi travmaya bağlı gelişebilen lokal inflamatuvar reaksiyon kollojen yıkımına yol açabilir. Bu inflamatuvar reaksiyon yedi gün sürer (64, 65).

Kollojen sentezi fibroblastlar tarafından 2. günde başlar. Kollojen yapımı postoperatif 3–5. günde kollojen yıkımını geçer. Kollojen sentezinin erken dönemde özel bir segment lokalizasyonu olmadan artışının operasyon travmasına bağlı genel bir reaksiyon olduğunu düşündürmektedir. Takip eden günlerdeki kollojen artışı ise anastomoz iyileşmesinin göstergesidir (64, 66, 67, 68). Fibroblastlar 5. günden sonra anastomoz çevresindeki barsağın submukozasında ve anastomoz onarım dokusunda hakim olan hücre tipidir (69).

İntestinal yara iyileşmesi gerçekleşirken ilk üç gün doku gerilimi azalırken postoperatif 3–5. günlerde barsak yeniden eski gerilimini kazanır (65). Anastomoz hattında granülasyon dokusunun görülmesi iyileşmenin proliferasyon safhasının başladığının göstergesidir (58).

Bu çalışma ghrelinin kolonik anastomoz iyileşmesi üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamıştır. Bu amaçla kolon anastomozu uygulanan deneklerden bir grubuna postoperatif dönemde ghrelin verildi ve verilmeyen deneklerle ghrelin verilen denekler arasında anastomoz iyileşmesi açısından farklılık olup olmadığı değerlendirildi. Bir çalışmada ratlara insan ghrelini verilmiş ve bunun radyasyona bağlı barsak hasarını önlediği gözlenmiştir (119). Biz çalışmamızda rat ghrelini ve insan ghrelini arasında yapısal farklılık olduğu için rat ghrelini kullandık. İnsan ghrelini de kullanılabilirdi ancak türüne uygun olmasını tercih ettik. Ghrelin uygulaması ile ilgili bir sorunla karşılaşmadık. Denekler ilacı iyi tolere etti.

Anastomoz iyileşmesinin mekanik göstergesi olarak deneklerde patlama basıncı, biyokimyasal göstergesi olarak hidroksprolin düzeyi ve histopatolojik gösterge olarak inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fibroblast yoğunluğu, kollojen yoğunluğu ve neovaskülarizasyon incelendi.

Patlama basıncının çalışmalarda kullanımı 90 yıl önce Clumsky'e dayanmaktadır. Yapılan çalışmalarda basınç değerlerinin aynı olmadığı değerlendirme yapılırken çalışmalar arasında kıyaslama yapmak yerine aynı çalışmadaki kontrol grubu ile kıyaslama yapmanın daha güvenilir olduğu kabul edilmiştir (99, 100). Anastomoz sağlamlığını değerlendirmede

kullanılan gerilme direnci kuvvet vektörü longitudinal planda olduğu için lümenli organlarda doğru sonuç vermediği belirtilmektedir (92). Patlama basıncı ile intralümenal basınç ölçüldüğünden canlı sistemlerde fizyopatolojik gelişimi daha iyi yansıttığı savunulmaktadır (83). Çalışmamızda patlama basıncı ölçümü öncesi anastomoz hattını zedelememek amacıyla dikişler alınmamıştır. Benzer çalışmalarda da sütürlerin alınmadığı görülmüştür (83, 110).

Anastomoz iyileşmesini biz bu çalışmada postoperatif 7. günde değerlendirdik. Gerek kollojen sentez ve yıkımının dengelenmesi gerekse de doku gerilim kuvvetinin kazanılması açısından 7. gün anastomoz iyileşmesini değerlendirmek için uygun bir zamandır. Daha erken ve daha geç dönemde inceleme yapılan çalışmalar olmakla birlikte literatürde de en sık bu zaman diliminin kullanıldığını görmekteyiz (88, 90, 95). Jiborn ve arkadaşları yara iyileşmesini inflamasyonun devam ettiği ilk 7 gün içerisinde değerlendirmenin daha anlamlı olduğunu savunmakta (84) ek olarak 7.,10., 14., ve 28. günlerdeki patlama basıncı değerlerinin birbirine yakın olduğunu ve 7. günde intakt barsak patlama basıncını yakaladığını belirtmektedirler (111). Anastomoz sonrasında postoperatif 3. günden itibaren anastomoz patlama basıncında uygulanacak kuvvetin arttığı ve 7.-10. günlerde maksimuma ulaştığı tespit edilmiştir. Buna paralel olarak anastomoz bölgesinde hidroksiprolin konsantrasyonunun %40 azaldığı postoperatif 5. günden itibaren normale yaklaşarak 10-14.günlerde ise normalin üzerine çıktığı bildirilmiştir (84, 112).

Çalışmamızda, ghrelin verilen grupta patlama basıncı değerlerinin artmış olduğu gözlemlendi. Ghrelin verilen grupta anastomoz ayrılmasının olmadığını buna karşılık kontrol grubunda 4 denekte anastomoz ayrılmasının olduğunu da gözlemledik. Bu sonuçlar bize ghrelin verilen grupta kontrol grubuna nazaran kolon anastomozlarının iyileşmesinin olumlu yönde etkilendiğini göstermiştir.

Histopatolojik incelemelerden direkt ışık mikroskopisi ile anastomoz iyileşmesi konusunda çok güvenilir verilere ulaşmak pek mümkün değildir.

Çeşitli boyamalar ve ileri teknikler kullanılarak dokudaki çeşitli proteinler, genler ölçülebilir. Ancak bunlar da çok pahalı tekniklerdir.

Basit bir şekilde anastomoz bölgesinin histopatolojik değerlendirilmesini sağlamak için çeşitli parametrelere birlikte bakılmış ve çeşitli puanlama yöntemleri düşünülmüştür. Sıklıkla fibrosis, inflamasyon, neovaskülarizasyon değerlendirilen parametrelerdendir (102). Çalışmamızda fibroblast yoğunluğu, neovaskülarizasyon ve kollojen kontenti yara iyileşmesinde olumlu faktörler olarak; inflamatuvar hücre infiltrasyonu ise olumsuz etken olarak varsayıp semikantitatif skora ile değerlendirme yapıldı. Ghrelin verilmesi anastomoz hattında histopatolojik total skora, fibroblast yoğunluğu, kollojen miktarı ve neovaskülarizasyon açısından bir etki oluşturmamıştır. Bununla birlikte ghrelin verilmesi anastomoz hattında inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltmıştır.

Barsak anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir yöntemde biyokimyasal tetkiklerdir. Gastrointestinal sistemde anastomoz iyileşmesinde barsak devamlılığı ve mekanik kuvvetin tekrar kazanılmasında submukozal dokuda oluşan kollojen önemli bir parametredir. Hidroksiprolin omurgalıların dokularında hemen yalnızca kollojende (kollojende %14, elastinde %2) bulunur. Hidroksiprolin dağılımının tek tip olması bu aminoasidi kollojen metabolizma çalışmalarında belirteç yapar (101). Çalışmamızda doku hidroksiprolin kontentleri ortalaması açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Doku hidroksiprolin düzeyleri arasında istatistiksel fark olmamasına rağmen ghrelin grubunda patlama basınçlarının yüksek olması ghrelinin yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkisinin fibroblastlarla ve kollojen sentezi ile ilişkisiz olduğunu düşündürmüştür.

Ghrelin growth hormon sekresyonunu uyarıcı bir hormon olarak keşfedilmiştir. Growth hormonun ağır hasta kişilerde nitrojen balansını düzeltebileceği gösterilmiştir. Growth hormon nitrojen retansiyonu, kas sentezi ve lipolizi uyarır. Çeşitli çalışmalar Growth hormon tedavisinin ağır travma ve cerrahi sonrası hastaların akıbetini iyi yönde etkilediğini

göstermiştir. Ancak sodyum ve sıvı retansiyonu gibi yan etkileri bulunmaktadır. Daha önce normal ratlarda Growth hormon verilmesinin sol kolon anastomozlarının iyileşmesini uyardığı gösterilmiştir (122). Aynı zamanda Growth hormon tedavisi Growth hormon yetmezliği olan ratlarda kolonun büyümesini uyarmaktadır. Her ne kadar intakt barsaklarda büyütücü ve iyileştirici etkileri varsa da Growth hormonun intestinal iyileşmede esansiyel bir faktör olup olmadığı açık değildir. Growth hormonunun birçok etkisi hormonun kendisine ait olmakla birlikte bazı etkilerini ise somatometidin, IGF-1 salınımı ile gerçekleştirmektedir.

Tei TM. ve arkadaşları deneysel çalışmalarında mutasyon sonucu growth hormon (GH) yetmezliği olan dwarf ratlarına kolon anastomozu yapmışlar. Bir gruba GH vermişler ve sonuç olarak GH verilmesinin anastomoz iyileşmesini hızlandırdığını ancak GH verilmeyen ve GH yetmezliği olan ratlarda bile anastomoz iyileşmesinin gerçekleştiğini gözlemişlerdir (120). Bu da bize Ghrelinin anastomoz iyileşmesi üzerindeki olumlu etkisinin büyüme indükleyici özellikleri ile ilişkili olmadığını düşündürdü.

Yeni çalışmalar deneysel inflamatuvar reaksiyon modellerinde ghrelinin bir akut faz reaktanı gibi rol oynadığını göstermiştir (113). Wang W. ve arkadaşları endotoksemi esnasında böbreklerde ghrelin reseptör (GHSR-1a) ekspresyonunun arttığını ve serum ghrelin seviyelerinde artış olduğunu gözlemişlerdir. Lipopolisakkarid ile uyarılmış serum endotelin 1 ve serum sitokin seviyelerinin (TNF alfa, IL-1beta ve IL-6) ghrelin verilmesinden sonra belirgin oranda düşmüş olduğunu tespit etmişlerdir. Özet olarak Wang W. ve arkadaşları endotoksemi sebebiyle oluşan akut böbrek hasarında ghrelinin koruyucu etkisini göstermişler ve bu böbrek koruyucu etkinin proinflamatuvar sitokin inhibisyonu ile ilişkili olduğunu düşünmüşlerdir. Bu etkinin oluşmasındaki en önemli payın böbrek dokusu ve tüm dolaşımdaki TNF alfa supresyonu ile gerçekleştiği düşünülmüştür. TNF alfa en önemli proinflamatuvar sitokinlerden biridir. Böylece endotoksemi ile indüklenmiş böbrek yetmezliğinin tedavisinde ghrelin umut verici olarak görülmektedir (114).

Ghrelinin sitokinlerle ilişkisini araştırmaya yönelik çalışmalar son birkaç yılda hızla artmaktadır. Proinflamatuvar sitokinleri azalttığı ve antiinflamatuvar sitokinleri arttırdığı konusunda veriler mevcuttur. Yara iyileşmesi esnasında sitokinlerin önemli rolü vardır. Ortamdaki çeşitli hücrelerin uyarılması (makrofaj, fibroblast gibi) ve diğer hücrelerin olay bölgesine çekilmesi (nötrofil lökosit, lenfosit, monosit gibi) sitokinler aracılığı ile olmaktadır. Vücutta optimal yara iyileşmesinin oluşması için organize ve komplike hücresel ve biyokimyasal olaylar dizini gerçekleşir. Yara iyileşmesinde bu işe katılan dokular arasında yaygın bir iletişim gerekir. Bu noktada sitokinler ve büyüme faktörlerinin yara iyileşmesini başlatan ve etkileyen pek çok fonksiyona sahip olabileceği düşünülmektedir. Bu faktörlere atfedilen biyolojik aktiviteler çok geniş bir yelpazededir (örn: mitojenik, kemoatraktan özellikleri, diğer sitokinleri uyarma ve salgılatma yetenekleri, anjiogenezi başlatması, ekstrasellüler matriks yapımının uyarılması gibi etkileri). Yara iyileşmesinin her bir fazında lokal olarak bulunan ve/veya yeni oluşturulan hücreler aktif olarak rol oynar ve devam eden yara iyileşmesini düzenlerler (121).

Genel olarak sitokinler proinflamatuvar, antiinflamatuvar şekilde ana rollerine bağlı olarak sınıflandırılırlar. Büyüme faktörlerinin ise iyileşmeyi uyarıcı olduğu kabul edilir. Her ne kadar görevleri çok açık değilse de proinflamatuvar sitokinlerin yara iyileşmesinde olumsuz oldukları fakat erken fazlarda iyileşme için bu faktörlere ihtiyaç olduğu bilinmektedir. Proinflamatuvar sitokinler yara yerindeki monositler, keratinositler ve diğer epitelyal hücrelerden salgılanmaktadır. Bu faktörler nötrofilleri aktive ederek, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltmakta ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını sağlamaktadırlar. (TNF alfa, IL-1, IL 10, IF gama vb.)

Antiinflamatuvar sitokinler yara iyileşmesinde önemli rol oynar. Bunların içerisinde en çok IL-10 çalışılmıştır. IL-10 makrofajlar üzerine olan etkisi ile sitokin üretimini baskılar. Yarada ilk başta proinflamatuvar sitokinler oluşur bunu IL-10 ekspresyonu izlemektedir. Bunun amacının inflamatuvar cevabın süre ve şiddetinin kontrol edilmesi olduğu düşünülmektedir. İntestinal anastomoz

iyileşmesi cilt yara iyileşmesine benzer safalardan oluşmasına rağmen detaylarda çeşitli farklılıklara sahiptir. İntestinal fizik-gerginliği çok çalışılmıştır. Postoperatif 7. günde taban değerini geçer ancak cilt ve fasyalarda 6. ayda taban değerinin %70'ine ulaşılmaktadır. Bu farklılığın sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte sitokinler, growth faktörlerin ekspresyon ve zamanlamasının rolü olabileceği düşünülmüştür (121).

Shah KG. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada radyasyon hasarı oluşturulmuş ratlarda ghrelin verilmiş ve bu çalışmanın sonucunda radyasyon hasarından 20 saat sonra serum ghrelin düzeyleri ve midede ghrelin gen ekspresyonunun belirgin olarak azalmış olduğu gözlenmiştir. İnsan ghrelini verildiğinde doku hasarında belirgin düzelme ve proinflamatuvar sitokin düzeylerinde, doku miyeloperoksidaz aktivitesinde azalma ve bu etkilerin sonucunda da radyasyon hasarından sonra sağkalım oranının arttığını tespit etmişlerdir. Bunlara ek olarak radyasyon hasarı sonrası artan plazma norepinefrin düzeyinin ghrelin sonrası belirgin azalmış olduğunu göstermiştir. Ancak vagotomi ile ghrelinin bu faydalı etkileri önlenmektedir. Bu çalışma sonucunda rat modellerinde insan ghrelinin faydalı olduğu gözlenmiştir. İnsan ghrelininin bu koruyucu etkisini sempatik ve parasempatik sistemin bozulan işleyişini yeniden ayarlaması ile sağladığı düşünülmektedir (119).

Wu R. ve arkadaşları çekal ligasyon ve perforasyon modelinde 20 saat sonra beyin ghrelin seviyelerinin %34 azaldığını gözlemiştir. Ghrelinin intravenöz olarak verilmesi beyin ghrelin seviyelerini yükseltmiş ve yükselmiş HMGB1 (high- mobility group 1) seviyelerini düşürmüştür. Buna ek olarak azalmış barsak bariyer fonksiyonlarını da düzeltmiştir. Vagotomi ile ghrelinin HMGB1 inhibisyonu ve barsak bariyer disfonksiyonunu düzeltici etkisi ortadan kalkmıştır. Yine aynı çalışmada ghrelinin intraserebrovasküler enjeksiyonunun serum HMGB1 seviyelerini ve barsak bariyer fonksiyonlarını düzeltmiş olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak sepsiste ghrelin santral ghrelin reseptörleri üzerinden vagus sinir uyarılması ile serum HMGB1 seviyelerini ve barsak fonksiyon bozukluklarını düzelttiğini saptamışlardır (115).

Ghrelinin barsaklar üzerindeki etkisi hem santral, hem periferik yoldan

olabilmektedir. Ghrelinin vasküler sistem üzerine de güçlü etkileri olduğu gözlenmiştir. Ghrelin seviyeleri sepsisin erken ve geç safhalarında azalır ve ghrelin reseptörleri ise sepsisin erken dönemlerinde belirgin olarak yükselir. Buna ek olarak ghrelin sepsisin erken dönemlerinde izole ince barsak segmentlerinde damarları genişleterek kan basıncı direncini azaltmakta fakat bu etki sepsisin geç evrelerinde değişmemektedir. Lipopolisakkarid stimülasyonu ile düz kas hücrelerinde GHSR-1a ekspresyonu, mRNA ve protein seviyeleri belirgin olarak artmıştır (116). Yara iyileşmesi için dokunun oksijen ve besin kaynakları önemlidir. Ghrelin anastomoz iyileşmesindeki olumlu etkisine damarlar üzerindeki rolü de katkı sağlamış olabilir.

Ghrelinin vazodilatatör özelliklerinin ve kardiovasküler sistemde mRNA ve GHSR ölçülebilir bağlanma bölgelerinin varlığının keşfi sepsis patofizyolojisinde önemlidir (116). Chang L. ve arkadaşları ratlarda endotoksik şokta ghrelin verilmesinin hipotansiyonu düzelttiği ve mortalite hızını azalttığını göstermişlerdir. Ghrelin verilmesi plazma laktat konsantrasyonunu azalttığını ve plazma glukoz konsantrasyonunu belirgin şekilde arttırdığını saptamışlardır. Myokard üzerinde de faydalı etkiler oluşturmaktadır. İn vitro olarak rat mukozasının LPS'e maruz kalması doz bağımlı olarak ghrelin salınımını tetikler. Özetle endotoksik şoklu ratlarda metabolik ve hemodinamik dengesizliği ghrelin düzeltir ve mortaliteyi azaltır. Bu sonuçlar ghrelinin endotoksik şokta teröpatik rolü olabileceğini düşündürmektedir (117). Nagaya ve arkadaşları ghrelinin insanlarda kalp hızında artış olmadan kardiyak outputun artışı ve after load azalmasını sağlayarak kardiovasküler sistem üzerine olumlu etkileri olduğunu gözlemlemişlerdir. Ghrelinin kronik olarak verilmesi kardiyak kaşektik olan ratlarda sol ventrikül disfonksiyonunu düzeltmektedir (117). Çalışmamızda ghrelin verilen deneklerde kontrol grubunun aksine anastomoz kaçağına rastlamadık. Bunun nedenin anastomoz iyileşmesinde ghrelinin bu kardiovasküler etkileri olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kontrol grubundaki (Grup 2) deneklerden 4 tanesinde anastomoz hattının omentum tarafından sarıldığı izlendi. Bu deneklerde omentum ve barsak arasındaki yapışıklılar açıldığında omentum tarafından



kontrol altına alınmış anastomoz kaçaklarının olduğu izlendi. Ghrelin grubunda ise hem anastomoz kaçağı olmadı, hem anastomoz patlama basınçları daha yüksek bulundu ve histopatolojik olarak da inflamatuvar hücre infiltrasyonu anlamlı olarak az bulundu. Histopatolojik olarak Ghrelin verilen deneklerde anastomoz bölgesinde neovaskülarizasyon, fibroblast ve kollojen yoğunluğu verilmeyen deneklerinkiyle benzer bulundu. Yine kollojen üretiminin göstergesi olan HP düzeyleri de ghrelin verilen ve verilmeyen grupta benzerdi. Bu bulgular bize ghrelinin anastomoz iyileşmesi üzerine olan olumlu etkisinin fibroblast çoğalması ya da kollojen üretim artıcı özelliklerinden ziyade inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltmasıyla olabileceğini düşündürdü.

Sonuç olarak ghrelin deneysel kolon anastomozlarının iyileşmesi üzerinde olumlu etki göstermiştir. Bu etkisinin mekanizmalarının aydınlatılması ve insanda kullanılabilirliğine yönelik ileri çalışmaların ardından klinikte kullanımı mümkün olabilir.

## 8.SONUÇ ve ÖNERİLER

1. İP ghrelin verilmesinin deneklerde bir soruna neden olmadığı görüldü.
2. Çalışmamızda kontrol grubundaki (Grup 2) deneklerden 4 tanesinde anastomoz hattının omentum tarafından sarıldığı izlendi. Bu deneklerde omentum ve barsak arasındaki yapışıklılar açıldığında omentum tarafından kontrol altına alınmış anastomoz açılmalarının olduğu izlendi.
3. Ghrelin verilen gruptaki (Grup 3) deneklerde anastomoz açılmasına rastlanmadı.
4. Ghrelin verilen gruptaki (Grup 3) deneklerde kontrol grubuna nazaran patlama basınçlarının daha yüksek olduğu gözlemlendi.
5. Ghrelin verilmesi anastomoz hattında histopatolojik total skorlama, fibroblast yoğunluğu, kollojen miktarı ve neovaskülarizasyon açısından bir etki oluşturmamıştır.
6. Ghrelin verilmesi anastomoz hattında İnflamatuar hücre infiltrasyonunu azaltmıştır.
7. Anastomoz iyileşmesinin seyri sırasında 7. günde anastomoz hattında HP düzeyi azalmaktadır.
8. Ghrelin verilmesi anastomoz hattında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte HP düzeyi üzerinde olumlu bir etki göstermiştir.
9. İP ghrelin verilmesinin deneklerde anastomoz patlama basıncını

olumlu yönde etkilediği bulunmuştur.

10. Ghrelinin etki mekanizmasının aydınlatılmasına çalışmalar yapılmalı.

11. Biz bu çalışmada ghrelinin anastomoz iyileşmesine olumlu etkisi olduğunu gözlemledik. Ghrelinin klinik kullanım alanı bulabilmesi için klinik çalışmaların yapılması önerilir.

## 9.ÖZET

### DENEYSEL KOLON ANASTOMOZU MODELİNDE, GHRELİNİN ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNE ETKİSİ

**Amaç:** Ghrelin gastrointestinal sistem tarafından üretilen, santral etki ile yeme davranışı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan büyüme hormonu (GH), salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkileyen peptid yapıda bir hormondur.

Barsak anastomozları gastrointestinal cerrahinin temel girişimlerindedir. Bu çalışmada ghrelinin deneysel kolon anastomozu iyileşmesi üzerine etkisinin olup olmadığını incelemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada ağırlığı 200–250 gr arasında değişen 30 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. **Grup 1; Sham grubunda** laparotomi, **Grup 2; Kontrol grubunda** laparotomi+kolon anastomozu+ intraperitoneal SF, **Grup 3; Ghrelin grubunda** laparotomi+kolon anastomozu+ Ghrelin (10ng/kg/gün/İP) uygulandı (n=10). Ratlar 7. gün sakrifiye edilerek anastomoz patlama basınçları ölçüldü. Anastomoz hattında doku hidrokspirolin düzeyi ölçüldü. Histopatolojik olarak inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fibroblast yoğunluğu, kollojen miktarı ve neovaskülarizasyon değerlendirildi.

**Bulgular:** Ghrelin grubunda anastomoz patlama basınçları kontrol

grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (168,29±20,8, 117,86±46, p<0.05). Hidroksiprolin kontenti ile fibroblast yoğunluğu, kollojen miktarı ve neovaskülarizasyon açısından Ghrelin grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmazken, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ghrelin grubunda az olduğu saptandı (p<0,05)

**Sonuç:** Ghrelin deneysel kolon anastomozlarının iyileşmesi üzerinde olumlu etki göstermiştir. Bu etkisinin mekanizmalarının aydınlatılması ve insanda kullanılabilirliğine yönelik ileri çalışmaların ardından klinikte kullanımı mümkün olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Ghrelin, hidroksiprolin, patlama basıncı, fibroblast, kollojen, neovaskülarizasyon

## 10.SUMMARY

### THE EFFECT OF GHRELIN ON THE HEALING OF COLONIC ANASTOMOSIS

**Aim:** Ghrelin is a peptide hormone which produced by gastrointestinal system has effects on eating behavior and weight regulation; regulation of growth hormone (GH) secretion, nutrition, gastric acid secretion, gastric motility and cell proliferation.

Bowel anastomoses are one of the main procedures of the gastrointestinal surgery. In this study we aimed to investigate whether ghrelin effect on experimental colonic anastomosis healing.

**Material and method:** In this study 30 Wistar Albino rats weighted 200-250 gr were used. **Group 1 (Sham Group)**, animals underwent laparotomy, **Group 2 (Control Group)**; Laparotomy+ colonic anastomosis+ SF administration IP, **Group 3 (Ghrelin Group)**; Laparotomy+ colonic anastomosis+ ghrelin (10ng/kg/day/IP) administration were done (n=10). All rats sacrificed at the 7th day postoperatively and anastomosis bursting pressures were measured. Hydroxyproline levels were measured and histopathologically inflammatory cell infiltration, fibroblast density, collagen density and neovascularization were evaluated.

**Results:** Bursting pressures in the Ghrelin group were significantly higher than the control group (168,29±20,8 vs. 117,86±46,5 p<0,05). Although, inflammatory cell infiltration was found to be decreased in the

ghrelin group, hydroxyproline content, fibroblast density, collagen content and neovascularization were not different in ghrelin and control groups.

**Conclusion:** Ghrelin has showed positive effect on colonic anastomosis healing. After explaining the mechanism of this action and human studies it could be used in clinically.

**Key words:** Ghrelin, hydroxyproline, bursting pressure, fibroblast, collagen, neovascularisation

## 11. KAYNAKLAR

1: Buğra D. Kolon, Rektum, Anal bölge anatomisi. Türkiye Klinikleri Cerrahi 2004 ; 9:1-11

2: Rolomo JL. Embryology and anatomy of the colon. Shackelfords Surgery of the alimentary tract Ed: George D. Zuideman. 1996:4: 3-16

3: Sayek Temel Cerrahi 3. Baskı Ankara Güne Kitabevi Ltd. ti.2004;1243-1251

4: Skandalakis William C. Wood. John E. Surgical anatomy and technique. Skandalakis Quality Medical Publishing pp:409, 1995

5: Sternberg SS: Colon, Chapter 29, in: Histology for Pathologist, ed Sternberg SS, Raven Press, New York, : 573-588, 1992

6: Rosai J: Large Bowel, Chapter 11. In Ackerman's Surgical Pathology, ed Rosai J. St Louis. Mosby;729-799, 8 th, 1996

7: Uluç Yiş, Yeşim Öztürk, Benal Büyükgebiz. Ghrelin: enerji metabolizmasının düzenlenmesinde yeni bir hormon. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2005; 196-201

8: Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth- hormone- acylated peptide from stomach. Nature 1999; 402: 656-660

9: Bowers CY. Unnatural growth hormone- releasing peptide begets natural ghrelin. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86:1464-1469

10: Date Y, Kojima M, Hosoda H, et al. Ghrelin, a novel growth hormone- releasing acylated peptide is, synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tract of rats and humans. Endocrinology 2000 ; 4255- 4261

11: Kojima M, Kangawa K (2005) Ghrelin: structure and function Physiol Rev.85:495-522



- 12: Aydın S, Ozkan Y, Caylak E, Aydın S. (2006) Ghrelin and its biochemical function. *Türkiye Klinikleri. J. Med Sci.* 26:272-283
- 13: Aydın S, Aydın S, Ozkan Y, Kumru S (2006) Ghrelin is present in human colostrum, transitional and mature milk. *Peptides* .27:878-882
- 14: Kierson JA, Dimatteo DM, Locke RG, Mackley AB, Spear ML. (2006) Ghrelin and colecystokinin in term and preterm human breast milk. *Acta Paediatr.* 95:991-995
- 15: Aydın S, Ozercan İH, Daglı F, Aydın S, Kumru S, Kilic N, Sahin İ, Ozercan MR (2007) Ghrelin is present in human teeth. *J. Biochem Mol Biol* (accepted)
- 16: Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, Mc Gee P, Fainclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonitis M (2002) The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GH-R, in humans. *Clin Endocrinol Metab.* 87:2988-2991
- 17: Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908-4911
- 18: Davenport, A.P, Bonner TI, Foord SM (2005) International union of pharmacology. LVI. Ghrelin receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacol. Rev.* 57, 541-546
- 19: Tritos, N.A. and Kokkotou, E.G. (2006) The physiology and potential clinical applications of ghrelin, a novel peptide hormone. *Mayo Clin. Proc.* 81, 653-660
- 20: Hosoda, H. et al. (2000) Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279, 909-913
- 21: Banks, W.A. et al. (2002) Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 302, 822-827

- 22: S. Aydın. Ghrelin Hormonun Keşfi: Araştırma ve Klinik uygulamaları. Türk Biyokimya Dergisi(Turkish Journal of Biochemistry- Turk J Biochem) 2007;32(2); 76-89
- 23: Hosoda H, Kojima M, Mizushima T. (2003) Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin- derived molecules produced by post-translational processing.J. Biol. Chem. 278, 64-70
- 24: Bednarek, M.A, Feighner S.D, Pong S (2000) Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. J. Med. Chem. 43, 4370-4376
- 25: Gauna, C et al. (2005) Ghrelin stimulates, whereas des-octanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes.J. Clin. Endocrinol. Metab. 90, 2585-2590
- 26: Adelino F. Leite-Moreira and Joao-Bruno Soares. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. Drug Discovery Today. Volume 12, numbers 7/8. April 2007
- 27: Kaiya H, Darras VM, Kangawa K. (2007) Ghrelin in Birds: Its structure , distribution and function. The Journal of Poultry Science. 44(1): 18
- 28: Aydın S, Geckil H, Zengin F, Ozercan IH, Karatas F, Aydın S, Turgut-Balik D, Ozkan Y, Dağlı F, Celik V.(2006) Ghrelin in plants: What is the function of an appetite hormone in plants ? Peptides. 27: 1597-1602 pub med
- 29: Tomasetto C, Wendling C, Rio MC, Poitras P. (2001) Identification of cDNA encoding motilin related peptide/ghrelin precursor from dog fundus. Peptides. 22(12): 2055-2059.
- 30: Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. (2004) Ghrelin-a hormone with multiple functions. Front in Neuroend. 25: 27-68
- 31: Groschl M, Topf HG, Rauh M, Kurzai M, Rascher W, Kohler H. (2006) Postprandial response of salivary ghrelin and leptin to carbohydrate

uptake. *Gut*. 55: 997-1006.

32: Davis JC. (1954) The relation between the pancreatic alpha cells and certain cells in the gastric mukoza. *J Pathol Bacteriol*. 67(1): 237-240

33: Solcia E, Capella C. Vasallo G, Bufa R.(1975) Endocrine cells of the gastric mucosa. *Int Rev Cytol*. 42: 223-286

34: Stenstrom B, Furnes MW, Tommeras K, Syversen U, Zhao CM, Chen D. (2006) Mechanism of gastric bypass-induced body weight loss: one year follow-up micro-gastric bypass in rats. *J Gastrointest Surg*. 10(10): 1384-1391.

35: Doyle MJ, Loomis ZL, Sussel L. (2007) Nkx2.2-repressor activity is sufficient to specify  $\alpha$ -cells and a small number of  $\beta$ -cells in the pancreatic islet. *Development*. 134 (3): 5150-5123

36: Heler RS, Jenny M, Collombat P, Mansouri A, Tomasetto C, Madsen OD, Mellitzer G, Gradwohl G, Serup P.(2005) Genetic determinants of pancreatic epsilon-cell development. *Dev Biol*. 286 (1): 217-224

37: Doi A, Shono T, Nishi M, Furuta H, Sasaki H, Nanjo K. (2006) IA-2beta, but not IA-2, is induced by ghrelin and inhibits glucose-stimulated insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103(4): 571-579

38: Mitchell SE, Ngueiras R, Rance K, Rayner DV, Wood S, Dieguez C, Williams LM.(2006) Circulating hormones and hypothalamic energy balance: regulatory gene expression in the Lou/C and Wistar rats. *J.Endocrinol*.190 (3):571-579.

39: Carlini VP, Varas MM, Cragolini AB, Schioth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR. (2004) Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem Biophys Res Commun*. 313 (3): 635-641.

40: Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, Mukoyama M, Sugawara A, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K.(2000) Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett*. 486

(3): 213-216

41: Chan, C.B. and Cheng, C.H. (2004) Identification and functional characterization of two alternatively spliced growth hormone secretagogue receptor transcripts from the pituitary of black seabream *Acanthopagrus schlegeli*. *Mol. Cell. Endocrinol.* 214, 81-95

42: Howard, AD, Feighner SD, Cully DF. (1996) A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273, 974-977

43: Guan, X.M. Yu H, Palyha OC.(1997) Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 48, 23-29

44: Sun, Y. Wang P, Zheng H.(2006) Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 4679-4684

45: Andersson U, Filipsson K, Abbott CR. (2004) AMP-activated protein kinase plays a role in the control of food intake. *J. Biol. Chem.* 279-12005-12008

46: Pantel J, Legendre M, Cabrol S.(2006) Loss of constitutive activity of the growth hormone secretagogue receptor in familial short stature. *J. Clin. Invest.* 116, 760-768

47: Wang, H.J, Geller F, Dempfle A. (2004) Ghrelin receptor gene: Identification of several sequence variants in extremely obese children and adolescents, healthy normal weight and underweight students, and children with short normal stature. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89, 157-162

48: Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N. Ghrelin strongly stimulates Growth Hormone (GH) release in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Dec;85(12):4908-11.

49: Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Nijima A, Matsuo H, Kangawa K, Nakazato M. (2002) The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats.

Gastroenterology. 123 (4): 1120-1128

50: Christensen H, Chemnitz J, Christensen BC, Oxlund H. Collagen structural organization of healing colonic anastomoses and the effect of growth hormone treatment. *Dis Colon Rectum* 1995;38:11

51: Tümer A. Endokrinolojiye Giriş (1989), s 1-4, Hacettepe Üniversitesi, Ankara

52: Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, Kangawa K. (2001) Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 280(5): R1483-R17487

53: Lin Y, Matsumura K, Fukuhara M, Kagiya S, Fujii K, Iida M. (2004) Ghrelin acts at the nucleus of solitary tract to decrease arterial pressure in rats. *Hypertension*, 43(5), 977-982

54: Correia ML, Morgan DA, Sivitz WI, Mark AL, Haynes WG. (2001) Leptin acts in the central nervous system to produce dose-dependent changes in arterial pressure. *Hypertension*. 37: 936-942.

55: Zizzari P, Longchamps R, Epelbaum J, Bluet-Pajot MT. (2007) Obestatin partially affects ghrelin stimulation of food intake and GH secretion in rodents. *Endocrinology*. 148 (4): 1648-53

56: Le Roux CW, Neary NM, Halsey TJ, Small CJ, Martinez-Isla AM, Ghatei MA, Theodorou NA, Bloom SR. (2005) Ghrelin does not stimulate food intake in patients with surgical procedures involving vagotomy. *J Clin Endocrinol Metab*. 90 (8): 4521-4524

57: Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *J Sug Res* 1990 May; 48 (5): 504

58: Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am* 1997;77:549-573

59: Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE: Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet*. 1968;

126(4):747-753

60: Graham MF, Drucker DE, Diegelman RF, Elson CO: Collogen synthesis by human intestinal smooth muscle cells culture. Gastroenterology. 1987; 92(2): 400-405

61: Martens MF, Huyben CM, Hendriks T: Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. Gut. 1992;33(12): 1664-1670.

62: Kahya AS: Kolon obstrüksiyonu nedeni ile uygulanan rezeksiyon sonrası düşük molekül ağırlıklı heparin, papaverin ve pentoksifilinin anastomoz iyileşmesine üzerine etkileri. Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2001 İstanbul

63: Giray S. Preoperatif radyoterapi uygulanmış sıçanlarda kolon anastomozuna hiperbarik oksijen ve pentoksifilinin etkileri. Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2000 İstanbul

64: Brasken P, Renvall S, Sandberg M: Fibronectin and collagen gene expression in healing experimental colonic anastomoses. Br J Surg. 1991; 78(9): 1048-1052

65: Mandai R, Eguchi Y, Tanaka M, Sai Y, Nosaka S: Effects of profound hemodilution on small-intestinal wound healing in rabbits. J Surg Res. 2001; 99(1):107-113

66: Jonsson K, Jiborn H, Zederfelt B: Breaking strength of small intestinal anastomoses. Am J Surg. 1983; 145(6): 800-803.

67: Jonsson K, Jiborn H, Zederfelt B. Martens MF, Hendriks T: Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. Gut. 1991; 32(12): 1482-1487

68: Jonsson K, Jiborn H, Zederfelt B. Changes in collagen content of the small intestinal wall after anastomosis. Am J Surg. 1985; 150(3): 315-317

69: Zengin K, Apaydın B, Ünal E, Akı H: Deneysel distal kolon

obstrüksiyonlarında preoperatif antegrad serum fizyolojik ve sukralfat lavajlarının primer bağırsak anastomozu üzerine etkileri. Kolon ve Rektum Hastalıkları Dergisi. 1998; 8:5-10

70: Blikslager AT, Roberts MC. Mechanisms of intestinal mucosal repair. J Am Vet Med Assoc. 1997; 211(11): 1437-1441

71: Lipkin M, Shelock P, Bell B. Cell proliferation kinetics in the gastrointestinal tract of man. II. Cell renewal in stomach, ileum, colon and rectum. Gastroenterology. 1963; 45: 721-729

72: Sturm A, Dignass AU. Modulation of gastrointestinal wound repair and inflammation by phospholipids. Biochim Biophys Acta. 2002; 1582(1-3): 282-288

73: Feil W, Klimesch S, Karner P, Wenzl E, Starlinger M, Lacy ER, Schiessel R. Importance of an alkaline microenvironment for rapid restitution of the rabbit duodenal mucosa in vitro. Gastroenterology. 1989; 97(1): 112-22

74: Nusrat A, Delp C, Madara JL: Intestinal epithelial restitution. Characterization of a cell culture model and mapping of cytoskeletal elements in migrating cells. J Clin Invest. 1992; 89(5): 1501-1511

75: Ceylan F. Ratlarda askorbik asidin kolon anastomozu iyileşmesindeki etkileri. Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi

76: Grotendorst GR, Seppa HE, Kleinman HK, Martin GR: Attachment of smooth muscle cells to collagen and their migration toward platelet-derived growth factor. Proc Natl Acad Sci U S A . 1981; 78(6): 3669-3672

77: Robbins S.L, Cotran R.S, Kumar V. Basic pathology fifth edition, (çev; Özorun Y, Çevikbaş U.) İstanbul 1994 sayfa 56-57

78: 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(4): 461-464

79: Foster, M.E., Laycock, J.R, Silver, I.A, Leaper D.J: Hypovolaemia

and Healing in Colonic Anastomoses. *Br J Surg* 72:831-834, 1985

80: Laato, M., Niinikoski, J., Lundberg, C, Gerdin B: Inflammatory Reaction and Blood Flow in Experimental Wounds Inoculated With *Staphylococcus Aureus*. *Eur Surg Res*, 20:33-38, 1988

81: Carlson M.A.: Acute Wound Failure. *Surg. Clin. North Am.* 77: 607-663, 1997

82: Marx, R.E., W.J., Tayapongsak, P., Pierce, L.W.: Relationship of Oxygen Dose to Angiogenesis Induction in Irradiated Tissue. *The American Journal of Surgery.* 160: 519-524, 1990

83: Högström H., Haglund U., Zederfeldt B: Suture Tecnique and Early Breaking Strengh of Intestinal Anastomoses and Laparotomy Wounds. *Acta Chir Scand* 151: 441-443, 1985

84: Jiborn H., Ahonen J., Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses IV. The effect of suture technique on collagen metabolism in the colonic wall. *Am J Surg*, 139: 406-411, 1980

85: Cohen I.K, Diegelmann R.F, Crossland M.C: Wound Care and Wound Healing of Ischemic Colonic Anastomoses in the Rat: Role of Antibiotic Preperation. *Surgery*, 97: 443-446, 1985

86: Moore, M., Dawson, M.: Mechanism of Connective Tissue Disease. *Pathologic Basis of the Connective Tissue Diseases*, (Ed) Gardner, E., 2nd Ed. Edward Arnold, London, 1992; 171-226

87: Graffner H, Andersson L, Löwenhielm P, Walther B: The healing process of anastomoses of the colon. A comparative study using single, double- layer or stapled anastomosis. *Dis Colon Rectum*, 27:767-771, 1984

88: Högström H, Haglund U: Postoperative decrease in suture holding capacity in laparotomy wounds and anastomoses. *Acta Chir Scand*, 151: 533-535, 1985

89: Kozol, R.A., Mulligan, M., Downes, R.J., Forouhar, F.A., Kreutzer, D.L.: Early colonic Anastomotic Edema. Evaluation of Stapled vs. Hand-sewn



Anastomoses. *Dis Colon Rectum*, 31: 503-506, 1988.

90: Stoop MJ, Dirksen R, Hendriks T: Advanced age alone does not suppress anastomotic healing in the intestine. *Surgery*, 119: 15-19, 1996

91: Shimizu T, Maeta M, Koga S: Influence of local hypertermia on healing of small intestinal anastomoses in the rat. *Br. J. Surg.*, 78: 57-59, 1991

92: Van der Hem LG, Verhofstad MH, Bocken CF, van der Vliet JA, Hendriks T: Pancreatic islet transplantation prevents impaired healing of intestinal anastomoses in diabetes. *Transplantation Proceedings*. 26: 600-661, 1994

93: Bark S, Rettura G, Goldman D, Seifter E, Levenson SM, Demetriou AA: Effect of supplemental vitamin A on the healing of colon anastomosis. *Journal of Surgical Research*, 36:470-474, 1984

94: Phillips JD, Kim CS, Fonkalsrud EW, Zeng H, Dindar H: Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. *The American Journal of Surgery*, 163: 71-77, 1992.

95: Stoop MJ, Dirksen R, Wobbles T: Effects of early postoperative 5-fluorouracil and ageing on the healing capacity of experimental intestinal anastomoses. *Br. J. Surg.*, 85: 1535-1538, 1998.

96: de Waard JWD, Wobbles T, de Man BM, van der Linden CJ, Hendriks T: The effects of 5-fluorouracil and interferon-alfa on early healing of experimental intestinal anastomoses. *Br. J. Cancer*, 74:711-716, 1996

97: de Waard JW, Wobbles T, van der Linden CJ, Hendriks T: Retinol May Promote Fluorouracil-Suppressed Healing of Experimental Intestinal Anastomoses. *Arch. Surg.* 130:959-965, 1995

98: Rolandelli RH, Koruda MJ, Settle RG, Rombeau JL.: Effects of intraluminal infusion of short-chain fatty acids on the healing of colonic anastomosis in the rat. *Surgery* 100:198-204

99: Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of

colonic anastomoses (review). J Surg Res. 1990; 48(5): 504-515

100: Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. Dis Colon Rectum 1990;33(10):891-901

101: Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension. Br J Surg. 1985; 72 (8): 606-609

102: Hesp WL, Hendriks T, Schillings PH. Histological features of wound repair: a comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. Br J Surg. 1985; 66(5); 511-518.

103: Doğru O, Hasanoğlu (Arab) A, Őakrak Ő, Koç M, Kama NA. Kolon travmalarında primer onarım. Kolon Rektum Hast Dergisi 1991;2:78-86

104: Cali RL, Smyrk TC, Blatchford GJ. Effect of prostoglandin E1 and steroid on healing colonic anastomoses. Dis Colon Rectum. 1993;36:1148-51

105: Irwin ST, Krukowski ZH, Matheson NA, Single layer anastomosis in the upper gastrointesina tract. Br J Surg. 1990;77:643-4

106: Hongstrom H, Hanglud U, Zedelfeld B. Tension leads increased neutrophil acumulation and decreased laparotomy wound strength. Surgery 1999; 107:215

107: Uluocak K. Kolon anastomoz yetersizliklerinin sebepleri ve önlenmesi. Dirim 19.1992;67: sayı1-2 sayfa 34-42

108: Schrock TR, Denevey CW, Dunphy JE. Factor contributing to leakage of colonic anastomoses. Ann Surg 1973;177:5,513-8

109: Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS: A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues, Anal. Biochem., Vol:112(1), pp. 70–75, (1981)

110: Christensen H, Oxlund H.: Growth Hormone Increases the Collagen Deposition Rate and Breaking Strength of Left Colonic Anastomoses in Rats. Surgery, 116: 550-556, 1994

111: Jiborn H., Ahonen J., Zederfeldt B: Healing of experimental colonic anastomoses. III. Collagen metabolism in the colon after left colon

resection . Am j Surg. 1980 Mar; 139(3): 398-405

112: Shandall A, Lowndes R, Young HL.: Colonic Anastomotic healing and oxygen tension. Br J Surg. 72:606-609, 1985

113: Maruna P, Gürlich R, Frasko R, Rosicka M: Ghrelin and leptin elevation in postoperative intra-abdominal sepsis. Eur Surg Res. 2005 Nov-Dec;37(6):354-9.

114: Wang W, Bansal S, Falk S, Ljubanovic D, Schrier R.: Ghrelin protects mice against endotoxemia-induced acute kidney injury. Am j Physiol 2009 Oct;297(4):F1032-7. Epub 2009 Jul 22

115: Wu R, Dong W, Qiang X, Wang H, Blau SA, Ravikumar TS, Wang P.: Orexigenic hormone ghrelin ameliorates gut barrier dysfunction in sepsis in rats. Crit Care Med.2009 Aug;37(8):2421-6.

116: Wu R, Zhou M, Cui X, Simms HH, Wang P: Upregulation of cardiovascular ghrelin receptor occurs in the hyperdynamic phase of sepsis.

117: Chang L, Zhao J, Yang J, Zhang Z, Du J, Tang C: Therapeutic effects of ghrelin on endotoxic shock in rats.

118: Prenzler NK, Macke C, Horn R, Brabant G, Pabst R, Richter M; Nave H: Obesity influences the food consumption and cytokine pattern in ghrelin-treated endotoxemic rats. Life Sci. 2007 Jun 13;81(1): 80-7. Epub 2007 May 6.

119: Shah KG, Wu R, Jacob A, Blau SA, Ji Y, Dong W, Marini CP, Ravikumar TS, Coppa GF, Wang P.: Human ghrelin ameliorates organ injury and improves survival after radiation injury combined with severe sepsis. Mol Med. 2009 Nov-Dec; 15(11-12): 407-14 Epub 2009 Sep 18.

120: Tei TM, Kissmeyer-Nielsen P, Flyvbjerg A, Christensen H.: Growth hormone is stimulating but not an essential factor in healing of colon. A study in GH- deficient dwarf rats. Scand J Surg. 2006; 95(3):205-10.

121: Zubaidi A, Buie WD, Hart DA, Sigalet D.: Temporal Expression of Cytokines in Rat Cutaneous, Facial, and Intestinal Wounds: A

Comparative Study. Dig Dis Sci 2009 Aug 21. [Epub ahead of print].

122: Christensen H, Oxlund H: Growth hormone increases the collagen depositon rate and breaking strength of left colonic anastomoses in rats. Surgery 1994; 116:550-556