

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

LEVOSİMENDAN'IN İSKEMİK KOLON ANASTOMOZU MODELİNDE
ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Turan Eray SEVEN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Kemal KARAKAYA

ZONGULDAK
2019

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

LEVOSİMENDAN'IN İSKEMİK KOLON ANASTOMOZU MODELİNDE
ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Turan Eray SEVEN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Kemal KARAKAYA

ZONGULDAK
2019

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Levosimendan'ın İskemik Kolon Anostomuzu Modelinde Anostomoz İyileşmesi
Üzerine Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Turan Eray SEVEN

Tez Savunma Tarihi: 22/03/2019

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Kemal KARAKAYA

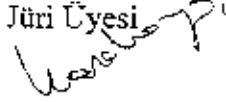


Prof.Dr. Gülşeniz KARADENİZ ÇAKMAK

Jüri Başkanı

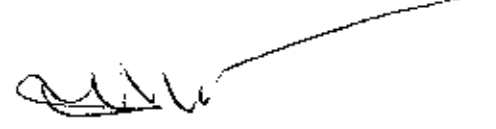
Prof.Dr. Kemal KARAKAYA

Jüri Üyesi



Prof.Dr. Erdal KARAGÖLLE

Jüri Üyesi



UYGUNDUR



ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimi aldığım kliniğimizin gelişimi ve başarısı için elinden geleni ardına koymayan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, değerli hocam, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Güldeniz KARADENİZ ÇAKMAK' a,

Her konuda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, tez danışmanım olarak gerçekleşmesinde büyük yardım ve katkıları olan, akademik ve insani yönleri ile örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. Kemal KARAKAYA' ya,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bana her konuda destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Mustafa CÖMERT, Prof. Dr. Ali Uğur EMRE, Doç. Dr. Fatma Ayça GÜLTEKİN, Dr. Öğr. Üyesi İlhan TAŞDÖVEN ve Doç. Dr. Hamdi Bülent UÇAN' a,

Bu süreçte birlikte çalışma şansına eriştiğim arkadaşlarım Op. Dr. Selçuk ÖZKAN, Op. Dr. Ali GENÇOĞLU, Op. Dr. Sezgin MUTLU, Dr. Yücel KARADERE, Dr. İlke Aktuğ BUZKAN, Dr. Sultan AYZAZ, Dr. Ayten İSMAİLZADE, Dr. Emre KARADENİZ, Dr. Hatice TEKİN' e,

Servis, endoskopi ünitesi ve ameliyathane başta olmak üzere hastanemizin pek çok yerinde yıllardır kahrımızı çeken bütün hemşire, yardımcı sağlık personeli ve sekreter arkadaşlarıma, Biyokimyasal verileri elde etmemizde büyük emekleri olan Z.B.E.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya ABD' den Doç. Dr. Berrak GÜVEN, patolojik incelemeleri yapan Ç.H.Ü. Erol OLCOK Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği' nden Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz BAŞ ve Uzm. Dr. Havva Hande KESER ŞAHİN, istatistiksel değerlendirmede yardımlarından ötürü Z.B.E.Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı ABD' den Dr. Öğr. Üyesi Bilgehan AÇIKGÖZ' e,

İlk nefesimden itibaren hayatımın her anında bir dağ gibi arkamda durarak her zor anımda dimdik durmamı sağlayan sevgili annem, babam ve kardeşime,

Hayattaki en büyük şansım, yoldaşım, canımdan kıymetli eşim Efsun' a ve bu tezin son aşamasında ve asistanlığımın son döneminde hayatımıza katılarak geceleri uyanık kalıp çalışabilmem için elinden geleni yapan canım oğlum Kerem' e,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr Turan Eray Seven

Zonguldak, 2019

ÖZET

Turan Eray SEVEN, Levosimendan'ın İskemik Kolon Anastomozu Modelinde Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2019.

Kolorektal kanser ve inflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastalarda yapılan cerrahinin güvenliği; ameliyat öncesi hazırlık, antibiyotik profilaksisi, cerrahi teknik ve postoperatif yönetimdeki ilerlemelerden dolayı son yıllarda önemli ölçüde iyileşmiştir. Buna rağmen komplikasyonlar azalmış olmakla birlikte devam etmektedir. Bu komplikasyonlar kanama, anastomoz ayrılması ve anastomoz alanından sızıntı, darlıklar ve fistülleri içerir. Anastomoz kaçakları açısından bir araya getirilen intestinal segmentlerin iskemisi en ciddi risk faktörlerinden birisidir. Kolon, gastrointestinal sistemde iskemiye en müsait organ olarak bilinmektedir. Bütün bu durumlar göz önünde bulundurulduğunda geniş bir uygulama alanı olan kolonik anastomozlarda kaçak olabilmektedir ve bu kaçağın yönetimi hasta için ciddi morbidite yaratacak bir hadise olmakla beraber, oldukça maliyetli ve zahmetli bir tablo ortaya çıkarmaktadır.

Splanknik perfüzyon üzerine vazoaaktif ajanların etkisinin önemli olduğu bilinmektedir. Levosimendan hem inotropik hem de vazodilatatör özelliklere sahip yeni bir ajandır ve çeşitli mekanizmalarla vazodilatasyon sağlamaktadır. Levosimendan'ın bu etkilerinin iskemik kolon anastomozunun iyileşmesine etki edip etmediği çalışmamızın amacını oluşturdu.

Çalışmamızda 60 adet rat 6 gruba randomize edildi. Tüm deney hayvanlarında iskemik sol kolon anastomozu, bağırsakta tam kesi yapıp anastomoz uygulanacak hattın 2 cm proksimali ve 2 cm distaline değin olan 4 cm'lik bağırsak segmentinin mezosu kesilmek suretiyle iskemik bırakılmasının ardından yapıldı. Grup 1' deki hayvanlara iskemik sol kolon anastomozu uygulanmış olup postop 4. günde yeniden operasyona alınarak inceleme için gerekli örneklerin alınması ve ölçümlerin yapılmasının ardından ratlar sakrifiye edildi. Grup 2' deki hayvanlara aynı işlemler uygulanıp Grup 1' den farklı olarak sekonder operasyon ve incelemeler postop 7. günde yapıldı ve sakrifikasyon yapıldı. Grup 3' teki hayvanlara preop ve postop 3' er gün süresince günlük 0,3 mg/kg (düşük doz) Levosimendan intraperitoneal yolla

verilerek aynı işlemler tekrarlanıp sekonder operasyon ve incelemeler postop 4. günde uygulandı ve sakrifikasyon yapıldı. Grup 4' teki hayvanlara preop ve postop 3' er gün süresince günlük 0,3 mg/kg (düşük doz) Levosimendan intraperitoneal yolla verilerek aynı işlemler tekrarlanıp sekonder operasyon ve incelemeler postop 7. günde uygulandı ve sakrifikasyon yapıldı. Grup 5' teki hayvanlara preop ve postop 3' er gün süresince günlük 1 mg/kg (yüksek doz) Levosimendan intraperitoneal yolla verilerek aynı işlemler tekrarlanıp sekonder operasyon ve incelemeler postop 4. günde uygulandı ve sakrifikasyon yapıldı. Grup 6' daki hayvanlara preop ve postop 3' er gün süresince günlük 1 mg/kg (yüksek doz) Levosimendan intraperitoneal yolla verilerek aynı işlemler tekrarlanıp sekonder operasyon ve incelemeler postop 7. günde uygulandı ve sakrifikasyon yapıldı. Bütün deneklerde sakrifikasyon öncesi patlama basıncı ölçümü yapıp histopatolojik inceleme, doku hidrosiprolin ve myeloperoksidaz düzeyleri ölçümü açısından örnekler alındı.

Biyokimyasal parametreler açısından değerlendirildiğinde istatistiksel farklılık saptanmamakla beraber patlama basınçları ve histopatolojik parametreler açısından ilaç kullanılan grupların lehine istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı.

Sonuç olarak Levosimendan' ın iskemik kolon anastomozunun iyileşmesine olumlu katkılar sağladığı görüldü. Daha geniş gruplarla ve daha çok parametre kullanılarak deneyler yapılması ilerleyen zamanlarda daha net ve güvenilir sonuçlar sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: İskemik kolon anastomozu, anastomoz kaçağı, Levosimendan

ABSTRACT

Turan Eray SEVEN, Effects of Levosimendan on Anastomotic Healing in an Ischemic Colon Anastomosis Model, Zonguldak Bülent Ecevit University School of Medicine, Department of General Surgery, Proficiency Thesis, Zonguldak, 2019.

Safety of surgery in patients with colorectal cancer and inflammatory bowel disease have gotten better significantly in recent years, because of improvement in preoperative preparation, antibiotic prophylaxis, surgical technique and postoperative management. However, the complications include bleeding, anastomosis separation and leakage from the anastomosis area, stenosis and fistulas continue with a decrease. Ischemia of anastomosed intestinal segments are one of the most serious risk factor for anastomosis leakage. Colon is known that the most suitable organ for ischemia in the alimentary tract. Considering all these cases, leakages can be seen in colonic anastomoses which is with a wide range of applications and the management of this situation is not only cause serious morbidity for the patient, but it is also quite costly and laborious.

It is known that, the effects of vasoactive agents on the splanknic perfusion have an importance. Levosimendan is a new agent with both inotropic and vasodilator properties, and various mechanisms provide vasodilatation. So these effects of Levosimendan on the healing of colon anostomosis is aim of our study.

In or study, 60 rats randomized to 6 groups. In all of the experimental animals, left colon ischemic anastomosis performed on 4 cm ischemic segment by cutting of the mesocolon 2 cm distal and 2 cm proximal from transsection area. In group 1 rats, ishchemic colon anastomosis performed and reoperated at the 4th day of postoperative to take samples and measurements and then sacrificed. In group 2, same procedure performed except measurement and taking samples at the 7th day. In group 3 rats, 0,3 mg/kg/day (low dose) Levosimendan applied intraperitoneal and the same procedure applied like group 1. In group 4 rats, 0,3 mg/kg/day (low dose) Levosimendan applied intraperitoneal and the same procedure applied like group 2. In group 5 rats, 1 mg/kg/day (high dose) Levosimendan applied intraperitoneal and the same procedure applied like group 1. In group 6 rats, 1 mg/kg/day (high

dose) Levosimendan applied intraperitoneal and the same procedure applied like group 2.

There were no statistically significant differences in terms of biochemical parameters, but statistically significant differences were found in terms of bursting pressures and histopathological parameters. As a result, it was observed that Levosimendan ischemic colon anastomosis contributed positively to healing. Experimenting with larger groups and with more parameters will provide clearer and more reliable results in later times.

Keywords: Ischemic colon anastomosis, anastomotic leakage, Levosimendan



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kolon Anatomisi	3
2.2. Yara İyileşmesi.....	5
2.2.1. İnflamasyon Fazı.....	5
2.2.2. Proliferasyon Fazı.....	6
2.2.3. Remodeling Fazı (Matürasyon Fazı)	8
2.3. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi Ve İyileşmeyi Etkileyen Faktörler .	9
2.4. Anastomoz İyileşmesini Değerlendirme Yöntemleri	15
2.4.1. Mekanik Değerlendirme Yöntemleri	15
2.4.2. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri	15
2.4.3. Histopatolojik Değerlendirme Yöntemleri	16
2.4.4. Radyoaktif İşaretleme Yöntemleri.....	16
2.4.5. Diğer Değerlendirme Yöntemleri	16
2.5. Levosimendan	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Deney Hayvanları Ve Deney Ortamı	19
3.2. Deney Grupları	19
3.3. Cerrahi Yöntem	20
3.4. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçümü	23
3.5. Hidroksiprolin Ve Myeloperoksidaz Düzeyi Ölçümü.....	24

3.6. Patolojik İnceleme	25
3.7. İstatistiksel Yöntem	26
4. BULGULAR	27
4.1. Anastomoz Patlama Basınçları	27
4.2. Hidroksiprolin Ve Myeloperoksidaz Düzeyleri	28
4.3. Anastomoz Hattı Yara İyileşmesi Skorları	29
4.4. Grupların İstatistiksel Karşılaştırması	38
4.4.1. Patlama Basınçları	38
4.4.2. Biyokimyasal Parametreler	39
4.4.3. Anastomoz Hattı Yara İyileşmesi Skorları	39
5. TARTIŞMA	41
6. KAYNAKLAR	46
7. EKLER	57
Ek 1: Etik Kurul Onayı	57

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. Kolon anastomozunun iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler ..	11
Tablo 2. Anastomoz mukozasının reepitelizasyonu	25
Tablo 3. İnflamatuar granülom varlığı ve granülasyon dokusu oluşumu	25
Tablo 4. Kas tabakasının tahribatı.....	26
Tablo 5. Anastomoz hattında inflamatuvar infiltrasyon	26
Tablo 6. Patlama basıncı değerlerinin (mmHg) ortalamaları ve standart sapmaları	27
Tablo 7. Miyeloperoksidaz (ng/ml) ve hidroksiprolin (ng/ml) değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları.....	28
Tablo 8. Anastomotik mukozada reepitelizasyon skor ortalamaları ve standart sapmaları	30
Tablo 9. İnflamatuar reaksiyonu değerlendiren parametrelerin skor ortalamaları ve standart sapmaları.....	32
Tablo 10. M. Propriadaki iyileşmeyi değerlendiren parametrelerin skor ortalamaları ve standart sapmaları.....	33
Tablo 11. Anastomoz hattındaki inflamatuvar hücreleri değerlendiren skor ortalamaları ve standart sapmaları.....	34

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 1. Gruplara göre patlama basıncı (mmHg) değerlerinin dağılımı.....	27
Grafik 2. Gruplara göre doku hidrokspolin (ng/ml) değerlerinin dağılımı.....	28
Grafik 3. Gruplara göre doku myeloperoksidaz (ng/ml) değerlerinin dağılımı	29
Grafik 4. Anastomoz mukozasının reepitelizasyonu skorlarının gruplara göre dağılımı.....	37
Grafik 5. İnflamatuvar granülom varlığı ve granülasyon dokusu oluşumu skorlarının gruplara göre dağılımı	37
Grafik 6. Kas tabakasının tahribatı skorlarının gruplara göre dağılımı	37
Grafik 7. Anastomoz hattında inflamatuvar infiltrasyon skorlarının gruplara göre dağılımı.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Kolonun arteryal dolaşımı.....	4
Şekil 2. Kolonun venöz dolaşımı	5
Şekil 3. Levosimendan' ın kimyasal yapısı.....	17



RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Resim 1. Deneklere anestezi uygulaması.....	21
Resim 2. İlgili kolon segmentinin devaskülarize edilişi	22
Resim 3. Devaskülarize kolon segmenti	22
Resim 4. Anastomozu tamamlanmış kolon.....	23
Resim 5. Anastomoz patlama basıncı ölçümü	24
Resim 6. Düzenli yapıda kolon duvar kesiti	29
Resim 7. Anastomoz hattı. Yüzeyde ülser zemini ile serozaya kadar devam eden fibroplastik proliferasyon ve şiddetli inflamasyon. Her iki uça inkomplet reepitelizasyonun izlendiği tek sıralı epitel proliferasyonu mevcuttur (HE x4).....	30
Resim 8. Şiddetli inflamasyon ile birlikte inkomplet yüzeyi kaplayan tek sıralı epitelle döşeli reepitelizasyon alanı Ç2 (HE X4). Insert: Şiddetli derecede nötrofillerin eşlik ettiği inkomplet yüzeyi kaplayan tek sıralı epitelle döşeli reepitelizasyon alanı (HE X20)	31
Resim 9. Şiddetli derecede nötrofillerin eşlik ettiği inkomplet yüzeyi kaplayan tek sıralı epitelle döşeli reepitelizasyon alanı (HE X20).....	31
Resim 10. Şiddetli derecede nötrofillerin eşlik ettiği tek sıralı epitelle döşeli reepitelizasyon alanı (HE X40).	32
Resim 11. Şiddetli derecede inflamasyon, fibroplazi ve kas doku hasarının izlendiği anastomoz hattı (HE x4).....	33
Resim 12. Kolonik glandların eşlik ettiği komplet reepitelizasyon, minimal inflamasyon ve şiddetli fibrozis (HE x10).....	34
Resim 13. Minimal fibrozis odaları ve şiddetli inflamasyon (HE x10).	34
Resim 14. Fibrozis alanında ve anastomoz hattı yüzeyinde çok sayıda köpüksü sitoplazmalı histiositler (HE x20).....	35
Resim 15. Orta şiddetli iskemik nekroz bulguları (HE X10).....	35
Resim 16. Orta şiddetli iskemik nekroz bulguları (HE x10).....	35
Resim 17. Kas dokusunda orta şiddetli (3+) inflamasyon (HE x20)	36
Resim 18. Kas dokusunda şiddetli (4+) inflamasyon (HE x20).....	36
Resim 19. Belirgin neovaskülarizasyon alanı (HE x20)	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

m	: metre
cm	: santimetre
SMA	: superior mezenterik arter
İMA	: inferior mezenterik arter
İMV	: inferior mezenterik ven
DNA	: deoksiribo nükleik asit
PDGF	: trombosit kaynaklı büyüme faktörü
EGF	: endotelyal büyüme faktörü
ATP	: adenozin tri fosfat
Ca ⁺²	: kalsiyum
cAMP	: siklik adenozin mono fosfat
FDE	: fosfodiesteraz
K ⁺	: potasyum
dk	: dakika
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
g	: gram
mg	: miligram
kg	: kilogram
ml	: mililitre
patbas	: patlama basınçları
mpo	: myeloperoksidaz
HE	: hemotoksilen eozin
ÇOY	: çoklu organ yetersizliği
PMNL	: polimorfonükleer lökosit
ROS	: radikal oksijen metabolitleri
IV	: intravenöz
NE	: norepinefrin
OAB	: ortalama arter basıncı
O ₂	: oksijen
İR	: iskemi reperfüzyon
H ₂ O	: su
ng	: nanogram

1. GİRİŞ

Kolorektal cerrahideki teknik ilerlemeler ve gelişmiş postoperatif yönetime rağmen postoperatif komplikasyonlar halen devam etmektedir.

Kolorektal kanser ve inflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastalarda yapılan cerrahinin güvenliği; ameliyat öncesi hazırlık, antibiyotik profilaksisi, cerrahi teknik ve postoperatif yönetimdeki ilerlemelerden dolayı son yıllarda önemli ölçüde iyileşmiştir (1). Buna rağmen yapılan anastomoza bağlı komplikasyonlar azalmış olmakla birlikte devam etmektedir. Bu komplikasyonlar kanama, anastamoz ayrılması ve anastamoz alanından sızıntı, darlıklar ve fistülleri içerir (2). Kolorektal cerrahi, morbidite ve mortalite açısından kayda değer sonuçlara sahiptir. Kolon ameliyatlarında endikasyonun malign veya benign olması ile ilişkisiz olmakla birlikte majör morbidite oranları % 20-35, 30 günlük mortalite oranları % 2-9 arasında değişmektedir (3, 4, 5). Tecrübeli cerrahlar tarafından yapıldığında anastomotik ayrılma ve sonraki kaçakların genel insidansı daha az olup % 2-7 civarındadır (6, 7, 8, 9).

Anastomoz kaçakları açısından bir araya getirilen intestinal segmentlerin iskemisi en ciddi risk faktörlerinden birisidir. Kolon, gastrointestinal sistemde iskemiye en müsait organ olarak bilinmektedir (10). Kolon iskemisi kolon damarlarının yaşa bağlı uzaması ve aterosklerozu nedeniyle genellikle (%90) yaşlı hastalarda görülür. Kolorektal ameliyatların da genellikle bu yaş grubu hastalara uygulanıyor olması, anastomoz yapılan intestinal anslarda iskemiye maruz kalma riskini artırmaktadır (11).

Anastomoz kaçağı tanısı alan hastalara intravenöz sıvı resüsitasyonu ve geniş spektrumlu antibiyoterapi vakit kaybetmeden başlanmalıdır. Hastanın genel durumu izin verirse, sızıntı lokalizasyonunu ve şiddetini belirlemek için radyolojik inceleme yapılmalıdır. Sonrasında ise hastanın klinik durumu da dikkate alınarak gözlem, bağırsak istirahati, perkütan drenaj, kolonik stentleme, cerrahi revizyon, diversiyon veya drenaj stratejilerinden biri veya birkaçının kombinasyonu seçilerek uygulanır (12).

Bütün bu durumlar göz önünde bulundurulduğunda geniş bir uygulama alanı olan kolonik anastomozlarda kaçak olabilmektedir. Bu kaçağın yönetimi hasta için

ciddi morbidite yaratacak bir hadise olmakla beraber, oldukça maliyetli ve zahmetli bir tablo ortaya çıkarmaktadır.

Gastrointestinal sistem kanlanmasının optimal olarak sürdürülebilmesi için çeşitli kimyasal ajanlardan faydalanılabilmektedir ve splanknik perfüzyon üzerine vazodilatör ajanların etkisinin önemli olduğu bilinmektedir (13). Levosimendan hem inotropik hem de vazodilatör özelliklere sahip yeni bir ajandır ve çeşitli mekanizmalarla vazodilatasyon sağlamaktadır (14).

Bu çalışmanın amacı iskemik kolon anastomozu modelinde, vazodilatör etkisi de olan Levosimendan' ın anastomoz iyileşmesi üzerine etkisinin araştırılmasıdır.



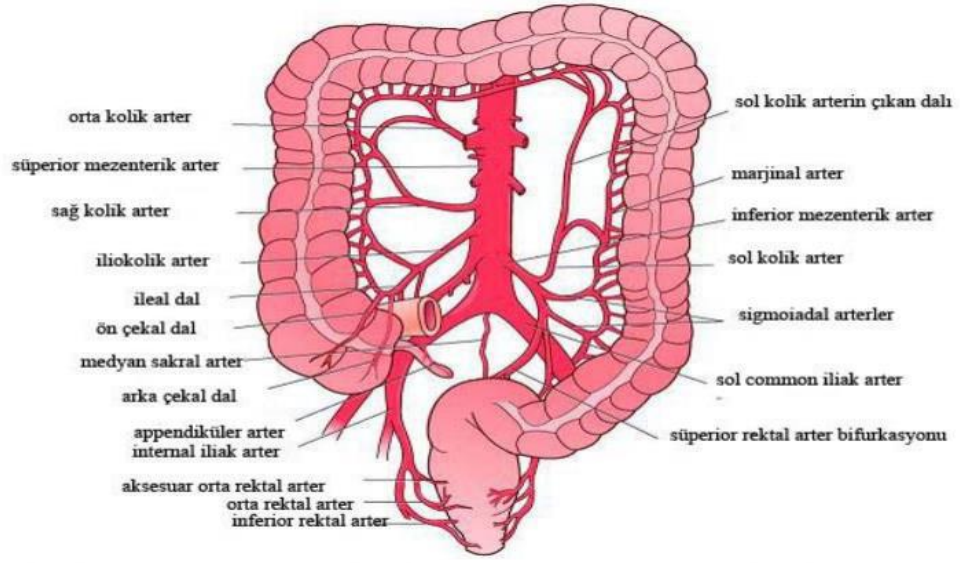
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon Anatomisi

Kolon ileoçekal bileşkeden anüse kadar uzanan tübüler bir organdır. Çıkan veya sağ kolon; çekum düzeyinden başlayıp sola doğru transvers kolonu oluşturmak üzere dönüş yapacağı karaciğer altındaki hepatik fleksuraya kadar uzanır. Transvers kolon da inen veya sol kolon olarak isimlendirilen kolon segmentine dönüşeceği splenik fleksura isimli dönüşe kadar uzanır. İnen kolon iliak kanat seviyesine kadar ilerleyip mediale doğru kıvrılan sigmoid kolona dönüşür ve sigmoid kolon 3. Sakral vertebra düzeyinde rektuma dönüşerek seyrederek. Rektum; pelvik taban hizasında anal kanala dönüşür ve anal kenar ile sonlanır (15).

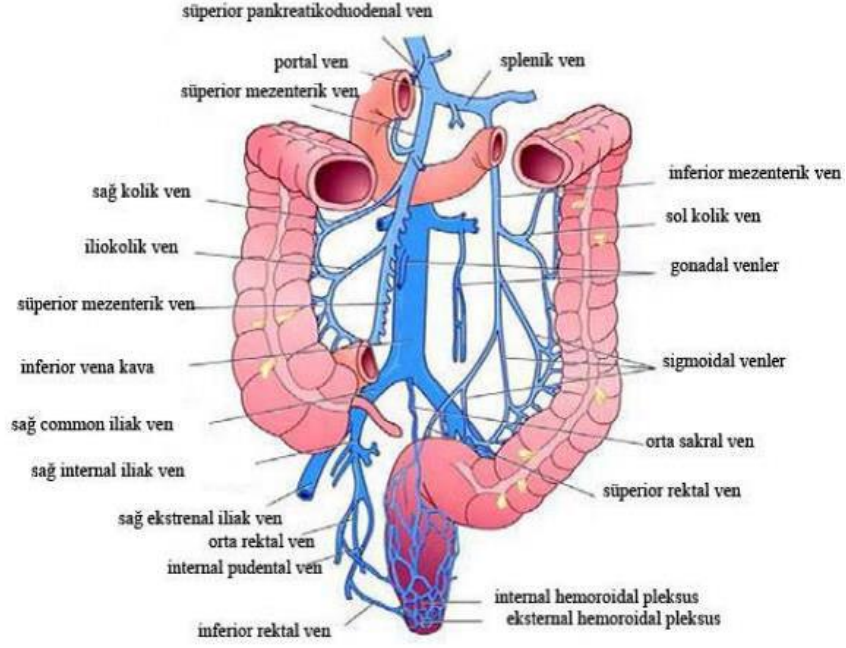
Önemli bireysel farklılıklar olmakla birlikte erişkinde kolon uzunluğu in vivo yaklaşık olarak 1-1,5 m kadardır. İnce bağırsaklardan; geniş kalibrasyonu, seyri sırasındaki ince bağırsaklara oranla daha sabit pozisyonu, tenya koli denilen longitudinal düz kas liflerinden oluşan şeritleri, apendiks epiploika denilen ve bağırsağın serbest yüzeyinde bulunan yağ depozitleri (çekum ve rektumda bulunmaz), tenyaların kolon uzunluğundan kısa olmasından kaynaklanan katlantılar olan haustralarla ayırt edilir. En geniş yeri çekum, en dar yeri sigmoid kolon olmakla birlikte ortalama çapı 4,5 cm'dir (15).

Kolonun vasküler yapıları embriyolojik gelişimiyle son derece ilişkilidir. Ön bağırsak; farenks, özofagus, mide, karaciğer, safra kesesi, pankreas ve duodenumun kranial kısmının öncüsüdür. Orta bağırsak; duodenumun kaudal kısmına, jejunuma, ileuma, çıkan kolona ve transvers kolonun proksimal üçte ikisine öncülük eder. Arka bağırsak; transvers kolonun distal üçte birinin, inen kolonun, rektumun ve ürogenital sinüsün öncüsüdür. Ön bağırsak çölyak arter, orta bağırsak SMA, arka bağırsak İMA tarafından beslenir. Erişkin yaşamda da SMA transvers kolonun distal 1/3' lük kısmına kadar olan alanı beslerken buradan sonrası arteriyal beslenmesini İMA' dan alır. İki arter arasında kolonun mezenterik yüzeyine yakın seyreden Drummond' un marjinal arteri tarafından anastomoz sağlanır. İki ana arterden birinin aortadan çıktığı köküne yakın tıkanması durumunda intestinal ansların dolaşımını korumaya yönelik bir emniyet yolu olarak Riolan arkı denilen bir kollateral arter de mevcuttur (16).



Şekil 1. Kolonun arteryal dolaşımı (16)

Kolon venleri İMV hariç aynı ismi taşıyan arterleri takip ederler. İMV ise retroperitoneal alanda psoas kası önyüzü boyunca yukarı seyrini sürdürüp, pankreasın arkasına girerek burada splenik ven ile birleşir. Kolon lenfatikleri ise ilgili segmenti besleyen arteri takip ederler. Lenf nodları ise kolon duvarında, marjinal arter ağı üzerinde, birlikte seyrettiği arter boyunca ve bu arterlerin aorttan ayrıldıkları kök kısımlarında yer alır (17).



Şekil 2. Kolonun venöz dolaşımı (16)

2.2. Yara İyileşmesi

HücreSEL ve anatomik bütünlüğün sekteye uğraması yara olarak tanımlanmaktadır (18). Bu bütünlüğün yeniden sağlanmasına ise yara iyileşmesi denir. Yara iyileşmesinin iyi anlaşılması akılcı cerrahi uygulama açısından önemlidir (19).

Yara iyileşmesi birbirini takip eden ve iç içe geçmiş 3 evrede incelenir. Bunlar (20);

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

2.2.1. İnflamasyon Fazı

Yaralanmadan hemen sonra, yara içindeki küçük vasküler yapılar 5 ila 10 dakika boyunca hemostazın başlangıç kısmını sağlamak üzere vazokonstriksiyona uğrar. Trombositler, bütünlüğü bozulmuş olan damarlarda toplanır, pıhtılaşma kaskatını tetikler ve yara iyileşmesinin başlangıcı ve ilerlemesi için önemli olan esansiyel büyüme faktörleri ve sitokinleri (örneğin trombosit kaynaklı büyüme faktörü,

transforme edici büyüme faktörü beta) serbest bırakılır. Yaralanma sonucu oluşan fibrin matriks yarayı stabilize eder ve yara iyileşme süreci için geçici bir iskelet görevi görür (21, 22)

İyileşmenin inflamatuvar fazı bazen gecikme fazı olarak adlandırılır, çünkü yara gücü hemen geri dönmez. İnflamatuvar faz, enfeksiyon ya da bozulmuş yara iyileşmesi ile ilişkili diğer faktörlerin varlığı dışında üç gün içinde maksimum altıncı güne kadar tamamlanır.

Bu fazın temel bileşenleri, vasküler geçirgenlikteki artış ve hücre sel toplanmadır. Birden çok olay bu süreçlere katkıda bulunur. Mononükleer lökositler birikir ve makrofajlara dönüşür. Dolaşım kaynaklı monositlerin makrofajlara olgunlaşması, yara iyileşmesinde rol oynayan yapısal bir filament proteini olan vimentin salgılanması dahil olmak üzere birçok olayla kendini belli eder. Mast hücreleri, histamin ile vazodilatasyon ve hücre sel göçün diğer araçlarını serbest bırakarak, degranülasyonu gerçekleştirir. Stromal mast hücrelerinden vazoaktif maddelerin salınması, küçük damarların inflamatuvar yanıtın moleküler ve hücre sel araçlarına geçirgenliğini artırır. Ortaya çıkan plazma ve hücre sel elemanların birikimi klinik olarak ödem veya şişlik olarak belirti verir. Kemotaksis, lizozomal enzimlerle bakterileri, yabancı kalıntıları ve nekrotik dokuyu sindiren polimorfonükleer lökositlerin inflamasyon alanında çoğalmasına neden olur. Kronik yaralarda, iyileşme genellikle bu inflamasyon fazında takılır ve proliferasyon fazına geçemez. Nekrotik doku, yabancı madde ve bakterilerin varlığı, inflamasyonun dengesini değiştiren ve sitokinlerin işlevini bozan matriks metalloproteazlarının anormal üretimi ile sonuçlanır (23, 24).

2.2.2. Proliferasyon Fazı

Bu fazın ana basamakları epitelizasyon, anjiogenez, granülasyon ve kollajen birikimidir. Pıhtı içerisindeki fibrin köprüleri oluşumuna eşlik eden bazal hücre proliferasyonu ve epitelial hücre göçü, epitelizasyon veya migrasyon olarak adlandırılır (25). Her bir hücre benzer tipteki hücreler tarafından çevrelene kadar hücre çoğalması devam eder. Temiz bir cerrahi yarada epitel hücreleri dermisin derinlerine ulaşmak için aşağı doğru göç eder. Dış tabaka yenilendiğinde migrasyon

tamamen durur, bu işlem normal şartlarda ameliyatı takip eden 48 saat içerisinde tamamlanır. Yeni oluşan epitel tabakası, yabancı maddelere ve bakterilere karşı koruyucu bir katman oluşturur ancak çok incedir, kolay travmatize olur ve gerilme gücü son derece azdır.

Epitelizasyon, primer kapatılmayan ve sekonder iyileşmeye bırakılan yaralarda daha zor ve komplike bir süreçtir. Çünkü bu yaralarda epitel hücre migrasyonu yaranın uzunluğu, genişliği ve derinliği boyunca 3 boyutta oluşmaktadır.

Epitelizasyon, yara kenarı veya tabanı üzerinde biyofilm ve yaşlanan hücrelerin varlığı ile daha da bozulabilir. Biyofilm, bakteriler tarafından yara üzerine geri dönüşsüz olarak bağlanan, inflamasyonu artıran ve epitelizasyona zarar veren hücre dışı bir matrikstir. Yaşlanan hücreler terimi ile kastedilirse çoğalma için gerekli olan DNA replikasyonunu gerçekleştiremeyen mitotik olarak inaktif hale gelmiş hücrelerdir (26).

Granülasyon aşaması fibroblast proliferasyonu, interstisyel maddenin birikmesi ve kollajen üretiminden oluşur. Fibroblastlar lokal mezenkimal hücrelerden köken alır, genellikle 24 saat içinde yarada görülmeye başlanır ve postoperatif 10. günlerde baskın hale gelirler (27). Trombositler ve makrofajlardan sentezlenen trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) ve endotelial büyüme faktörü (EGF) fibroblastlar için ana uyaranlardır (28, 29). Cerrahiden sonraki ilk 24 saat içinde anastomoz kenarında görülmeye başlayan fibroblastlar, 3.-5. günde en yüksek düzeye ulaşırlar (30). Pıhtı içerisindeki fibrin matrikse bağlanıp çoğalır, zemin maddesini oluşturan mukopolisakkarit ve glikoproteinleri üretirler. Buna ek olarak, fibroblastlar, beşinci güne kadar yara içerisinde düz kasların kontraksiyon özelliklerine sahip miyofibroblast olarak isimlendirilen hücrelere dönüşmek için kontraktıl proteinler sentezlerler. Miyofibroblastların yara dudaklarını birbirine yaklaştırabilme kapasitesi yaranın dokunun mobilitesine bağlıdır. Sekonder iyileşmede yara skar oluşturacak şekilde iyileştiği sırada miyofibroblastik hücreler de apoptoz yoluyla kaybolurlar.

Vücudun birincil yapısal proteini olan kollajen de fibroblastlar tarafından salgılanır. Postoperatif 2. günde kollajen, güçsüz amorf bir jel olarak salgılanmaya başlar. Postop 5. günden 7. haftaya kadar maksimum düzeyde devam eder. Gelişen

kollajen matriks anjiogenezi uyarır. Kollajen üretimi ve vaskülarizasyon kombine bir şekilde granülasyon dokusunun oluşumunu sağlar.

Miyofibroblastların iyileşmeye rağmen dokuda sebat etmesi, artmış matriks sentezi ve yara kontraksiyonunda artış patolojik fibrozisten sorumlu etkenlerdir. Abartılı skar oluşumu, normal organ fonksiyonunu engelleyebilir veya deride keloid ile sonuçlanabilir (31).

2.2.3. Remodeling Fazı (Matürasyon Fazı)

Kollajen çapraz bağlanmaları, kollajen remodelingi, yara kasılması ve repigmentasyon olgunlaşma safhasının temel unsurlarıdır.

Mevcut kollajen miktarı ile yaranın gerilme mukavemeti doğru orantılıdır (32). Çok sayıda kollajen türü tanımlanmış olmakla birlikte deri ve aponörotik dokularda tip 1 ve tip 3 daha baskındır. İki tanesi alfa-1, bir tanesi alfa-2 proteinleri olmak üzere 3 protein zinciri tarafından sarmal (tropokollajen) oluşturulur. Tropokollajen demetleri kollajeni oluşturmak üzere birleşirler. Düzensiz kollajen stabil bir yapı olmadığı için, dokunun gerilme mukavemetini artıran kovalent çapraz bağlar kurularak kuvvetli bir yapı oluşur.

Kollajen alt birimlerinin birbirine olan bağları sayesinde iyileşmiş yaranın maksimum gücü elde edilir. Postoperatif 6. haftada doku orjinal gerilim direncinin yaklaşık % 80' ine kavuşur ama 6. aya kadar kollajen liflerinin çapı ve morfolojisi normal dokudaki haline gelemmez (33). Dokuların maturasyon süreci uzun süre devam eder ama eski gücünün % 100' üne asla ulaşamaz (34, 35).

İyileşmeyi geciktiren veya son skarın gerilme kuvvetini azaltan faktörlerin varlığı ve doku travmasının şiddeti de iyileşmenin kalitesini yakından etkileyen faktörlerdir. Cerrahi olarak onarılan yaralarda tamirde kullanılan sütür materyalinin türü de iyileşmeyi etkileyebilir. Yara iyileşmesinin başarısı için ameliyatın hemen ardındaki dönemde hareketsizlik ve istirahat önemlidir. Bununla birlikte dokular üzerine uygulanan hafif gerilimin, remodeling yoluyla iyileşen dokulardaki gerilme mukavemetinin artırılmasında önemli rolü olması sebebiyle, maturasyon aşamasında yarayı çok fazla zorlamayacak bazı fiziksel aktiviteler son derece önemlidir.

2.3.Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi Ve İyileşmeyi Etkileyen Faktörler

Anastomoz kaçağı, kolorektal cerrahi sonrası en korkutucu komplikasyon olmaya devam etmektedir; yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Neden bazı kolorektal anastomozlarda kaçak olurken bazılarında olmadığı, anastomoz kaçaklarının sonuçlarını engellemeyi veya en aza indirmeyi amaçlayan pek çok kapsamlı araştırmaya rağmen henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu durum da cerrahların operasyon sonuçlarını öngörmesinde güçlük yaratmaktadır (36).

Kolon duvarının katları içten dışa mukoza, submukoza, muskularis propria ve serozadır. Kolorektal rezeksiyon yapıldığında, tüm bu katmanlar kesilir ve bir anastomoz yapılabilir. Anastomozlarla ilgili tarihi sürece bakıldığında cerrahlar serozayı (Lembert 1826), seroza ve mukozayı (Czemy 1881) veya seroza ve submukozayı (Halstead 1887) karşılıklı olarak dikmeyi denemişlerdir, bununla birlikte stapler cihazları ile anastomoz gibi modern teknikler katları ayırım yapmaksızın karşı karşıya birleştirmektedir (37).

Anastomoz seviyesinden bağımsız olarak stapler yardımıyla yapılan anastomozların elle dikilmiş tekniklere üstünlüğünü gösteren bir kanıt bulunamamıştır (38).

Sağlam gastrointestinal sistemde gerilim gücünün çoğunu submukoza sağlar. Anastomoz yapılmış bağırsak uçlarını bir araya getiren sütürleri tutabilecek güce sahip en önemli tabaka submukozadır. Submukoza başlıca kollajen ve elastik liflerden oluşur ki; %68'i tip I kollajen , %20'si tip III ve %12'si tip V kollajenden meydana gelir (39). Submukozanın anastomozda en önemli tabaka olduğu görüşü halen hakim olmakla birlikte, dikiş konfigürasyonu ile ilgili çok fazla çalışma yoktur. Hem tam tabaka hem de sero-submukozal konfigürasyonlu sütürler intestinal ansların her iki açık ucunu anatomik olarak karşılıklı getirmeye ve desteklemeye yeterli görülmektedir (40). Submukozanın, anastomoz iyileşmesinde büyük öneme sahip olduğunu destekleyen bir görüş de gastrointestinal ameliyattan sonra aktif hale gelen ve kollajen biriktirmeye başlayan fibroblastların kaynağı olmasına dayanmaktadır. Daams ve ark. deneysel bir modelde evert edilmiş anastomozların iyileşmesinin, fibroblastlar için bir matriks oluşturacak şekilde serozal yüzeyde meydana gelen bir fibrotik kap oluşumuyla bağlantılı olduğunu göstermiştir (41).

İyileşme sürecinde submukozayı bu kadar ön plana koymak mukozanın rolünü göz ardı ettirmiştir. 90' lı yılların başlarında gösterilmiştir ki intestinal sistemde yapılan bir anastomoz özellikle mukoza ve kas katmanlarında uzun süreli ve ciddi bir şekilde enerji metabolizmasında azalmaya yol açmaktadır (42). İyileşme enerji gerektiren bir süreçtir ve bu enerji gereksinimi ATP aracılığıyla sağlanır. Başlangıçta ATP gereksinimi anaerobik şartlarda glikoliz ile karşılanabilir. Ancak çok yüksek miktarlarda enerjiye ihtiyaç duyulan proliferasyon fazında ATP'nin primer kaynağı oksidatif fosforilasyondur. Bu da ancak yeterli oksijen ve glukoz sağlayabilen kan akımı varlığında gerçekleşebilir. Hipoksi veya yetersiz glukozun yara iyileşmesini bozduğu gösterilmiştir (43). Bu nedenle anastomoz iyileşmesinde en önemli lokal faktör yeterli kan akımıdır. Bununla beraber birçok lokal ve sistemik faktör anastomoz iyileşmesini etkilemektedir (Tablo 1) (39, 44).

Doku perfüzyonunu azaltması nedeniyle hipovolemi iyileşmeyi geciktirir (45). Operasyon sırasında oluşacak % 10 oranında volüm kaybının postoperatif 3. günde anastomoz hattında anlamlı düzeyde kollajen azalmasına yol açtığı gösterilmiştir (46). Kollajen sentezinin ana basamaklarından olan lizin ve prolin hidroksilasyonu yeterli oksijen varlığında gerçekleşir (47). İyileşme aşamasında yaşanan iskemi hem yeterli kollajen olmaması nedeniyle dokuda kuvvet kaybına, hem de enfeksiyona eğilime neden olur (46).

Tablo 1. Kolon anastomozunun iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler

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

Anastomoz kaçaklarının en önemli nedenlerinden birisi olarak gösterilen lokal enfeksiyonlar, kolon florasının zengin oluşu sebebiyle bu ameliyatlarda sık görülmektedir (48). Enfeksiyon sonucunda yara dokusunda kollajenaz aktivitesi artarak kollajen miktarında azalmaya yol açar (49). Kolon operasyonlarından önce kolon florasının ve operasyon sırasındaki bulaşın azaltılması amacıyla hazırlık yapılır. Bağırsak temizliği ve beraberinde antibiyotik kullanılmasının postop dönemde anastomoz kaçığını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (50, 51).

Postop dönemde gelişebilecek hematoma ve operasyon alanında bırakılan bütün yabancı cisimlerin enfeksiyon kaynağı olduğu ve anastomoz iyileşmesini engellediği bilinmektedir (52, 53).

Gastrointestinal sistemde uzun dönemli radyasyon maruziyetinin fibrozis, striktür ve endarteritis obliterans sonucu gelişen iskemiye neden olduğu gösterilmiştir (39). Preoperatif dönemde maruz kalınan radyasyonla kombine hipertermi özellikle ekstraparitoneal bölgede yapılan kolon anastomozlarında iyileşmeyi engeller (54).

Kan transfüzyonları da kolon anastomoz iyileşmesini negatif yönde etkiler. Bunun sebebi immün cevabı baskılaması, enfeksiyon yatkınlığını artırması ve intraperitoneal sepsis insidansını artırmasıdır (39).

Kemoterapötik ajanlar fibroblast proliferasyonunu inhibe eder ve nütropeniye neden olurlar. Bunun sonucunda da kollajen sentez bozukluğu ve enfeksiyon yatkınlığı nedeniyle iyileşme bozulur (39, 44).

Kortikosteroidler de antiinflamatuvar etkileri ile yara iyileşmesinin inflamasyon aşamasındaki hücrelerde fonksiyon bozukluğu yaparak yara iyileşmesini bozarlar (55). Başka nedenlerle olan immünsüpresyon da yara iyileşmesi üzerinde aynı etki mekanizmasına sahiptir (39).

Kanama ve anastomoz kaçağına karşı haberci görevi görmelerinin yanı sıra enfeksiyona neden olabilecek koleksiyonları boşaltan drenler postoperatif dönemde cerrah için önemlidir. Ancak anastomoz hattını mekanik olarak erode edebilmeleri, retrograd bir enfeksiyon kaynağı olabilmeleri, adezyon oluşumunu aşırı uyurabilmeleri ve hastaya rahatsızlık verebilmeleri drenlerin dezavantajlarıdır (39).

Diyabet gibi sistemik hastalıklar da yara iyileşmesini kötü etkilemektedir. Fibroblast proliferasyonunda azalmaya; nötrofil, makrofaj, lenfosit fonksiyon bozukluklarına ve mikrovasküler dolaşım bozukluğuna neden olarak yara iyileşmesini bozabilirler (56).

Kollajen sentezinde azalmaya yol açan malnütrisyon ve hipoproteinemi de yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkilere sahiptir (39). A, B6, C ve E vitaminleri ile demir (Fe²⁺), çinko (Zn⁻), selenyum (Se) ve bakır (Cu) gibi eser elementlerin eksikliklerinde de bu maddelerin kollajen sentezindeki hayati rolü nedeniyle iyileşme bozulur (39, 57)

Katabolik etkileri nedeniyle malign hastalıklar da yara iyileşmesi için ciddi sorunlar yaratırlar (58).

Karaciğer yetmezliğine neden olacak her türlü durum da protein sentez bozukluğu mekanizmasıyla iyileşmeyi geciktirir (18).

Kolonun içini kaplayan mukus ve içerisinde yerleşmiş olan flora dikkate alındığında mukozanın görevi kesinlikle göz ardı edilmemelidir. Muc2 sentezi bozulan (genetik mühendislikle mukusun yapısal bir proteini olan Muc2' nin mukoza tarafından sentezinin engellendiği) farelerin kontrol farelerine göre anastomoz kaçağı

gelişimine daha yatkın oldukları ve normal bir mukus tabakasının anastomoz iyileşme sürecini kolaylaştırdığı gösterilmiştir (59). Son kanıtlar, iyileşme sürecinin bozulmasına bağlı olarak ortaya çıkan anastomoz kaçağının patogenezinde bakterilerin de etkin rol oynadığını ve mukoza ile salgıladığı mukus yapısının anastomoz iyileşmesindeki olumlu etkilerini göstermektedir (60, 61). Mevcut veriler göz önüne alındığında, anastomoz kaçağının patogenezinde bakterilerin rolü olduğu görülmektedir ancak bu rol tam olarak açıklanamamıştır. Mikrobiyatanın spesifik hücrelerle ve salgıladıkları ürünler ile anastomoz sahasındaki etkileşimlerini tamamen aydınlatmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (36).

Cerrahi teknik de anastomoz iyileşmesi için önemli bir faktördür. Kaba cerrahi teknik, aşırı mobilizasyon ve dikiş veya staplerin çok sıkı konulması; anastomoz perfüzyonunu ve yara iyileşmesini bozan faktörlerdir (62). Bununla birlikte yetersiz mobilizasyon da gerginliğe neden olacağı için anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilemektedir. Anastomoz esnasında hemostaz için aşırı elektrokoter kullanımı, kontaminasyonun engellenmesi için konulan klempelerin uzun süreli ve sıkı olması, sıkı sütürler ve staplerler kritik damarları hasarlayabilir ve dokuda iskemi oluşur (62). Ayrıca gastrointestinal sistemde inverte edilen anastomozların everte edilenlere göre daha iyi iyileştiği bilinmektedir (63). Tek tek atılan anastomoz dikişlerinin devamlı olanlara göre daha az lokal iskemi oluşturduğu ve anastomoz kaçağı riskini azalttığı bildirilmiştir (64, 65).

İdeal sütür materyali, enfeksiyonu önlemeli, anastomotik bütünlük sağlanıncaya kadar gücünü korumalı ve minimal doku reaksiyonu oluşturmalıdır. Ayrıca anastomoz sırasında atılan düğümler güvenli olmalı, açılmamalıdır (66, 67).

Vücutta en fazla makrofaj gastrointestinal mukozada bulunur ve yokluğu veya işlev bozukluğu anastomoz iyileşmesini engeller (68, 69). Makrofajlar, davranışlarına göre pro-inflamatuar (M1) ve anti-inflamatuar (M2) olmak üzere iki gruba ayrılır. M2 / M1 oranındaki değişiklikler anastomoz iyileşmesi sonucunu etkileyebilir (70). Farklı hücre tipleri ve fonksiyonları ile bağırsak duvarının tabakaları intralüminal içerikle birlikte iyileşme sürecinin aydınlatılmasında anahtar olabilir (36).

Birçok araştırmacının gastrointestinal iyileşmenin aşamaları olarak da tariflediği yara iyileşmesinin klasik evreleri (inflamasyon, proliferasyon, remodeling), yoğun olarak deri yaralanmalarında incelenmiştir (71, 72). Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesinde ilk olarak anastomoz dudaklarında vazokonstrüksiyon gelişir. Ardından vazodilatasyon ve kapiller permeabilite artışı görülür. Yaralanmadan 3 saat sonra bölgeye nötrofiller gelir ve 12-24 saat içerisinde maksimum düzeye ulaşırlar. Ardından makrofajlar ve fibroblastlar yara yerine ulaşır. Makrofajlardan salınan sitokinler fibroblastlar ve düz kas hücrelerinde kollajen sentezini ve neovaskülarizasyonu uyarır. 3-4 gün süren bu evrede inflamasyon ve ödem gözlenir. Kollajen sentezinin başlamasıyla proliferasyon evresine geçilir (39, 44, 42). Postoperatif 4. günden başlayarak anastomozda kollajen miktarı artar ve anastomoz kuvveti artmaya başlar (73). Submukozada sentezlenen kollajen ile yara dudakları arasında köprüler ve çapraz bağlar oluşmaya başlar. İnflamasyon evresinde anastomozu bir arada tutan sütürlerin bu dönemde artık bir önemi kalmaz (7.-14. günler) (42). Remodeling döneminde de granülasyon dokusu azalır ve yerini düzenli hücre gruplarına, düz kas hücrelerine ve normal dokuya bırakır. Bu evre 10-180 gün arası sürebilir. Anastomoz bütünlüğü, kollajen sentez ve yıkımı arasındaki hassas dengeye dayanır (42). Bu 3 faz tüm doku tiplerinde yara iyileşmesinde aynı şekilde işlemektedir ancak deri ve gastrointestinal sistemdeki yara iyileşmesi süreçleri arasında önemli farklılıklar mevcuttur (74). Kollajen ve kollajenaz aktivitesi, yara kuvveti ve yara ortamı bu farklılıkları yaratır. Ciltteki fibroblastlar tarafından üretilen kollajen alt tiplerine (I ve III) kıyasla gastrointestinal sistemdekiler (I, III, V), fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından üretilir. Anastomoz iyileşmesinde kollajenaz aktivitesi de önemli bir rol oynar. Kollajen lizisine neden olan aşırı kollajenaz aktivitesi düşük anastomoz kuvvetiyle sonuçlanacak bir iyileşmeye yol açar (75). Yara iyileşmesi, kayma stresi, anastomoz iyileşmesini etkileyebilen bakteri ve bağırsak ortamında daha fazla bulunan vasküler perfüzyondaki değişiklikler gibi potansiyel risklere rağmen, gastrointestinal kanalda deriden çok daha hızlıdır (39, 74). İki doku arasındaki fark sadece bileşenler açısından değil, dokunun verdiği reaksiyon açısından da mevcuttur. Örneğin farklı dokularda aynı hücrenin farklı roller oynadığı gösterilmiştir (76). Bu farklılıkların açıklamalarından biri, kutanöz ve intestinal kollajen sentezi arasındaki farklarda olabilir, ancak aynı zamanda cilt

florası ve bağırsak mikrobiyotası tamamen değişebilir, bu da yara iyileşmesinde farklılıklarda önemli bir rol oynayabilir (77, 78, 79).

2.4. Anastomoz İyileşmesini Değerlendirme Yöntemleri

Anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesinde sıklıkla mekanik, biyokimyasal ve histopatolojik yöntemler kullanılır. Ancak nadir kullanılan diğer bazı yöntemler de bulunur.

2.4.1. Mekanik Değerlendirme Yöntemleri

a) Anastomoz patlama basıncı: Anastomoz iyileşmesini değerlendirmek için yaygın kullanılan yöntemlerden birisi anastomoz patlama basıncının ölçülmesidir. Artan lümen içi basınca karşı duvar direncini gösteren parametreye patlama basıncı denilir. Ölçüm yapılacak bağırsak segmentinin iki tarafından kapatılarak kapalı bir loop oluşturulup hava veya sıvı ile şişirilmesi ve manometre aracılığı ile kaçak anındaki lümen içi basıncın kaydedilmesi suretiyle ölçülür (44, 42, 80).

b) Kopma Direnci (Ayrılma Kuvveti): Anastomoz hattını içeren bağırsak ansının uzun eksenine paralel kesilerek, standart genişlik ve uzunlukta hazırlanan bir şeridin iki ucuna karşıt yönlerde kuvvet uygulanırken kopmayı sağlayan kuvvetin ölçümüdür (80).

2.4.2. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri

Anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal değerlendirilmesinde submukozal dokuda yerleşerek bağırsak duvarının devamlılığını ve mekanik kuvvetini sağlayan kollajenin dokudaki konsantrasyonu kullanılmaktadır. Bu konsantrasyon ölçümü ise hemen hemen sadece kollajen yapısında bulunan hidrokspirolin düzeyleri ölçülerek yapılır (81).

Anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer parametre de oksidatif stres ve nötrofil invazyonunu, dolayısıyla yara iyileşmesinin inflamasyon fazını gösteren doku myeloperoksidaz düzeylerinin ölçümüdür (82).

2.4.3. Histopatolojik Değerlendirme Yöntemleri

Anastomoz iyileşmesinin histopatolojik değerlendirilmesinde ışık ve elektron mikroskobu kullanılabilir. Işık mikroskobu ile inflamatuvar hücrelerin tipleri ve miktarları, nekroz derecesi, kapiller ve mukozal onarımın durumu incelenebilir. Bu veriler semikantitatif çeşitli skorlama sistemleri ile değerlendirilerek istatistiksel karşılaştırmalar uygulanabilir. Nekrozun ve inflamatuvar göçün fazla olması, granülosit kökenli kollajenaz aktivitesinin artması ve dolayısıyla daha zayıf iyileşme ile sonuçlanmaktadır. Elektron mikroskobu rutinde kullanılmamakla birlikte, kollajenin lif diziliş şekilleri ve normale göre oluşan farklılıklar ile hücrenin organel düzeyindeki yapısal değişiklikleri incelenebilir (83, 84, 85).

2.4.4. Radyoaktif İşaretleme Yöntemleri

Dokuların rejenerasyon kapasitelerinin incelenmesinde çeşitli radyoaktif maddelerle yapılan incelemeler de kullanılabilir. Fibroblastlar işaretlenerek (timidin C14 ve H3 ile) anastomotik fibroblastik aktivite sayısal olarak değerlendirilebilir. Hidroksiprolin düzeyi ve kollajen sentez yüzdesi de belirlenebilmektedir (86).

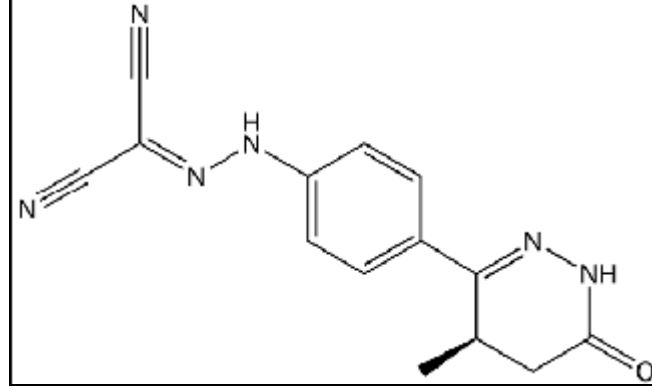
2.4.5. Diğer Değerlendirme Yöntemleri

Anastomoz hattında yara iyileşmesini değerlendirmek amacıyla kullanılan doppler ultrasonografi, lokal ısı ölçümleri, flöranan ile boyama ve mikroanjiyografi gibi yöntemlerde mevcuttur (44, 86, 80).

2.5. Levosimendan

Levosimendan, troponin C' ye (TnC) yüksek bağlanma afinitesi olan, (R)-[[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-okso-3-piridazinil)fenil]hidrazono] propandinitril yapısında, kapalı formülü C₁₄H₁₂N₆O olan piridazinon-dinitril türevi kardiyovasküler bir ajandır (Şekil 3). 280.285 g/mol moleküler ağırlığındadır. Orta derecede lipofilik özelliktedir. Zayıf asittir (pKa=6.3). Distile su ve fosfat tamponlarında çözünürlüğü az ve etanoldeki

çözünürlüğü yüksek olduğundan ticari infüzyon preparatlarında çözücü olarak etanol kullanılmıştır (87).



Şekil 3. Levosimendan'ın kimyasal yapısı (87)

Levosimendan, miyokardın Ca^{+2} 'a duyarlılığını arttıran ve vazodilatatör etkiye sahip, kalp yetersizliğinin akut alevlenmesinin kısa dönem tedavisi için geliştirilmiş yeni bir inotropik ajandır. Kardiyak performansı artırmak için bu ajan teorik olarak, hücre içi Ca^{+2} ve cAMP düzeylerini arttırmaksızın troponin C' ye bağlanıp kontraktıl proteinlerin Ca^{+2} 'a duyarlılığını artırır (88). Diğer Ca^{+2} duyarlılaştırıcılar terapötik dozlarda fosfodiesteraz (FDE) inhibisyonu yaparken, Levosimendan terapötik dozun üzerine çıktığında FDE' yi selektif olarak inhibe eder (89). Miyosit ve damar duvarlarındaki ATP bağımlı K^{+} kanallarını açan Levosimendan sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona, miyokardiyal önyük ve artyükte azalmaya neden olur (88). Levosimendan'ın ATP bağımlı K^{+} kanalları üzerindeki bu etkisi ilacın iskemiye karşı koruyucu etkileri olmasını da sağlamaktadır (90). Sürekli sabit dozda infüzyon yapılırsa 4. saatte kararlı durum konsantrasyonuna ulaşılır, daha hızlı etki isteniyorsa yükleme dozu infüzyonu ile 12 dk sonra plazma doruk konsantrasyonuna ulaşılır. %95-98 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Karaciğerde konjugasyonla metabolize olur ve 1/3' ü idrarla, 1/3' ü feçesle atılır. Ancak, bağırsaktaki bakteriler feçesteki metabolitlerin bir kısmını redüksiyonla aromatik bir amin olan aktif OR-1855 metabolitine dönüştürürler. OR-1855' de reabsorpsiyon ile karaciğerde asetillenerek daha aktif metabolit olan OR-1896' ya dönüşür. Sağlıklı gönüllülerde OR-1896' nın yarılanma ömrü 60 saattir (91).

İn vitro ve in vivo ortamda Levosimendan vazodilatasyon oluşturmaktadır. Levosimendan' ın insan koroner arteri (92), insan portal veni (93) ve rat mezenterik arterinde (94) gevşeme oluşturduğu ve rat arteriyal myositlerinde ATP bağımlı K⁺ kanallarını aktive ettiği (95) gösterilmiştir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları Ve Deney Ortamı

Araştırmamız T.C. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu' nun 10.01.2017 tarih ve 91330202-01 sayılı kararı ile Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur. Bütün prosedürler 20 Eylül 1985' te Strasbourg' da kabul edilen "Omurgalı Hayvanların Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlarla Kullanılması" kılavuzu doğrultusunda Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı' nda uygulandı.

Çalışmada 60 adet, 6-8 haftalık, ortalama ağırlıkları 253-297 g arasında değişen Wistar Albino soyuna ait dişi ratlar kullanıldı. Onar adet hayvandan oluşan rastlantısal seçilmiş 6 deney grubu oluşturuldu. Bütün denekler ameliyat öncesi sabit çevre koşulları altında, su ve standart laboratuvar yemi ile beslenerek, tel kafeslerde yaşatılmıştır.

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

3.2. Deney Grupları

Ratlar 6 gruba randomize edildi:

Tüm deney hayvanlarında iskemik sol kolon anastomozu, bağırsakta tam kat kesi yapılıp anastomoz uygulanacak hattın 2 cm proksimali ve 2 cm distaline değin olan 4 cm' lik bağırsak segmentinin mezosu bipolar koter kullanılarak kesilmek suretiyle iskemik bırakılmasının ardından yapıldı.

Grup 1' deki hayvanlara iskemik sol kolon anastomozu uygulanmış olup postop 4. günde yeniden operasyona alınarak inceleme için gerekli örneklerin alınması ve ölçümlerin yapılmasının ardından ratlar sakrifiye edildi.

Grup 2' deki hayvanlara aynı işlemler uygulanıp Grup 1' den farklı olarak sekonder operasyon ve incelemeler postop 7. günde yapıldı ve sakrifikasyon yapıldı.

Grup 3' teki hayvanlara preop ve postop 3' er gün süresince günlük 0,3 mg/kg (düşük doz) Levosimendan intraperitoneal yolla verilerek aynı işlemler

tekrarlanıp sekonder operasyon ve incelemeler postop 4. günde uygulandı ve sakrifikasyon yapıldı.

Grup 4' teki hayvanlara preop ve postop 3' er gün süresince günlük 0,3 mg/kg (düşük doz) Levosimendan intraperitoneal yolla verilerek aynı işlemler tekrarlanıp sekonder operasyon ve incelemeler postop 7. günde uygulandı ve sakrifikasyon yapıldı.

Grup 5' teki hayvanlara preop ve postop 3' er gün süresince günlük 1 mg/kg (yüksek doz) Levosimendan intraperitoneal yolla verilerek aynı işlemler tekrarlanıp sekonder operasyon ve incelemeler postop 4. günde uygulandı ve sakrifikasyon yapıldı.

Grup 6' daki hayvanlara preop ve postop 3' er gün süresince günlük 1 mg/kg (yüksek doz) Levosimendan intraperitoneal yolla verilerek aynı işlemler tekrarlanıp sekonder operasyon ve incelemeler postop 7. günde uygulandı ve sakrifikasyon yapıldı.

3.3. Cerrahi Yöntem

Ratlara preop dönemde bağırsak temizliği amaçlı hiçbir işlem yapılmadı. Her rata intramüsküler 80 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar® flakon, Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., Lüleburgaz, Türkiye) enjekte edilerek dissosiyatif anestezi sağlandı. Rat ameliyat masasına sırtüstü yatırıldıktan sonra kuyruk ve ayaklarından bantlanarak masaya tespit edildi. Karın cildi povidon iyot ile silinerek antisepsi sağlandı. 4 cm uzunluğundaki standart orta hat insizyonla laparotomi uygulandı. Sol kolon ortaya konulduktan sonra transeksiyon uygulanarak bu hattın 2 cm proksimali ve 2 cm distaline kadar olan bağırsak segmentini besleyen vasküler ağ bipolar koter yardımıyla koagüle edilerek kesildi (Resim 2). Dikiş materyalinin anastomoz iyileşmesi üzerine etkisini minimuma indirmek için emilmeyen, monoflaman, yuvarlak iğneli 6/0 polipropilen dikişler kullanılarak anastomoz yapıldı (Resim 4). 6-8 adet tek tek tam kat primer dikiş ile uç uca anastomoz işlemi uygulandı. Orta hat kesisi, fasya ve cilt ayrı ayrı olacak şekilde 3/0 ipek dikişler kullanılarak kapatıldı. 60 ratın tamamına aynı cerrahi prosedürler uygulandı. El becerisinin sonuçlara etkisini mümkün olan en alt seviyeye indirmek için her gruptan denekler tek bir cerrah

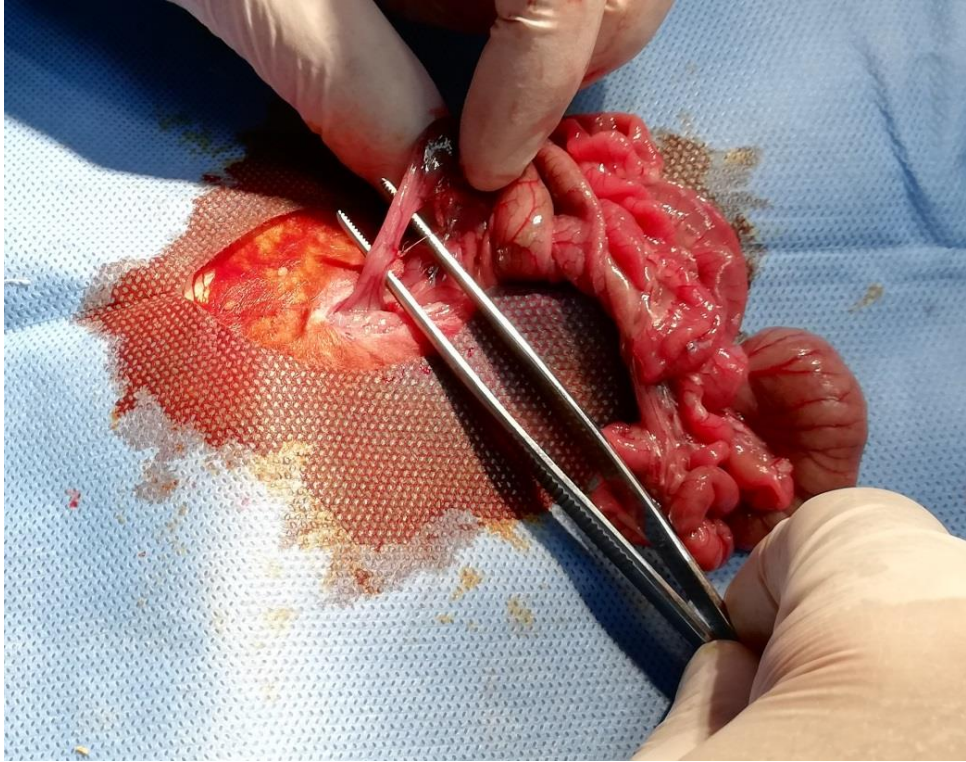
tarafından, karışık olarak ameliyat edildi. Tüm denekler her grup için çalışmanın tamamlandığı günlerde yeniden tarif edilen şekilde uyutularak, orta hat laparotominin ardından intrakardiyak kan alma yöntemi ile sakrifiye edildi. Patlama basıncının ölçülmesinin ardından kolon segmenti anastomoz hattının 2 cm proksimal ve 2 cm distalini içerecek şekilde rezeke edilerek, anastomozun ortasından longitudinal bir şekilde 2 eşit parçaya bölündü. Bir parça histopatolojik inceleme için % 10' luk formaldehid solüsyonuna konuldu, diğer parça biyokimyasal markerların ölçümünün yapılacağı zamana kadar -80 santigrad derecede dondurularak saklandı.



Resim 1. Deneklere anestezi uygulaması



Resim 2. İlgili kolon segmentinin devaskularize edilmesi



Resim 3. Devaskularize kolon segmenti

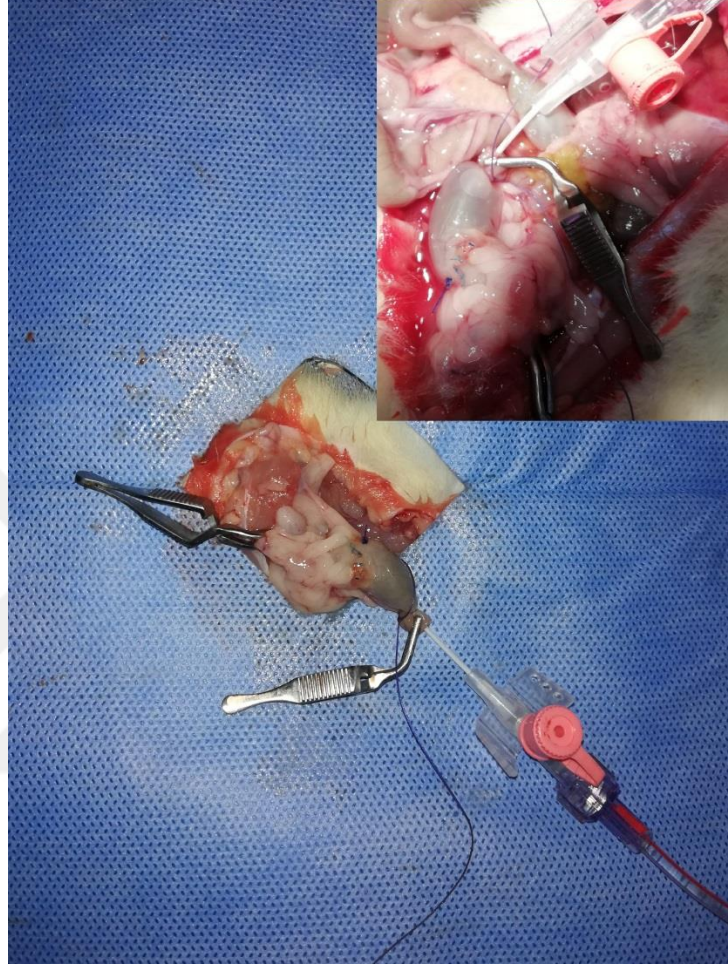


Resim 4. Anastomozu tamamlanmış kolon

3.4. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçümü

Patlama basıncını ölçmek için sıvı pompası (Infusion pump, abbott, ABD), basınç transdüseri (Transpac IV, Abbott, ABD) ve monitör (Petas KMA 460 R, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Karına eski insizyon hattından girilerek anastomoz yapılan segment tespit edildi. Ölçümlerin yanlış çıkmasına neden olabilecek bir kaçığa neden olmamak için anastomoz bölgesinin manuplasyonu sırasında adezyonları açmamaya dikkat edildi. Anastomoz ayrılması, kaçak varlığı veya apse gelişimi açısından anastomoz makroskopik olarak incelendi. Sigmoid kolon distalinden lümenine sokulan kateter anastomoz hattına kadar ilerletildi. İçerisinde kateter olan sigmoid kolon anastomozun 2 cm distali ve 2 cm proksimalinden ipek sütürlerle bağlanarak kapalı bir sistem oluşturuldu. İnfüzyon pompasıyla 2 ml/dk serum fizyolojik verilerek kolon segmenti şişirildi. Bu sırada monitörden intraluminal basınç takip edildi. Anastomoz hattından sıvı kaçağı görüldüğü anda monitörde

basıncın çıktığı en yüksek değer tespit edilerek anastomoz patlama basıncı olarak kaydedildi (Resim 5).



Resim 5. Anastomoz patlama basıncı ölçümü

3.5. Hidroksiprolin Ve Myeloperoksidaz Düzeyi Ölçümü

Doku örnekleri PBS tamponla homojenize edildi (Ultra Turrax IKA T18). Doku homojenatlarından Myeloperoksidaz ve Hidroksiprolin ölçümü için sandwich enzim-bağlı immunosorbent ölçüm (ELISA) kitleri (Sunredbio, Shanghai, China) kullanıldı.

3.6. Patolojik İnceleme

Histopatolojik incelemeler Hitit Üniversitesi Erol Olçok Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği'nde yapıldı. Ratlara ait kolon spesmenleri %10 formalinde fikse edildi. Anastomoz hatları özenle örneklendi ve rutin histolojik doku takibine alındı. Takip ardından, parafin gömülü doku örneklerinden 4 mikron kalınlıkta kesitler alındı. Bu kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Tüm gruplara ait örnekler numaralandırıldı ve kör olarak iki deneyimli patolog (YB, HHKŞ) tarafından incelendi. İki patolog arasında uyumsuz olarak derecelendirilmiş olan olgular tekrar birlikte incelenerek son derecelendirmeleri yapıldı.

Histolojik inceleme Parra-Membrives ve ark. tarafından modifiye edilen parametreler doğrultusunda 4 farklı histomorfolojik bulgu grubu göz önüne alınarak yapıldı (96). Histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek için, anastomoz mukozasının reepitelizasyonu, enflamatuar granülom varlığı, granülasyon dokusu oluşumu, kas tabakasının tahribatı ve anastomoz hattında enflamatuar infiltrasyon incelenmiştir.

Tablo 2. Anastomoz mukozasının reepitelizasyonu

Skor	
0	Anastomoz hattında epitelizasyon olmaması
1	Anastomoz hattının tek bir hücre katmanı ile kısmen örtülmesi
2	Anastomoz hattının tek bir hücre katmanı ile tam olarak örtülmesi
3	Glandüler epitel ile tam reepitelizasyon

Tablo 3. İnflamatuar granülom varlığı ve granülasyon dokusu oluşumu

Skor	İnflamatuar hücreler	Neovaskülarizasyon	Fibroblastlar	Fibrozis
1	Yok	Yok	Yok	Yok
2	Minimal	Minimal	Minimal	Minimal
3	İlımlı	İlımlı	İlımlı	İlımlı
4	Şiddetli	Şiddetli	Şiddetli	Şiddetli

Tablo 4. Kas tabakasının tahribatı

Skor	İskemik nekroz	Müsküler tabakanın bütünlüğü	İnflamasyon
1	Yok	Tam bozulma	Yok
2	Minimal	Kısmi bozulma	Minimal
3	İlımlı	Tam iyileşme	İlımlı
4	-	-	Şiddetli

Tablo 5. Anastomoz hattında inflamatuvar infiltrasyon

Skor	Nötrofil	Lemfosit	Histiyoisit	Dev hücre
1	Yok	Yok	Yok	Yok
2	Minimal	Minimal	Minimal	Minimal
3	İlımlı	İlımlı	İlımlı	İlımlı
4	Şiddetli	Şiddetli	Şiddetli	Şiddetli

3.7. İstatistiksel Yöntem

Gruplardaki hayvan sayısı literatür taramasına göre belirlenmiştir. Verilerin analizi SPSS.18 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analiz olarak gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Mann-Whitney testine göre yapıldı.

4. BULGULAR

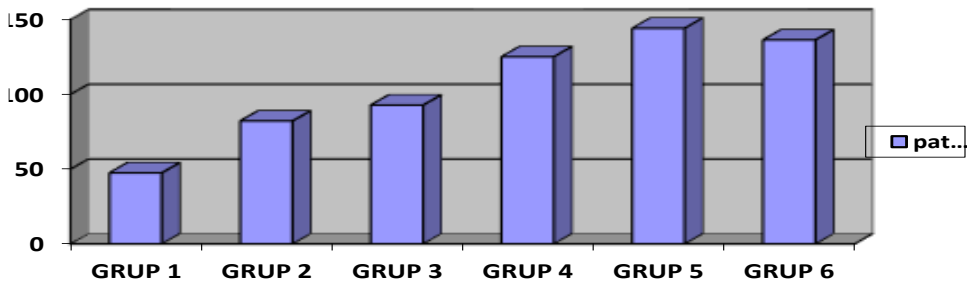
4.1. Anastomoz Patlama Basınçları

En yüksek ortalama patlama basıncı değeri grup 5' te, en düşük değeri ise grup 1' de saptandı. Tüm gruplara ait patlama basınçlarının ortalama değerleri ile standart sapmaları Tablo 6' da, gruplara göre değerlerin dağılımını Grafik 1' de gösterilmiştir.

Tablo 6. Patlama basıncı değerlerinin (mmHg) ortalamaları ve standart sapmaları

Grup (n=10)	Anastomoz patlama basınçları (mmHg)	
	Mean	Std. Dev.
1	47,50	21,89
2	82,20	23,41
3	92,80	19,57
4	125,10	33,50
5	144,20	38,50
6	136,40	39,19

Grafik 1. Gruplara göre patlama basıncı (mmHg) değerlerinin dağılımı



4.2. Hidroksiprolin Ve Myeloperoksidaz Düzeyleri

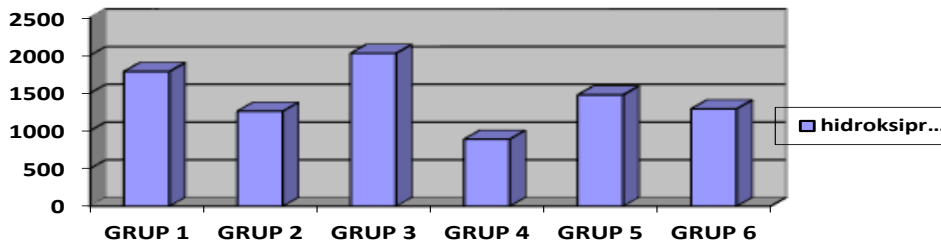
En yüksek ortalama doku myeloperoksidaz değeri grup 5' te, en düşük değeri ise grup 2' de saptandı. En yüksek ortalama doku hidroksiprolin değeri grup 3' te, en düşük değeri ise grup 4' te saptandı.

Tüm gruplara ait biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri ile standart sapmaları Tablo 7' de, gruplara göre değerlerin dağılımı Grafik 2 ve 3' te gösterilmiştir.

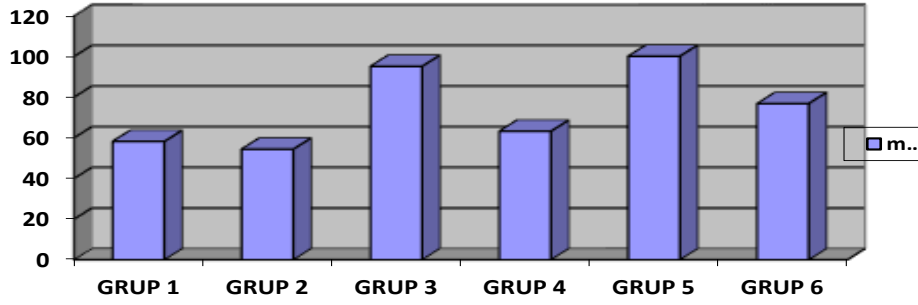
Tablo 7. Miyeloperoksidaz (ng/ml) ve hidroksiprolin (ng/ml) değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları

Grup (n=10)	Myeloperoksidaz (ng/ml)		Hidroksiprolin (ng/ml)	
	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.
1	58,19	31,15	1785,90	425,64
2	54,36	39,38	1259,76	676,99
3	95,10	35,88	2027,88	1088,54
4	63,18	23,19	889,02	662,74
5	100,09	64,47	1475,10	681,62
6	76,77	30,33	1290,84	719,27

Grafik 2. Gruplara göre doku hidroksiprolin (ng/ml) değerlerinin dağılımı



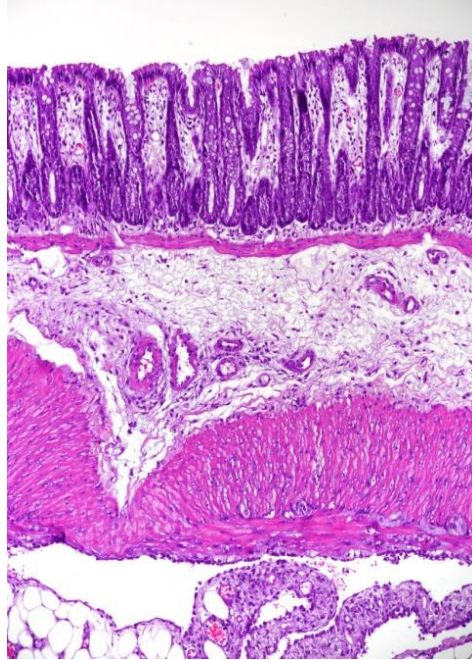
Grafik 3. Gruplara göre doku myeloperoksidaz (ng/ml) değerlerinin dağılımı



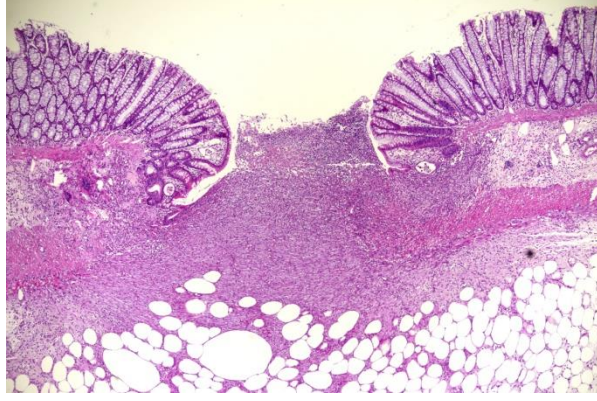
4.3. Anastomoz Hattı Yara İyileşmesi Skorları

Histopatolojik değerlendirmede kullanılan parametrelere ait skorların ortalama değerleri ile standart sapmaları Tablo 8, 9, 10 ve 11’ de, gruplara göre değerlerin dağılımını Grafik 4, 5, 6 ve 7’ de gösterilmiştir.

Histopatolojik incelemeler sırasında rastlanılan bulguların görselleri resim 6-19’ da gösterilmiş ve açıklamaları ayrıntılı olarak verilmiştir.



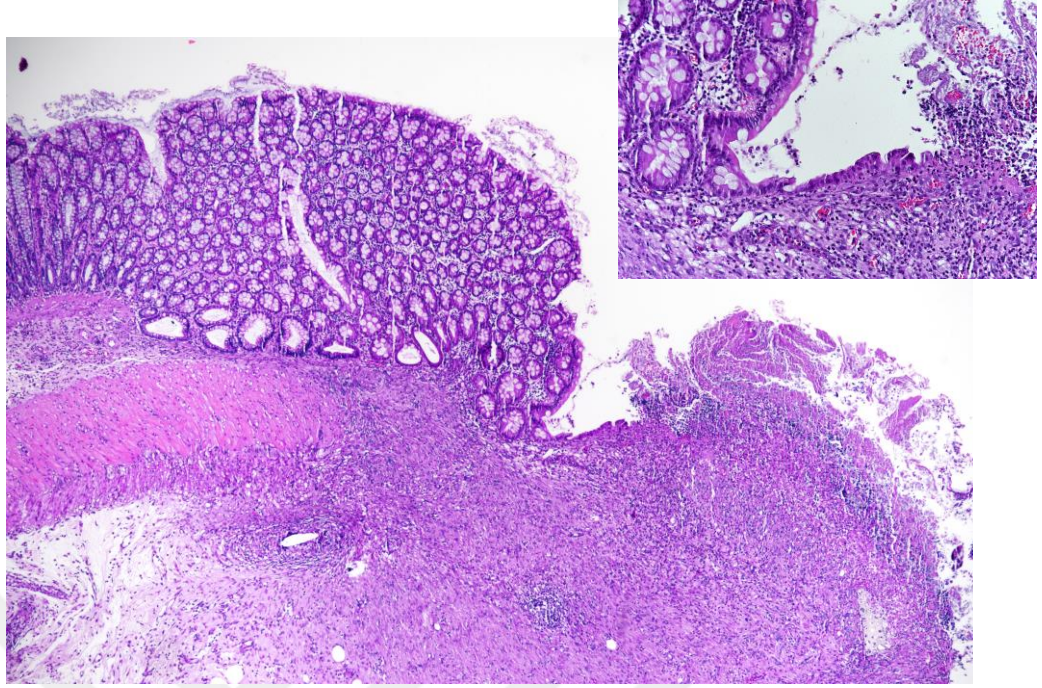
Resim 6. Düzenli yapıda kolon duvar kesiti



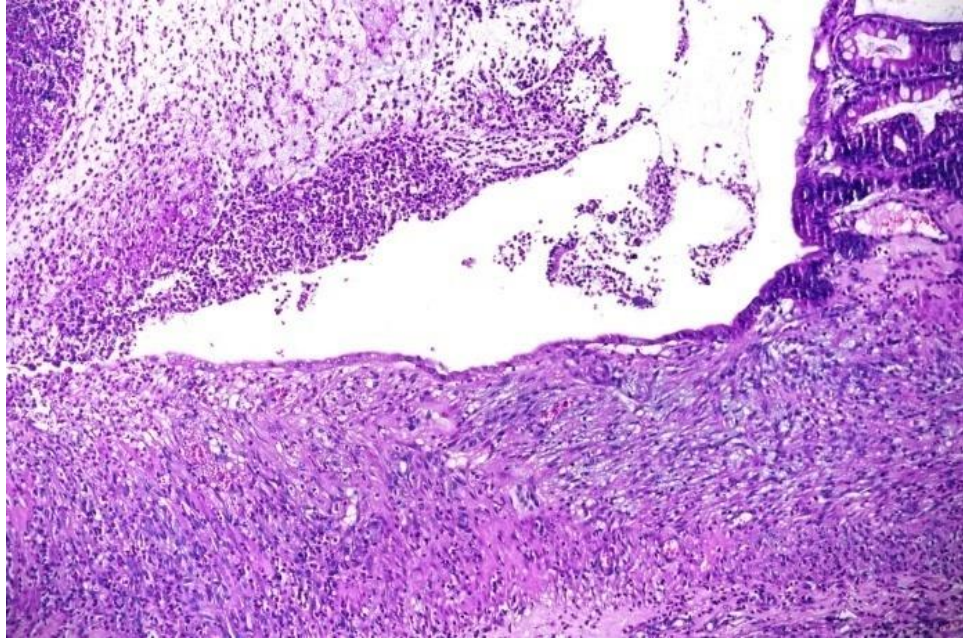
Resim 7. Anastomoz hattı. Yüzeyde ülser zemini ile serozaya kadar devam eden fibroplastik proliferasyon ve şiddetli inflamasyon. Her iki uçta inkomplet reepitelizasyonun izlendiği tek sıralı epitel proliferasyonu mevcuttur (HE x4)

Tablo 8. Anastomotik mukozada reepitelizasyon skor ortalamaları ve standart sapmaları

Grup	Anastomotik mukozada reepitelizasyon	
	Mean	Std. Dev.
1	0,90	0,99
2	1,80	0,42
3	0,30	0,48
4	1,50	0,53
5	1,00	0,94
6	0,40	0,52



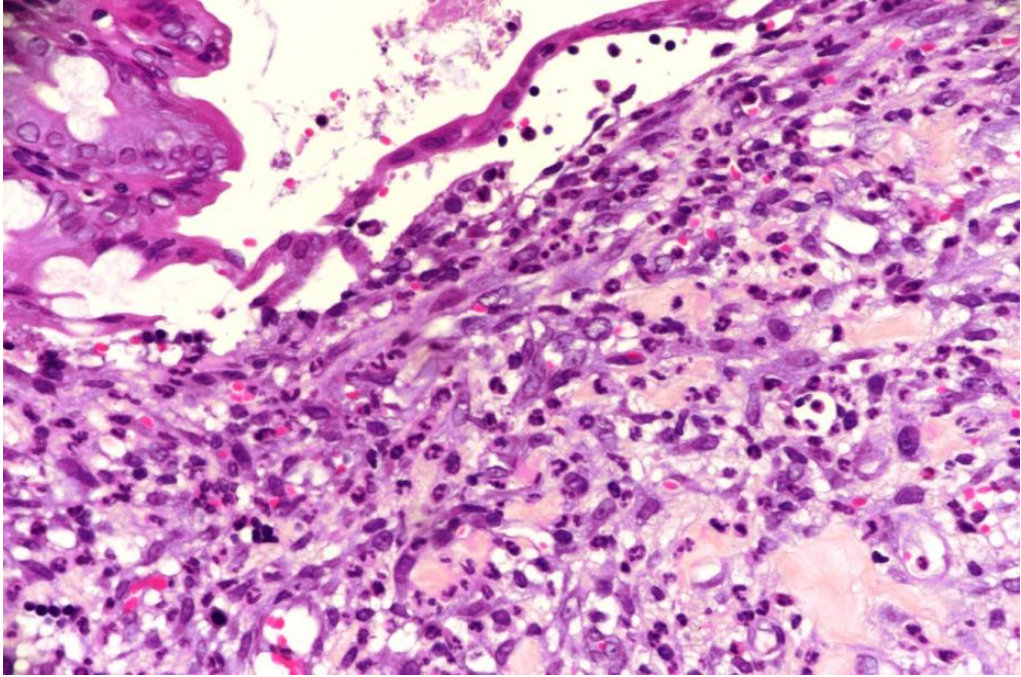
Resim 8. Şiddetli inflamasyon ile birlikte inkomplet yüzeyi kaplayan tek sıralı epitelle döşeli reepitelizasyon alanı Ç2 (HE X4). Insert: Şiddetli derecede nötrofillerin eşlik ettiği inkomplet yüzeyi kaplayan tek sıralı epitelle döşeli reepitelizasyon alanı (HE X20)



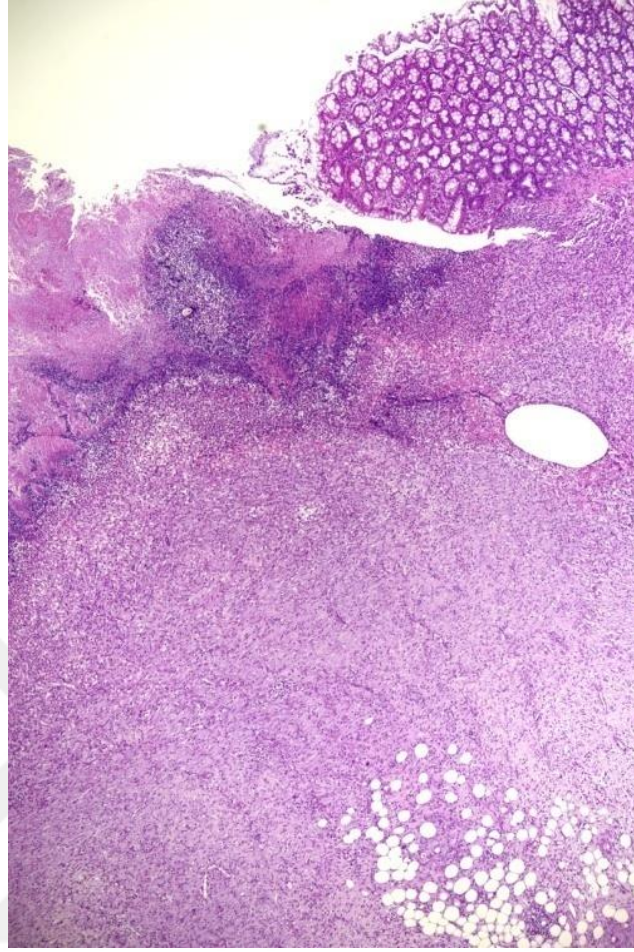
Resim 9. Şiddetli derecede nötrofillerin eşlik ettiği inkomplet yüzeyi kaplayan tek sıralı epitelle döşeli reepitelizasyon alanı (HE X20).

Tablo 9. İnflamatuar reaksiyonu değerlendiren parametrelerin skor ortalamaları ve standart sapmaları

Grup	İnflamatuar granülom varlığı ve granülasyon dokusu oluşumundaki							
	İnflamatuar hücreler		Neovaskülarizasyon		Fibroblastik aktivite		Fibrozis	
	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.
1	3,50	0,71	2,00	0,67	2,00	0,67	1,80	0,79
2	3,40	0,70	2,60	0,52	3,30	0,48	1,70	0,68
3	3,50	0,85	2,40	0,97	2,10	0,32	1,10	0,32
4	3,80	0,42	2,30	0,48	3,40	0,52	1,00	0,00
5	3,90	0,32	2,30	0,68	1,70	0,48	1,00	0,00
6	3,60	0,70	2,30	0,48	3,70	0,68	2,70	0,82



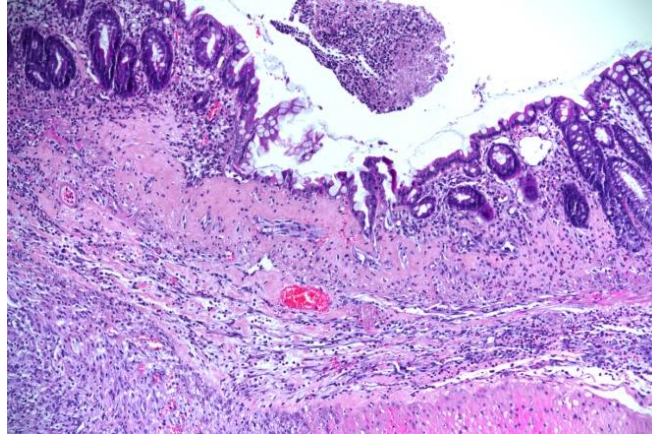
Resim 10. Şiddetli derecede nötrofillerin eşlik ettiği tek sıralı epitelle döşeli reepitelizasyon alanı (HE X40).



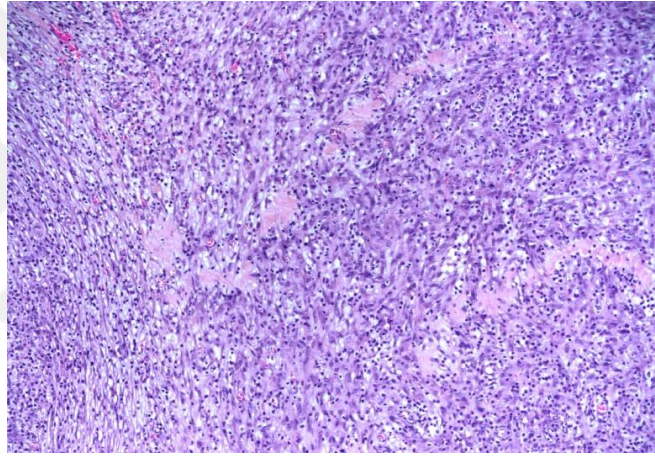
Resim 11. Şiddetli derecede inflamasyon, fibroplazi ve kas doku hasarının izlendiği anastomoz hattı (HE x4).

Tablo 10. M. Propriadaki iyileşmeyi değerlendiren parametrelerin skor ortalamaları ve standart sapmaları

Grup	M. propriada					
	İskemik nekroz		Bütünlük		İnflamatuar hücre reaksiyonu	
	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.
1	1,30	0,48	1,40	0,70	3,20	0,63
2	1,00	0,00	1,00	0,00	2,30	0,68
3	1,70	0,48	1,00	0,00	2,90	0,57
4	1,40	0,52	1,00	0,00	2,40	0,52
5	3,00	0,67	1,00	0,00	3,60	0,70
6	1,10	0,32	1,40	0,52	3,60	0,52



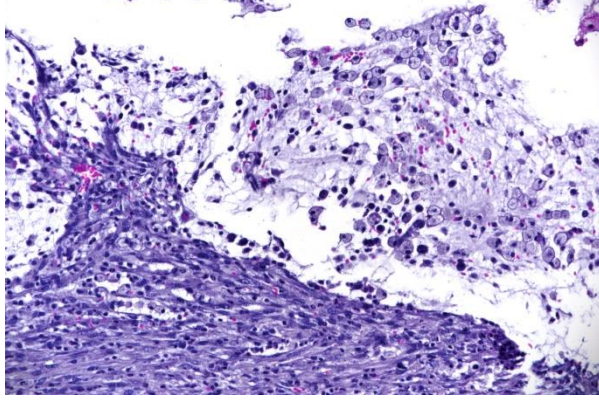
Resim 12. Kolonik glandların eşlik ettiği komplet reepitelizasyon, minimal inflamasyon ve şiddetli fibrozis (HE x10).



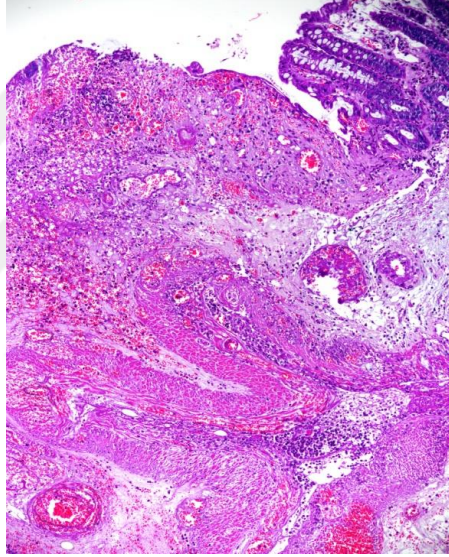
Resim 13. Minimal fibrozis odaları ve şiddetli inflamasyon (HE x10).

Tablo 11. Anastomoz hattındaki inflamatuvar hücreleri değerlendiren skor ortalamaları ve standart sapmaları

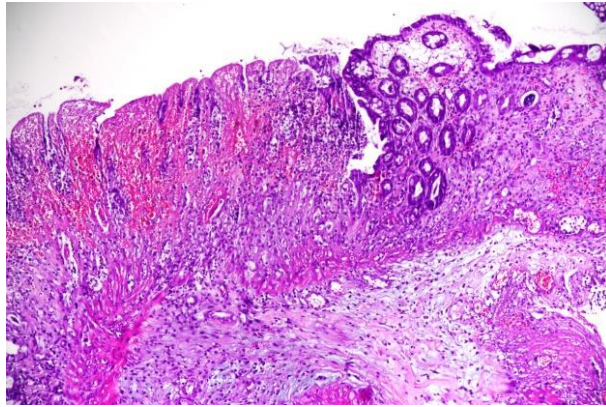
Grup	Anastomoz hattındaki inflamasyona ait							
	Nötrofil		Lenfosit		Histiyosit		Giantcell	
	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.
1	3,50	0,53	2,00	0,47	1,00	0,00	1,00	0,00
2	3,30	0,48	2,80	0,42	2,30	0,68	1,00	0,00
3	3,90	0,32	2,00	0,00	1,60	0,52	1,00	0,00
4	3,80	0,42	2,60	0,52	1,70	0,68	1,00	0,00
5	4,00	0,00	2,10	0,32	2,30	0,48	1,00	0,00
6	3,50	0,53	2,60	0,52	1,00	0,00	1,00	0,00



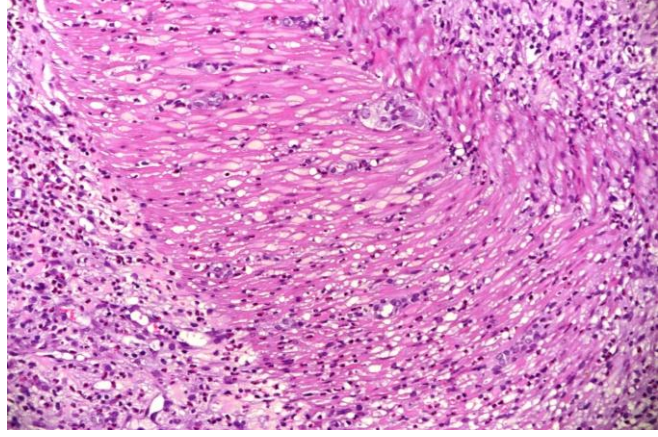
Resim 14. Fibrozis alanında ve anastomoz hattı yüzeyinde çok sayıda köpüksü sitoplazmalı histiositler (HE x20).



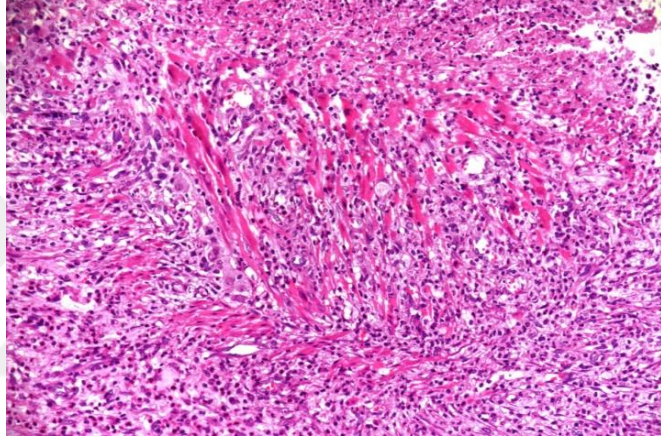
Resim 15. Orta şiddetli iskemik nekroz bulguları (HE X10)



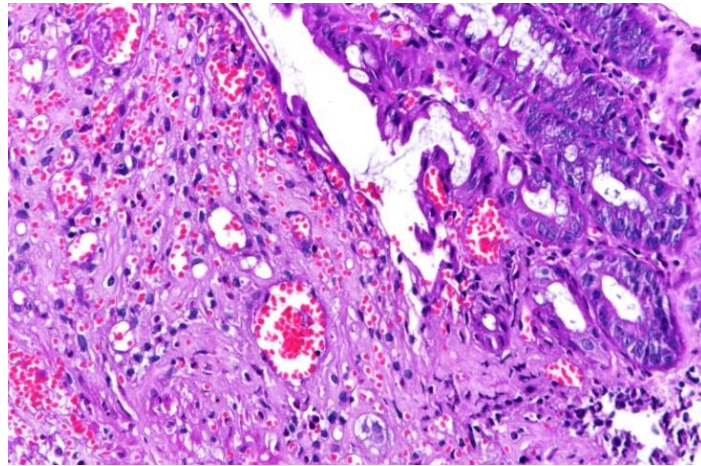
Resim 16. Orta şiddetli iskemik nekroz bulguları (HE x10)



Resim 17. Kas dokusunda orta şiddetli (3+) inflamasyon (HE x20)



Resim 18. Kas dokusunda şiddetli (4+) inflamasyon (HE x20)

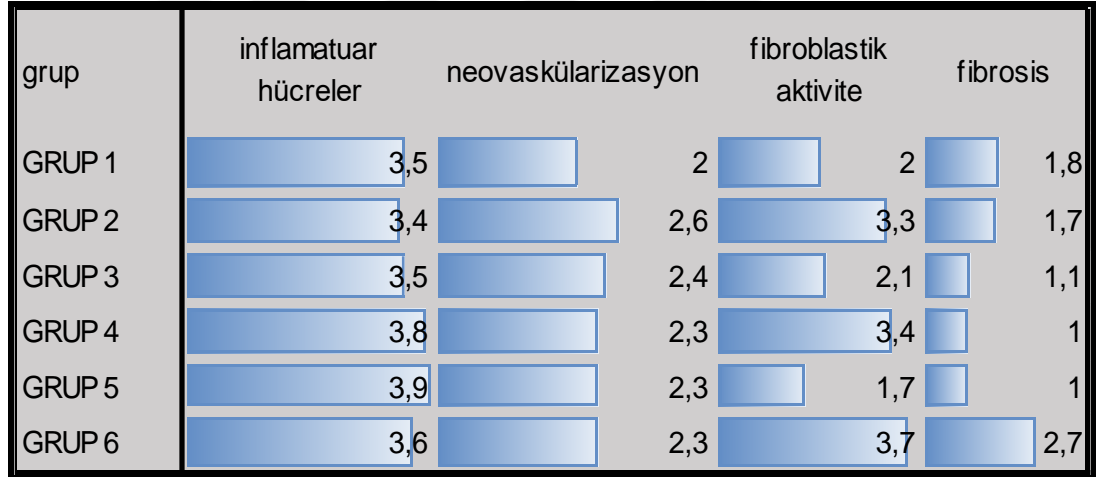


Resim 19. Belirgin neovaskülarizasyon alanı (HE x20)

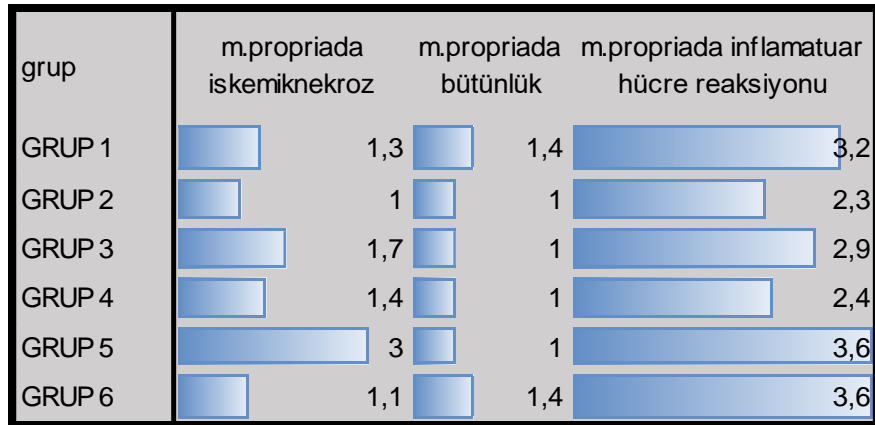
Grafik 4. Anastomoz mukozasının reepitelizasyonu skorlarının gruplara göre dağılımı



Grafik 5. İnflamatuvar granülom varlığı ve granülasyon dokusu oluşumu skorlarının gruplara göre dağılımı



Grafik 6. Kas tabakasının tahribatı skorlarının gruplara göre dağılımı



Grafik 7. Anastomoz hattında inflamatuvar infiltrasyon skorlarının gruplara göre dağılımı

grup	nötrofil	lenfosit	histiyosit	giantcell
GRUP 1	3,5	2	1	1
GRUP 2	3,3	2,8	2,3	1
GRUP 3	3,9	2	1,6	1
GRUP 4	3,8	2,6	1,7	1
GRUP 5	4	2,1	2,3	1
GRUP 6	3,5	2,6	1	1

4.4. Grupların İstatistiksel Karşılaştırması

Grupların tamamı her değerlendirme yöntemi için kendi içerisindeki değişkenlerle Kruskal- Wallis testi kullanılarak karşılaştırıldı. Sonrasında arasında anlamlı farklılık olan gruplar ikişerli olarak Mann- Whitney testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Özellikle aralarında anlamlı farklılık varlığı araştırılan grup çiftleri 1-3, 1-5, 3-5, 2-4, 2-6, 4-6 olarak belirlendi.

4.4.1. Patlama Basınçları

En yüksek ortalama patlama basıncı değeri grup 5' te, en düşük değer ise grup 1' de saptandı. Gruplar kendi içinde ikişerli olarak kıyaslandığında grup 1-3 (P= 0,001) [grup 3' teki ortalama değer (92,8) grup 1 ortalamasından(47,5) büyük], grup 1-5 (P= 0,000) [grup 5' teki ortalama değer (144,20) grup 1 ortalamasından (47,5) büyük], grup 3-5 (P= 0,002) [grup 5' teki ortalama değer (144,20) grup 3 ortalamasından (92,80) büyük] grup 2-4 (P= 0,007) [grup 4' teki ortalama değer (125,10) grup 2 ortalamasından (82,20) büyük] ve grup 2-6 (P= 0,001) [grup 6' daki ortalama değer (136,40) grup 2 ortalamasından (82,20) büyük] arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken; grup 4-6 (P= 0,406) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

4.4.2. Biyokimyasal Parametreler

En yüksek ortalama doku myeloperoksidaz değeri grup 5' te, en düşük değeri ise grup 2' de saptandı. Gruplar kendi içinde kıyaslandığında sadece grup 1-3 (P= 0,041) [grup 3' teki ortalama değeri (95,10) grup 1 ortalamasından (58,19) büyük] arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken, diğer grup çiftleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

En yüksek ortalama doku hidrokspirolin değeri grup 3' te, en düşük değeri ise grup 4' te saptandı. Gruplar kendi içinde ikişerli olarak kıyaslandığında hiçbir grup çifti arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

4.4.3. Anastomoz Hattı Yara İyileşmesi Skorları

Bütün histopatolojik parametreler ayrı ayrı grup 1-3 arasında kıyaslandığında sadece fibrozis (P= 0,020) [grup 1' deki ortalama değeri (1,80) grup 3 ortalamasından (1,10) büyük] ve inflamasyon alanındaki histiyosit sayısı (P= 0,004) [grup 3' teki ortalama değeri (1,60) grup 1 ortalamasından (1,00) büyük] açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup diğer parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Bütün histopatolojik parametreler ayrı ayrı grup 1-5 arasında kıyaslandığında fibrozis (P= 0,007) [grup 1' deki ortalama değeri (1,80) grup 5 ortalamasından (1,00) büyük], m.propriada iskemik nekroz (P= 0,000) [grup 5' teki ortalama değeri (3,00) grup 1 ortalamasından (1,30) büyük], inflamasyon alanındaki nötrofil (P= 0,012) [grup 5' teki ortalama değeri (4,00) grup 1 ortalamasından (3,50) büyük] ve histiyosit sayısı (P= 0,000) [grup 5' teki ortalama değeri (2,30) grup 1 ortalamasından (1,00) büyük] açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup diğer parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Bütün histopatolojik parametreler ayrı ayrı grup 3-5 arasında kıyaslandığında fibroblastik aktivite (P= 0,045) [grup 3' teki ortalama değeri (2,10) grup 5 ortalamasından (1,70) büyük], m.propriada iskemik nekroz (P= 0,001) [grup 5' teki ortalama değeri (3,00) grup 3 ortalamasından (1,70) büyük] ve inflamatuvar hücre reaksiyonu (P= 0,019) [grup 5' teki ortalama değeri (3,60) grup 3 ortalamasından

(2,90) büyük], inflamasyon alanındaki histiyosit sayısı (P= 0,010) [grup 5' teki ortalama değer (2,30) grup 3 ortalamasından (1,60) büyük] açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup diğer parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Bütün histopatolojik parametreler ayrı ayrı grup 2-4 arasında kıyaslandığında fibrozis (P= 0,005) [grup 2' deki ortalama değer (1,70) grup 4 ortalamasından (1,00) büyük], m.propriada iskemik nekroz (P= 0,029) [grup 4' teki ortalama değer (1,40) grup 2 ortalamasından (1,00) büyük] ve inflamasyon alanındaki nötrofil sayısı (P= 0,028) [grup 4' teki ortalama değer (3,80) grup 2 ortalamasından (3,30) büyük] açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup diğer parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Bütün histopatolojik parametreler ayrı ayrı grup 2-6 arasında kıyaslandığında anastomotik mukozada reepitelizasyon (P= 0,000) [grup 2' deki ortalama değer (1,80) grup 6 ortalamasından (0,40) büyük], fibrozis (P= 0,012) [grup 6' daki ortalama değer (2,70) grup 2 ortalamasından (1,70) büyük], m.propriada bütünlük (P= 0,029) [grup 6' daki ortalama değer (1,40) grup 2 ortalamasından (1,00) büyük] ve inflamatuvar hücre reaksiyonu (P= 0,001) [grup 6' daki ortalama değer (3,60) grup 2 ortalamasından (2,30) büyük], inflamasyon alanındaki histiyosit sayısı (P= 0,000) [grup 2' deki ortalama değer (2,30) grup 6 ortalamasından (1,00) büyük] açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup diğer parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Bütün histopatolojik parametreler ayrı ayrı grup 4-6 arasında kıyaslandığında anastomotik mukozada reepitelizasyon (P= 0,001) [grup 4' teki ortalama değer (1,50) grup 6 ortalamasından (0,40) büyük], fibrozis (P= 0,000) [grup 6' daki ortalama değer (2,70) grup 4 ortalamasından (1,00) büyük], m.propriada bütünlük (P= 0,029) [grup 6' daki ortalama değer (1,40) grup 4 ortalamasından (1,00) büyük] ve inflamatuvar hücre reaksiyonu (P= 0,001) [grup 6' daki ortalama değer (3,60) grup 4 ortalamasından (2,40) büyük], inflamasyon alanındaki histiyosit sayısı (P= 0,005) [grup 4' teki ortalama değer (1,70) grup 6 ortalamasından (1,00) büyük] açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup diğer parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

5. TARTIŞMA

İntestinal anastomoz tekniklerindeki önemli teknolojik gelişmelere, ameliyat sonrası hasta bakımında kaydedilen ilerlemelere ve infeksiyonla mücadelede yeni antibiyotiklerin devreye girmesine rağmen riskli kolorektal anastomozlarda kaçak oluşması olasılığı hala bir zorluk olarak cerrahların karşısında durmaktadır. Bir anastomoz ayrışması 60 dakika içerisinde tespit edilse dahi genellikle fekal peritonit ve kontrol edilemeyen sepsise yol açması nedeniyle ciddi morbidite ve mortalite nedeni olmayı sürdürmektedir. Kolon anastomozunun riskli olduğu durumlarda hastaya geçici veya kalıcı bir stoma açmakla anastomoz yapmak arasındaki seçim, hastanın yaşam kalitesine olacak etkileri de göz önüne alındığında cerrah için ciddi şekilde zor bir durumdur (97).

Bu nedenle özellikle anastomoz ayrılması riski yüksek durumlarda dahi anastomoz yapabilmek için bu anastomozun sağlamlığını ve güvenilirliğini artıracak yöntemler üzerinde çalışmalar hızla devam etmektedir. Yüksek riskli anastomozların deneysel modeller üzerinde çalışmalarını derinleştirmek bu konudaki bilgiyi artırabilir ve cerrahların en iyi kararı vermelerinde yardımcı olabilir.

Bağırsak kan akımının azalması veya kesilmesi ile ortaya çıkan iskemi lokal ve sistemik inflamatuvar mediatör artışı ile sonuçlanıp çoklu organ yetersizliğine (ÇOY) neden olabilir (98). Bağırsakların ÇOY' daki rolü nedeniyle birçok araştırmada vazoaaktif ajanların etkisi araştırılmaktadır. İnotroplar ve vazopresörler kalp hızını, kan basıncını arttırırken bölgesel kan akımı ve oksijen tüketimi üzerine değişken etkiler gösterebilirler (99). Deneysel çalışmalarda gösterilmiştir ki, Levosimendan vazodilatasyon yaparak anti-iskemik bir etki de göstermektedir (100). Ayrıca Revermann ve ark. yaptıkları çalışmada Levosimendan' ın muhtemelen antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkilerle pulmoner vasküler yeniden şekillenmeyi hafiflettiğini bildirmişlerdir (101). Ek olarak, yakın zamanda yapılan çalışmalar Levosimendan uygulamasının, miyokarddaki serbest radikal üretimini azaltarak oksidatif stresi azalttığını ve akut kalp yetmezliği ve septik şoku olan hastalarda polimorfonükleer lökositlerde (PMNL'ler) ROS salınımını engellediğini kanıtlamıştır (102, 103).

Özellikle sepsis kliniğinde pek çok inotropik ajan splanknik kan akımını artırmak için kullanılabilir. Koyunlarda intravenöz (İV) *Escherichia coli* (E. Coli) verilerek oluşturulan hiperdinamik sepsis modelinde norepinefrinin (NE) ortalama arter basıncını (OAB) arttırdığı fakat mezenterik kan akımı üzerine etki oluşturmadığı gösterilmiştir (104). Septik hastalarda yapılan bir araştırmada NE ve dopamin uygulamasının hepatosplanknik kan akımını arttırdığı, hepatik enerji balansı üzerine farklı etkiler gösterdiği saptanmıştır. Dopamin negatif hepatik enerji balansı oluşturmuştur (105). Domuzlarda fekal peritonit yöntemiyle oluşturulan sepsis modelinde, dopamin mezenterik kan akımını dobutamin ve dopeksamine göre daha fazla arttırmıştır (106).

Levosimendan verilen sağlıklı köpeklerde selektif olarak duodenal kan akımında artış ve splanknik vasküler dirençte azalma oluşmuştur (107). Endotoksik şok oluşturulan domuzlarda Levosimendan ön tedavisi portal ven kan akımını ve bağırsağa O₂ sunumunu artırmıştır (108).

Sağlıklı köpeklerde yapılan bir çalışmada Levosimendan, dobutamin ve milrinonun mide mukozal hemoglobin oksijenizasyonu, O₂ transportu ve tüketimi üzerine etkileri karşılaştırılmıştır. Levosimendan verilen köpeklerde mide mukozal oksijenizasyonu anlamlı olarak artmış, sistemik oksijen transportu hafif düzeyde artmış ve istikrarlı oksijen tüketimi sağlanmıştır. Milrinon verilen grupta benzer O₂ transportu ve tüketimi olmuş fakat mide mukozal hemoglobin oksijenizasyonunda artış olmadığı saptanmıştır. Dobutamin grubunda tüm analizlerde artış olmuştur. Bu sonuçlarla Levosimendan'ın sistemik etkilerinden bağımsız olarak gastrik mukoza üzerine yararlı etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (109).

Kalp dışında, diğer organların İR hasarlarında Levosimendan'la yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Aortik klemp sonrası spinal İR hasarına Levosimendan'ın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, Levosimendan'ın nörolojik, histopatolojik ve biyokimyasal parametreleri olumlu yönde etkilediği bulunmuştur (110).

Çalışmamız sırasında anastomoz iyileşmesini değerlendirirken birden çok değerlendirme yöntemi kullanıldı. Bu yöntemlerden biri anastomoz patlama basınçlarının ölçümüydü. Bu yöntemin kullanımının 100 yıldan uzun bir geçmişi vardır. İntraluminal basıncın uygun hızda arttırılmasının (2-12 ml H₂O/dk) daha

doğru sonuçlar elde edilmesini sağladığı gösterilmiştir. Anastomoz patlama basınçları değerlendirilerek yapılmış birçok çalışma incelendiğinde, patlama basıncı değerlerinin çalışmalar arası kıyaslanmanın uygun olmadığı sonucu ortaya çıkmıştır. Çalışmalardaki patlama basınçları ancak aynı çalışmanın kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı ve güvenilir bir değerlendirme yapılabilmektedir. Literatürde belirli bir modelde ve belirli bir segmentte yapılmış anastomozlar için birer ortalama değer vermenin doğru olmayacağı gösterilmiştir (44, 42, 80). Bazı çalışmalarda kopma direnci (ayrılma kuvveti) de değerlendirme amacıyla kullanılmıştır. Bu işlem tensiometer (gerilim ölçer) adlı bir cihaz kullanılarak uygulanmaktadır. Ameliyat sonrası 4. günde başlayan yeni kollajen sentezi ile paralellik gösterir. Anastomozdan 10 gün sonra anastomozun kopma direnci, normal kolonun yaklaşık % 50' si kadardır. Patlama basıncından daha yavaş olarak yeniden kazanıldığı için yara iyileşmesinin geç dönem belirteçidir. Bu yöntem, uygulanan kuvvetin tüm duvara eşit olarak dağılmasının mümkün olmayacağı varsayılarak güvenilir kabul edilmemiştir (80).

Biyokimyasal olarak anastomoz iyileşmesini gözlemek için doku hidroksiprolin ve doku myeloperoksidaz düzeyleri ölçüldü. Kollajen yapıtaşlarından biri olan hidroksiprolin omurgalı canlıların dokularında hemen hemen sadece kollajende (kollajende %14 ve elastinde %2 oranında) bulunur. İyileşme sürecinin gözlenmek istendiği dokulardaki kollajen metabolizması çalışmalarında hidroksiprolinin yararlı bir belirteç olması bu aminoasitin dağılımının tek tipliliğinden kaynaklanmaktadır (81). Hidroksiprolin düzeyi birim yaş dokuda ağrlık olarak değerlendirilir. Non-kollajen matriks proteinleri ihmal edilerek hidroksiprolin düzeyinin doğrudan kollajen içeriğini yansıttığı kabul edilmiştir (81). Anastomoz iyileşmesinde kollajen miktarı kadar kollajenin kalitesi ve çaprazlaşma yeteneği de önemlidir; ancak bunu direkt olarak belirleyebilecek bir yöntem bulunamamıştır. Anastomoz iyileşmesini değerlendiren bir diğer biyokimyasal teknik de intramural pH ölçümüdür. Teknik olarak zor olmasına karşın anastomoz bölgesinin kanlanması ve dolayısıyla yara iyileşmesi açasından kantitatif verilerin eldesini mümkün kılar (44, 80, 81). Myeloperoksidaz aktivitesi, deneysel çalışmalarda, iltihabın ciddiyetini belirlemek için nötrofil infiltrasyonunun bir göstergesi olarak kullanılır. Anastomotik bölgedeki iltihaplanmanın şiddeti, iyileşme sürecini etkileyen önemli faktörlerden

biridir. Aşırı ve uzun süreli inflamasyon, anastomoz kaçağına veya darlığına neden olan kollajen sentezinin bozulmasına neden olabilir (82).

İskemik kolon anastomozu modelinde Levosimendan' ın iyileşmeye olan etkisi ile ilgili literatürde bugüne kadar yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır (Çalışmanın başlama aşamasında Pubmed kullanılarak tarama yapılmış ve en son Eylül 2018' de yapılan taramada halen literatürde bu konuda bir çalışmaya rastlanmamıştır).

İskemi-reperfüzyon hasarı sonrası yapılan anastomozların iyileşmesine katkıda bulunabilecek birçok molekül ve yöntem denenmiştir.

Ersoy ve arkadaşları İR hasarı sonrası kolon anastomozunda Papaverin ve Pentoksifilini birlikte denemişlerdir. İR hasarı sonrası esas olarak eser elementlerin (Çinko ve bakır), VEGF düzeylerinin karşılaştırıldığı bu çalışma da Papaverin' in etkili olmadığı sonucuna varılmıştır (111). Bizim çalışmamızda kullanılan etken madde farklı olmakla birlikte iyileşmeyi değerlendirme konusunda kullandığımız parametrelerde farklılık arz etmekteydi.

Sümer ve arkadaşları düz kas gevşetici olan Pentoksifilinin iskemik kolon anastomozları üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmalarında iyileşmeye pozitif katkılar sağladığı sonucuna varmışlardır (112). Bizim çalışmamızda da hem vazodilatatör etkisiyle lokal olarak hem de pozitif inotropik etkileri ile sistemik dolaşıma katkısıyla Levosimendan' ın iskemik şartlarda yapılan anastomozun iyileşmesi üzerine etkisi araştırıldı.

Biz de çalışmamızda Levosimendan' ın iskemi sonrası oluşan mikrovasküler yatakta vazokonstriksiyon kısır döngüsünü bozarak, kollaterallere olan kan akımını arttırması ve güçlü vazodilatatör etkinliği nedeniyle anastomoz iyileşmesi üzerine olan etkisini araştırdık. İskemik kolon anastomozu yapılan deneklerde verilen Levosimendan dozları ve anastomozun değerlendirilme süreleri ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. Patlama basınçları açısından değerlendirildiğinde, düşük doz ilaç verilen gruplarla kontrol grupları arasında ve yüksek doz ilaç verilen gruplarla düşük doz ilaç verilen gruplar arasında istatistiksel olarak ilaç dozu artırıldıkça olumlu yönde iyileşme sağlandığını işaret edecek şekilde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır.

Biyokimyasal parametrelerimiz olan hidroksprolin ve myeloperoksidaz düzeyleri açısından gruplar karşılaştırıldığında myeloperoksidaz düzeyleri açısından kontrol 4. gün grubu ile düşük doz ilaç verilen 4. gün grubu arasında ilaç verilen grubun lehine istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup diğer gruplar arasında hiçbir fark saptanmamıştır. Hidroksprolin değerleri açısından hiçbir grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde ise hemen hemen bütün gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren parametreler fibrozis ve inflamasyon alanındaki histiyosit sayısı olmuştur. Histiyosit sayısı ilaç dozu arttıkça azalma göstermiş, fibroziste ise artış izlenmiştir. Diğer parametrelerden anastomotik mukozada reepitelizasyon açısından yüksek doz verilen gruplarda kontrol grubuna kıyasla aleyhte anlamlı farklılık saptanmış olup diğer gruplarda anlamlı farklılığa rastlanmamıştır.

Sonuç olarak iskemik kolon anastomozu modelinde anastomoz iyileşmesine Levosimendan klinik olarak (anastomoz patlama basınçları) olumlu etkilerde bulunmuş olmakla birlikte biyokimyasal olarak bu iyileşme gösterilememiştir. Histopatolojik olarak dokularda gelişen fibrozisin bu olumlu klinik iyileşmeye etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu nedenlerle Levosimendan' ın iskemik kolon anastomozu iyileşmesi üzerine etkilerini tam olarak ortaya koyabilmek için daha kapsamlı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Paun BC, Cassie S, MacLean AR, et al. Postoperative complications following surgery for rectal cancer. *Ann Surg* 2010; 251:807.
2. Choy PY, Bissett IP, Docherty JG, et al. Stapled versus handsewn methods for ileocolic anastomoses. *Cochrane Database Syst Rev* 2007
3. Alves A, Panis Y, Mathieu P, et al. Postoperative mortality and morbidity in French patients undergoing colorectal surgery: results of a prospective multicenter study. *Arch Surg* 2005; 140:278
4. Ragg JL, Watters DA, Guest GD. Preoperative risk stratification for mortality and major morbidity in major colorectal surgery. *Dis Colon Rectum* 2009; 52:1296.
5. Leung E, Ferjani AM, Stellard N, Wong LS. Predicting post-operative mortality in patients undergoing colorectal surgery using P-POSSUM and CR-POSSUM scores: a prospective study. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24:1459.
6. Slieker JC, Komen N, Mannaerts GH, et al. Long-term and perioperative corticosteroids in anastomotic leakage: a prospective study of 259 left-sided colorectal anastomoses. *Arch Surg* 2012; 147:447
7. Kingham TP, Pachter HL. Colonic anastomotic leak: risk factors, diagnosis, and treatment. *J Am Coll Surg* 2009; 208:269
8. Hyman N, Manchester TL, Osler T, et al. Anastomotic leaks after intestinal anastomosis: it's later than you think. *Ann Surg* 2007; 245:254.
9. Park JS, Choi GS, Kim SH, et al. Multicenter analysis of risk factors for anastomotic leakage after laparoscopic rectal cancer excision: the Korean laparoscopic colorectal surgery study group. *Ann Surg* 2013; 257:665.
10. Baixauli J, Kiran PR, Delaney CP, Investigation and management of ischemic colitis *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2003, 70: 920-934
11. Binns JC, Isaacson P. Age-related changes in the colonic blood supply: their relevance to ischemic colitis, *Gut* 1978, 19: 384–390

12. Phitayakorn R, Delaney CP, Reynolds HL, et al. Standardized algorithms for management of anastomotic leaks and related abdominal and pelvic abscesses after colorectal surgery. *World J Surg* 2008; 32:1147.
13. Oldner A, Konrad D, Weitzberg E, Rudehill A ve ark. Effects of Levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med* 2001;29:2185-2193
14. De Witt BJ, Ibrahim IN, Bayer E, Fields AM ve ark. An analysis of responses to Levosimendan in the pulmonary vascular bed of the cat. *Anesth Analg* 2002;94:1427-1433
15. Susan Standing. *Gray' s Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*, 2016, Elsevier Limited, Forty-first edition, 1136-1160
16. Courtney M. Townsend, Sabiston Textbook Of Surgery : The Biological Basis Of Modern Surgical Practice, 2017 by Elsevier, 20th edition, 1312-1393
17. F. Charles Brunicaudi, *Schwartz's Principles of Surgery*, 2015 by McGraw-Hill Education, Tenth Edition, 1175-1236
18. Schilling JA. Wound Healing. *Surgical Clinics of North America*. 1976; 56 (4): 859- 874
19. Carrico TJ, Mehrhof Jr. AI, Cohen IK. Biology of Wound Healing. *Surgical Clinics of North America*. 1984; 64(4): 721-733
20. Broughton G II, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing, *Plast Reconstr Surg*, 2006, 117:12-34
21. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med*. 2008 Aug 28;359(9):938-49
22. Lane DA, Philippou H, Huntington JA. Directing thrombin. *Blood*. 2005 Oct 15;106(8):2605-12
23. Odland G, Ross R. Human wound repair. I. Epidermal regeneration. *J Cell Biol*. 1968 Oct;39(1):135-51

24. Ross R, Everett NB, Tyler R. Wound healing and collagen formation. VI. The origin of the wound fibroblast studied in parabiosis. *J Cell Biol.* 1970 Mar;44(3):645-54
25. Darby IA, Hewitson TD. Fibroblast differentiation in wound healing and fibrosis. *Int Rev Cytol.* 2007;257:143-79
26. Attinger CE, Steinberg JS, Meyr AJ. Debridement of the Diabetic Foot Wound. In: *Clinical Care of the Diabetic Foot, Second Edition*, Armstrong DG, Lavery LA (Eds), American Diabetes Association, Alexandria 2010. p.49
27. Doillon CJ, Dunn MG, Bender E, Silver FH; Collagen fiber formation in repair tissue: development of strength and toughness. *Coll Relat Res.* 1985;5(6):481
28. Regan M, Kirk S, Wasserkrug H. The wound environment as a regulator of fibroblast phenotype, *J. Surg. Res* 1991, 50: 442-46
29. Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F. Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts, *J. Cell Biol* 1993, 122:103-8
30. 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: 11-15
31. Haukipuro K; Synthesis of collagen types I and III in re-incised wounds in humans. *Br J Surg.* 1991;78(6):708
32. Dodson MK, Magann EF, Meeks GR; A randomized comparison of secondary closure and secondary intention in patients with superficial wound dehiscence; *Obstet Gynecol.* 1992;80(3 Pt 1):321
33. Walters MD, Dombroski RA, Davidson SA, Mandel PC, Gibbs RS; Reclosure of disrupted abdominal incisions. *Obstet Gynecol.* 1990;76(4):597
34. Diegelmann RF, Evans MC; Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci.* 2004;9:283

35. Leibovich SJ, Ross R; The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol.* 1975;78(1):71
36. Bosmans JW, Jongen AC, Bouvy ND, Derikx JP Colorectal anastomotic healing: why the biological processes that lead to anastomotic leakage should be revealed prior to conducting intervention studies, *BMC Gastroenterol.* 2015 Dec 21;15:180. doi: 10.1186/s12876-015-0410-3
37. Slieker JC. Improving Quality in Colorectal Surgery. Erasmus University Rotterdam. 2014
38. Neutzling CB, Lustosa SAS, Proenca IM, da Silva EMK, Matos D. Stapled versus handsewn methods for colorectal anastomosis surgery. Matos D, editor. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012
39. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the Gastrointestinal Tract. *Surgical Clinics of North America.* 1997 (3):549-573
40. Slieker JC, Daams F, Mulder IM, Jeekel J, Lange JF. Systematic review of the technique of colorectal anastomosis. *JAMA Surg.* 2013;148:190–201. doi: 10.1001/2013.jamasurg.33
41. Daams F, Monkhorst K, van den Broek J, Slieker JC, Jeekel J, Lange JF. Local Ischaemia Does Not Influence Anastomotic Healing: An Experimental Study. *Eur Surg Res.* 2013;50:24–31. doi: 10.1159/000348411
42. Braskén P. Healing of experimental colon anastomosis. *Eur J Surg Suppl.* 1991;566:1–51
43. Kivisaari J, Vihersaari T, Renvall S. Energy metabolism of experimental wounds at various oxygen environments, *Ann. Surg* 1975, 181:823-28
44. Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic Anastomoses, *J Surg Res* 1990, 48: 504-15
45. Irvin TT, Goligher JC. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses, *Br J Surg* 1973, 60:461-4
46. Foster ME, Laycock JR, Silver IA, Leaper DJ. Hypovolaemia and healing in colonic anastomoses, *Br J Surg* 1985, 72: 831-4

47. Steinbrech DS, Longaker MT, Mehrara B. et al. Fibroblast response to hypoxia: The relationship between angiogenesis and matrix regulation, *J. Surg. Res* 1999, 84:127-34
48. Robson MC. Wound infection: A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria, *Surg. Clin. North Am* 1997, 77:637-41
49. Hawley PR, Faulk WP, Hunt TK, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastrointestinal tract, *Br J Surg* 1970, 57:896-900
50. Feathers RS, Lewis AAM, Sagor GR, Amirak JD, Noone P. Prophylactic systemic antibiotics in colorectal surgery. *Lancet*. 1977; 8027:4-8
51. Nichols RL, Condon RE. Preoperative preparation of the colon. *Surg Gynecol Obstet*. 1971; 132(2): 323-327
52. Chude GG, Rayate NV, Patris V, Koshariya M, Jagad R, Kawamoto J et al. Defunctioning loop ileostomy with low anterior resection for distal rectal cancer: should we make an ileostomy as a routine procedure? A prospective randomized study. *Hepatogastroenterology* 2008;55(86-87):1562-7
53. Petrowsky H, Demartines N, Rousson V, Clavien PA. Evidence-based value of prophylactic drainage in gastrointestinal surgery: a systematic review and meta-analyses. *Ann Surg* 2004;240:1074-85
54. Biert J, Senfert W, de Man B, et al. Combined preoperative irradiation and local hyperthermia delays early healing of experimental colonic anastomoses. *Arch Surg*. 1996; 131:1037
55. Atkinson JB, Kosi M, Srikanth M.S, Takano K, Costin G. Growth hormone reverses impaired wound healing in protein-malnourished rats treated with Corticosteroids, *J Pediatr Surg* 1992, 27:1026-8
56. Verhofstad MH, Hendriks T. Diabetes impairs the development of early strength but not the accumulation of collagen during intestinal anastomotic healing in the rat, *Br J Surg*. 1994, 81:1040-5
57. Ehrlich HP, Hunt TK. Effects of cortisone and vitamin A on wound healing, *Ann Surg* 1968, 167:324-8

58. Kim SC, Buchmiller LT, Fonkalsrud WE, Philips D. The effect of anabolic steroids on ameliorating the adverse effect of chronic corticosteroids on intestinal anastomotic healing in rabbits, *Gyn. and Obs. Surg* 1993, 176:73-79
59. Bosmans JWAM, Jongen ACHM, Birchenough GMH, Nyström EEL, Gijbels MJJ, Derikx JPM, et al. Normal mucus composition is essential in the colonic anastomotic healing in mice. *United European Gastroenterol J.* 2015;doi:10.1177/2050640615601611
60. Shogan BD, Belogortseva N, Luong PM, Zaborin A, Lax S, Bethel C, et al. Collagen degradation and MMP9 activation by *Enterococcus faecalis* contribute to intestinal anastomotic leak. *Sci Transl Med.* 2015;7:286ra68–8
61. Olivas AD, Shogan BD, Valuckaite V, Zaborin A, Belogortseva N, Musch M, et al. Intestinal tissues induce an SNP mutation in *Pseudomonas aeruginosa* that enhances its virulence: possible role in anastomotic leak. *PLoS ONE.* 2012;7, e44326
62. Chung RS. Blood flow in colonic anastomoses. Effect of stapling and suturing. *Ann Surg* 1987, 206:335-41
63. Khoury GA, Waxman BP. Large bowel anastomoses. I. The healing process and sutured anastomoses, A review. *Br J Surg* 1983 Feb, 70: 61-3
64. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. IV. Effect of suture technique on collagen metabolism in the colonic wall, *Am J Surg* 1980, 139: 406-13
65. Leslie A, Steele RJ. The interrupted serosubmucosal anastomosis - still the gold Standard, *Colorectal Dis* 2003, 5: 362-366
66. Cömert M, Taner İF, Tekin E,. The Effect of pentoxifylline on the healing of intestinal anastomoses in rats with obstructive jaundice. *Surg Today* 2000; 30: 896- 902
67. Gude RP, Binda MM, Boquete AL, Bonfil RD. Inhibition of endothelial cell proliferation and tumor- induced angiogenesis by pentoxifylline. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 625-630

68. Pantelis D, Beissel A, Kahl P, Vilz TO, Stoffels B, Wehner S, et al. Colonic anastomotic healing in the context of altered macrophage function and endotoxemia. *Int J Colorectal Dis.* 2011;26:737–46
69. Smith PD, Smythies LE, Shen R, Greenwell-Wild T, Gliozzi M, Wahl SM. Intestinal macrophages and response to microbial encroachment. *Mucosal Immunol.* 2011;4:31–42
70. Wu Z, Vakalopoulos KA, Boersema GSA, Kroese LF, Lam KH, van der Horst PH, et al. The prevention of colorectal anastomotic leakage with tissue adhesives in a contaminated environment is associated with the presence of anti-inflammatory macrophages. *Int J Colorectal Dis.* 2014;29:1507–16
71. van der Vijver RJ, van Laarhoven CJHM, de Man BM, Lomme RMLM, Hendriks T. The effect of fibrin glue on the early healing phase of intestinal anastomoses in the rat. *Int J Colorectal Dis.* 2012;27:1101–7
72. Hoepfner J, Wassmuth B, Marjanovic G, Timme S, Hopt UT, Keck T. Anastomotic sealing by extracellular matrices (ECM) improves healing of colonic anastomoses in the critical early phase. *J Gastrointest Surg.* 2010;14:977–86
73. Mast BA. Healing in other tissues, *Surg Clin North Am.* Review 1997, 77: 529-47
74. Thompson SK, Chang EY, Jobe BA. Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part I. *Microsurgery.* 2006;26:131–6
75. Munireddy S, Kavalukas SL, Barbul A. Intra-abdominal healing: gastrointestinal tract and adhesions. *Surg Clin North Am.* 2010;90:1227–36
76. Törkvist L, Månsson P, Raud J, Larsson J, Thorlacius H. Role of CD18-dependent neutrophil recruitment in skin and intestinal wound healing. *Eur Surg Res.* 2001;33:249–54
77. Martens MF, Huyben CM, Hendriks TH. Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. *Gut.* 1992;33:1664–70

78. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9:244–53
79. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar RD. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol.* 2015;21:8787–803
80. Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses: parameters for repair, *Dis Colon Rectum* 1990, 33:891-901
81. Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension, *Br J Surg.* 1985, 72:606-609
82. Karaman K, Bostanci EB, Dincer N, Ulas M, Ozer I, Dalgic T, Ercin U, Bilgihan A, Ginis Z, Akoglu M., Effects of thyroid hormone supplementation on anastomotic healing after segmental colonic resection. *J Surg Res.* 2012 Aug;176(2):460-7. doi: 10.1016/j.jss.2011.11.1015. Epub 2011 Dec 13
83. Gantwerker E.A, Hom DB. Skin: histology and physiology of wound healing, *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2011, 19:441-53
84. Braiman-Wiksman L, Solomonik I, Spira R, Tennenbaum T. Novel insights into wound healing sequence of events, *Toxicol Pathol* 2007, 35:767-79
85. Hesp WL, Hendriks T, Schillings PH. Histological features of wound repair: a comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. *Br J Surg.* 1985, 66:511-518
86. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. The effect of suture technic on collagen concentration in the colonic wall. *Am J Surg.* 1978 Mar; 135(3):333-40
87. Kivikko M, Lehtonen L. Levosimendan: a new inodilatory drug for the treatment of decompensated heart failure. *Curr Pharm Des* 2005;11:435-455
88. Pollesello P, Papp Z. The cardioprotective effects of Levosimendan: Preclinical and Clinical evidence. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;50:257-263
89. Kivikko M, Lehtonen L, Colucci WS. Sustained hemodynamic effects of intravenous Levosimendan. *Circulation* 2003;107:81-86

90. Du Toit EF, Muller CA, McCarthy J, Opie LH. Levosimendan: effects of a calcium sensitizer on function and arrhythmias and cyclic nucleotide levels during ischemia/reperfusion in the Langendorff-perfused guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;290(2):505-514
91. Harjola VP, Oikarinen L, Toivonen L, Jurkko R ve ark. The hemodynamic and pharmacokinetic interactions between chronic use of oral Levosimendan and digoxin in patients with NYHA Classes II-III heart failure. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2008;46(8):389-399
92. Krassoi I, Pataricza J, Kun A Papp JG. Calcium-dependent vasorelaxant capacity of Levosimendan in porcine and human epicardial coronary artery preparations. *Cardiovasc Drugs Ther* 2000;14:691-693
93. Pataricza J, Hohn J, Petri A, Balogh A ve ark. Comparison of the vasorelaxing effect of cromakalim and the new inodilator, Levosimendan, in human isolated portal vein. *J Pharm Pharmacol* 2000;52:213-217
94. Ozdem SS, Yalcin O, Meiselman HJ, Baskurt OK ve ark. The role of potassium channels in relaxant effect of Levosimendan in rat small mesenteric arteries. *Cardiovasc Drugs Ther* 2006;20:123-127
95. Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperelakis N . Levosimendan, a novel Ca²⁺ sensitizer, activates the glibenclamide-sensitive K⁺ channel in rat arterial myocytes. *Eur J Pharmacol* 1997;333:249-259
96. Parra-Membrives P, Ruiz-Luque V, Escudero- Severin C, Aguilar-Luque J, Mendez-Garcia V. Effect of pentoxifylline on the healing of ischemic colorectal anastomoses. *Dis Colon Rectum* 2007;50:369-75
97. Alvarenga Junior V, Ferraz ED¹, Rolim M, Carra AM, Silva PTD, Franco OB, Cordeiro MMD, Takiya CM, Baetas-da-Cruz W, Manso JEF, Ferreira ML, Eulálio JMR, Silva PC, Souza HSP, Schanaider A Rat models of high risk colorectal anastomoses *Acta Cir Bras.* 2018 Oct;33(10):914-923
98. Jun-Lin Z, Guo-Hua J, Yi-Ling Y, Jun-Lan Z ve ark. Role of nitric oxide and peroxynitrite anion in lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. *World J Gastroenterol* 2003;9(6):1318-1322

99. Woolsey CA, Coopersmith CM. Vasoactive drugs and gut: is there anything new? *Curr Opin Crit Care* 2006;12:155-159
100. Kersten JR, Montgomery MW, Pagel PS, et al. Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of K(ATP) channels. *Anesth Analg*. 2000;90:5–11
101. Revermann M, Schloss M, Mieth A, et al. Levosimendan attenuates pulmonary vascular remodeling. *Intensive Care Med*. 2011;37:1368–1377
102. Hasslacher J, Bijuklic K, Bertocchi C, et al. Levosimendan inhibits release of reactive oxygen species in polymorphonuclear leukocytes in vitro and in patients with acute heart failure and septic shock: a prospective observational study. *Crit Care*. 2011;15:R166
103. Parissis JT, Andreadou I, Markantonis SL, et al. Effects of Levosimendan on circulating markers of oxidative and nitrosative stress in patients with advanced heart failure. *Atherosclerosis*. 2007;195:e210–e215
104. Di Giantomasso D, May CN. Norepinephrine and vital organ blood flow. *Intensive Care Med* 2002;28:1804-1809
105. Guerin JP, Levraut J, Samat-Long C, Laverse X ve ark. Effects of dopamine and norepinephrine on systemic and hepatosplanchnic hemodynamics, oxygen exchange and energy balance in vasoplegic septic patients. *Shock* 2005;23:18-24
106. Hildebrand LB, Krejci V, Sigurdsson GH. Effects of dopamine, dobutamine and dopexamine on microcirculatory blood flow in the gastrointestinal tract during sepsis and anesthesia. *Anesthesiology* 2004;100:1188-1197
107. Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC. Influence of Levosimendan, pimobendan and milrinone on the regional distribution of cardiac output in anaesthetized dogs. *Br J Pharmacol* 1996;119:609-615
108. Oldner A, Konrad D, Weitzberg E, Rudehill A ve ark. Effects of Levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med* 2001;29:2185-2193

- 109.Schwartz LA, Picker O, Bornstein SR, Fournell A ve ark. Levosimendan is superior to milrinone and dobutamin in selectively increasing microvascular gastric mucosal oxygenation in dogs. *Crit Care Med* 2005;33:135-142
- 110.Katircioğlu F, Seren M, Parlar AI, Turan NN ve ark. Levosimendan effect on spinal cord ischemia-reperfusion injury following aortic clamping. *J Card Surg* 2008;23:44- 48
- 111.Ersoy YE, Ayan F, Himmetoglu S. Trace element levels in ischemiareperfusion injury after left colonic anastomosis in rats and effects of papaverine and pentoxiphylline on vascular endothelial growth factor in anastomosis healing. *Acta Gastroenterol Belg.* 2011, 74:22-7
- 112.Sümer A, Altınlı E, Senger S, Köksal N, Onur E, Eroğlu E. Effect of pentoxifylline and vinpocetine on the healing of ischemic colon anastomosis: an experimental study. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2011, 17:482-7

7. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneşleri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 05.01.2017
TOPLANTI NO : 2017/01

- 12-** Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2017-09-05/01 Protokol no'lu "Levosimendan'ın İskemik Kolon Anostomuzu Modelinde Anostomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi" konulu çalışmanın Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ
Hayvan Deneşleri Yerel Etik Kurulu Başkan Vekili